

P-ISSN 1859-4794 * E-ISSN 2615-9929

TẬP 65, SỐ 10DB, THÁNG 10 NĂM 2023
VOLUME 65, NUMBER 10DB, OCTOBER 2023

TẠP CHÍ **KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ** Vietnam Journal of Science and Technology - MOST VIỆT NAM



HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Châu Văn Minh - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam
Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng
Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam
Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam
Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân
Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội
Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội
Trương Nam Hải - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam
Trần Thanh Hải - Trường Đại học Mỏ - Địa chất
Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải
Phạm Gia Khánh - Hội Ghép tạng Việt Nam
Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh
Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục, Đại học Quốc gia Hà Nội
Bành Tiến Long - Đại học Bách khoa Hà Nội
Lê Quan Nghiệm - Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh
Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội
Trần Hữu Phúc - Hội đồng GS Nhà nước
Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ
Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội
Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

TÓNG BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hương Giang

TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP

Phạm Thị Minh Nguyệt

TRƯỞNG BAN TẠP CHÍ ĐIỆN TỬ

Vũ Văn Hưng

TRƯỞNG BAN TRỊ SỰ

Lương Ngọc Quang Hưng

TRÌNH BÀY

Đinh Thị Luan

EDITORIAL COUNCIL

Chau Van Minh - Vietnam Academy of Science and Technology
Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering
Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam
Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology
Tran Tho Dat - National Economics University
Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi
Vu Minh Giang - VNU, Hanoi
Truong Nam Hai - Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology
Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology
Pham Huy Khang - University of Transport and Communications
Pham Gia Khanh - Vietnam Society of Organ Transplantation
Ho Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology
Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, Hanoi
Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology
Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City
Mai Trong Nham - VNU, Hanoi
Tran Huu Phuc - The State Council for Professorship
Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University
Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi
Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi

EDITOR-IN-CHIEF

Nguyen Thi Huong Giang

HEAD OF EDITORIAL BOARD

Pham Thi Minh Nguyet

HEAD OF E-JOURNAL BOARD

Vu Van Hung

HEAD OF ADMINISTRATION

Luong Ngoc Quang Hung

ART DIRECTOR

Đinh Thị Luan

TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794
Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn
Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794
Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn
E-journal: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021
Số 50/GP-BTTTT ngày 01/02/2023
Giá: 18000đ

PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20th July 2021
No. 50/GP-BTTTT 1st February 2023

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của chủng nấm dược liệu *Cordyceps militaris* bạch tạng (albino) phân lập tại Việt Nam

Đỗ Thị Kim Trang¹, Đào Ngọc Ánh¹, Trần Bảo Trâm¹, Trương Thị Chiên¹, Nguyễn Minh Nam², Trần Văn Tuấn³, Vũ Xuân Tạo^{1*}

¹Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ, 25 Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

³Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 13/6/2023; ngày chuyển phản biện 15/6/2023; ngày nhận phản biện 6/7/2023; ngày chấp nhận đăng 10/7/2023

Tóm tắt:

Cordyceps militaris là một loài nấm dược liệu quan trọng trong y học cổ truyền. Quả thể nấm *C. militaris* chứa nhiều hoạt chất quý có tác dụng tăng cường sức khỏe và hỗ trợ điều trị nhiều loại bệnh. Do đó, loài nấm này được coi là nguồn dược liệu tiềm năng cho phát triển các sản phẩm chăm sóc sức khỏe. Việc tìm kiếm các chủng nấm *C. militaris* mới có năng suất, chất lượng cao và độc đáo luôn được các nhà nghiên cứu quan tâm. Bài báo đưa ra những kết quả mới về một số đặc điểm sinh học của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng (albino) phân lập tại Việt Nam. Chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ được phân lập và định danh chính xác dựa trên các đặc điểm hình thái và trình tự vùng ITS của rDNA. Hệ sợi chủng nấm *C. militaris* SHBTQ có màu trắng và duy trì ổn định qua 5 thế hệ liên tiếp. Nguồn carbon và nitơ thích hợp cho sự sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ tương ứng là saccarose và cao nấm men. Đặc biệt, chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ có khả năng hình thành quả thể với năng suất trung bình đạt 30 g/hộp, năng suất sinh học đạt 12,2% và hàm lượng cordycepin đạt 10,45 mg/g quả thể khô. Đây là chủng nấm mới có tiềm năng ứng dụng trong sản xuất.

Từ khóa: cordycepin, *Cordyceps militaris* bạch tạng, đặc điểm sinh học, năng suất, quả thể.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Nhiều loài trong chi nấm *Cordyceps* là loại dược liệu quan trọng, được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền của nhiều nước châu Á [1, 2]. Các loài thuộc chi *Cordyceps* phân bố trải rộng từ châu Á sang châu Âu và Bắc Mỹ. Tuy nhiên, phân tích trình tự ITS rDNA các chủng *C. militaris* phân bố tại các quốc gia khác nhau cho thấy vị trí địa lý không ảnh hưởng nhiều tới khoảng cách di truyền giữa các chủng [3]. Trong chi nấm *Cordyceps*, *C. militaris* là loài nấm dược liệu nghiên cứu và nuôi trồng phổ biến nhất. Quả thể nấm *C. militaris* chứa nhiều hoạt chất có hoạt tính sinh học như adenosine, cordycepin, pentostatin, polysaccharide... [4, 5]. Đây là những hoạt chất đã được chứng minh có khả năng kháng ung thư, kháng virus, hỗ trợ điều trị tiểu đường [6-8]. Do vậy, *C. militaris* được coi là loài nấm có giá trị kinh tế cao và đang được nuôi trồng với quy mô lớn tại nhiều nước trên thế giới như Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản, Việt Nam... Việc tìm kiếm các chủng *C. militaris* mới với năng suất, hàm lượng hoạt chất cao và có những đặc điểm độc đáo được coi là chìa khóa then chốt nắm giữ thành công của các doanh nghiệp/đơn vị nuôi trồng thương mại loài nấm này.

Trong tự nhiên hay nuôi trồng, quả thể nấm *C. militaris* có màu vàng tới vàng cam do trong quả thể nấm chứa carotenoid (bao gồm lutein, zeaxanthin và 4 cordyxanthin) [9]. Tuy nhiên trong quá trình nuôi trồng nấm *C. militaris*, một số nghiên cứu

trên thế giới đã ghi nhận sự phát sinh các chủng bạch tạng với hàm lượng carotenoid rất thấp. Tuy hàm lượng carotenoid của chủng *C. militaris* bạch tạng thấp nhưng hàm lượng cordycepin, flavonoid và chất chống oxy hóa lại cao hơn nhiều so với chủng ban đầu có quả thể màu vàng cam đặc trưng [10, 11]. Các nghiên cứu phân tích transcriptome cho thấy, sự hình thành chủng *C. militaris* bạch tạng liên quan tới một số cytochrome P450 và methyltransferases [11]. Tuy nhiên, cơ chế cụ thể về việc tạo ra các chủng đột biến bạch tạng vẫn chưa được làm rõ ở nấm *C. militaris*. Nhìn chung, các công bố về chủng nấm *C. militaris* bạch tạng rất ít. Nhưng với các dữ liệu đã công bố đều cho thấy, các chủng *C. militaris* bạch tạng có xu hướng tăng cường các hoạt chất chính như cordycepin, flavonoid, tăng khả năng chống oxy hóa và đây là các chủng nấm rất tiềm năng cho nghiên cứu và khai thác ứng dụng.

Trong khi đó, tại các cơ sở nuôi trồng nấm đông trùng hạ thảo của Việt Nam đều đang nhân nuôi chủng nấm *C. militaris* cho quả thể màu vàng cam, chưa có nghiên cứu nào công bố về chủng nấm *C. militaris* bạch tạng phân lập tại nước ta. Nghiên cứu này xác định một số đặc điểm sinh học cũng như khả năng hình thành quả thể và hàm lượng hoạt chất cordycepin trong quả thể chủng nấm *C. militaris* bạch tạng phân lập tại Việt Nam làm căn cứ khoa học cho việc triển khai nuôi trồng và khai thác nguồn nấm *C. militaris* bạch tạng.

*Tác giả liên hệ: Email: taovx.tsa@gmail.com

Study on some biological characteristics of the albino strain of medicinal fungus *Cordyceps militaris* isolated in Vietnam

Thi Kim Trang Do¹, Ngọc Anh Dao¹, Bao Tram Tran¹,
Thi Chien Truong¹, Minh Nam Nguyen²,
Van Tuan Tran³, Xuan Tao Vu^{1*}

¹Center for Experimental Biology, National Center for Technological Progress, Ministry of Science and Technology, C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²National Center for Technological Progress, Ministry of Science and Technology, 25 Le Thanh Tong, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

³Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 13 June 2023; revised 6 July 2023; accepted 10 July 2023

Abstract:

Cordyceps militaris is one of the important medicinal fungi in traditional medicine. The fruiting body of *C. militaris* contains various bioactive compounds that have health-enhancing effects and support the treatment of various diseases. Therefore, this fungus is a potential source of medicinal materials for the development of healthcare products. The search for new strains of *C. militaris* with high yield, quality, and uniqueness is always of great interest. This study has provided new findings on some biological characteristics of an albino strain of *C. militaris* isolated in Vietnam. The albino strain of *C. militaris* SHBTQ was isolated and accurately identified based on morphological characteristics and the ITS (internal transcribed spacer) sequence of ribosomal DNA. The mycelial of *C. militaris* SHBTQ is white and remains stable for five successive generations. The most suitable carbon and nitrogen sources for the growth of the albino SHBTQ strain were sucrose and yeast extract, respectively. Notably, the SHBTQ strain is capable of forming fruiting bodies, with an average fresh fruiting body yield of 30 g/box, a biological efficiency of 12.2%, and a cordycepin content of 10.45 mg/g of dried fruiting bodies. This newly discovered strain offers great potential for further applications in production.

Keywords: albino *Cordyceps militaris*, biological characteristics, cordycepin, fruiting bodies, productivity.

Classification number: 1.6

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hộp quả thể tươi chủng nấm *C. militaris* SHQ có xuất hiện mẫu quả thể nấm màu trắng (ký hiệu SHBTQ) được thu thập tại một đơn vị sản xuất nấm ở Bắc Ninh. Mẫu được bảo quản trong túi nylon sạch. Sau khi thu thập, mẫu được đưa ngay về phòng thí nghiệm để phân lập chủng nấm bạch tạng.

2.2. Phương pháp phân lập chủng nấm bạch tạng

Mẫu quả thể SHBTQ (được tách ra từ hộp quả thể *C. militaris* SHQ) được cắt thành các lát nhỏ và đặt lên bề mặt môi trường PDA (Potatose dextrose agar) chứa kháng sinh chloramphenicol với nồng độ 100 µg/ml (có tác dụng ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn). Đã được ủ ở 22-25°C trong tối, trong 5 ngày. Hệ sợi nấm màu trắng xuất hiện từ các lát quả thể được cấy chuyển sang đĩa môi trường PDA mới để thuần khiết [12].

2.3. Định danh chủng nấm bạch tạng dựa trên các đặc điểm hình thái và trình tự vùng ITS của rDNA

Chủng nấm bạch tạng SHBTQ đã phân lập được nuôi cấy trên môi trường PDA ở 25°C sau 7 ngày để thu bào tử nấm. Quy trình thu bào tử nấm chủng SHBTQ được tiến hành theo quy trình của T.X. Vu và cs (2018) [13]. Dịch bào tử nấm được xác định nồng độ bằng buồng đếm Thoma. Đặc điểm hình thái hệ sợi nấm và cuống sinh bào tử của chủng SHBTQ được xác định bằng cách nuôi cấy trực tiếp bào tử chủng nấm trên tiêu bản hiển vi vô trùng có chứa môi trường PDA trong 2-3 ngày ở 25°C và quan sát dưới kính hiển vi quang học [13].

Đồng thời, 500 µl dịch bào tử chủng SHBTQ (10⁵ bào tử/ml) được nuôi trong 50 ml môi trường PDB (lắc 150 vòng/phút ở 25°C trong tối), sau 4 ngày tiến hành thu hệ sợi nấm sử dụng cho việc tách chiết DNA. DNA tổng số được tách chiết từ hệ sợi nấm theo V.T. Tran và cs (2017) [14]. Mẫu DNA tổng số được sử dụng cho phản ứng PCR khuếch đại vùng ITS sử dụng cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')/ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [15]. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra và tinh sạch bằng bộ kit tinh sạch DNA của Hãng Promega. Sản phẩm sau tinh sạch được giải trình tự bởi Công ty 1st BASE (Singapore). Trình tự ITS được so sánh với dữ liệu trên Ngân hàng gen Quốc tế (GenBank) sử dụng chương trình BLAST. Cây phát sinh chủng loại dựa trên trình tự ITS được xây dựng sử dụng phần mềm MEGA7.

2.4. Đánh giá khả năng sinh trưởng và hình thành bào tử của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng

Tiến hành nhỏ 5 µl dịch bào tử (10⁵ bào tử/ml) của mỗi chủng nấm (chủng SHQ và chủng bạch tạng SHBTQ) vào giữa đĩa môi trường PDA (đĩa petri Φ9) và nuôi ở 25°C với các điều kiện chiếu sáng khác nhau (12 ngày tối, 10 ngày tối và 2 ngày chiếu sáng). Sau 12 ngày, tiến hành xác định đường kính sinh trưởng của chủng nấm. Sau đó tiến hành xác định mật độ bào tử nấm bằng cách bổ sung 15 ml nước cất đã khử trùng lên mỗi đĩa để thu dịch bào tử. Quá trình thu bào tử nấm được tiến hành theo quy trình của T.X. Vu và cs (2018) [13]. Nồng độ của dịch bào tử nấm được xác định bằng buồng đếm Thoma.

2.5. Đánh giá sự ổn định tính trạng màu sắc của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng

Đánh giá sự ổn định tính trạng màu sắc qua 5 thế hệ của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng SHBTQ đã phân lập được tiến hành dựa theo nghiên cứu của F. Wang và cs (2018) [11]. Bào tử mỗi chủng nấm (chủng SHQ và SHBTQ) được dùng để cấy chuyển liên tiếp trên môi trường thạch PDA để thu bào tử liên tục 5 thế hệ. Tiến hành nhỏ 5 μ l dịch bào tử (10^5 bào tử/ml) 5 thế hệ của mỗi chủng nấm vào giữa đĩa môi trường PDA và nuôi ở 25°C trong điều kiện có chiếu sáng (8 ngày trong tối - 2 ngày trong sáng). Sau 10 ngày, tiến hành quan sát hình thái màu sắc của mỗi chủng nấm qua 5 thế hệ.

2.6. Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ tới sự sinh trưởng của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng

Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ tới sự sinh trưởng của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng SHBTQ được đánh giá dựa theo nghiên cứu của N.V. Giang và cs (2021) [16] có cải tiến. Nguồn carbon (saccharose - 3%) của môi trường CD (Czapek-Dox agar) được thay thế lần lượt bằng glucose, maltose, lactose, galactose và tinh bột. Tiến hành nhỏ 5 μ l dịch bào tử (10^5 bào tử/ml) của chủng SHBTQ vào giữa đĩa môi trường và nuôi ở 25°C trong điều kiện không chiếu sáng. Tiến hành xác định đường kính sinh trưởng của chủng nấm sau 3, 5 và 7 ngày. Sau khi xác định được nguồn carbon, tiến hành xác định ảnh hưởng của nguồn nitơ tới sự sinh trưởng của chủng SHBTQ. Nguồn nitơ (NaNO_3 - 0,3%) của môi trường CD được thay thế lần lượt bằng cao nấm men, pepton, NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

2.7. Đánh giá khả năng hình thành quả thể và hàm lượng cordycepin trong quả thể của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng

Để đánh giá khả năng hình thành quả thể, chủng nấm *C. militaris* bạch tạng SHBTQ được nuôi trồng dựa theo quy trình của V.X. Tao và cs (2022) [17]. Sau 60 ngày nuôi trồng, tiến hành xác định các chỉ tiêu: khối lượng quả thể tươi/hộp nuôi (650 ml) và năng suất sinh học (Biological Efficiency - BE). Chỉ tiêu BE được xác định dựa theo nghiên cứu B. Shrestha và cs (2012) [18]: $\text{BE} (\%) = (\text{Khối lượng quả thể khô} / \text{Khối lượng cơ chất}) \times 100$. Khối lượng quả thể khô là khối lượng quả thể của 1 hộp nuôi sau khi sấy đông khô (độ ẩm đạt 5-7%); khối lượng cơ chất là khối lượng khô của nguyên liệu sử dụng cho 1 hộp nuôi.

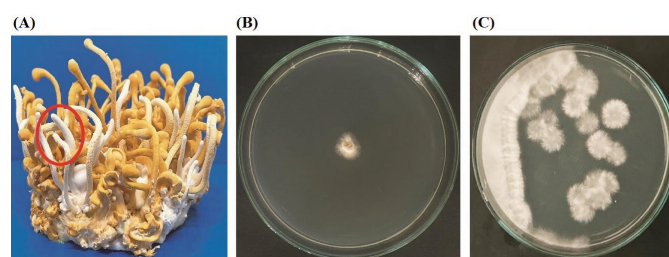
Mẫu quả thể tươi sau khi nuôi cấy 60 ngày được thu và sấy khô bằng máy sấy thăng hoa ở nhiệt độ -40°C tới khi độ ẩm đạt 5-7%. Hàm lượng cordycepin được xác định theo nghiên cứu của V.X. Tao và cs (2022) [17] trên hệ thống thống HPLC (Hãng

Shimadzu, Nhật Bản). Đồng thời, chủng nấm *C. militaris* SHQ được tiến hành nuôi trồng và phân tích cordycepin trong quả thể để so sánh với chủng bạch tạng SHBTQ.

3. Kết quả và bàn luận

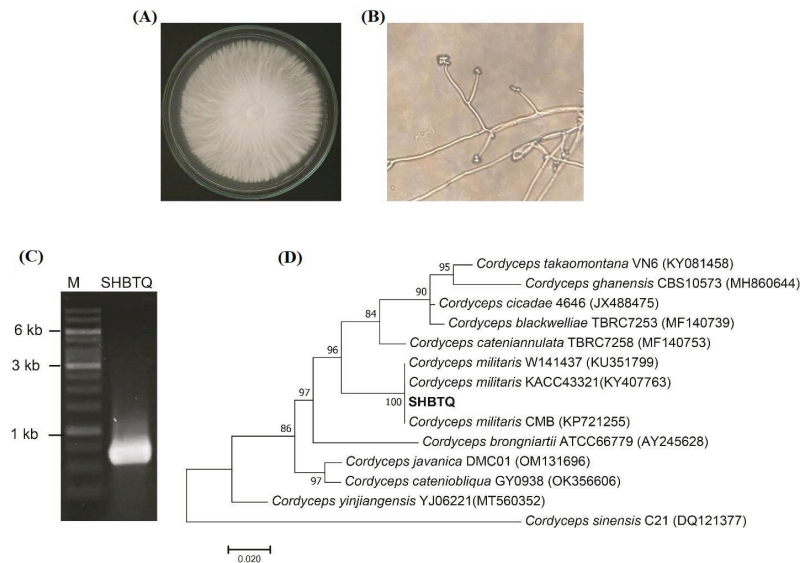
3.1. Phân lập và định danh chủng nấm *C. militaris* bạch tạng

Trong nghiên cứu này, chủng nấm bạch tạng được phân lập từ mẫu quả thể màu trắng thu được trong quá trình nuôi trồng quả thể chủng *C. militaris* SHQ (hình 1A). Sau 5 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA có bổ sung kháng sinh chloramphenicol ở 25°C, mẫu quả thể sinh trưởng tạo hệ sợi có màu trắng (hình 1B). Hệ sợi nấm tiếp tục được cấy chuyển sang đĩa môi trường PDA mới để thuần khiết (hình 1C).

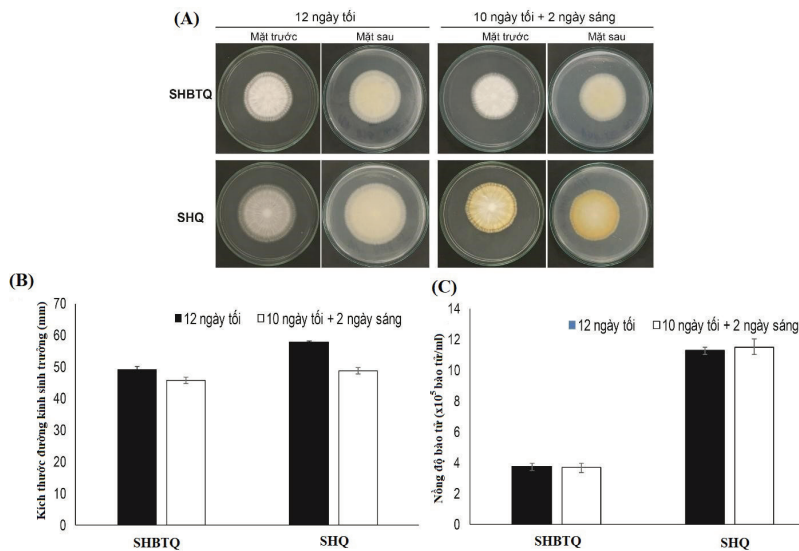


Hình 1. Phân lập chủng nấm bạch tạng từ mẫu quả thể *C. militaris* đang được nuôi trồng tại Việt Nam. (A) Mẫu quả thể nấm thu thập; (B) Phân lập chủng nấm từ mẫu quả thể màu trắng; (C) Khuẩn lạc chủng nấm trên môi trường PDA. Phân khoanh đỏ là phần quả thể màu trắng được tách ra dùng để phân lập chủng nấm bạch tạng.

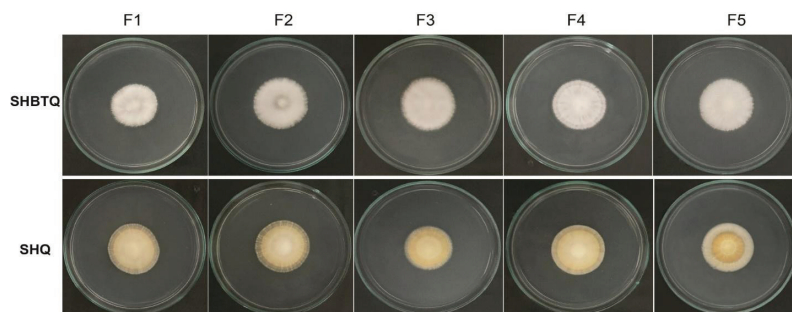
Để có thể sử dụng chủng nấm bạch tạng SHBTQ trong các nghiên cứu tiếp theo, chủng SHBTQ được định danh tới loài dựa trên đặc điểm hình thái và trình tự vùng ITS. Chủng SHBTQ phát triển hệ sợi màu trắng trên môi trường PDA (hình 2A). Tiêu bản hệ sợi được quan sát dưới kính hiển vi cho thấy, hệ sợi nấm phát triển kéo dài hình thành cuống sinh bào tử, bào tử có dạng hình trứng (hình 2B). Dựa trên hình thái mẫu quả thể thu thập, các đặc điểm về hệ sợi và cấu trúc sinh bào tử cho thấy đây là những đặc điểm hình thái điển hình của loài nấm *C. militaris* [19, 20]. Đồng thời, chủng nấm bạch tạng SHBTQ được tiến hành tách chiết DNA tổng số dùng cho PCR khuếch đại vùng ITS sử dụng cặp môi ITS1/ITS4. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di, kết quả cho thấy xuất hiện một băng DNA có kích thước khoảng 550 bp (hình 2C). Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được giải trình tự bởi Công ty 1st BASE (Singapore). Trình tự ITS của chủng SHBTQ thu được tương đồng 100% với các trình tự ITS của nấm *C. militaris* trên cơ sở dữ liệu GenBank. Trình tự ITS được sử dụng cho xây dựng cây phát sinh chủng loại với phần mềm MEGA7 xác nhận chủng SHBTQ thuộc loài *C. militaris* (hình 2D). Như vậy, đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam ghi nhận chủng nấm *C. militaris* bạch tạng xuất hiện trong quá trình nuôi trồng nấm *C. militaris*.



Hình 2. Định danh chủng nấm SHBTQ dựa trên đặc điểm hình thái và trình tự vùng ITS của rDNA. (A) Hệ sợi chủng nấm SHBTQ trên môi trường PDA; (B) Cấu trúc hệ sợi và cường độ sinh bào tử; (C) Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR vùng ITS của chủng nấm SHBTQ; (D) Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng phần mềm MEGA7 dựa trên trình tự vùng ITS của rDNA với hệ số bootstrap 1000; M: DNA marker 1 kb.



Hình 3. Khả năng sinh trưởng và hình thành bào tử của chủng nấm SHBTQ và SHQ sau 12 ngày nuôi cấy ở các điều kiện ánh sáng. (A) Hệ sợi các chủng nấm trên môi trường PDA; (B) Kích thước đường kính sinh trưởng; (C) Khả năng hình thành bào tử.



Hình 4. Đặc điểm màu sắc hệ sợi của 2 chủng nấm SHBTQ và SHQ qua 5 thể hệ. F1-F5: thể hệ thứ 1 đến thể hệ thứ 5.

3.2. Khả năng sinh trưởng và hình thành bào tử của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ

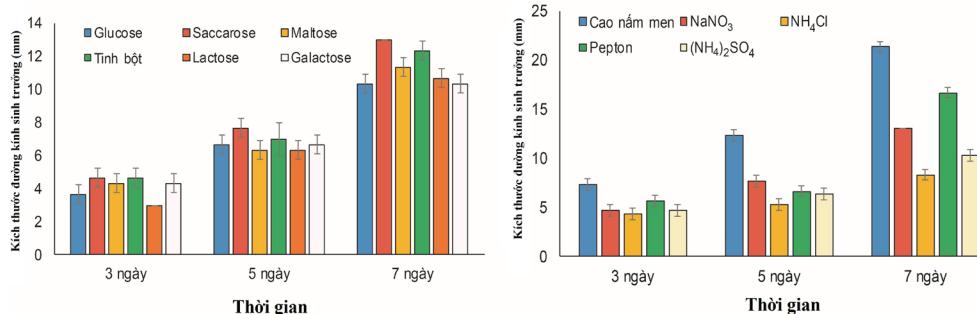
Khả năng sinh trưởng và hình thành bào tử của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ được đánh giá và so sánh với chủng nấm ban đầu *C. militaris* SHQ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong điều kiện nuôi tối (12 ngày) hệ sợi của cả 2 chủng SHBTQ và SHQ đều có màu trắng và sinh trưởng mạnh hơn so với điều kiện có chiếu sáng. Ở điều kiện có chiếu sáng (10 ngày trong tối - 2 ngày trong sáng), hệ sợi của chủng *C. militaris* SHBTQ vẫn giữ màu trắng trong khi đó hệ sợi của chủng SHQ chuyển sang màu vàng (hình 3A). Chủng nấm *C. militaris* bạch tạng đã được chứng minh có khả năng sinh tổng hợp carotenoid rất thấp so với chủng bình thường [11], đây có thể là nguyên nhân chính dẫn tới sự khác biệt về màu sắc hệ sợi giữa 2 chủng SHBTQ và SHQ. Ở cả 2 điều kiện ánh sáng, chủng SHBTQ sinh trưởng và hình thành bào tử kém hơn chủng SHQ (hình 3). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của F. Wang và cs (2018) [11] khi tiến hành so sánh khả năng sinh trưởng và hình thành bào tử của chủng đột biến bạch tạng *C. militaris* 505 và chủng bình thường *C. militaris* 498.

3.3. Đặc điểm ổn định tính trạng màu sắc hệ sợi của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ

Sự ổn định các tính trạng (năng suất, chất lượng) là yếu tố quan trọng cần có đối với một chủng nấm dùng trong sản xuất. Trong nghiên cứu này, sự ổn định tính trạng của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ được xác định thông qua đặc điểm màu sắc hệ sợi. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hệ sợi chủng nấm SHQ ở cả 5 thế hệ đều chuyển sang màu vàng. Trong khi đó, hệ sợi chủng SHBTQ vẫn giữ được màu trắng ở cả 5 thế hệ. Hệ sợi *C. militaris* giữ được màu trắng ở điều kiện có chiếu sáng là đặc điểm đặc trưng của chủng nấm bạch tạng [11]. Như vậy, chủng nấm *C. militaris* SHBTQ bước đầu cho thấy sự ổn định về màu sắc hệ sợi (hình 4). Đặc tính ổn định màu sắc hệ sợi cũng đã được ghi nhận với chủng nấm bạch tạng *C. militaris* 505 [11]. Với đặc tính ổn định tính trạng màu sắc, các chủng nấm bạch tạng rất tiềm năng để đưa vào sản xuất.

3.4. Ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ tới khả năng sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ

Nguồn carbon và nitơ đã được chứng minh là yếu tố quan trọng đối với sự sinh trưởng hệ sợi và sinh tổng hợp cordycepin ở nấm *C. militaris* [21]. Để đánh giá ảnh hưởng của nguồn carbon và nitơ tới khả năng sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng, chủng *C. militaris* SHBTQ được nuôi trên các nguồn carbon, nitơ khác nhau và xác định khả năng sinh trưởng dựa trên đường kính sinh trưởng của chủng nấm. Kết quả nghiên cứu



Hình 5. Khả năng sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ trên các nguồn carbon và nitơ khác nhau. (A) Các nguồn carbon; (B) Các nguồn nitơ.

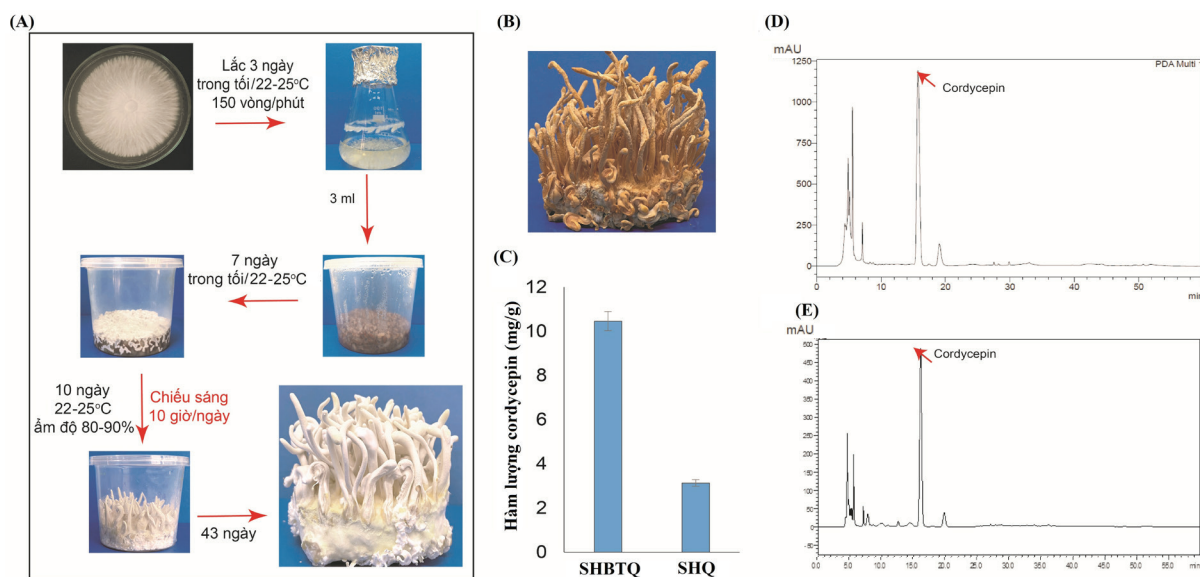
cho thấy, trên môi trường có nguồn carbon là saccarose và nguồn nitơ là cao nấm men, chủng SHBTQ sinh trưởng mạnh nhất (hình 5). Như vậy, saccarose và cao nấm men được xác định là nguồn carbon và nitơ thích hợp cho sự sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ.

3.5. Khả năng hình thành quả thể và hàm lượng cordycepin trong quả thể chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ

Chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ được đánh giá khả năng hình thành quả thể, năng suất và hàm lượng cordycepin sau 60 ngày nuôi trồng. Quy trình và thành phần môi trường nuôi trồng được thực hiện theo nghiên cứu của V.X. Tao và cs (2022) [17]. Với kết quả xác định nguồn carbon và nitơ thích hợp cho sự sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng, nghiên cứu này đã cải tiến thành phần dịch dinh dưỡng dùng trong nuôi trồng. Thành phần 1 l dịch dinh dưỡng đã cải tiến gồm: dịch chiết 200 g khoai tây, 30 g succrose, 1 g MgSO₄, 1 g KH₂PO₄, 1 g pepton, 3 g cao nấm men, 100 g nhộng tằm. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chủng SHBTQ có khả năng hình thành quả thể bình thường có màu trắng với

năng hình thành và năng suất quả thể của chủng nấm *C. militaris* bạch tạng.

Hàm lượng hoạt chất cordycepin là chỉ tiêu chính để đánh giá chất lượng quả thể nấm được liệu *C. militaris*. Trong nghiên cứu này, quả thể của 2 chủng nấm *C. militaris* SHBTQ và SHQ được tiến hành xác định hàm lượng cordycepin trên hệ thống HPLC. Kết quả cho thấy, hàm lượng cordycepin trong quả thể của chủng SHBTQ đạt trung bình 10,45 mg/g, cao hơn 3,34 lần so với chủng SHQ ban đầu (3,13 mg/g) (hình 6B, 6C và 6D). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của F. Wang cùng cs (2018) [11] khi xác định hàm lượng cordycepin từ chủng nấm bạch tạng *C. militaris* 505 cao hơn so với chủng 498. Tuy nhiên, hàm lượng cordycepin trong quả thể chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ cao hơn 1,56 lần so với chủng nấm bạch tạng *C. militaris* 505 (6,7 mg/g). Tại Việt Nam, một số giả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng cordycepin trong quả thể nấm *C. militaris* nuôi trồng đạt 4,33-4,54 mg/g quả thể khô [22, 23]. Như vậy, chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ là chủng nấm có chất lượng cao, tiềm năng cho nuôi trồng ở quy mô công nghiệp.



Hình 6. Khả năng hình thành quả thể và hàm lượng cordycepin trong quả thể chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ so với chủng SHQ. (A) Quá trình nuôi trồng quả thể và khả năng hình thành quả thể của chủng SHBTQ; (B) Quả thể chủng SHQ; (C) Hàm lượng cordycepin trong quả thể chủng SHBTQ và SHQ; (D) Sắc ký đồ phân tích cordycepin của mẫu quả thể chủng SHBTQ và (E) chủng SHQ.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã phân lập và định danh được chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ từ nguồn nấm đang được nuôi trồng tại Việt Nam, chủng nấm có hệ sợi màu trắng và duy trì ổn định qua 5 thế hệ liên tiếp. Nguồn carbon và nitơ thích hợp cho sự sinh trưởng của chủng nấm bạch tạng SHBTQ tương ứng là saccarose và cao nấm men. Đặc biệt, chủng nấm bạch tạng *C. militaris* SHBTQ có khả năng hình thành quả thể với năng suất quả thể tươi bình đạt 30 g/hộp, năng suất sinh học đạt 12,2% và hàm lượng cordycepin đạt 10,45 mg/g quả thể khô.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ của Bộ Khoa học và Công nghệ: "Nghiên cứu công nghệ nuôi trồng nấm dược liệu *Cordyceps militaris* bạch tạng (albino) thu thập tại Việt Nam nhằm tạo nguyên liệu sản xuất thực phẩm bảo vệ sức khỏe". Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Martel, Y.F. Ko, J.C. Liao, et al. (2017), "Myths and realities surrounding the mysterious caterpillar fungus", *Trends in Biotechnology*, **35**(11), pp.1017-1021, DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.06.011.
- [2] X. Qiu, C. Li, H. RiChou (2016), "The progress, issues and perspectives in the research of *Ophiocordyceps sinensis*", *Journal of Environmental Entomology*, **38**(1), pp.1-23.
- [3] L. Wang, B. Hu, L. Qu, et al. (2008), "Genetic variation of *Cordyceps militaris* and its allies based on phylogenetic analysis of rDNA ITS sequence data", *Fungal Divers*, **31**, pp.147-155.
- [4] L. Huang, Q.Z. Li, Y. Chen, et al. (2009), "Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of *Cordyceps* spp.", *African Journal of Microbiology Research*, **3**(12), pp.957-961, DOI: 10.1021/acsomega.0c03403.
- [5] Y. Xia, F. Luo, Y. Shang, et al. (2017), "Fungal cordycepin biosynthesis is coupled with the production of the safeguard molecule pentostatin", *Cell Chemical Biology*, **24**(12), pp.1479-1489, DOI: 10.1016/j.chembiol.2017.09.001.
- [6] M. Masuda, E. Urabe, A. Sakurai, et al. (2006), "Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*", *Enzyme and Microbial Technology*, **39**(4), pp.641-646, DOI: 10.1016/j.enzymitec.2005.11.010.
- [7] A.K. Verma, R. Aggarwal (2021), "Repurposing potential of FDA approved and investigational drugs for COVID-19 targeting SARS-CoV-2 spike and main protease and validation by machine learning algorithm", *Chemical Biology & Drug Design*, **97**(4), pp.836-853, DOI: 10.1111/cbdd.13812.
- [8] S. Shin, S. Lee, J. Kwon, et al. (2009), "Cordycepin suppresses expression of diabetes regulating genes by inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammation in macrophages", *Immune Network*, **9**(3), pp.98-105, DOI: 10.4110/in.2009.9.3.98.
- [9] J.Z. Dong, S.H. Wang, X.R. Ai, et al. (2013), "Composition and characterization of cordyxanthins from *Cordyceps militaris* fruit bodies", *Journal of Functional Foods*, **5**(3), pp.1450-1455, DOI: 10.1016/j.jff.2013.06.002.
- [10] Z. XiWen, Z. Bo, Z. Guocai, et al. (2017), "Analysis of active components and antioxidant activity of albino *Cordyceps militaris*", *Journal of Jilin Agricultural University*, **39**(5), pp.585-595, DOI: 10.1590/fst.127022.
- [11] F. Wang, Q. Liu, J. Zhang, et al. (2018), "Comparative transcriptome analysis between a spontaneous albino mutant and its sibling strain of *Cordyceps militaris* in response to light stress", *Frontiers in Microbiology*, **9**, DOI: 10.3389/fmicb.2018.01237.

- [12] T.V. Tuan, V.X. Tao (2020), "Establishment of an *Agrobacterium tumefaciens*-mediated gene transfer approach for the medicinal fungus *Cordyceps militaris* G12", *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **62**(5), pp.60-64 (in Vietnamese).
- [13] T.X. Vu, T.T. Ngo, L.T.D. Mai, et al. (2018), "A highly efficient *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation system for the postharvest pathogen *Penicillium digitatum* using *DsRed* and *GFP* to visualize citrus host colonization", *Journal of Microbiological Methods*, **144**, pp.134-144, DOI: 10.1016/j.mimet.2017.11.019.
- [14] V.T. Tran, T.B.X.L. Do, T.K. Nguyen, et al. (2017), "A simple, efficient and universal method for the extraction of genomic DNA from bacteria, yeasts, molds and microalgae suitable for PCR-based applications", *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, **59**(4), pp.66-74, DOI: 10.31276/VJSTE.59(4).66.
- [15] T.J. White, T.D. Bruns, S.B. Lee, et al. (1990), "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics", *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, **18**(1), pp.315-322, DOI: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.
- [16] N.V. Giang, N.T.B. Thuy, V.T.K. Linh, et al. (2021), "The effect of culture conditions for the mycelium growth of *Phyllinus linteus*", *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **63**(2), pp.39-43, DOI: 10.31276/VJST.63(2).39-43 (in Vietnamese).
- [17] V.X. Tao, T.B. Tram, T.T. Chien, et al. (2022), "Identification of mating-type (*MAT*) gene, productivity and cordycepin content in medicinal *Cordyceps militaris* strains cultivated in Vietnam", *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **64**(7), pp.60-64, DOI: 10.31276/VJST.64(7).60-64 (in Vietnamese).
- [18] B. Shrestha, S.K. Han, J.M. Sung, et al. (2012), "Fruiting body formation of *Cordyceps militaris* from multi-ascospore isolates and their single ascospore progeny strains", *Mycobiology*, **40**(2), pp.100-106, DOI: 10.5941/MYCO.2012.40.2.100.
- [19] P. Zheng, Y. Xia, G. Xiao, et al. (2012), "Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine", *Genome Biology*, **12**(11), DOI: 10.1186/gb-2011-12-11-r116.
- [20] J.J. Luangsa-ard, K.Tasanathai, S. Mongkolsamrit, et al. (2008), *Atlas of Invertebrate-Pathogenic Fungi of Thailand: Volume 2*, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Thailand, 88pp.
- [21] X.B. Mao, T. Eksriwong, S. Chauvatcharin, et al. (2005), "Optimization of carbon source and carbon/nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*", *Process Biochemistry*, **40**(5), pp.1667-1672, DOI: 10.1016/j.procbio.2004.06.046.
- [22] D.T. Bach, V.H. Nam, M.T. Trang, et al. (2017), "Evaluating the influence of growing conditions on the ability to produce fruiting bodies of *Cordyceps militaris* mushroom", *TNU Journal of Science and Technology*, **161**(1), pp.113-118 (in Vietnamese).
- [23] P.T. Lan, D.H. Lan, N.T.H. Hanh, et al. (2016), "Study the effect of temperature and light on growth, fruiting body and cordycepin production by *Cordyceps militaris* NBRC 100741 on silkworm", *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, **32**(2), pp.63-72 (in Vietnamese).

Định danh sả hương Tây Giang *Cymbopogon winterianus* Jowitt dựa trên phân tích phân tử và thành phần tinh dầu sả

Mã Thị Bích Thảo^{1*}, Nguyễn Phương¹, Trần Hà¹, Nguyễn Thị Thùy Trang¹, Nguyễn Thị Hồng¹, Hoàng Văn Tuấn²

¹Trung tâm Ươm tạo Công nghệ và Doanh nghiệp Khoa học Công nghệ, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Phenikaa, phường Yên Nghĩa, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/12/2022; ngày chuyển phản biện 5/12/2022; ngày nhận phản biện 23/12/2022; ngày chấp nhận đăng 2/1/2023

Tóm tắt:

Phân loại các loài chi sả chủ yếu được xác định bằng các dấu hiệu hình thái, mùi của tinh dầu và nồng độ các hợp chất hoạt tính sinh học có trong tinh dầu. Tuy nhiên, phương pháp trên chịu ảnh hưởng lớn của môi trường. Phân loại dựa trên chỉ thị phân tử sử dụng mã vạch DNA cho độ chính xác cao, định danh đến cấp độ loài. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã tiến hành khuếch đại và so sánh các đoạn gen lục lạp (*rbcL* và *matK*) và vùng gen nhân *ITS* của 3 dòng sả hương Tây Giang. Kết quả cho thấy, trình tự các đoạn gen nghiên cứu giống nhau giữa 3 dòng sả hương Tây Giang, chứng tỏ 3 dòng sả này có chung nguồn gốc. Khi so sánh với các loài sả khác trên thế giới, gen *rbcL* thể hiện 1 vị trí sai khác, gen *matK* thể hiện 10 vị trí sai khác, trong khi đó có 40 vị trí đa hình được tìm thấy trên trình tự *ITS*. Tuy nhiên, kết quả phân tích các mã vạch DNA này chưa đủ để định danh chính xác sả hương Tây Giang. Kết hợp phân tích trình tự *ITS* và thành phần chính của tinh dầu bao gồm citronellal, citronellol và geraniol, sả hương Tây Giang được định danh chính xác thuộc loài *Cymbopogon winterianus* Jowitt.

Từ khóa: *Cymbopogon winterianus* Jowitt, định danh phân tử, *ITS*, *matK*, *rbcL*, sả hương Tây Giang, thành phần tinh dầu.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Chi sả *Cymbopogon* Spreng. (*Poaceae*) gồm khoảng 140 loài sống ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới ở châu Á, châu Phi và châu Mỹ [1]. Theo y học cổ truyền, sả được sử dụng để xua đuổi muỗi và sản xuất các chất đuổi muỗi tự nhiên được sử dụng nhiều nhất trên thế giới [2]. Một số loài sả *Cymbopogon* có mùi thơm mạnh và tinh dầu chiết xuất từ thân và lá của chúng được sử dụng trong công nghiệp. Các loài sả có tiềm năng thương mại để chiết xuất tinh dầu là *C. flexuosus*, *C. nardus*, *C. citratus*, *C. dictulus*, *C. khasianus*, *C. winterianus* và *C. martini* [3].

Ở Việt Nam hiện có một số loài trong chi sả mọc tự nhiên như sả trung bộ (*C. annamensis*), sả hôi, sả lam, cỏ thối (*C. caesius*), sả cambốt (*C. cambodgiensis*), hay nhập trồng như sả chanh (*C. citratus*), sả đỏ hay còn gọi sả xòe, sả Java (*C. winterianus*) dùng làm gia vị và cất lấy tinh dầu sử dụng trong công nghiệp, vì vậy các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào 2 loài sả chanh và Java. Phân loại các loài chi sả chủ yếu được xác định bằng các dấu hiệu hình thái và hàm lượng các thành phần chính có trong tinh dầu sả là citronellal, citronellol và geraniol [3-5]. Hình thái bao gồm chiều cao cây, số nhánh trên một khóm, số lá trên một nhánh, hình dạng lá và gân lá, màu sắc của thân cây sả. Thành phần chính tinh dầu cũng là một chỉ thị phân biệt các nhóm sả [3-5]. Ví dụ, citral (bao gồm geraniol và neral, chiếm tỷ lệ 80-85%) là thành phần chính của sả chanh, sả dứa (*C. flexuosus*) và sả tía (*C. pendulus*); citronellal (11-36%), citronellol (10-30%) và geraniol (18-30%) là thành phần chính của sả Java và *C. georgii*; geraniol (80-85%)

là thành phần chính của sả hoa hồng (*C. martini*). Tuy nhiên, các yếu tố này chịu ảnh hưởng lớn của môi trường. Phân loại dựa trên chỉ thị phân tử sử dụng mã vạch DNA khắc phục được hạn chế của những phương pháp trên và cho độ chính xác cao, định danh đến cấp độ loài [4, 6].

A.K. Bishoyi và cs (2017) [6] đã sử dụng 4 vùng mã vạch DNA, bao gồm vùng nội phiên mã *ITS1* và *ITS2*, gen mã hóa cho *matK*, *psbA-trnH* và gen mã hóa cho *rbcL* để phân loại 6 loài sả có giá trị thương mại cao. Kết quả cho thấy, sự tương đồng 100% các vùng gen *psbA-trnH* và *rbcL* giữa 6 loài, bao gồm *C. martini*, *C. nardus*, *C. citratus*, *C. pendulus*, *C. flexuosus* và *C. winterianus*. Trong khi đó, vùng gen *matK* và *ITS* cho thấy sự sai khác giữa 6 loài sả lần lượt là 0,46 và 5,64%. Trong nghiên cứu của D.K. Muyembe và cs (2018) [7], *ITS2* đã được chọn để phân biệt loài sả *C. distans* với những mẫu sả thu từ 5 tỉnh ở Trung Quốc. Kết quả thu được đoạn trình tự *ITS2* với kích thước khoảng hơn 200 bp của mẫu sả thuộc loài *C. distans*, *C. flexuosus*, *C. citratus*, *C. georgii*, *C. martini* và *Imperata cylindrical*, trong đó có 20 vị trí chứa đa hình để phân biệt 5 loài sả.

Cây sả hương Tây Giang (tên gọi địa phương) mới được phát hiện trong những năm gần đây tại huyện Tây Giang, tỉnh Quảng Nam và là nguồn nguyên liệu tiềm năng cho sản xuất tinh dầu. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào phân loại các dòng sả hương Tây Giang bằng phương pháp phân tử. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu định danh cây sả hương Tây Giang bằng chỉ thị phân tử và thành phần tinh dầu.

*Tác giả liên hệ: Email: bichthaoacnsh@gmail.com

Identification of Tay Giang citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) based on molecular markers and essential oil compositions

Thi Bích Thao Ma^{1*}, Phuong Nguyen¹, Ha Tran¹,
Thi Thuy Trang Nguyen¹, Thi Hong Nguyen¹, Van Tuan Hoang²

¹Science and Technology Business and Technology Incubation Center,
National Center for Technological Progress,

C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²Phenikaa University, Yen Nghia Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

Received 2 December 2022; revised 23 December 2022; accepted 2 January 2023

Abstract:

Classification of the genus *Cymbopogon* is mainly determined by the morphological characteristics, the smell of the essential oil and the concentration of bioactive compounds present in the essential oil. However, this method is affected by the environment. Identification based on DNA barcoding results the high accuracy at the species level. In this study, the authors amplified and compared the two chloroplast DNA regions (*rbcL* and *matK*) and the nucleus region (*ITS*) of 3 lines of Tay Giang citronella. The obtained sequences of each gene were similar between the three lines of Tay Giang citronella, indicating the 3 lines of Tay Giang citronella had the same origin. Compared with other *Cymbopogon* species, *rbcL* showed 1 polymorphism, *matK* showed 10 polymorphisms, and 40 polymorphisms were found in the *ITS* sequence. However, these DNA barcodes were not enough to accurately identify Tay Giang citronella. In combination with *ITS* sequence analysis and essential oil components including citronellal, citronellol and geraniol, Tay Giang citronella was identified and authenticated into the species *Cymbopogon winterianus* Jowitt.

Keywords: *Cymbopogon winterianus* Jowitt, essential oil components, *ITS*, *matK*, molecular taxonomy, *rbcL*, Tay Giang citronella.

Classification number: 1.6

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Ba mẫu sả hương Tây Giang thu thập tại 3 vùng địa lý khác nhau ở huyện Tây Giang, tỉnh Quảng Nam, bao gồm 1 mẫu ở xã Axan (cao >1000 m so với mực nước biển), 1 mẫu ở xã Tr'hy (cao khoảng 800 m so với mực nước biển) và 1 mẫu ở xã Lăng (cao khoảng 600 m so với mực nước biển). Ngoài ra, các mẫu sả khác được lựa chọn làm đối chứng bao gồm 1 mẫu sả dụ Thái Nguyên và 2 mẫu sả chanh thu hoạch ở Hà Nội và Hưng Yên. Các cây được thu thập đều là những cây khỏe mạnh (quan sát bằng mắt thường)

không sâu bệnh, được trồng tại địa điểm lấy mẫu ít nhất 1 năm và chiều cao cây trên 1 m. Thời gian thu hoạch từ tháng 8 đến tháng 9 năm 2021.

2.2. Phương pháp phân tích hình thái

Các mẫu cây sả hương Tây Giang có hoa được chụp ảnh phân tích hình thái, xử lý và bảo quản theo phương pháp điều tra của N.T. Thín (2007) [8] và M.S. Taylor (1990) [9]. Điều tra theo tuyến, lựa chọn các tuyến vùng có phân bố của loài, đi theo các tuyến lối mòn có sẵn để thu thập các mẫu cây sả hương Tây giang. Xử lý mẫu tại thực địa: Mẫu vật được cắt bằng kéo chuyên dụng, thu thập mẫu tiêu bản bao gồm cơ quan sinh dưỡng, cơ quan sinh sản. Mẫu được ép trong tờ báo có số hiệu, bao gồm tên người thu, ngày thu thập, địa điểm thu thập, tọa độ và ảnh chụp dạng sống, nơi sống của mẫu vật. Mẫu sinh học phân tử: Lá của từng mẫu vật được thu thập, số hiệu trùng với mẫu vật, bảo quản trong Silcagen làm khô.

2.3. Phương pháp tách chiết DNA từ cây sả

DNA tổng số từ mẫu sả hương Tây Giang được tách chiết theo phương pháp của M.G. Murray và cs (1980) [10] với một số cải tiến trong thành phần dung dịch đệm chiết (100 mM Tris-HCl pH 8, 50 mM ethylene diamine tetra acetic acid, 1,4 M NaCl, 2,5% CTAB, 1,5% PVP và 0,11% β -mercaptoethanol).

DNA tổng số thu được được điện di trên gel điện di agarose 1% chạy ở hiệu điện thế 60-80 V trong 45 phút bằng phương pháp nhuộm hiện hình với ethidium bromide.

2.4. Phương pháp khuếch đại PCR và giải trình tự

Để định danh các dòng sả hương Tây Giang, các đoạn gen *rbcL*, *matK* và vùng *ITS* được lựa chọn để nghiên cứu. Các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 1. Phản ứng PCR có tổng thể tích 20 μ l với thành phần như sau: 10 μ l DreamTaq PCR Master Mix 2X của Thermo Scientific (thành phần bao gồm DreamTaq DNA polymerase, 2X DreamTaq buffer, 0,4 mM dNTPs và 4 mM $MgCl_2$), 10 pmol mồi xuôi, 10 pmol mồi ngược, 100 ng DNA và nước khử ion vô trùng. Chu trình nhiệt phản ứng PCR của cặp mồi *rbcL*-F & *rbcL*-R và cặp mồi *matK*-F & *matK*-R như sau: 94°C trong 4 phút, 35 chu kỳ (94°C trong 30 giây, 54°C trong 30 giây, 72°C trong 60 giây), 72°C trong 4 phút. Chu trình nhiệt phản ứng PCR của cặp mồi CFITSF1 & CFITSR1 như sau: 94°C trong 5 phút; 35 chu kỳ (94°C trong 1 phút, 56°C trong 1 phút, 72°C trong 2 phút), 72°C trong 10 phút.

Bảng 1. Các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu.

Tên mồi	Trình tự mồi	Gen	Sản phẩm PCR (bp)	Nhiệt độ bắt cặp (°C)	Nguồn tham khảo
<i>rbcL</i> -F	ATGTCACCAACAGAAAC	<i>rbcL</i>	750	54	[11]
<i>rbcL</i> -R	TCGCATGTACCTGCAGTAGC				
<i>matK</i> -F	CGATCTATTCAATATTTTC	<i>matK</i>	950	54	[12]
<i>matK</i> -R	TCTAGCACAGAAAGTCGAAGT				
CFITSF1	CAAAACAGACCGGAACG	<i>ITS</i>	555	54	[6]
CFITSR1	GGTGCTCGATGGGTCCTTAG				

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% để kiểm tra kích thước đoạn khuếch đại, sau đó được tinh sạch theo bộ kit QIAquick Gel Extraction (của Hãng QIAGEN). Sau khi tinh sạch, sản phẩm PCR được giải trình tự Sanger trên máy Sequencer ABI 3100 Bio System. Cặp mồi được sử dụng để giải trình tự các đoạn DNA chính là cặp mồi khuếch đại đoạn DNA trên.

2.5. Phương pháp so sánh trình tự

Các trình tự DNA từ mỗi xuôi và mỗi ngược được kiểm tra và lắp ráp lại với nhau sử dụng công cụ Seqman trong DNASTar để có một trình tự đồng nhất. Trình tự các đoạn gen thu được của các mẫu cần định danh được so sánh với các trình tự tương ứng của các loài trong chi sả trên GenBank sử dụng công cụ trực tuyến Nucleotide BLAST [13].

Xác định độ tương đồng và điểm sai khác giữa các trình tự. Dữ liệu các trình tự tham khảo được tải về và lưu dưới định dạng FASTA để phục vụ cho việc tính toán khoảng cách di truyền và xây dựng cây phát sinh chủng loại. Khoảng cách di truyền được tính toán sử dụng phần mềm MEGA X [14].

2.6. Phương pháp xây dựng cây phả hệ

Các đoạn trình tự của các mẫu và trình tự tham khảo được thu thập từ GenBank được so sánh với nhau qua phần mềm ClustalX version 2.0. Lựa chọn mô hình thay thế nucleotide phù hợp nhất được tính toán bằng chức năng Model trong phần mềm MEGA X. Mô hình có giá trị Bayesian information criterion nhỏ nhất được lựa chọn để xây dựng cây phát sinh loài. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng trên phương pháp Maximum likelihood trên MEGA X. Cây phả hệ Maximum likelihood cho *rbcl* được xây dựng theo mô hình tính toán Jukes-Cantor [15]. Cây phả hệ Maximum likelihood cho *matK* và *ITS* được xây dựng theo mô hình tính toán Tamura 3-parameter [16] Phân tích Bootstrap với 1.000 lần lặp lại.

2.7. Phương pháp xác định hàm lượng thành phần tinh dầu sả

Hàm lượng và thành phần tinh dầu sả được xác định bằng phương pháp sắc ký khí nối ghép khối phổ (GC/MS) [17]. Sử dụng cột mao quản HP5-MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), khí mang: He. Inlet: 250°C, chương trình nhiệt độ (60-240°C, tăng 4°C/phút), năng lượng ion hóa 70 eV, quét mảnh 35-450 m/z. Điều kiện sắc ký khí nối ghép detector ion hóa ngọn lửa (GC-FID): Cột mao quản HP5-MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), khí mang: He. Inlet: 250°C, chương trình nhiệt độ (60-240°C, tăng 40°C/phút), khí make up N_2 , khí đốt O_2 và H_2 . Thư viện phổ HPCH1607, W09N08, NIST chemistry WebBook. Thành phần và hàm lượng cấu tử (%) trong tinh dầu sả là phần trăm diện tích pic của các cấu tử so với tổng diện tích các chất bay hơi của tinh dầu sả.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân tích hình thái sả hương Tây Giang

Cây sả hương Tây Giang có hoa được tiến hành phân tích nghiên cứu hình thái (hình 1). Các mẫu được quan sát bằng kính lúp độ phóng gấp 50 lần, đồng thời so sánh với mẫu tiêu bản chuẩn (mẫu Type) hiện đang lưu giữ tại Bảo tàng Kew, Vương quốc Anh. Kết quả ở hình 1 cho thấy, hoa của mẫu sả hương Tây Giang có hình thái giống với loài *C. winterianus* Jowitt.

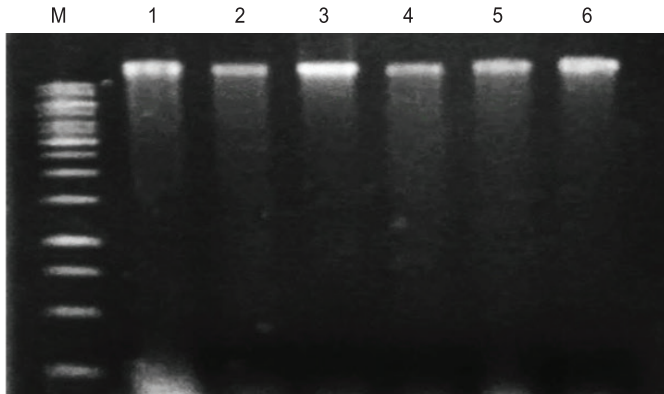


Hình 1. Cây sả hương Tây Giang có hoa. (A, B) Dạng chung; (C) Thân và rễ; (D, E, F, G, H) Một đoạn bẹ lá; (I, J) Mo và bông; (K) Bông; (L) Mây; (M, N) Mây nhỏ, nhị và nhụy; (O) Mây nhỏ.

Các bẹ lá, bẹ có vân, sáng bóng, nhẵn, màu hơi vàng hoặc chuyển sang màu đỏ tía, phần thân bó chặt và ngắn hơn các lông, phần gốc rất ngắn, lông lều, tuột khỏi thân, dài khoảng 1 mm, có lông tơ; phiến thẳng với đầu dạng sợi dài, lên đến 1 m x 1,5 (-5) cm, rủ xuống bằng 2/3 chiều dài của chúng, nhẵn và sáng, màu xanh lục nhạt ở mặt trên, phía dưới có nếp gấp, mép thường có hình răng cưa. Cụm hoa dạng chùy lớn, phân nhánh nhiều lần, dài 60-100 cm, trục ngoằn ngoèo, các nhánh có bậc cao nhất kết thúc bằng một nhánh phụ kéo dài một cặp nhánh, hình mũi mác thẳng, dài 1-2,5 cm, nhiều gân, màu đỏ nhạt; gai dài 1-2 cm, có lông nhung, một phụ không cuống, một còn lại có cuống, gồm 4-7 cặp gai, mỗi cặp không cuống, còn lại có cuống, kết thúc bằng 1 không cuống và 2 gai có cuống. Hình bầu dục thuôn dài có gai nhọn không cuống, dài 4-5 mm, có 2 bông hoa; hình mũi mác thuôn dài ở dưới, hình dạng và kích thước của gai, thường phẳng, có cánh hẹp, có 2 sừng, 0-3 gân; trên hình thuyền, nửa trên có 3 gân; hoa lưỡng tính phía trên, dài 3 mm, hình “quả trám”, 2 thùy, có bầu dài đến 5 mm nếu có, không có bầu, nhị 2-3, vòi nhụy 2 với các đầu nhụy hình lông tơ. Gai nhọn hình bầu dục thuôn dài tới 5 mm, đực hoặc cái bất thụ; hình dạng và kích thước lớp lông dưới của gai, 7-9 gân; mép trên có kích thước bằng nhau, có 3 gân; các bông hoa được biểu thị bằng một vảy đơn dài 3 mm, bao quanh 3 nhị hoa và 2 thùy. Quả hình trụ đến gần tròn.

3.2. Kết quả tách chiết DNA từ cây sả hương Tây Giang

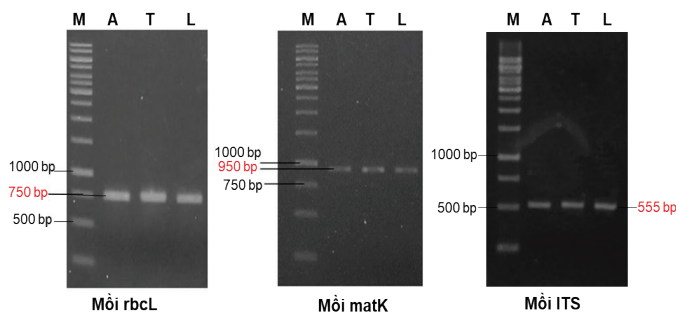
Kết quả điện di kiểm tra DNA tổng số trên gel agarose 1% cho thấy, các mẫu DNA thu được không bị đứt gãy và có độ đồng đều cao (hình 2). Các mẫu DNA thu được có chỉ số A260/A280 dao động trong khoảng 1,8-2,2, đảm bảo chất lượng cho thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Hình ảnh điện di DNA tổng số của mẫu sả hương Tây Giang. Giếng M: DNA marker; giếng 1, 2: mẫu sả hương Tây Giang thu thập tại xã Axan, huyện Tây Giang, Quảng Nam; giếng 3, 4: mẫu sả hương Tây Giang thu thập tại xã Lăng, huyện Tây Giang, Quảng Nam; giếng 5, 6: mẫu sả hương Tây Giang thu thập tại xã Tr'hy, huyện Tây Giang, Quảng Nam.

3.3. Kết quả khuếch đại và giải trình tự các mã vạch DNA của các dòng sả hương Tây Giang

Chúng tôi đã khuếch đại thành công trình tự 2 gen lục lạp là *rbcL*, *matK* và trình tự vùng *ITS* ở gen nhân của 3 dòng sả hương Tây Giang, bao gồm dòng ở xã Axan, Tr'hy và Lăng. Kết quả cho thấy, sản phẩm khuếch đại vùng gen *rbcL* có kích thước 750 bp, *matK* có kích thước 950 bp và đoạn *ITS* có kích thước 555 bp (hình 3). Kích thước các sản phẩm PCR phù hợp với kích thước sản phẩm theo lý thuyết.



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR của 3 mã vạch DNA của 3 dòng sả hương Tây Giang. (A) Xã Axan; (T) Xã Tr'hy; (L) Xã Lăng. M: DNA marker.

Sau khi ghép nối trình tự xuôi ngược, loại bỏ trình tự mỗi và trình tự kém chất lượng, trình tự vùng gen *rbcL*, *matK* và *ITS* của các dòng sả hương Tây Giang giống hệt nhau và có kích thước tương ứng là 722, 888 và 499 bp. Các trình tự trên được gửi lên GenBank với các số hiệu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả giải trình tự và so sánh các vùng gen *rbcL*, *matK* và *ITS* của các mẫu sả trong nghiên cứu với các loài trên GenBank thế giới.

TT	Gen	Mẫu	Số hiệu GenBank	Kích thước (bp)	Loài gần nhất	Độ tương đồng
1	<i>rbcL</i>	SHTG Axan	OQ116709	722		100%
2		SHTG Tr'hy	OQ116710	722		100%
3		SHTG Lăng	OQ116711	722	<i>C. goeringii</i> , <i>C. citratus</i> , <i>C. distans</i> , <i>C. giganteus</i> , <i>C. martini</i> , <i>C. jwarancusa</i> , <i>C. commutatus</i> và <i>C. flexuosus</i>	100%
4		Sả diu Thái Nguyên	OQ116712	722		100%
5		Sả chanh Hà Nội	OQ116713	722		100%
6		Sả chanh Hưng Yên	OQ116714	722		100%
7	<i>matK</i>	SHTG Axan	OQ116703	888		100%
8		SHTG Tr'hy	OQ116704	888	<i>C. citratus</i> , <i>C. winterianus</i> , <i>C. pendulus</i> , <i>C. nardus</i> , <i>C. flexuosus</i> và <i>C. commutatus</i>	100%
9		SHTG Lăng	OQ116705	888		100%
10		Sả diu Thái Nguyên	OQ116706	888		100%
11		Sả chanh Hà Nội	OQ116707	888	<i>C. citratus</i> , <i>C. flexuosus</i> , <i>C. distans</i> , <i>C. schoenanthus</i> và <i>C. oblectus</i>	100%
12		Sả chanh Hưng Yên	OQ116708	888		100%
13	<i>ITS</i>	SHTG Axan	OQ096490	499	<i>C. winterianus</i> và <i>C. flexuosus</i>	100%
14		SHTG Tr'hy	OQ096491	499	<i>C. winterianus</i> và <i>C. flexuosus</i>	100%
15		SHTG Lăng	OQ096492	499	<i>C. winterianus</i> và <i>C. flexuosus</i>	100%
16		Sả diu Thái Nguyên	OQ096493	498	<i>C. flexuosus</i>	100%
17		Sả chanh Hà Nội	OQ096494	494	<i>C. citratus</i>	100%
18		Sả chanh Hưng Yên	OQ096495	494	<i>C. citratus</i>	100%

SHTG: sả hương Tây Giang.

3.4. Kết quả phân tích trình tự gen *rbcL* và xây dựng cây phả hệ

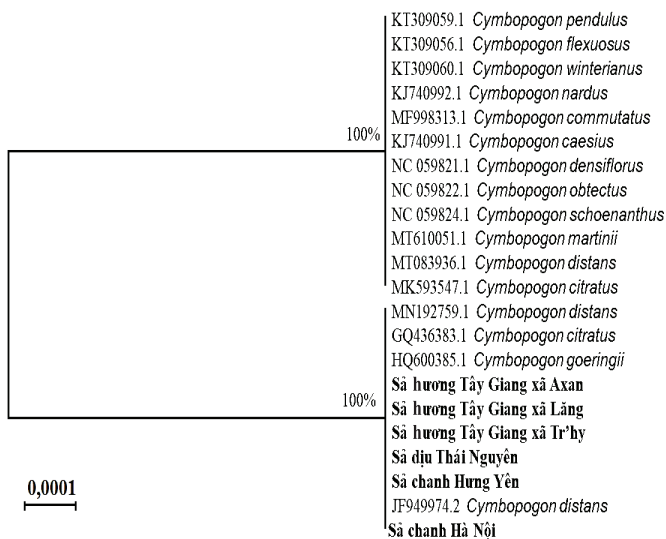
Kết quả so sánh trình tự vùng gen *rbcL* của 3 dòng sả hương Tây Giang với các loài sả trên GenBank cho thấy, các dòng sả hương Tây Giang giống 100% với các loài *C. goeringii*, *C. citratus*, *C. distans*, *C. giganteus*, *C. martini*, *C. jwarancusa*, *C. commutatus* và *C. flexuosus* (bảng 2). Kết quả đối chiếu trình tự

	716
1. Axan	A T G C T A C T G C A
2. Tr'hy	A T G C T A C T G C A
3. Lăng	A T G C T A C T G C A
4. Sả diu Thái Nguyên	A T G C T A C T G C A
5. Sả chanh Hưng Yên	A T G C T A C T G C A
6. Sả chanh Hà Nội	A T G C T A C T G C A
7. HQ600385.1_C.goeringii	A T G C T A C T G C A
8. JF949974.2_C.distans	A T G C T A C T G C A
9. MN192759.1_C.distans	A T G C T A C T G C A
10. MT083936.1_C.distans	A T G C T A C T G C A
11. MK593547.1_C.citratus	A T G C G A C T G C A
12. KT309059.1_C.pendulus	A T G C G A C T G C A
13. KT309056.1_C.flexuosus	A T G C G A C T G C A
14. KT309060.1_C.winterianus	A T G C G A C T G C A
15. NC_059822.1_C.nardus	A T G C G A C T G C A
16. MF998313.1_C.commutatus	A T G C G A C T G C A
17. KJ740991.1_C.caesius	A T G C G A C T G C A
18. NC_059822.1_C.oblectus	A T G C G A C T G C A
19. NC_059821.1_C.densiflorus	A T G C G A C T G C A
20. NC_059824.1_schoenanthus	A T G C G A C T G C A
21. MT610051.1_C.martini	A T G C G A C T G C A

Hình 4. Minh họa sự đa hình ở vị trí 716 trên gen *rbcL* của các dòng sả hương Tây Giang và các loài sả khác trên thế giới.

gen *rbcl* của các dòng sả hương Tây Giang với các loài có trình tự gen *rbcl* lớn hơn 700 nucleotide trên GenBank cho thấy sự đa hình ở vị trí nucleotide thứ 716 của 3 dòng sả hương Tây Giang so với các loài trên GenBank. Ở vị trí này của 3 dòng sả hương Tây Giang cũng như 3 mẫu đối chứng (1 mẫu sả dụ Thái Nguyên và 2 mẫu sả chanh ở Hà Nội và Hưng Yên) là nucleotide T (hình 4). Nucleotide T cũng xuất hiện ở các loài *C. goeringii* YDK2008538 (HQ600385), *C. distans* OuXK11163 (MN192759), *C. distans* P6875 (JK949974.2) và *C. citratus* PS0422MT01 (GQ436383).

Mô hình tối ưu cho *rbcl* là Jukes-Cantor, vì vậy cây phát sinh chủng loại được xây dựng trên phương pháp Maximum likelihood trên MEGA X theo mô hình này. Cây phân loại cho thấy, các dòng sả trong phân tích của chúng tôi nằm cùng nhánh với các loài *C. citratus*, *C. goeringii* và *C. distans* (hình 5).



Hình 5. Hình ảnh cây phả hệ dựa trên phân tích vùng gen *rbcl*.

Như vậy, với kết quả giải trình tự vùng gen *rbcl* thì chỉ mới phân loại các dòng sả hương Tây Giang vào chi sả *Cymbopogon*, chứ chưa phân định rõ thuộc loài nào.

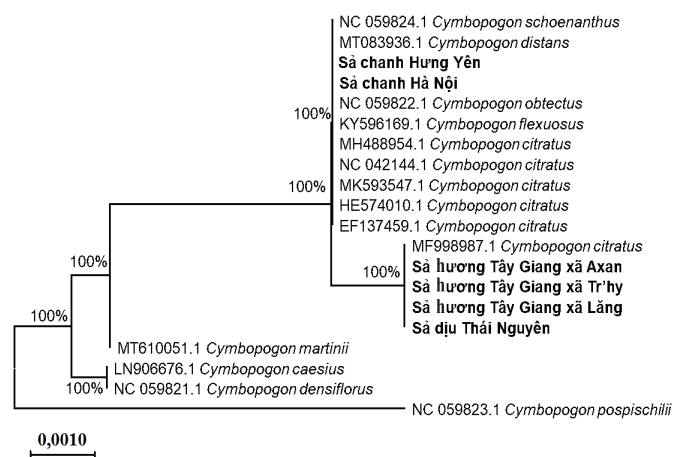
3.5. Kết quả phân tích trình tự gen *matK* và xây dựng cây phả hệ

Kết quả so sánh trình tự vùng gen *matK* của 3 dòng sả hương Tây Giang với các loài sả trên GenBank cho thấy, các dòng sả hương Tây Giang giống 100% với các loài *C. citratus*, *C. winterianus*, *C. pendulus*, *C. nardus*, *C. flexuosus* và *C. commutatus* (bảng 2). Đối chiếu trình tự gen *matK* của các dòng sả hương Tây Giang với các loài có trình tự gen *matK* có độ dài tương tự trên GenBank thì thấy sự đa hình ở vị trí nucleotide thứ 134, 181, 389, 520, 620, 678, 691, 849, 853 và 861. Tuy nhiên, đoạn trình tự *matK* của các mẫu sả hương Tây Giang và sả dụ Thái Nguyên giống hệt với loài sả chanh *C. citratus* MF998987. Nhóm sả trên chỉ thể hiện một sự sai khác ở vị trí nucleotide thứ 861 khi so sánh với 2 mẫu sả chanh Hà Nội, Hưng Yên và các loài sả khác (hình 6).

	134	181	389	520	620	678	691	849	853	861
1. Axan	C	T	G	A	T	T	T	G	T	G
2. Tr'hy	C	T	G	A	T	T	T	G	T	G
3. Lãng	C	T	G	A	T	T	T	G	T	G
4. MF998987.1_C. citratus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	G
5. Sả dụ Thái Nguyên	C	T	G	A	T	T	T	G	T	G
6. Sả chanh Hưng Yên	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
7. Sả chanh Hà Nội	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
8. HE574010.1_C. citratus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
9. MK593547.1_C. citratus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
10. NC_042144.1_C. citratus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
11. MH488954.1_C. citratus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
12. EF137459.1_C. citratus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
13. KY596169.1_C. flexuosus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
14. NC_059822.1_C. oblectus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
15. NC_059824.1_C. schoenanthus	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
16. MT083936.1_C. distans	C	T	G	A	T	T	T	G	T	A
17. NC_059821.1_C. densiflorus	C	C	A	A	T	T	T	C	C	A
18. LN906676.1_C. caesius	C	C	A	A	T	T	T	C	C	A
19. MT610051.1_C. martinii	C	C	A	A	T	T	T	C	C	A
20. NC_059823.1_C. pospischilii	A	C	A	C	G	C	C	G	A	

Hình 6. Minh họa sự đa hình trên vùng gen *matK* của các dòng sả hương Tây Giang và các loài sả khác trên thế giới.

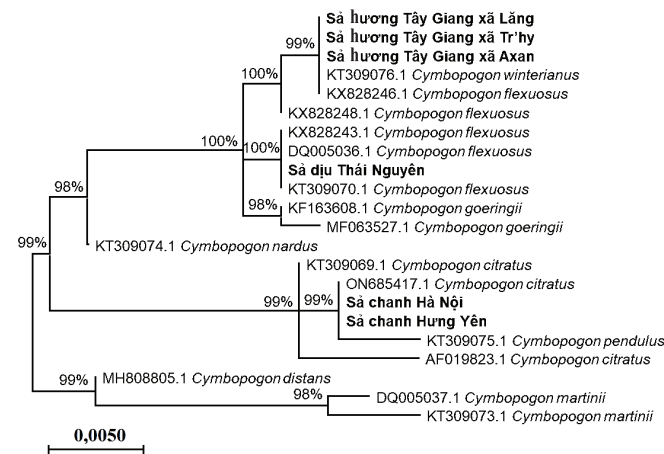
Mô hình tối ưu cho *matK* là T92 (Tamura 3-parameter model). Cây phát sinh chủng loại được xây dựng trên phương pháp Maximum likelihood trên MEGA X theo mô hình T92 với Bootstrap 1.000 lần lặp lại. Cây phân loại dựa trên trình tự *matK* cho thấy, 3 mẫu sả hương Tây Giang và sả dụ Thái Nguyên nằm trên cùng một nhánh với các loài *C. citratus* MF998987 (hình 7). Hai mẫu sả chanh Hà Nội và Hưng Yên nằm trên nhánh khác. Tuy nhiên, dựa vào cây phát sinh chủng loại ở hình 6 và kết quả giống hệt ở hình 5, chúng tôi nhận thấy trình tự gen của chủng *C. citratus* MF998987 khác với các chủng cùng thuộc loài *C. citratus* khác ở vị trí nucleotide thứ 861. Do đó, việc phân loại 3 mẫu sả hương Tây Giang vào loài *C. citratus* chưa đủ cơ sở.



Hình 7. Hình ảnh cây phả hệ dựa trên phân tích vùng gen *matK* giữa các mẫu.

3.6. Kết quả so sánh trình tự ITS và xây dựng cây phả hệ

Trình tự vùng gen *ITS* của 3 dòng sả hương Tây Giang giống 100% với các loài *C. flexuosus* KX828246 và *C. winterianus* KT309076 (bảng 2). Kết quả này cũng thể hiện ở cây phả hệ, trong đó 3 dòng sả hương Tây Giang cùng nhánh với *C. flexuosus* KX828246 và *C. winterianus* KT309076 (hình 8).



Hình 8. Hình ảnh cây phả hệ dựa trên phân tích vùng ITS giữa các mẫu.

Chúng tôi đã tiến hành so sánh trình tự vùng ITS của các dòng sả hương Tây Giang với một số loài sả trên GenBank thì thấy sự đa hình ở 33 vị trí (hình 9). Mẫu sả hương Tây Giang không có sự sai khác với *C. flexuosus* KX828246 và *C. winterianus* KT309076. Mẫu sả hương Tây Giang có lần lượt 4, 4, 21, 17, 6, 13 và 19 vị trí sai khác khi so sánh với các mẫu thuộc loài *C. flexuosus*, *C. goeringii*, *C. citratus*, *C. pendulus*, *C. nardus*, *C. distans* và *C. martini* (hình 9). Mẫu sả diu Thái Nguyên trong nghiên cứu có 4 vị trí khác với mẫu sả hương Tây Giang. Dựa trên trình tự ITS, thì mẫu sả diu Thái Nguyên này cùng nhóm với loài sả diu *C. flexuosus* (hình 7 và 8). Tuy nhiên, trình tự ITS của loài sả diu *C. flexuosus* có tính đa hình cao. Trình tự ITS của 2 mẫu sả chanh Hà Nội và Hưng Yên có 18 vị trí sai khác so với mẫu sả hương Tây Giang (hình 9). Cây phân loại dựa trên trình tự ITS cũng cho thấy, mẫu sả chanh Hà Nội và Hưng Yên nằm trên nhánh cách xa với nhánh của các mẫu sả hương Tây Giang (hình 8). Như vậy, dựa trên kết quả phân tích trình tự ITS, chúng tôi mới phân loại các dòng sả hương Tây Giang vào 2 loài *C. winterianus* và *C. flexuosus*.

1. Axan-ITS	A T T - A A C C T T C A T T T C A G T A G T C T C G G C A C G C A
2. Trhy-ITS	A T T - A A C C T T C A T T T C A G T A G T C T C G G C A C G C A
3. Lang-ITS	A T T - A A C C T T C A T T T C A G T A G T C T C G G C A C G C A
4. KT309076.1 C. winterianus	A T T - A A C C T T C A T T T C A G T A G T C T C G G C A C G C A
5. KX828246.1 C. flexuosus	A T T - A A C C T T C A T T T C A G T A G T C T C G G C A C G C A
6. KX828248.1 C. flexuosus	A T T - T A C C T T C A T T T C A G T A G T C T C G G C A C G C A
7. KT309070.1 C. flexuosus	A T T - T A C C T T C A T T T A G C A G T C T C G G C A C G C A
8. Sả diu Thái Nguyên	A T T - T A C C T T C A T T T A G C A G T C T C G G C A C G C A
9. DQ005036.1 C. flexuosus	A T T - T A C C T T C A T T T A G C A G T C T C G G C A C G C A
10. KX828243.1 C. flexuosus	A T T - T A C C T T C A T T T A G C A G T C T C G G C A C G C A
11. KF163608.1 C. goeringii	A T T - T A C C T T T C A T T T A G T A G T C T C G G C A C G C A
12. MF063527.1 C. goeringii	A T T - T A C C T T T C A T T T A G T A G T C T C G G C A T C C A
13. ON685417.1 C. citratus	A T C - T A G C C T T G G C T A - - - - G T C C G G C G C G C A
14. Sả chanh Hà Nội	A T C - T A G C C T T G G C T A - - - - G T C C G G C G C G C A
15. Sả chanh Hưng Yên	A T C - T A G C C T T G G C T A - - - - G T C C G G C G C G C A
16. KT309069.1 C. citratus	A T C - T A C C C T T G G C T A A - - - - G T C C G G C G C G C A
17. AF019823.1 C. citratus	A T C - T A C C T T T G G C T A - - - - G T C C G G C G C A T A
18. KT309075.1 C. pendulus	A T C - T A G C C T T G G C T A A - - - - G T C C T T C G C G C A
19. KT309074.1 C. nardus	A T C - T A C C C T C A T T T A G A G T T T C G G C A C G C A
20. MH808805.1 C. distans	A C C - T A C C C T T A T T C A - - - - T T T C G G C A C G C A
21. DQ005037.1 C. martini	G C C A T A C C T C T A T T C A A - - - - G T C C G G Y A C G C T
22. KT309073.1 C. martini	G C C - T C C C T C T A T T C A A - - - - G T C T G G T A C G C A

Hình 9. Minh họa sự đa hình trên vùng ITS của các dòng sả hương Tây Giang và các loài sả khác trên thế giới.

Các gen *rbcL* và *matK* được khuyến nghị làm mã vạch định danh thực vật bởi Liên minh Nghiên cứu Mã vạch sự sống. Trên GenBank có khoảng hơn 300.000 trình tự *rbcL* và hơn 200.000 trình tự *matK* của thực vật để so sánh. Ngoài ra, tỷ lệ khuếch đại và giải trình tự thành công *rbcL* và *matK* là rất cao. Tuy nhiên, gen *rbcL* có tính bảo thủ cao và tính đa hình thấp nên phù hợp để phân loại cấp chi và họ [18]. Gen *matK* đã được sử dụng làm mã vạch DNA cho nhiều loài thực vật khác nhau và đạt tỷ lệ phân loài thành công là 80% ở cây họ đậu [19], 98,1% với chi trọng đũa [20] đã cho biết không có sự khác nhau về trình tự gen *rbcL* giữa 6 loài sả *C. martini*, *C. nardus*, *C. citratus*, *C. pendulus*, *C. flexuosus* và *C. winterianus* được trồng thương mại ở Ấn Độ. Trong nghiên cứu của chúng tôi, trình tự đoạn gen *rbcL* của sả hương Tây Giang giống 100% với 2 loài *C. goeringii* và *C. distans*. Do đó, gen *rbcL* có thể không hiệu quả trong phân loại cấp loài ở chi sả. Điều này cũng được quan sát ở chi địa hoàng [21] Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi đã tìm ra được một sự sai khác nucleotide với các loài trong nghiên cứu của A.K. Bishoyi và cs (2017) [6] cũng như một số loài sả trồng ở khu vực khác như *C. comutatus*, *C. caesius*, *C. obteclus*, *C. densiflorus* và *C. schoenanthus* có nguồn gốc từ châu Phi, châu Mỹ, châu Âu và châu Đại Dương. Do vậy, chúng tôi giả thiết rằng, sự sai khác này là do đột biến gen để thích nghi với khí hậu trồng ở Việt Nam cũng như một số nước ở Đông Á. A.K. Bishoyi và cs (2017) [6] cũng tìm ra 4 sự sai khác trong trình tự *matK* khi so sánh 6 loài sả *C. martini*, *C. nardus*, *C. citratus*, *C. pendulus*, *C. flexuosus* và *C. winterianus*. Tuy nhiên, trong đó có 1 sự sai khác là của *C. winterianus* và 3 sự sai khác là của *C. martini*, 4 loài sả còn lại giống nhau. Trong nghiên cứu của chúng tôi, sau khi so sánh trình tự *matK* của các mẫu sả hương Tây Giang với các loài sả trên GenBank, chúng tôi cũng nhận thấy rằng, sự đa hình chủ yếu là do sự sai khác của các loài sả *C. pospischilii*, *C. densiflorus*, *C. caesius* và *C. martini* (hình 6). Trình tự *matK* của các mẫu sả hương Tây Giang chỉ có 1 vị trí sai khác nucleotide với nhiều loài sả khác như *C. citratus*, *C. flexuosus*, *C. obteclus*, *C. schoenanthus* và *C. distans*.

Như vậy, việc phân loại các loài thuộc chi sả dựa trên trình tự *rbcL* và *matK* là rất hạn chế bởi tính bảo thủ cao và đa hình thấp của các gen này trong chi sả. Trình tự ITS được đánh giá là có nhiều sự thay đổi hơn so với các vùng gen lục lạp như *rbcL* và *matK* [16, 22], ITS có trình tự ngắn hơn, nhưng lại có nhiều vị trí đa hình hơn nên là một mã vạch DNA tiềm năng cho phân loại loài trong chi sả. Kết quả phân tích trình tự ITS cho thấy, sả hương Tây Giang giống 100% với *C. flexuosus* CF-4 (KX828246) và *C. winterianus* BIO 13 (KT309076). Trong đó *C. winterianus* BIO 13 (KT309076) đã được phân loại chính xác [6] còn *C. flexuosus* CF-4 (KX828246) mới chỉ là trình tự được đưa lên GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KX828246.1>). Trình tự ITS của *C. flexuosus* CF-4 (KX828246) không có sự sai khác với *C. winterianus* BIO 13 (KT309076), nhưng sai khác 1-6 vị trí so với các mẫu *C. flexuosus* khác (hình 9). Tuy nhiên, để phân loại chính xác các dòng sả hương Tây Giang thuộc loài cụ thể nào, chúng tôi cần tiến hành phân tích thêm hàm lượng thành phần tinh dầu.

3.7. Định danh chính xác tên khoa học dòng sả hương Tây Giang

Để phân loại chính xác tên khoa học của sả hương Tây Giang, ngoài căn cứ kết quả phân tích chỉ thị phân tử chúng tôi tiến hành phân tích hàm lượng thành phần tinh dầu của các mẫu tinh dầu sả hương Tây Giang bằng phương pháp GC/MS. Kết quả cho thấy, thành phần của tinh dầu sả hương Tây Giang gồm 3 thành phần chính: citronellal (40-42%), citronellol (10-13%) và geraniol (17-21%). Tập hợp kết quả phân tích phân tử, hình thái và thành phần chính tinh dầu, chúng tôi lựa chọn 3 loài sả gần nhất bao gồm: *C. winterianus*, *C. goeringii* và *C. flexuosus* để so sánh định danh khoa học chính xác cho sả hương Tây Giang được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả so sánh hình thái, phân tử và thành phần tinh dầu của sả hương Tây Giang với một số loài sả gần nhất.

	<i>C. winterianus</i>	<i>C. goeringii</i>	<i>C. flexuosus</i>
Hình thái	Tương đồng	-	-
Thành phần tinh dầu chính	Citronellal, citronellol, geraniol [23]	citronellal, citronellol, geraniol [5]	Geraniol & Neral [24]
Chỉ thị phân tử	<i>rbcl</i> Sai khác 1 nucleotide <i>matK</i> Không sai khác <i>ITS</i> Không sai khác	Không sai khác Không sai khác Sai khác 3-4 nucleotide	Sai khác 1 nucleotide Không sai khác Không sai khác đến sai khác 1-4 nucleotide

Kết quả bảng 3 cho thấy, thành phần tinh dầu chính của sả hương Tây Giang (bao gồm citronellal, citronellol và geraniol) khác so với loài *C. flexuosus* (bao gồm geraniol và neral), vì vậy sả hương Tây Giang không thuộc loài *C. flexuosus*. Khi so sánh sả hương Tây Giang với loài *C. goeringii* cho thấy, khác về hình thái, tương đồng về thành phần tinh dầu chính, không sai khác về trình tự đoạn gen *matK* và *rbcl*, nhưng sai khác 3-4 nucleotide trong trình tự ITS (bảng 3). So sánh với loài *C. winterianus* thì sả hương Tây Giang tương đồng về hình thái và thành phần tinh dầu chính, không sai khác về trình tự gen *matK* và *ITS*, chỉ sai khác một nucleotide trong trình tự gen *rbcl* (bảng 3). Do đó, sả hương Tây Giang được phân loại vào loài *C. winterianus* Jowitt.

4. Kết luận

Sự kết hợp giữa phân tích hình thái, chỉ thị phân tử và thành phần tinh dầu, chúng tôi đã phân loại các mẫu sả hương Tây Giang thuộc loài *C. winterianus* Jowitt. Trong đó, trình tự ITS và thành phần tinh dầu là hai chỉ thị chính trong phân biệt các loài thuộc chi sả. Kết quả nghiên cứu này cung cấp cơ sở khoa học về các thông tin phân loại cây sả hương Tây Giang. Việc phân loại sả hương Tây Giang vào loài sả Java tạo tiền đề cho việc thương mại hóa sản phẩm tinh dầu sả, giúp doanh nghiệp có thêm dữ liệu trong việc truy xuất nguồn gốc, khai thác và sản xuất tinh dầu từ sả hương Tây Giang phục vụ cho xuất khẩu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] O. Avoseh, O. Oyediji, P. Rungqu, et al. (2015), "Cymbopogon species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance", *Molecules*, **20**(5), pp.7438-7453, DOI: 10.3390/molecules20057438.

[2] A. Akhila (2009), *Essential Oil-Bearing Grasses: The Genus Cymbopogon*, CRC Press, 269pp.

[3] R.S. Verma, S. Singh, R.C. Padalia, et al. (2019), "Essential oil composition of the sub-aerial parts of eight species of Cymbopogon (Poaceae)", *Industrial Crops and Products*, **142**, DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111839.

[4] J. Kumar, V. Verma, A. Goyal, et al. (2009), "Genetic diversity analysis in Cymbopogon species using DNA markers", *Plant Omics Journal*, **2**(1), pp.20-29.

[5] Q. Huang, Z. Duan, J. Yang, et al. (2014), "SNP typing for germplasm identification of Amomum villosum Lour. based on DNA barcoding markers", *PLOS ONE*, **9**(12), DOI: 10.1371/journal.pone.0114940.

[6] A.K. Bishoyi, A. Kavane, A. Sharma, et al. (2017), "A report on identification of sequence polymorphism in barcode region of six commercially important Cymbopogon species", *Molecular Biology Reports*, **44**(1), pp.19-24, DOI: 10.1007/s11033-017-4097-0.

[7] D.K. Muyembe, D.R. Kunet, S. Zhilei (2018), "Molecular, chemical and microscopic analysis of medicinal plant (Cymbopogon distans) from its adulterants", *Journal of Diseases and Medicinal Plants*, **4**(2), pp.35-47, DOI: 10.11648/j.jdmp.20180402.11.

[8] N.V. Thin (2007), *Plant Research Methods*, Hanoi National University Press, 166pp (in Vietnamese).

[9] M.S. Taylor (1990), "Techniques for collecting aquatic and marsh plants", *Annals of The Missouri Botanical Garden*, **71**(1), pp.1-27, DOI: 10.2307/2399065.

[10] M.G. Murray, W.F. Thompson (1980), "Rapid isolation of high molecular weight plant DNA", *Nucleic Acids Research*, **8**(19), pp.4321-4326, DOI: 10.1093/nar/8.19.4321.

[11] M.F. Fay, C. Bayer, W.S. Alversonet, et al. (1998), "Plastid *rbcl* sequence data indicate a close affinity between Diegodendron and Bixa", *Taxon*, **47**(1), pp.43-50, DOI: 10.2307/1224017.

[12] C.S. Ford, K.L. Ayres, N. Tomey, et al. (2009), "Selection of candidate coding DNA barcoding regions for use on land plants", *Botanical Journal of The Linnean Society*, **159**(1), pp.1-11, DOI: 10.1111/j.1095-8339.2008.00938.x.

[13] https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome, accessed 5 October 2022.

[14] S. Kumar, G. Stecher, M. Li, et al. (2018), "MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms", *Molecular Biology and Evolution*, **35**(6), pp.1547-1549, DOI: 10.1093/molbev/msy096.

[15] T.H. Jukes, C.R. Cantor (1969), "Evolution of protein molecules", *Mammalian Protein Metabolism*, Academic Press, pp.21-132.

[16] K. Tamura (1992), "Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+C-content biases", *Molecular Biology and Evolution*, **9**(4), pp.678-687, DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752.

[17] R.P. Adams (2007), *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, Baylor University, 804pp.

[18] CBOL Plant Working Group (2009), "A DNA barcode for land plants", *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, **106**(31), pp.12794-12797, DOI: 10.1073/pnas.0905845106.

[19] R. Lahaye, M.V.D. Bank, D. Bogarin, et al. (2008), "DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots", *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, **105**(8), pp.2923-2928, DOI: 10.1073/pnas.0709936105.

[20] T. Gao, H. Sun, J. Yao, et al. (2011), "Identification of Fabaceae plants using the DNA barcode *matK*", *Planta Medica*, **77**(1), pp.92-94, DOI: 10.1055/s-0030-1250050.

[21] Y. Liu, K. Wang, Z. Liu, et al. (2013), "Identification of medical plants of 24 Ardisia species from China using the *matK* genetic marker", *Pharmacognosy Magazine*, **9**(36), pp.331-337, DOI: 10.4103/0973-1296.117829.

[22] A.F. Blank, A.G. Costa, M.F.A. Blank (2007), "Influence of season, harvest time and drying on Java citronella (Cymbopogon winterianus Jowitt) volatile oil", *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **17**(4), pp.557-564, DOI: 10.1590/S0102-695X2007000400014.

[23] X. Huang, Yun-chao Feng, Y.C. Feng, et al. (2013), "Chemical composition, antioxidant and the possible use as skin-care ingredient of clove oil (Syzygium aromaticum (L.) Merr. & Perry) and citronella oil (Cymbopogon goeringii) from China", *Journal of Essential Oil Research*, **25**(4), pp.315-323, DOI: 10.1080/10412905.2013.775082.

[24] A.K. Gupta, D. Ganjewala (2015), "A study on development changes in essential oil content and composition in Cymbopogon flexuosus cultivar Suvarna", *Acta Biologica Szegediensis*, **59**(2), pp.119-125.

Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng phân giải lân khó tan trong lên men chất thải chăn nuôi gà làm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng

Trương Thị Chiên*, Nguyễn Thị Thanh Mai, Trần Bảo Trâm, Mai Vũ Hoàng Giang, Vũ Xuân Tạo

Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 13/6/2023; ngày chuyển phản biện 15/6/2023; ngày nhận phản biện 3/7/2023; ngày chấp nhận đăng 6/7/2023

Tóm tắt:

Vi khuẩn phân giải lân giúp chuyển hóa lân khó tan thành dạng dễ tiêu, tăng khả năng hấp thụ của cây trồng. Nguồn vi khuẩn này được ứng dụng nhiều trong việc xử lý các loại chất thải chứa hàm lượng lân khó tan cao. Nghiên cứu này đã xác định được các yếu tố thích hợp cho quá trình lên men chất thải chăn nuôi gà làm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng sử dụng 2 chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* L16 và *B. amyloliquefaciens* L26, với điều kiện: tỷ lệ tiếp giống 5% v/v (mật độ giống 10^8 CFU/ml, tỷ lệ 2 chủng vi khuẩn là 50-50), pH 7, nhiệt độ 30°C trong thời gian 8 ngày. Chất lượng phân bón đạt QCVN 01-189/BNNT với hàm lượng chất hữu cơ đạt 30,66%, lân dễ tiêu đạt 1,57%, mật độ vi khuẩn *Bacillus* đạt $5,55 \times 10^9$ CFU/ml, không có các vi sinh vật gây bệnh *Salmonella* và *Escherichia coli*. Kết quả thử nghiệm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng giúp tăng khả năng sinh trưởng, tăng năng suất của cây cà chua 12,9% so với đối chứng sử dụng phân bón NPK.

Từ khóa: cà chua, chất thải chăn nuôi gà, phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng, vi sinh vật phân giải lân.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật trong việc xử lý các nguồn phụ phẩm trong chăn nuôi như phân gia súc, gia cầm... làm phân bón cho cây trồng ngày càng được quan tâm trong chiến lược phát triển nông nghiệp bền vững. Các chủng vi khuẩn *Bacillus* được sử dụng thường có các đặc tính như kháng vi sinh vật gây bệnh cây trồng, sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật và đặc biệt là hoạt tính phân giải lân khó tan thành dạng dễ tiêu mà cây trồng sử dụng được [1]. Chất thải chăn nuôi gà là nguồn phân bón có chứa hàm lượng chất dinh dưỡng cao. Trong phân gà có chứa 0,54% lân (P) tổng số [2]. Đây là nguồn cơ chất lý tưởng để ứng dụng vi khuẩn *Bacillus* trong xử lý tạo ra nguồn phân bón với hàm lượng P dễ tiêu cao - nguồn P mà cây trồng có thể sử dụng.

Phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng là loại phân bón tối ưu hóa sự hấp thụ chất dinh dưỡng khoáng cho cây trồng, giúp tăng năng suất, giảm lượng phân hóa học và phục hồi đất, giảm chi phí sản xuất nông nghiệp, đảm bảo sử dụng tối ưu nguồn tài nguyên thiên nhiên [3, 4]. Trên thế giới đã có một số nghiên cứu tạo phân bón hữu cơ dạng lỏng từ phân gà kết hợp nấm *Trichoderma harzianum*. Sau quá trình lên men sử dụng phân gà có bổ sung chất hoạt hóa sinh học Biosca và nấm *T. harzianum* giúp tăng hàm lượng N 5,33%, P 2,41%, K 1,34% ở pH 7,1. Loại phân bón này đã được chứng minh có tác dụng tích cực lên sự phát triển của cây cà chua [5].

Việt Nam có nguồn chất thải chăn nuôi gà rất lớn, nhưng chủ yếu dùng để ủ phân compost, chưa được xử lý làm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng. Do đó, nghiên cứu này không những có ý nghĩa về mặt khoa học, mà còn mang ý nghĩa thực tiễn cao. Mục đích của nghiên cứu nhằm xử lý nguồn chất thải chăn nuôi gà làm

phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng sử dụng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng phân giải P khó tan. Kết quả của nghiên cứu giúp tận dụng được nguồn chất thải chăn nuôi gà, từ đó giảm thiểu ô nhiễm môi trường và tạo được nguồn phân bón chất lượng cao ứng dụng trong ngành nông nghiệp hữu cơ.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Chủng vi khuẩn *B. subtilis* L16 và *B. amyloliquefaciens* L26 có hoạt độ phân giải phosphate khó tan lần lượt đạt 43,73 và 48,17 mg/l, có khả năng kháng 3 chủng vi khuẩn gây bệnh là *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* và khả năng sinh tổng hợp chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA [6] thuộc bộ sưu tập giống vi sinh vật của Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ.

Chất thải chăn nuôi gà được thu thập tại Công ty TNHH Dịch vụ Ngọc Anh tại huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc.

Hạt giống cà chua Mogo (TV-20) được cung cấp bởi Công ty CP Hạt giống Tre Việt.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình phân giải lân khó tan của vi khuẩn *Bacillus* trong lên men chất thải chăn nuôi gà tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng:

Phương pháp tiền xử lý: Phân gà được thu gom và đưa vào bể tiền xử lý. Tại bể này, tiến hành bổ sung vôi bột 5% để giảm mùi hôi và tránh thất thoát chất dinh dưỡng [7]. Cơ chất được tạo ra từ bể tiền xử lý được bổ sung với nước theo tỷ lệ 1:5. Hỗn hợp được lọc bằng hệ thống lưới lọc 2 lớp (lớp 1 là lưới lọc inox 304, kích

*Tác giả liên hệ: Email: chienceb@gmail.com

Research on using *Bacillus* bacteria capable of insoluble phosphorus solubilisation in fermentation of chicken waste as liquid microbial organic fertiliser

Thi Chien Truong*, Thi Thanh Mai Nguyen, Bao Tram Tran, Vu Hoang Giang Mai, Xuan Tao Vu

Center of Experimental Biology, National Center for Technological Progress, C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 13 June 2023; revised 3 July 2023; accepted 6 July 2023

Abstract:

Phosphorus-degrading bacteria help convert insoluble phosphorus into a readily digestible form that plants can use. This source of bacteria is widely used in the treatment of wastes containing highly insoluble phosphorus. This study determined the suitable factors for the fermentation of chicken waste to make liquid microbial organic fertiliser using two strains of bacteria *Bacillus subtilis* L16 and *B. amyloliquefaciens* L26 with the following conditions: the rate of breeding 5% v/v (with the density of 10^8 CFU/ml, ratio of 2 bacterial strains is 50-50), pH 7, temperature 30°C for 8 days. The quality of liquid microbial organic fertiliser from chicken waste meets the QCVN 01-189/BNNPTNT criteria with an organic substrate content of 30.66%, bio-available phosphorus of 1.57%, the density of *Bacillus* bacteria reached 5.55×10^9 CFU/ml, and no *Salmonella* and *Escherichia coli* causing disease. The results of using liquid microbial organic fertiliser increased tomato fruit growth and yield by 12.9% than that of the control using NPK fertiliser.

Keywords: chicken waste, liquid microbial organic fertiliser, phosphate solubilising microorganisms, tomato.

Classification number: 1.6

thước 0,3 mm; lớp 2 là lưới lọc siêu mịn mesh 200). Hỗn hợp sau lọc được lấy mẫu, bổ sung ri đường 3%, lân nung chảy 5% và diệt mầm bệnh bằng phương pháp khử trùng 120°C trong vòng 30 phút để sử dụng cho lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Phương pháp xác định ảnh hưởng của một số yếu tố trong quá trình lên men: Ảnh hưởng của các thông số lên men tới sự sinh trưởng của các chủng vi khuẩn *B. subtilis* L16 và *B. amyloliquefaciens* L26 được nghiên cứu độc lập với nhau bằng cách thay đổi yếu tố khảo sát trong môi trường dung dịch chất thải chăn nuôi gà. Kết quả lựa chọn phù hợp của thí nghiệm trước sẽ được áp dụng cho các thí nghiệm tiếp theo [8]. Quá trình lên men chất thải chăn nuôi gà được thực hiện ở quy mô 1 l dịch lên men chứa trong các bình thủy tinh trung tính 2 l. Các thí nghiệm sử dụng máy lắc nhiệt LabTech LSI-3016A (Hàn Quốc) và được lặp lại 3 lần độc lập.

Tỷ lệ tiếp giống: 2 chủng vi khuẩn *B. subtilis* L16, *B. amyloliquefaciens* L26 được nuôi cấy riêng trên môi trường Pikovskaya ở 30°C, nuôi lắc 150 vòng/phút trong 48 giờ. Dịch nuôi cấy từng chủng vi khuẩn được điều chỉnh về mật độ 10^8 CFU/ml và phối trộn với nhau theo tỷ 50:50. Sau đó, bổ sung vào dung dịch chất thải chăn nuôi gà với tỷ lệ bổ sung là 1, 3, 5, 7, 10% và điều chỉnh về pH 7. Hỗn hợp được tiến hành nuôi lắc ở 30°C, 150 vòng/phút. Đánh giá hàm lượng P dễ tiêu (tính theo P_2O_5) theo TCVN 8942:2011 và mật độ *Bacillus* sp. theo TCVN 8736:2011 sau 10 ngày để xác định ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống trong quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Ảnh hưởng của pH: Hỗn hợp chất thải chăn nuôi gà được điều chỉnh về các khoảng pH: 4, 5, 6, 7, 8 và 9. Tiến hành nuôi lắc 150 vòng/phút ở 30°C. Đánh giá hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ *Bacillus* sp. sau 10 ngày để xác định ảnh hưởng của pH trong quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Ảnh hưởng của nhiệt độ: Để xác định được khoảng nhiệt độ tối ưu trong quá trình lên men, hỗn hợp chất thải chăn nuôi gà được lên men ở các khoảng nhiệt độ: 25, 30, 35 và 40°C. Tiến hành nuôi lắc 150 vòng/phút. Đánh giá hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ *Bacillus* sp. sau 10 ngày để xác định ảnh hưởng của nhiệt độ trong quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Ảnh hưởng của thời gian lên men: Hỗn hợp chất thải chăn nuôi gà được lên men trong thời gian: 0, 2, 4, 6, 8 và 10 ngày. Tiến hành nuôi lắc 150 vòng/phút, tỷ lệ tiếp giống, nhiệt độ, pH đã được tối ưu ở trên. Đánh giá hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ *Bacillus* sp. để xác định ảnh hưởng của thời gian trong quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

2.2.2. Đánh giá chất lượng của phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà:

Xác định mật độ vi khuẩn *Bacillus* sp. theo TCVN 8736:2011, *E. coli* theo TCVN 7924-2:2008, *Salmonella* theo TCVN 10780-1:2017.

Xác định hàm lượng hữu cơ tổng số (TCVN 9294:2012), nitơ tổng số (TCVN 8557:2010), P tổng số (TCVN 8563:2010), P dễ tiêu (TCVN 8661:2011), K tổng số (TCVN 8562:2010), pH (TCVN 6146:2007), kim loại nặng (AOAC 2015.01).

2.2.3. Thí nghiệm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng trên mô hình trồng cà chua:

Bố trí thí nghiệm: Cây cà chua sau khoảng 3 tuần ươm (có 4-5 lá thật) được chuyển trồng sang bầu với mật độ trồng 60x70 cm.

Lô đối chứng: Số lượng 200 cây cà chua giống Mogo (TV-20), sử dụng phân bón NPK 10:8:12.

Lô thí nghiệm: Số lượng 200 cây cà chua giống Mogo (TV-20), sử dụng phân bón hữu cơ vi sinh.

Phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng được tưới với nồng độ 5%. Quy trình tưới và lượng phân bón được áp dụng theo kỹ thuật trồng cà chua an toàn quanh năm của T.K. Thi và cs (2003) [9]. Mỗi công thức được lặp lại 3 lần.

Các chỉ tiêu sinh trưởng cây cà chua: chiều cao cây (cm), số lá/cây vào các thời điểm sau 2, 4, 6, 8, 10 và 12 tuần.

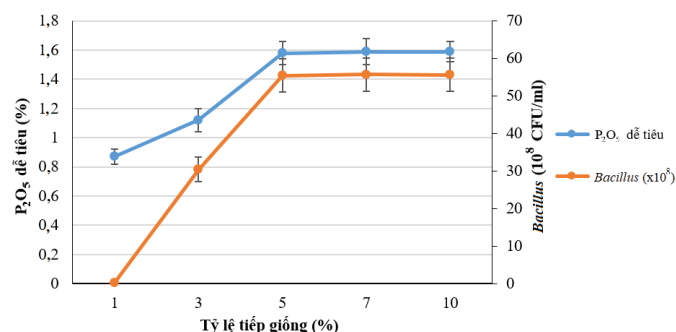
Các chỉ tiêu năng suất cây cà chua: số quả/cây, đường kính quả (mm), trọng lượng quả (g), năng suất (tấn/ha).

2.2.4. *Xử lý số liệu*: Sử dụng phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Excel 2016.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình phân giải lân khó tan của vi khuẩn *Bacillus* trong lên men chất thải chăn nuôi gà làm phân hữu cơ vi sinh dạng lỏng

3.1.1. *Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống*: Tỷ lệ tiếp giống là yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới mật độ vi sinh vật và khả năng chuyển hóa P khó tan trong quá trình lên men, quyết định đến chất lượng và chi phí sản xuất. Kết quả xác định ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống tới hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong dịch lên men chất thải chăn nuôi gà được thể hiện ở hình 1.

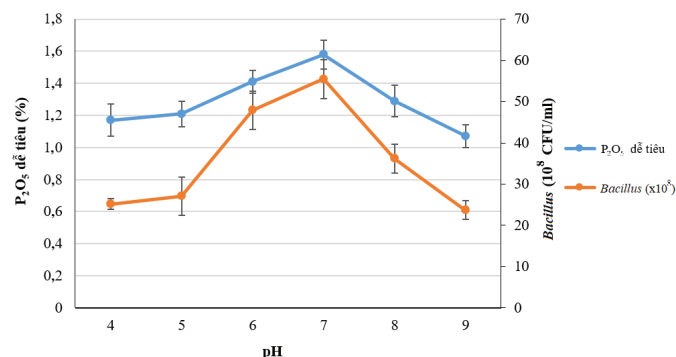


Hình 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống đến quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Kết quả nghiên cứu với tỷ lệ tiếp giống 1%, hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu đạt 0,87%, mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong dịch lên men đạt $1,8 \times 10^7$ CFU/ml. Với tỷ lệ tiếp giống 5-10%, hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu đạt 1,58-1,59% và mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong dịch lên men đều $\geq 10^9$ CFU/ml. Như vậy có thể thấy, việc sử dụng vi khuẩn *Bacillus* trong lên men chất thải chăn nuôi gà đã làm tăng hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu. Các nghiên cứu về việc sử dụng vi sinh vật hữu ích làm tăng hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu trong phân bón hữu cơ dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà chưa có nhiều. Hơn nữa, với tỷ lệ tiếp giống 5-10% mật độ vi khuẩn hữu ích *Bacillus* trong dịch lên men đều đạt $\geq 10^9$ CFU/ml, đây là mật độ mà vi khuẩn *Bacillus* tồn tại ở dạng bào tử giúp chúng tồn tại lâu hơn ở các điều kiện bất lợi [10]. Vì vậy, để tiết kiệm nguồn giống nhằm giảm chi phí cho quá trình sản xuất, tỷ lệ tiếp giống là 5% được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

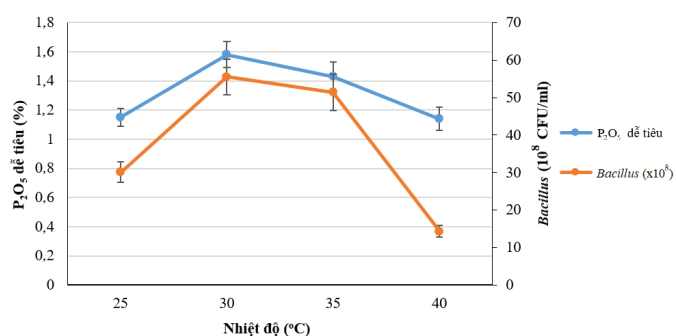
3.1.2. *Ảnh hưởng của pH*: Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH trong quá trình lên men chất thải chăn nuôi gà cho thấy, pH ảnh hưởng tới hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ *Bacillus* trong dịch lên men (hình 2). Kết quả nghiên cứu cho thấy, pH thích hợp cho quá trình lên men là 7. Ở pH 7, sau 10 ngày lên men hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu đạt cao nhất là 1,58%, mật độ *Bacillus* đạt $5,56 \times 10^9$

CFU/ml. Các nghiên cứu cho thấy, vi khuẩn *Bacillus* tồn tại ổn định ở pH 6,8-7,0, đây là khoảng pH thường được sử dụng cho các sản phẩm chứa vi khuẩn *Bacillus* [11, 12]. pH thấp hơn 5 hoặc cao hơn 8 sẽ làm giảm khả năng phân giải P khó tan của vi khuẩn *Bacillus* [13]. Vì vậy, nghiên cứu này lựa chọn pH 7 là pH thích hợp cho quá trình lên men sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà.



Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

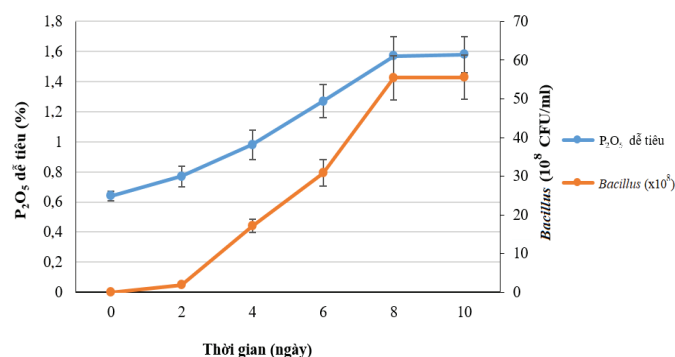
3.1.3. *Ảnh hưởng của nhiệt độ*: Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ vi khuẩn *Bacillus* trong quá trình lên men chất thải chăn nuôi gà tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng (hình 3). Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men là 30°C, sau 10 ngày lên men cho hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu cao nhất và mật độ vi khuẩn *Bacillus* đạt cao nhất. Ở khoảng nhiệt độ thấp hơn (25°C) hoặc cao hơn (35-40°C), hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ *Bacillus* giảm mạnh so với quá trình lên men ở 30°C. Nghiên cứu của T.Y. Mujahid và cs (2015) [14] cho thấy, các chủng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng phân giải P khó tan mạnh ở 30°C, tăng nhiệt độ dẫn đến giảm khả năng phân giải P. Theo nghiên cứu của R. Gupta và cs (2022) [15], *B. subtilis* phát triển mạnh và đạt hiệu suất phân giải P cao nhất trong khoảng nhiệt độ 28-30°C. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn nhiệt độ lên men 30°C cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

3.1.4. *Ảnh hưởng của thời gian lên men*: Sau khi lựa chọn được các điều kiện thích hợp cho quá trình lên men chất thải chăn nuôi gà bao gồm: tỷ lệ tiếp giống 5%, pH 7 và nhiệt độ 30°C, nghiên cứu tiến hành xác định ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên

men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng. Kết quả được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men tạo phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Kết quả nghiên cứu sau 10 ngày lên men cho thấy, hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu và mật độ *Bacillus* đều tăng theo thời gian. Trong đó, hàm lượng P_2O_5 dễ tiêu ở ngày thứ 8 và 10 không có sự khác biệt nhiều, tương ứng đạt 1,57 và 1,58%; mật độ *Bacillus* tương ứng đạt $5,55 \times 10^9$ và $5,56 \times 10^9$ CFU/ml. Nghiên cứu của R. Rahmad và cs (2019) [5] đã ứng dụng hiệu quả nấm *T. harzianum* trong xử lý làm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng với thời gian lên men 7-21 ngày. Vì vậy, trong nghiên cứu này, 8 ngày được lựa chọn là thời gian lên men phù hợp cho quá trình sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà.

3.2. Đánh giá chất lượng phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng

Chất lượng phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà được thể hiện ở bảng 1. Kết quả phân tích chất lượng phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà cho thấy hàm lượng chất hữu cơ đạt 30,66%, P_2O_5 dễ tiêu đạt 1,57%. Kết quả phân tích mật độ vi sinh vật cho thấy, mật độ vi khuẩn *Bacillus* đạt $5,55 \times 10^9$ CFU/ml, không phát hiện vi sinh vật gây bệnh (*E. coli*, *Salmonella*). Thông thường trong chất thải chăn nuôi gà các vi sinh vật gây bệnh như *E. coli*, *Salmonella* rất cao ($>10^3$ CFU/g) [16]. Trong quá trình tiền xử lý, chất thải chăn nuôi đã được khử trùng ở $120^\circ\text{C}/30$ phút. Vì vậy, sau quá trình lên men sẽ không phát hiện vi sinh vật gây bệnh. Như vậy, phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng trong nghiên cứu này đạt chất lượng theo QCVN 01-189:2019/BNNT về chất lượng phân bón của Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.

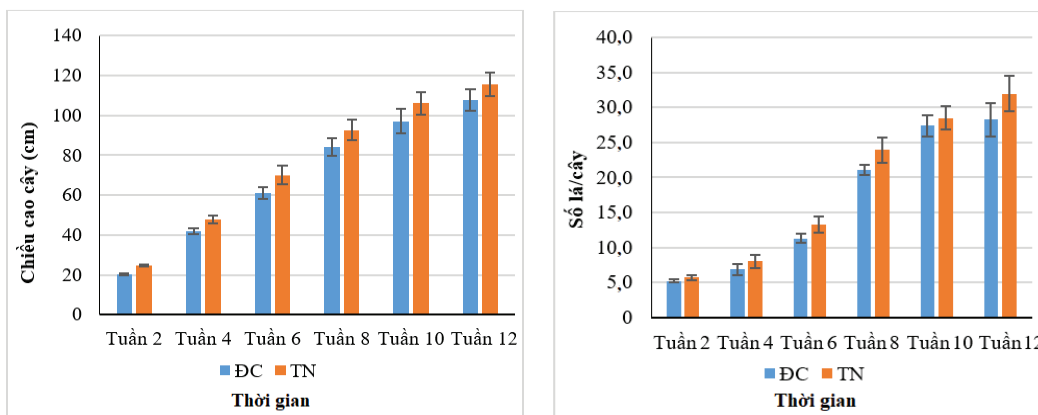
Bảng 1. Chất lượng phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Số thứ tự	Tên chỉ tiêu	Đơn vị tính	Kết quả
1	pH	-	7,12 $\pm$ 0,35
2	N tổng số	% N	2,81 $\pm$ 0,14
3	P tổng số	% P_2O_5	2,39 $\pm$ 0,12
4	K tổng số	% K_2O	2,44 $\pm$ 0,21
5	Chất hữu cơ tổng số (OM)	%	30,66 $\pm$ 1,14
6	P_2O_5 dễ tiêu	% P_2O_5	1,57 $\pm$ 0,14
7	Tỷ lệ C/N	-	10,91
8	<i>Bacillus</i>	CFU/ml	$5,55 \times 10^9$
9	<i>Salmonella</i>	CFU/25 ml	KPH
10	<i>E. coli</i>	CFU/ml	KPH

KPH: không phát hiện.

3.3. Kết quả thử nghiệm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng trên mô hình trồng cà chua

Kết quả nghiên cứu cho thấy, phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng có tác dụng tăng cường khả năng sinh trưởng cho cây cà chua được thể hiện thông qua các chỉ tiêu chiều cao cây, số lá/cây ở lô thí nghiệm đều cao hơn lô đối chứng (hình 5). Các nghiên cứu ứng dụng phân hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà chứa vi sinh vật hữu ích là vi khuẩn *Bacillus* chưa có nhiều. Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà (chứa vi sinh vật hữu ích là nấm *T. harzianum*) giúp kích thích sự sinh trưởng của cây cà chua và giúp cây phát triển đồng đều (hình 6) [5].



Hình 5. Ảnh hưởng của phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng đến khả năng sinh trưởng của cây cà chua Mogo (TV-20).

Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất là những chỉ tiêu dùng để đánh giá một cách hoàn thiện hơn về hiệu quả của phân bón trên cây trồng. Năng suất của cà chua được kiểm soát bằng đặc trưng di truyền của giống và chịu tác động của các điều kiện ngoại cảnh, chế độ dinh dưỡng cũng như biện pháp kỹ thuật canh tác [17]. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của phân hữu cơ vi sinh dạng lỏng tới năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cà chua được thể hiện ở bảng 2.



Hình 6. Hình ảnh cây cà chua Mogo (TV-20) tại mô hình thí nghiệm.

Bảng 2. Giá trị trung bình về năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của cây cà chua Mogo (TV-20).

Mẫu	Số quả/cây	Trọng lượng quả (g)	Dài quả (cm)	Rộng quả (cm)	Năng suất (tấn/ha)
Lô đối chứng (ĐC)	24,2	87,1	6,6	5,3	50,2
Lô thí nghiệm (TN)	25,5	93,2	6,9	5,6	56,7
LSD _{0,05} ĐC	1,25	2,41	0,18	0,11	2,18
LSD _{0,05} TN	1,66	1,54	0,13	0,14	2,65

LSD_{0,05}: các giá trị trung bình khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% (tương ứng mức ý nghĩa $\alpha=0,05$).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất ở lô sử dụng phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng đều cao hơn lô đối chứng. Năng suất quả ở lô thí nghiệm cao hơn so với lô đối chứng là 12,9% và cao hơn 18/24 giống cà chua trong nghiên cứu của N.T. Hien và cs (2020) [18]. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở khoa học quan trọng trong việc ứng dụng loại phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng từ chất thải chăn nuôi gà chứa vi khuẩn *Bacillus* cho cây trồng.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được các yếu tố thích hợp cho quá trình lên men chất thải chăn nuôi gà làm phân hữu cơ vi sinh dạng lỏng sử dụng 2 chủng vi khuẩn *B. subtilis* L16 và *B. amyloliquefaciens* L26 gồm: tỷ lệ tiếp giống 5% (mật độ giống 10^8 CFU/ml, tỷ lệ 2 chủng vi khuẩn là 50-50), pH 7, nhiệt độ 30°C trong 8 ngày. Chất lượng phân bón tạo thành đạt QCVN 01-189/BNNPTNT với hàm lượng chất hữu cơ đạt 30,66%, lân dễ tiêu đạt 1,57%, mật độ vi khuẩn *Bacillus* đạt $5,55 \times 10^9$ CFU/ml, không có *Salmonella* và *E. coli* gây bệnh. Phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng giúp tăng các chỉ tiêu sinh trưởng, tăng năng suất của cây cà chua 12,9% so với đối chứng sử dụng phân bón NPK.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ cấp Bộ năm 2022-2023: “Nghiên cứu công nghệ xử lý chất thải chăn nuôi gà để sản xuất phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp” của Viện Ứng dụng Công nghệ. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.K. Saxena, M. Kumar, H. Chakdar, et al. (2020), “*Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition”, *Journal of Applied Microbiology*, **128**(6), pp.1583-1594, DOI: 10.1111/jam.14506.
- [2] D.H. Dat (2003), *A Manual on The Use of Fertilizers*, Agricultural Publishing House, 164pp (in Vietnamese).
- [3] A. Dejene, Y. Zekeria, K. Misrak (2020), “Production of bioorganic liquid fertilizer from chicken manure and onion peels”, *Advanced Research Journal of Microbiology*, **6**(6), pp.331-337.
- [4] K. Kumar, K.M. Goh (1999), “Crop residues and management practices: effects on soil quality, soil nitrogen dynamics, crop yield, and nitrogen recovery”, *Advances in Agronomy*, **68**, pp.197-319, DOI: 10.1016/S0065-2113(08)60846-9.
- [5] R. Rahmad, A. Karim, N.L. Nafie, et al. (2019), “Synthesis of liquid organic fertilizer based on chicken manure using biosca and fungus bioactivator *Trichoderma harzianum*”, *Indonesia Chimica Acta*, **11**(2), pp.28-41, DOI: 10.20956/ica.v11i2.6489.
- [6] T.T. Chien, N.T.T. Mai, T.B. Tram, et al. (2022), “Selection of *Bacillus subtilis* strains with insoluble phosphate decomposition, antibacterial and biological activity, and application of IAA in chicken manure treatment”, *National Biotechnology Conference 2022*, pp.774-779 (in Vietnamese).
- [7] R.O. Maguire, D. Hesterberg, A. Gernat, et al. (2006), “Liming poultry manures to decrease soluble phosphorus and suppress the bacteria population”, *Journal of Environmental Quality*, **35**(3), pp.849-857, DOI: 10.2134/jeq2005.0339.
- [8] P.T. Huong, V.V. Hanh (2018), “Selection of the fermentation conditions for the growth of *Bacillus subtilis* BSVN15 used in production of probiotic for livestock”, *Vietnam Journal of Biotechnology*, **16**(1), pp.167-172 (in Vietnamese).
- [9] T.K. Thi, M.T.P. Anh (2003), *Tomato Planting Technology (Safe Throughout The Year)*, Nghe An Publishing House, 158pp (in Vietnamese).
- [10] S.S. Stojanović, I.T.K. Stanisavljevic, V.P. Beškoski, et al. (2019), “*Bacillus* based microbial formulations: Optimization of the production process”, *Hemjska Industrija*, **73**(3), pp.169-182, DOI: 10.2298/HEMIND190214014S.
- [11] S.M. Teasdale, A. Kademi (2018), “Quality challenges associated with microbial-based cleaning products from the industry perspective”, *Food and Chemical Toxicology*, **116**(Pt A), pp.20-24, DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.029.
- [12] M. Vehapi, B. İnan, S.K. Cakmakoglu, et al. (2023), “Optimization of growth conditions for the production of *Bacillus subtilis* using central composite design and its antagonism against pathogenic fungi”, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **15**(3), pp.682-693, DOI: 10.1007/s12602-021-09904-2.
- [13] N.T. Baliah, G. Pandiarajan, M.K. Balkumar (2016), “Isolation, identification and characterization of phosphate solubilizing bacteria from different crop soils of Srivilliputtur Taluk, Virudhunagar district, Tamil Nadu”, *Tropical Ecology*, **57**(3), pp.465-474.
- [14] T.Y. Mujahid, T.Y. Mujahid, A. Wahab, et al. (2015), “Effects of different physical and chemical parameters on phosphate solubilization activity of plant growth promoting bacteria isolated from indigenous soil”, *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, **5**(1), pp.64-70, DOI: 10.6000/1927-5951.2015.05.01.10.
- [15] R. Gupta, A. Kumari, S. Sharma, et al. (2022), “Identification, characterization and optimization of phosphate solubilizing rhizobacteria (PSRB) from rice rhizosphere”, *Saudi Journal of Biological Sciences*, **29**(1), pp.35-42, DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.09.075.
- [16] D.H. Duyen, D.T. Thuy, N.T. Diep, et al. (2021), “Production of microbial organic fertilizer pellets from chicken manure”, *Agriculture & Rural Development*, **10**(1), pp.50-56 (in Vietnamese).
- [17] T.T.H. Hai, N.D. Thanh, T.T. Thanh (2017), “Evaluation of growth, development, and yield of some promising exotic tomato cultivars in winter - spring 2015-2016 in Thua Thien Hue”, *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development*, **126**(3C), pp.55-67, DOI: 10.26459/hueuni-jard.v126i3C.3752 (in Vietnamese).
- [18] N.T. Hien, D.T. Van, L.T. Thuy, et al. (2020), “Result of selection for imported tomato disease resistance lines/varieties in Gia Lam, Hanoi”, *Agriculture & Rural Development*, **3**, pp.118-124 (in Vietnamese).

Nghiên cứu, thử nghiệm công nghệ sóng âm bề mặt không dây thụ động để giám sát nhiệt độ trong các thiết bị dẫn điện cao áp

Lê Quốc Tuấn¹, Nguyễn Văn Đưa^{*}, Nguyễn Quốc Hưng¹, Nguyễn Hoàng Long¹, Nguyễn Thị Thu Hà², Nguyễn Thị Huệ²

¹Trung tâm Công nghệ Vi điện tử và Tin học, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Điện - Điện tử, Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Lê Đại Hành, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/7/2023; ngày chuyển phản biện 20/7/2023; ngày nhận phản biện 11/8/2023; ngày chấp nhận đăng 15/8/2023

Tóm tắt:

Bài báo trình bày về nghiên cứu và thiết kế hệ thống giám sát nhiệt thụ động sử dụng cảm biến nhiệt độ không dây dựa trên nguyên lý sóng âm bề mặt (Surface acoustic wave - SAW). Hệ thống giám sát được sử dụng trên các đối tượng cần được theo dõi phát nhiệt như ở các tiếp điểm đóng cắt, thanh cái và các kết nối cáp tại các tủ hợp bộ hoặc tủ trung thế RMU (Ring main unit). Cảm biến nhiệt độ SAW không dây được sử dụng trong nghiên cứu này chịu được các xung điện áp, còn được gọi là mức cách ly xung cơ bản (BIL - Basic impulse insulation level) và không cần cấp nguồn cho các cảm biến phù hợp với yêu cầu cao đối với các thiết bị lắp trong các tủ kín, tủ hợp bộ trung thế. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã tiến hành lựa chọn cảm biến, thiết kế chế tạo bộ truyền dữ liệu và xây dựng phần mềm. Kết quả thử nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy hệ thống hoạt động ổn định, sai số nhiệt độ nằm trong ngưỡng $\pm 2^\circ\text{C}$.

Từ khóa: cảm biến không dây thụ động, cảm biến nhiệt độ dựa trên nguyên lý sóng âm bề mặt, tủ hợp bộ.

Chỉ số phân loại: 2.2

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, các trạm cung cấp điện thường phải hoạt động ở hiệu suất cao và bị quá tải dẫn đến nhiều sự cố nguy hiểm, cũng như gây thiệt hại lớn về kinh tế. Trong năm 2012, một giờ mất điện ở Sở Thương mại Chicago, Mỹ đã gây thiệt hại hơn 20 tỷ USD do việc lưu thông buôn bán bị đình trệ. Công ty Sun Microsystems đánh giá cứ mỗi 1 phút mất điện tại Mỹ làm thiệt hại 1 triệu USD [1]. Nguyên nhân gây hỏng hóc tại các trạm điện có thể đến từ nhiều thiết bị như động cơ, máy phát điện, máy biến áp cũng như các bộ phận của hệ thống phân phối điện (kim điện, điểm kết nối, đường dây) do hiện tượng quá nhiệt hoặc do vật liệu hay do quá tải trong từng thiết bị. Các thiết bị trong tủ hợp bộ có thể bị quá nhiệt do tải quá nhiều, hao mòn và điều kiện môi trường hoạt động. Nếu không được giám sát, những điều kiện này có thể dẫn đến hỏng hóc, thiết bị đóng cắt và thiết bị xung quanh, tổn thất sản xuất điện, trong trường hợp nghiêm trọng, có thể gây thương tích tới người vận hành. Các chế độ hư hỏng phổ biến bao gồm nhiệt độ quá cao, phóng điện cục bộ và độ ẩm cao. Nhiệt độ cao có thể xảy ra ở các tiếp điểm đóng cắt, thanh cái và các kết nối cáp có xu hướng lỏng lẻo hoặc bị ăn mòn theo thời gian. Các lỗi tăng nhiệt không được phát hiện như thế này sẽ tăng cường quá trình oxy hóa và sinh nhiệt dẫn đến cháy, bong tróc, nóng chảy và ăn mòn vật liệu cách nhiệt. Nếu không xác định và kiểm soát kịp thời, mức độ quá nhiệt sẽ ảnh hưởng lớn đến vật liệu bảo vệ và tuổi thọ thiết bị trong tủ hợp bộ. Nguy cơ nổ thiết bị đóng cắt có thể làm ảnh hưởng đến an toàn.

Việc giám sát nhiệt độ là một phương pháp để phát hiện các sự cố của thiết bị trong tủ hợp bộ, bên cạnh việc giám sát phóng điện cục bộ. Một thách thức trong việc thực hiện giám sát nhiệt độ liên tục của các điểm kết nối quan trọng (thiết bị đóng cắt, thanh cái và kết nối cáp) là các cảm biến phải chịu được các xung điện áp, còn được gọi là mức cách ly xung cơ bản. Do đó, cần phải đảm bảo khoảng cách tối thiểu giữa các dây dẫn, cảm biến... để tránh đánh thủng. Một khó khăn khác là cấp nguồn cho các cảm biến để hạn chế yêu cầu bảo trì thường xuyên các thiết bị này. Việc sử dụng các hệ thống giám sát nhiệt độ tiếp xúc trực tiếp, chẳng hạn như cặp nhiệt điện và nhiệt điện trở, là rất khó khăn vì chúng dễ bị nhiễu điện từ/nhiều tần số vô tuyến trong môi trường điện áp cao. Vì vậy, các hệ thống đo không tiếp xúc như cảm biến sợi quang, cảm biến hồng ngoại hoặc cảm biến tiếp xúc trực tiếp không dây thường được sử dụng để giám sát nhiệt độ trong tủ hợp bộ trung thế và hạ thế.

Phương pháp thường sử dụng nhất để đo các điểm phát nhiệt là sử dụng các máy soi chiếu hồng ngoại bằng tay để kiểm tra các điểm phát nhiệt [2, 3]. Tuy nhiên, phương pháp này có một số nhược điểm như hạn chế về số điểm đo, không giám sát được các điểm bị che khuất, khi điện áp quá cao hoặc bức xạ nhiệt quá mạnh có thể gây hại cho người kiểm tra, việc kiểm tra toàn bộ các điểm phát nhiệt thường xuyên khó có thể thực hiện. Ngoài ra, các hệ thống này thường đắt tiền và khó cài đặt.

Trong một số trạm, các điểm phát nhiệt được kiểm tra bằng hệ thống cảm biến nhiệt độ sợi quang [4, 5]. Các cảm biến được gắn chặt vào các vị trí điểm nóng và hoàn toàn miễn nhiễm với nhiễu điện từ hoặc các hiện tượng nhiễu do chuyển mạch điện

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenduabka@gmail.com

Research and experiment the wireless passive surface acoustic wave technology for conductor temperature monitoring of high voltage equipment

Quoc Tuan Le¹, Van Dua Nguyen^{1*}, Quoc Hung Nguyen¹,
Hoang Long Nguyen¹, Thi Thu Ha Nguyen², Thi Hue Nguyen²

¹Center for Microelectronics and Information Technology,

National Center for Technological Progress,

C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²School of Electrical and Electronic Engineering,

Hanoi University of Science and Technology,

1 Dai Co Viet Street, Le Dai Hanh Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

Received 18 July 2023; revised 11 August 2023; accepted 15 August 2023

Abstract:

This paper presents the research and design of a passive thermal monitoring system using wireless temperature sensors based on the principle of surface acoustic wave (SAW). The monitoring system is employed on components that need to be monitored for heat generation, including switch contacts, busbars, and cable connections at switchgears or ring main units (RMUs). The basic impulse insulation level (BIL), or voltage spike tolerance, of the wireless SAW temperature sensor utilised in this study, means that it is not necessary to power it with sensors that meet the high criteria for equipment installed in closed cabinets or medium voltage cabinets. The research team's activities in this study included software development, data transmission design and manufacture, and sensor selection. The system functions steadily, with a temperature error of no more than 2°C, according to the test findings under laboratory settings.

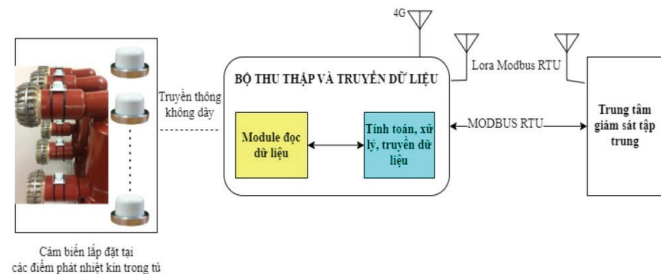
Keywords: passive surface acoustic temperature sensor, switchgears, wireless and passive sensor.

Classification number: 2.2

áp cao gây ra. Tuy nhiên, kết nối dây rất phức tạp và sử dụng cáp quang thì quá tốn kém.

Để giải quyết một phần các nhược điểm trên, trong nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất sử dụng công nghệ cảm biến nhiệt độ không dây thụ động dựa trên nguyên lý sóng âm bề mặt [6-9]. Chúng tôi sử dụng cảm biến và mô-đun đọc dữ liệu cảm biến không dây thụ động thương mại và tập trung vào thiết kế bộ thu thập, truyền dữ liệu về trung tâm, xây dựng phần mềm theo dõi, giám sát các thông số nhiệt độ trả về của cảm biến. Các thí nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm với các điều kiện thử nghiệm về thay đổi nhiệt độ, thử nghiệm trong điều kiện hoạt động khi có điện áp cao cho thấy hệ thống hoạt động ổn định, cảm biến hoạt động được trong điều kiện điện áp cao phù hợp trong bài toán giám sát phát nhiệt trong các thiết bị trung và cao áp trong tủ hợp bộ, tủ trung áp.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

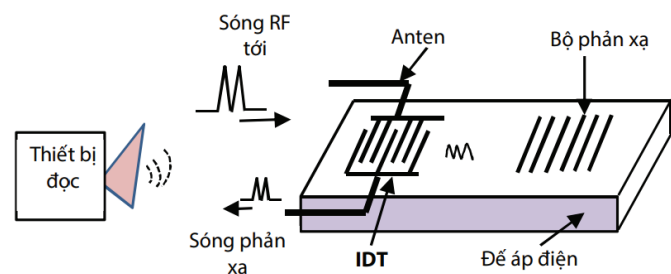


Hình 1. Sơ đồ khối hệ thống giám sát nhiệt.

Nhóm nghiên cứu đề xuất một mô hình hệ thống giám sát nhiệt tủ kín sử dụng cảm biến không dây thụ động (hình 1) gồm 3 thành phần như sau:

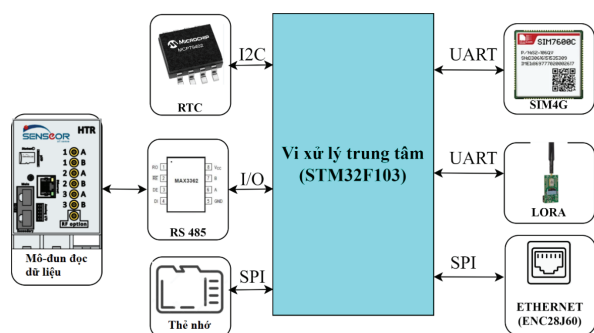
2.1. Khối cảm biến

Bộ 6 cảm biến SAW tiếp xúc trực tiếp vào điểm cần đo và được bố trí bên trong tủ kín, tủ trung áp. Nguyên lý của cảm biến thụ động không dây dạng sóng âm bề mặt được thể hiện ở hình 2. Một số nghiên cứu cho thấy, sóng vô tuyến không dây từ bộ đọc dữ liệu được truyền đến cảm biến thông qua anten gắn trên cảm biến, sau đó đưa qua bộ IDT (Inter-digital transducer) [10, 11]. Dựa trên tính chất của vật liệu áp điện, điện áp giữa các chân IDT sẽ gây ra biến dạng bề mặt của vật liệu nên tạo ra sóng âm lan truyền trên bề mặt. Các sóng lan truyền tới các bộ phận phản xạ, một phần sóng này sẽ phản xạ theo hướng ngược lại và lan truyền đến IDT. Tại đây, các tín hiệu cơ biến đổi thành tín hiệu điện và phát đi qua anten. Các thiết bị đọc sẽ căn cứ vào thời gian trễ, sự khác biệt về tần số hoặc pha sóng RF phát ra và sóng RF phản xạ trở về để tính toán ra giá trị đo trả về. Khi có sự thay đổi của nhiệt độ trên cảm biến, vận tốc truyền sóng và độ trễ của sóng phản xạ sẽ thay đổi [12, 13]. Phân tích trên miền thời gian của đầu đọc sẽ đưa ra được giá trị nhiệt độ của cảm biến trả về.



Hình 2. Sơ đồ nguyên lý của cảm biến thụ động không dây dạng sóng âm bề mặt [10].

Cảm biến SAW TSA EV01 của SENSEOR được chúng tôi lựa chọn sử dụng trong hệ thống này. Cảm biến đo được nhiệt độ đo từ -25 đến 150°C, đảm bảo tương thích trường điện từ IEC 62271, chịu được điện áp cao lên đến trên 500 kV, miễn nhiễm với xung sét [14]. Mỗi cảm biến được thiết kế có tần số cộng hưởng khác nhau trong dải tần số từ 430,60 đến 449,00 MHz.

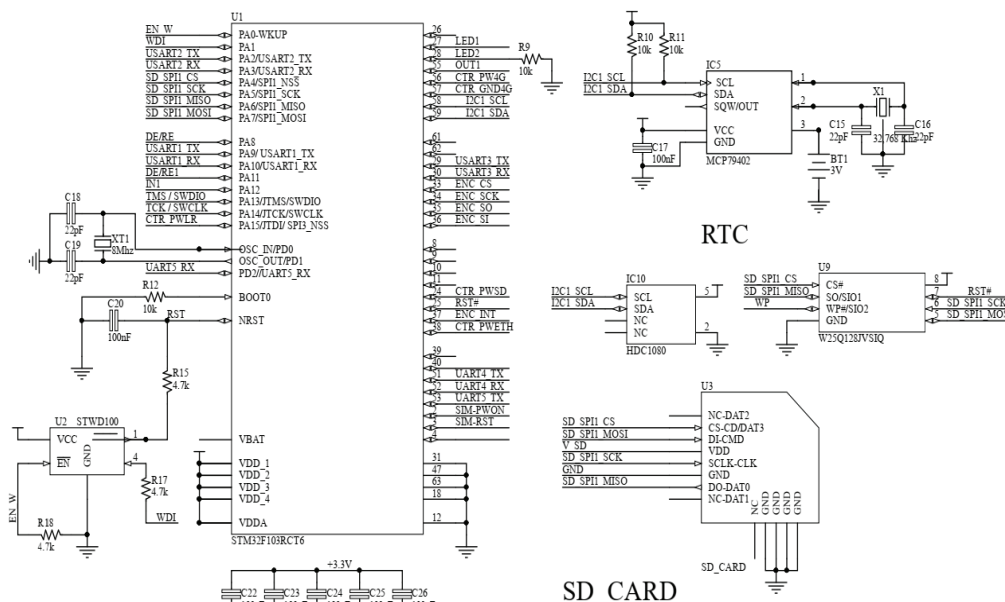


Hình 3. Sơ đồ khối thu thập và truyền dữ liệu.

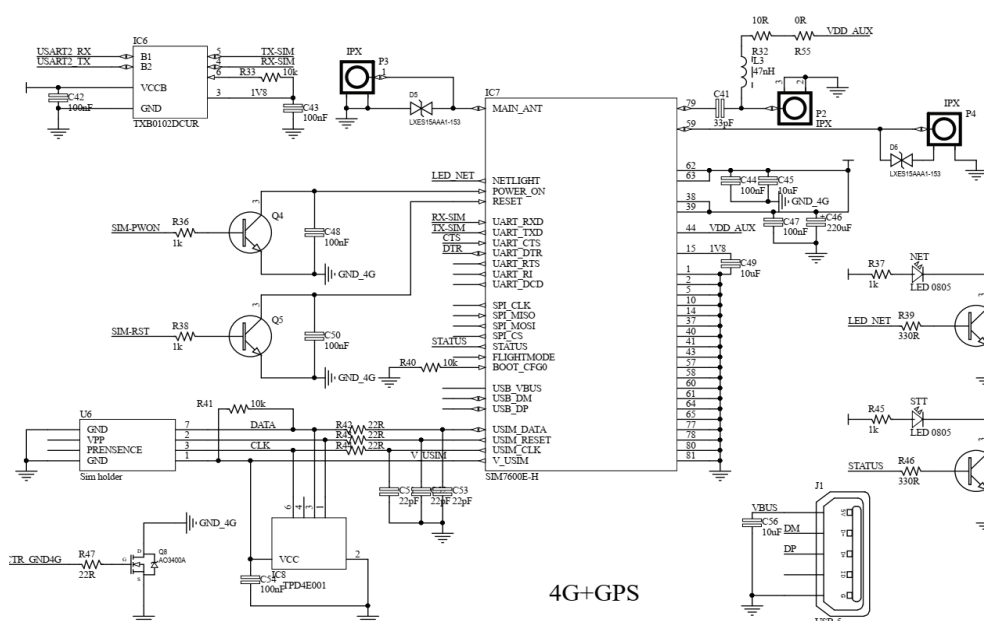
2.2. Bộ thu thập và truyền dữ liệu

Bộ phận này có chức năng kết nối với mô-đun đọc dữ liệu từ cảm biến sóng âm bề mặt (HTR02-6AWS của Hãng SENSEOR) thông qua chuẩn truyền thông RS485, xử lý dữ liệu và truyền dữ liệu thu thập được về phần mềm trung tâm. Mô-đun đầu đọc dữ liệu sẽ gửi tín hiệu RF đã được điều chế qua anten phát đến từng cảm biến và thu được tín hiệu RF trả về để tính toán xử lý trả ra giá trị nhiệt độ. Mỗi cặp anten sẽ giao tiếp được với 6 cảm biến. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thiết kế bộ thu thập dữ liệu có chức năng đọc dữ liệu nhiệt

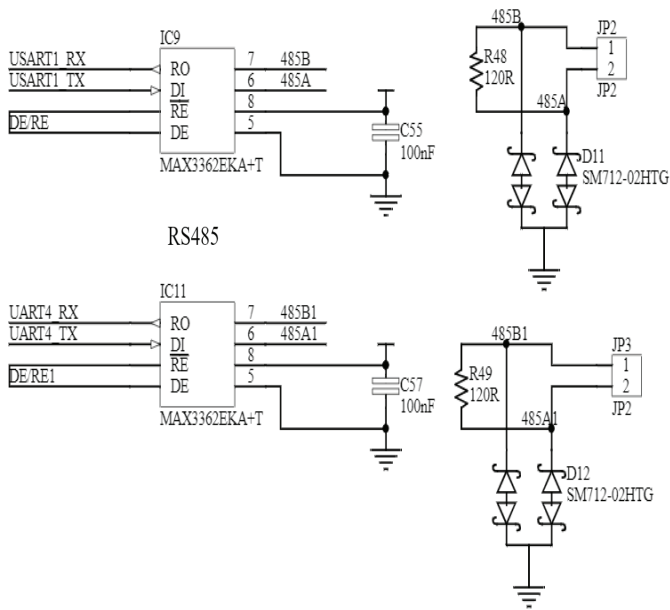
độ trả về từ mô-đun HTR02-6AWS thông qua chuẩn truyền thông Modbus RTU và truyền dữ liệu lên server. Phần mềm quản lý từ xa các tín hiệu cảnh báo được nhóm nghiên cứu thiết kế trên nền tảng website. Trong trường hợp cần kết nối giám sát tại chỗ và không có kết nối mạng internet, thiết bị có thể truyền dữ liệu về trung tâm giám sát tập trung thông qua chuẩn truyền thông Lora hoặc chuẩn truyền thông RS485 sử dụng giao thức Modbus RTU. Sơ đồ khối của bộ thu thập và truyền dữ liệu được thể hiện ở hình 3. Bộ thu thập và truyền dữ liệu sử dụng vi xử lý trung tâm STM32F103. MAX3362 được lựa chọn để thiết kế khối giao tiếp RS485 với mô-đun HTR02-6AWS. Để truyền dữ liệu về server, chúng tôi sử dụng SIM7600 của SIMCOM có chuẩn kết nối 4G và có tích hợp định vị vệ tinh. Để lưu trữ dữ liệu tại chỗ, chúng tôi đã thiết kế đồng thời giải pháp lưu trữ bằng thẻ nhớ và sử dụng chip nhớ FLASH MCP79402. Hình 4 đến 6 thể hiện chi tiết sơ đồ nguyên lý các khối chức năng được thiết kế.



Hình 4. Sơ đồ nguyên lý khối vi xử lý trung tâm và lưu trữ.



Hình 5. Sơ đồ nguyên lý khối truyền thông 4G và định vị vệ tinh.



Hình 6. Sơ đồ nguyên lý khối truyền thông RS485.

2.3. Phần mềm giám sát tập trung trên máy tính

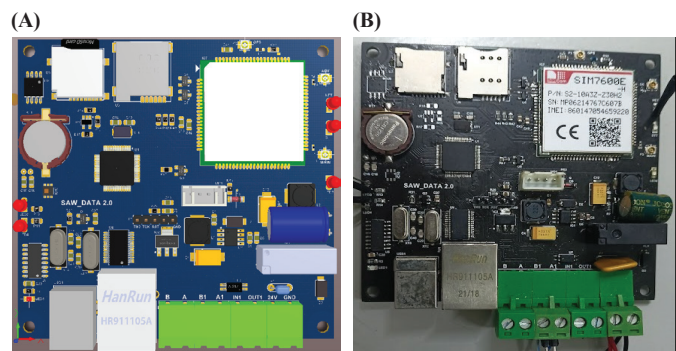
Phần mềm giám sát được phát triển trên hệ thống server lưu trữ dữ liệu, phần mềm theo dõi trên các nền tảng website. Phần mềm có tính năng hiển thị dữ liệu nhiệt độ theo thời gian thực của từng điểm đo kèm theo vị trí đặt cảm biến. Theo yêu cầu thực tế tại Tập đoàn Điện lực Việt Nam, dựa trên độ chênh nhiệt $\Delta T = T_{do} - T_{min}$ (trong đó, T_{do} là nhiệt độ điểm đo, T_{min} là nhiệt độ thấp nhất trả về của các cảm biến), phần mềm sẽ đưa ra cảnh báo tình trạng các điểm ở bảng 1 và các hành động khuyến cáo kèm theo. Bên cạnh đó, phần mềm còn có chức năng vẽ đồ thị theo thời gian để người dùng có thể phân tích xu thế tăng nhiệt độ và đưa ra các hành động bảo trì, sửa chữa.

Bảng 1. Đánh giá độ chênh lệch nhiệt độ lớn nhất và đưa ra cảnh báo đối với các vị trí giám sát nhiệt ở máy biến áp.

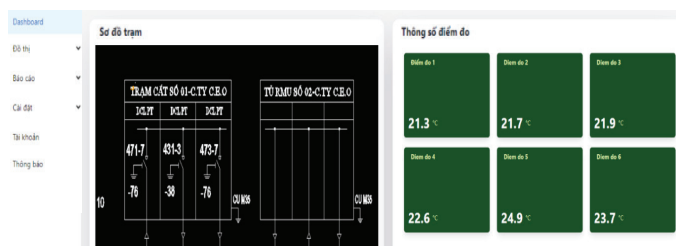
Kết quả [°C]	Tình trạng	Điểm	Hành động
$\Delta T \leq 5$	Tốt	3	Duy trì tần suất lấy dữ liệu nhiệt độ 30 phút/lần.
$5 < \Delta T \leq 10$	Khá	2	Đưa ra tín hiệu cảnh báo. Tăng tần suất lấy dữ liệu nhiệt độ 5 phút 1 lần.
$10 < \Delta T \leq 15$	Trung bình	1	Đưa ra tín hiệu cảnh báo xấu và yêu cầu sửa chữa bảo dưỡng. Tăng tần suất lấy dữ liệu nhiệt độ 1 phút/lần.
$15 < \Delta T$	Xấu	0	

3. Kết quả

Hình 7 thể hiện mạch in thiết bị truyền dữ liệu và hình ảnh sản phẩm sau khi thiết kế, gia công và tích hợp. Hình 8 thể hiện giao diện phần mềm theo dõi và giám sát tại trung tâm.



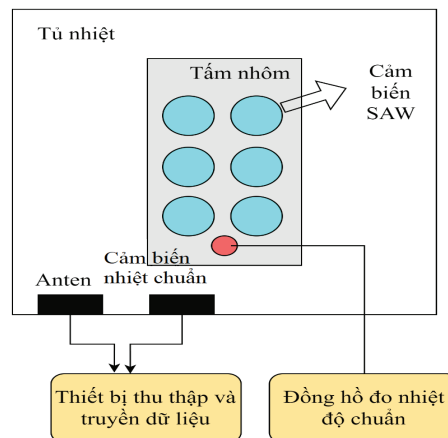
Hình 7. Hình ảnh 3D (A) và hình ảnh mạch thu thập dữ liệu sau khi gia công (B).



Hình 8. Giao diện phần mềm theo dõi và giám sát nhiệt độ.

Để tiến hành đánh giá hoạt động của cảm biến và hệ thống thiết bị theo dõi nhiệt độ đã chế tạo, chúng tôi thực hiện các bài thử nghiệm mô phỏng tình huống sử dụng thiết bị trong thực tế như sau:

Thử nghiệm đánh giá sai số nhiệt độ của cảm biến: Nghiên cứu đã tiến hành đặt 6 cảm biến nhiệt độ SAW trên tấm nhôm dày đồng chất và đặt trong tủ gia nhiệt Carbolite Gero AX 120. Dải nhiệt độ có thể điều chỉnh từ nhiệt độ phòng đến 250°C, độ ổn định 0,5°C. Mô hình thử nghiệm thể hiện ở hình 9. Để có thể đánh giá chính xác sai số của cảm biến, chúng tôi sử dụng đồng hồ đo đa năng Keithly DMM6500 và cảm biến RTD với sai số 0,1°C để làm giá trị tham chiếu. Tiến hành cài đặt tủ gia nhiệt ở các nhiệt độ 40, 80, 100 và 140°C, sau đó ghi lại giá trị từ đồng hồ đo nhiệt chuẩn và các giá trị của cảm biến.



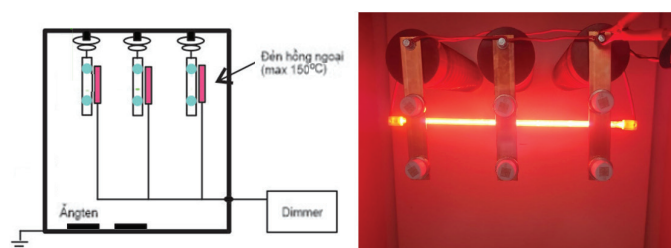
Hình 9. Thử nghiệm đánh giá sai số nhiệt độ của cảm biến.

Bảng 2 thể hiện kết quả thử nghiệm đánh giá sai số nhiệt độ của cảm biến. Kết quả cho thấy, sai số nhiệt độ của cảm biến lớn nhất là 2°C, phù hợp với công bố của nhà sản xuất.

Bảng 2. Kết quả nhiệt độ của cảm biến khi thay đổi nhiệt độ môi trường.

Nhiệt độ chuẩn (°C)	Nhiệt độ CB1	Nhiệt độ CB2	Nhiệt độ CB3	Nhiệt độ CB4	Nhiệt độ CB5	Nhiệt độ CB6	Sai số tuyệt đối lớn nhất (°C)	Sai số tương đối (%)
38,10	38,5	37,8	37,7	37,7	38,3	37,7	0,4	1,1
78,13	78,8	77,8	77,4	77,7	78,5	78,5	0,8	1,0
98,02	99,1	97,5	97,9	98,1	98,5	98,4	1,1	1,1
136,4	138,4	136,7	137,7	137,2	137,7	137,5	2,0	1,5

Thử nghiệm hoạt động của cảm biến khi có điện áp cao: Trong thử nghiệm này, tủ điện được thiết kế sử dụng các thanh đồng để dẫn điện áp cao từ bộ phát cao áp AC phenix 6CP120/50-7.5 và hoạt động ở chế độ không tải. Các cảm biến được gắn lên các thanh đồng và cách nhau khoảng 15 cm (hình 10). Trong nghiên cứu này, để đảm bảo an toàn nhóm sử dụng bộ phát cấp điện áp vào theo ngưỡng 10, 20 và 30 kV. Sau đó đọc giá trị nhiệt độ của các cảm biến thông qua phần mềm đã được thiết kế. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.



Hình 10. Mô hình thử nghiệm đánh giá hoạt động của cảm biến trong môi trường điện áp cao.

Bảng 3. Kết quả của cảm biến khi thay đổi điện áp đặt.

Điện áp (kV)	Nhiệt độ CB1 (°C)	Nhiệt độ CB2 (°C)	Nhiệt độ CB3 (°C)	Nhiệt độ CB4 (°C)	Nhiệt độ CB5 (°C)	Nhiệt độ CB6 (°C)
10,0	25,1	25,0	25,0	24,9	25,1	25,2
20,0	25,1	25,3	25,3	25,0	25,1	25,0
30,0	25,2	25,1	25,2	25,4	25,2	25,3

Từ kết quả bảng 3 có thể thấy, hệ thống vẫn hoạt động ổn định trong môi trường điện áp cao. Giá trị nhiệt độ trả về của cảm biến dao động quanh ngưỡng 25°C. Trong thí nghiệm này, nghiên cứu không tiến hành đặt cảm biến nhiệt độ chuẩn để tham chiếu do thí nghiệm với điện áp cao nên việc lắp đặt các cảm biến chuẩn có dây không đảm bảo an toàn.

4. Kết luận

Bài báo trình bày về nghiên cứu, thiết kế hệ thống giám sát nhiệt không dây ứng dụng trong tủ phát nhiệt kín và một số thử nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm. Qua quá trình thử nghiệm tại các nhiệt độ khác nhau, các cảm biến SAW cho giá trị chính xác với sai số nhỏ hơn $\pm 2^\circ\text{C}$. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi được đặt vào không gian hẹp và khép kín cảm biến hoạt động rất tốt và trả về các giá trị nhiệt độ với độ đáp ứng nhanh. Hệ

thống hoạt động tốt trong điều kiện điện áp cao, phù hợp với các ứng dụng giám sát nhiệt độ trong các tủ hợp bộ, tủ RMU trung áp. Trong thời gian tới, chúng tôi sẽ tập trung thử nghiệm giám sát các điểm phát nhiệt tại thanh cái, điểm đấu nối tại tủ hợp bộ hoặc tủ trung áp để đánh giá hiệu quả của hệ thống và tích hợp thêm các tính năng theo dõi dòng điện, điện áp để xây dựng bộ dữ liệu phục vụ quá trình quản lý, vận hành hệ thống.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Bộ Khoa học và Công nghệ theo Hợp đồng số 15/2021/HĐ-ĐTCB ký ngày 10/06/2021. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Godina, E.M.G. Rodrigues, J.C.O. Matias, et al. (2015), "Effect of loads and other key factors on oil-transformer ageing: Sustainability benefits and challenges", *Energies*, **8**(10), pp.12147-12186, DOI: 10.3390/en81012147.
- [2] Z. Yan, X. Yu, W. Ding (2017), "Context-aware verifiable cloud computing", *IEEE Access*, **5**, pp.2211-2227, DOI: 10.1109/ACCESS.2017.2666839.
- [3] Y. Yan, D. Qi, H. Gu (2017), "A real-time ir-fusion switchgear contact monitoring system (SCMS)", *IEEE Access*, **5**, pp.12114-12124, DOI: 10.1109/ACCESS.2017.2698060.
- [4] Y. Ding, X. Dai, T. Zhang (2010), "Low-cost fiber-optic temperature measurement system for high-voltage electrical power equipment", *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, **59**(4), pp.923-933, DOI: 10.1109/TIM.2009.2030930.
- [5] Y. Li, W. Cheng (2010), "A novel temperature monitoring system based on FBG for switchgear", *2010 Asia-Pacific Power and Energy Engineering Conference*, pp.1-4, DOI: 10.1109/APPEEC.2010.5448990.
- [6] M.A.M. Cavaco, M.E. Benedet, L.R. Neto (2011), "Temperature measurements on hot spots of power substations utilizing surface acoustic wave sensors", *International Journal of Thermophysics*, **32**, pp.2343-2350, DOI: 10.1007/s10765-011-1080-1.
- [7] G. Ostermayer (2001), "Correlative signal processing in wireless SAW sensor applications to provide multiple-access capability", *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, **49**(4), pp.809-816, DOI: 10.1109/22.915468.
- [8] A. Pohl (2000), "A review of wireless SAW sensors", *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, **47**(2), pp.317-332, DOI: 10.1109/58.827416.
- [9] X. Ma, H. Zou, T. Xu (2014), "The online temperature measurement system for substation equipment based on the internet of things (IoT)", *Modern Applied Science*, **8**(3), pp.217-222, DOI: 10.5539/mas.v8n3p217.
- [10] N.T. Ha, P.V. Minh, D.D. Phu (2018), "The introduction to passive wireless sensors based on surface acoustic wave and an orientation of application in power transmission systems", *Journal of Science and Technology - Hanoi University of Industry*, **48**, pp.12-15 (in Vietnamese).
- [11] N.T. Ha, T.V. Thai, T.L. Cung, et al. (2023), "A calculation method of the passive wireless surface acoustic wave sensor response phase", *Bulletin of Electrical Engineering and Informatics*, **12**(1), pp.86-97, DOI: 10.11591/eei.v12i1.4068.
- [12] R. Fachberger, G. Bruckner, R. Hauser, et al. (2006), "Wireless SAW based high-temperature measurement systems", *2006 IEEE International Frequency Control Symposium and Exposition*, pp.358-367, DOI: 10.1109/FREQ.2006.275412.
- [13] X. Gao, L. Cheng, X. Xue, et al. (2021), "Development of wireless and passive SAW temperature sensor with very high accuracy", *Applied Sciences*, **11**(16), DOI: 10.3390/app11167422.

Nguồn phát cho máy hàn siêu âm sử dụng màng rung gồm áp điện ứng dụng hàn trên chất liệu vải không dệt

Trần Văn Hiệp^{1*}, Vũ Minh Thoại¹, Nguyễn Huy Khấn¹, Vũ Xuân Mạnh¹,
Nguyễn Huy Công¹, Nguyễn Đăng Co², Bùi Đình Tứ², Nguyễn Hải Bình³

¹Trung tâm Công nghệ Vi điện tử và Tin học, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Vật lý Kỹ thuật và Công nghệ Nano, Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/7/2023; ngày chuyển phản biện 6/7/2023; ngày nhận phản biện 27/7/2023; ngày chấp nhận đăng 31/7/2023

Tóm tắt:

Bài báo trình bày việc thiết kế và chế tạo nguồn phát cho máy hàn siêu âm sử dụng màng rung gồm áp điện ứng dụng hàn trên chất liệu vải không dệt. Một màng rung siêu âm (UVB) được đo đặc khảo sát các thông số làm cơ sở cho việc chế tạo bộ dao động cơ khí cho đầu hàn siêu âm (USTW). Nguồn phát siêu âm (USPG) được chế tạo bằng các linh kiện cao tần và linh kiện công suất để cấp nguồn dao động điện cho UVB. Nguồn phát dao động này phải phù hợp với USTW thì mới có thể hoạt động với hiệu suất tối đa. Do ảnh hưởng của quá trình sản xuất và môi trường sử dụng USTW, nên trong quá trình hoạt động, tần số cộng hưởng (f_r) sẽ bị thay đổi. Vì vậy, USPG cần phải theo dõi tần số của USTW tự động. Việc kết hợp trở kháng của USTW và USPG là rất quan trọng để có thể sử dụng tối đa công suất USPG. Kết quả chế tạo cho thấy, việc sử dụng ngoại vi đếm thời gian độ phân giải cao (HRTIM) để tạo tần số điều khiển cho USPG đạt độ chính xác cao với sai số lớn nhất là 0,006% ở 18401,12 Hz khi được khảo sát ở dải 18-22 kHz. Các thông số về độ trễ tín hiệu điều khiển giữa hai pha và độ rộng xung cũng cho kết quả rất tốt. Mạng phối hợp trở kháng (IM) cũng cho thấy khả năng khai thác tốt USPG khi được so sánh với USPG không sử dụng IM.

Từ khóa: gồm áp điện, hàn siêu âm, nguồn cho máy hàn siêu âm.

Chỉ số phân loại: 2.3

1. Đặt vấn đề

Kỹ thuật chuyển đổi điện năng thành dao động bằng sóng siêu âm được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau như xử lý nước [1, 2], y tế [3], kiểm tra vật liệu [4], định vị và hướng dẫn [5], hình ảnh quang âm [6]..., một ứng dụng phổ biến sử dụng kỹ thuật này là trong các hệ thống hàn siêu âm. Hàn siêu âm là một kỹ thuật nối nhanh, hiệu quả và không cần chất bổ sung. Mỗi nối được hình thành bằng cách sử dụng năng lượng siêu âm để nóng chảy cục bộ vật liệu liên kết, tạo ra một khớp nối bền và chắc chắn. Quá trình này nhanh hơn nhiều so với các kỹ thuật nối khác, chẳng hạn như hàn điện hoặc hàn khí và không yêu cầu sử dụng các vật liệu bổ sung. Điều này dẫn đến giảm chi phí và tăng năng suất. Do vậy trong những năm gần đây, kỹ thuật hàn bằng công nghệ siêu âm cho các phân tử nhựa, lá kim loại mỏng và vải không dệt đã phát triển nhanh chóng và được ứng dụng nhiều trong công nghiệp sản xuất [7, 8]. Các hệ thống máy hàn siêu âm thường có công suất vài kW và hoạt động ở tần số 20-70 kHz. Trong một hệ thống hàn siêu âm ngoài USPG và USTW thì còn đi kèm với nó là các hệ cơ khí, thủy lực và hệ thống điều áp, tuy nhiên USPG và USTW vẫn là thành phần quan trọng của hệ thống máy hàn. Nghiên cứu của I. Jones (2013) [9] chỉ ra rằng, trong hệ thống hàn siêu âm thì USTW được coi là linh kiện cốt lõi của công nghệ này vì chúng đóng vai trò chuyển đổi năng lượng điện từ USPG thành các rung động cơ học. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu khác thì cho rằng, USPG là thiết bị cốt lõi của hệ thống hàn siêu âm công suất cao [10] và

yếu tố quan trọng nhất là khả năng theo dõi tần số của USPG [11, 12]. Ngoài ra các yếu tố khác như: độ phân giải của tần số, hiệu suất truyền tải giữa USPG và USTW cũng đóng vai trò quan trọng trong một thiết bị USPG.

Nghiên cứu này trình bày thiết kế của một thiết bị USPG, bao gồm bộ tạo tần số bằng HRTIM có độ giải cao kết hợp với mạch khuếch đại công suất sử dụng cho khuếch đại dạng sóng cấp nguồn dao động cho USTW; IM được đặt giữa USPG và USTW để tối ưu hiệu suất truyền tải; USPG được tích hợp một phương pháp kiểm soát tần số mới bằng cách sử dụng ngoại vi PWM (Pulse - width modulation) và các Input capture trên vi điều khiển để theo dõi tần số cộng hưởng của USTW một cách chính xác.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế này gồm 5 phần chính bao gồm: đo đặc khảo sát vòng gồm áp điện và trở kháng UTW (Unbalanced termination wave), tạo tần số bằng HRTIM, mạch công suất, IM và theo dõi tần số tự động. Cụ thể, thông số khảo sát vòng gồm áp điện và trở kháng đầu dò siêu âm được đo bằng máy đo chuyên dụng, trong khi bộ khuếch đại công suất và mạng phối hợp được thiết kế với linh kiện bán dẫn công suất lớn. Tần số mạch điều khiển được lập trình thông qua vi xử lý STM32, kết hợp với các mạch xử lý tín hiệu để theo dõi tần số cộng hưởng của đầu dò thông qua độ lệch pha của điện áp và dòng điện.

*Tác giả liên hệ: Email: hieptv58@vnu.edu.vn

Design ultrasonic power generators for welding machines using piezoelectric ceramic materials for welding on non-woven fabrics

Van Hiep Tran^{1*}, Minh Thoai Vu¹, Huy Khan Nguyen¹,
Xuan Manh Vu¹, Huy Cong Nguyen¹, Dang Co Nguyen²,
Dinh Tu Bui², Hai Binh Nguyen³

¹Center for Microelectronics and Information Technology,
National Center for Technological Progress, Ministry of Science and Technology,
C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Engineering Physics and Nanotechnology, University of Engineering
and Technology, Vietnam National University, Hanoi,

144 Xuan Thuy Street, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³Institute of Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 3 July 2023; revised 27 July 2023; accepted 31 July 2023

Abstract:

This paper presents the design and manufacture of ultrasonic emitters for welding machines using piezoelectric ceramic materials for welding on non-woven fabrics. The ultrasonic vibrating membrane (UVB) used for the transducer is investigated to ensure that there are no cracks in the material structure. These parameters serve as the basis for evaluating the quality of the ultrasonic vibrating membrane in the fabrication of an oscillator for ultrasonic transducer welding (USTW). The ultrasonic power generator (USPG) is made of high-frequency components and power components to supply electrical oscillations to the UVB. This vibrating source must be compatible with the USTW to operate at maximum efficiency. Due to the influence of the manufacturing process and USTW usage environment, after operating for a long time, the resonant frequency (f_r) will be changed. Therefore, the USPG needs to monitor the frequency of the USTW automatically. Matching the impedance of USTW and USPG is very important to get the most out of USPG power. The fabrication results show that the use of high-resolution timer to generate the control frequency for USPG achieves high accuracy, with the largest error of 0.006% at 18401.12 Hz when surveyed in the range of 18 to 22 kHz. The parameters of control signal delay between two phases and pulse width also give very good results. Impedance-matching (IM) networks also show good exploitation of USPG when compared to USPG without IM.

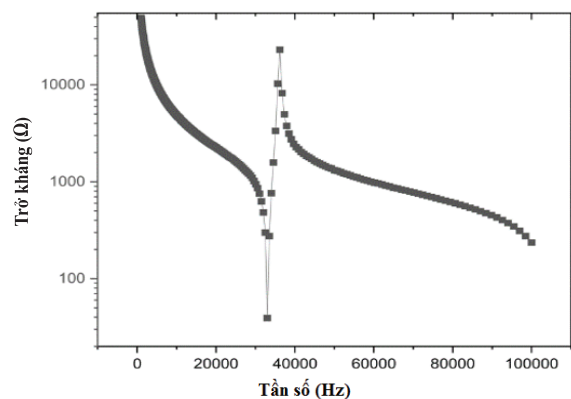
Keywords: piezoelectric ceramic, ultrasonic power generator, ultrasonic welding.

Classification number: 2.3

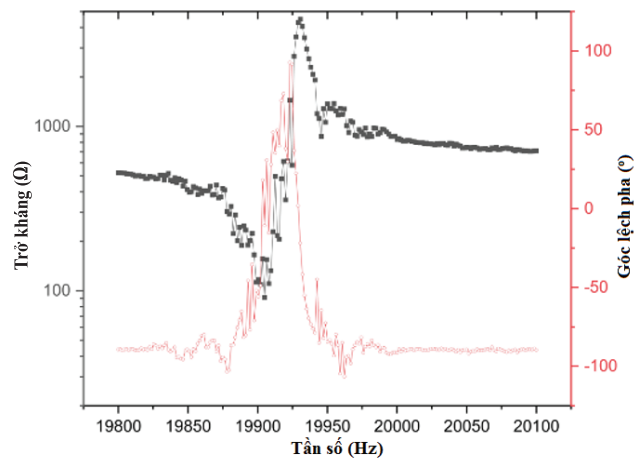
2.1. Đo đặc khảo sát vòng gồm áp điện và trở kháng đầu dò siêu âm

Dựa trên kết quả khảo sát sự phụ thuộc của trở kháng vào tần số của vòng gồm áp điện trên máy TEGAM Programmable LCR Meter 3550 trong khoảng 1-100 kHz (hình 1A), nhận thấy rằng, tấm gồm áp điện chỉ có một điểm cộng ở tần số 33 kHz và không có bất kỳ điểm cộng hưởng nào khác, điều này cho thấy tấm gồm áp điện không bị nứt gãy bên trong cấu trúc và đạt yêu cầu để dùng cho việc lắp ráp vào UTW. Từ kết quả đo (hình 1B), tần số cộng hưởng của UTW được xác định là $f_r \approx 19,905$ kHz, trở kháng $\approx 80 \Omega$ và giá trị dung tích C_0 của đầu dò được đo ở tần số 1 kHz là 10 nF, các thông số của UTW làm cơ sở để tính toán mạch IM và công suất của USPG.

(A)



(B)



Hình 1. Kết quả phân tích tính chất trở kháng theo tần số trên máy đo TEGAM Programmable LCR Meter 3550. (A) Sự phụ thuộc của trở kháng theo tần số của vòng gồm áp điện; (B) Sự phụ thuộc của trở kháng và góc lệch pha theo tần số của UTW.

2.2. Tạo tần số bằng HRTIM

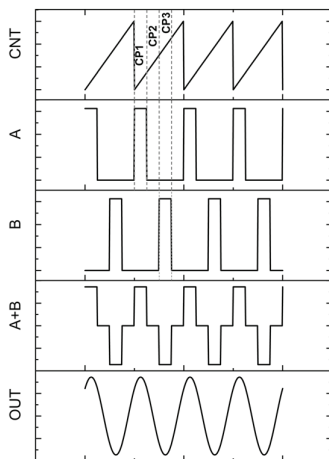
HRTIM là một ngoại vi đếm thời gian cao độ phân giải trong một số dòng vi điều khiển STM32 của STMicroelectronics. Nó được thiết kế để cung cấp các tín hiệu PWM và các tín hiệu đếm thời gian khác, có độ chính xác và phân giải cao.

Để tạo tín hiệu tần số bằng HRTIM, cần sử dụng chế độ Output compare của ngoại vi này. Output compare cho phép so sánh giá trị đếm của timer với một giá trị định trước và sinh ra một tín hiệu PWM tương ứng. Nguyên lý tạo tần số bằng phương pháp này được mô tả ở hình 2, sử dụng các giá trị CP_1 , CP_2 , CP_3 để tạo ra xung có độ trễ và độ rộng xung khác. Giá trị đếm (Counter - CNT) trong HRTIM xác định theo tần số (f) và tỷ lệ công suất (duty) là:

$$CNT = \frac{HRTIM_{CLK}}{f}; CP_1 = \frac{CNT \times \text{duty}}{2 \times 100}; CP_2 = \frac{CNT}{2}; CP_3 = CP_2 + CP_1$$

Độ phân giải của phương pháp tạo tần số bằng HRTIM theo tính toán lý thuyết là $3 \times 10^{-5} \times f \times 0,3442$ với f là tần số mong muốn, như vậy độ phân giải của tần số trong khoảng 18-22 kHz là 0,3-0,5 Hz. Do sử dụng thanh ghi 32 bit và $HRTIM_{CLK} = 1,152 \text{ GHz}$ nên độ rộng xung có thể điều khiển ở độ chính xác rất cao.

Độ chính xác của tần số của phương pháp này được kiểm nghiệm cách đo tín hiệu tần số trên máy hiện sóng Agilent DSO8064A.



Hình 2. Minh họa dạng sóng của phương pháp tạo tần số bằng HRTIM với CNT là chu kỳ đếm của HRTIM. A và B là tín hiệu ra kênh A, B; A+B là dạng tín hiệu đầu ra trên mạch cầu IGBT khi kết hợp 2 kênh điều khiển; OUT là dạng sóng qua mạch IM.

2.3. Mạch công suất

Do thiết bị xác định với một loại đầu dò ở tần số cố định trong dải nhỏ và sử dụng phương pháp tạo tần số bằng HRTIM với tần số chuyển mạch ở mức trung bình. Mặt khác, các thành phần cảm kháng trong IM có thể gây ra dòng điện ký sinh với điện áp cao, do vậy các IGBT được sử dụng để làm thiết bị chuyển mạch trong phần công suất. IGBT với model là STGW40H120DF2 từ STMicroelectronics được lựa chọn trong thiết kế mạch công suất. Với điện áp cho mạch công suất là 320 VDC, dòng định của IGBT $I_p = 160 \text{ A}$, $I_f = 80 \text{ A}$ (25°C) thì mạch công suất là an toàn cho các ứng dụng yêu cầu công suất nguồn $\leq 2000 \text{ W}$.

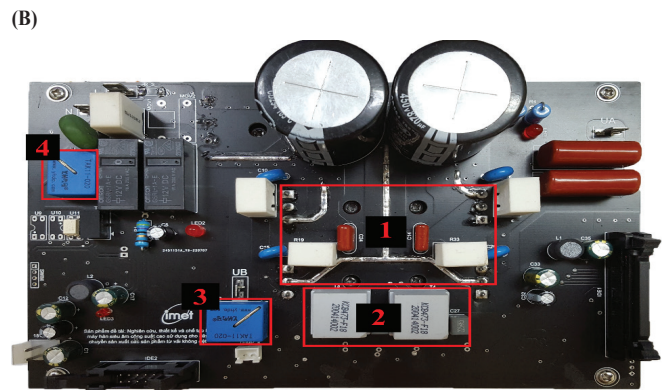
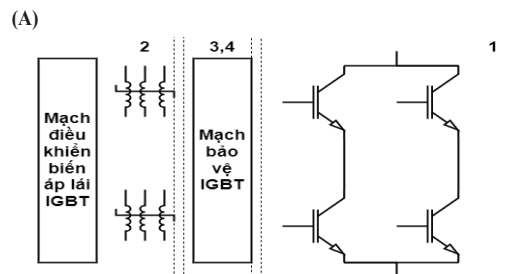
Mạch công suất sử dụng IGBT cầu H được điều khiển bởi tín hiệu đầu ra của MCU qua mạch điều khiển. Các yếu tố cần được xem xét trong thiết kế mạch điều khiển cầu H như sau:

Điều khiển nửa phía cao: Điều khiển nửa cầu thấp dễ hơn vì cực phát (E) kết nối trực tiếp với GND. Tuy nhiên, ở nửa cầu H phía cao, E của IGBT bên cao kết nối với cực thu (C) của bên thấp, do đó cần tạo nguồn điện chênh giữa G và E của IGBT phía nửa cao, với giá trị $15 \pm 20 \text{ V}$ để đảm bảo IGBT có thể đóng mở hiệu quả.

Kiểm soát thời gian trễ: Nếu mạch không có điều khiển thời gian trễ, có thể xảy ra hiện tượng ngắn mạch giữa phía cao và phía thấp của mạch cầu H. Khi xảy ra hiện tượng này, hai IGBT trở thành dẫn điện đồng thời, làm tăng dòng điện và tạo ra một lượng lớn nhiệt gây hư hỏng các IGBT.

Kiểm soát dòng IGBT cho mạch cầu H: Tình trạng này thường xảy ra khi thiết bị đang hoạt động trong tình trạng quá tải hoặc khi xảy ra sự cố trong mạch điện. Nếu không có phương pháp kiểm tra và bảo vệ khỏi tình trạng quá dòng điện, sẽ gây hư hỏng các linh kiện trong mạch và làm hỏng động cơ.

Để tăng độ an toàn và tuổi thọ cho mạch điều khiển công suất, hai biến áp điều khiển kênh đôi KCB 473-F18 từ BingZi được sử dụng để điều khiển mạch cầu H. KCB 473-F18 cho phép điều khiển công IGBT cách ly với điện áp cấp cho mạch công suất, do sử dụng kênh đôi ngược nhau nên thời gian trễ được kiểm hoàn toàn. Hai biến áp điều khiển kênh đôi được điều khiển bằng 4 mạch tích hợp chuyên dụng MIC4420 từ Micrel.

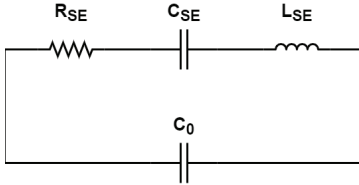


Hình 3. Mạch công suất của thiết bị. (A) Sơ đồ khối; (B) Mạch công suất.

Hình 3B là mạch công suất sau khi đã ráp đủ linh kiện. Mạch này bao gồm các thành phần sau: 4 IGBT STGW40H120DF2 (vị trí 1) được hàn ở mặt đáy và kết nối với tản nhiệt; 2 biến áp lái đôi KCB 473-F18 (vị trí 2); cảm biến dòng của nguồn đầu ra (vị trí 3); cảm biến dòng của nguồn đầu vào (vị trí 4); mạch tích hợp MIC4420 (được đặt ở mặt sau của mạch).

2.4. Mạng phối hợp trở kháng

Mạch phối hợp trở kháng là một vấn đề lớn trong thiết kế mạch tần số cao, nó liên quan đến việc kết hợp một phần của mạch với phần khác để đạt được sự truyền năng lượng tối đa giữa hai phần [13]. Cụ thể trong trường hợp này là sự truyền tải năng lượng giữa nguồn và đầu hàn, do vậy giữa hai thành phần này cần có một IM.



Hình 4. Mô hình điện Butterworth-Van-Dyke (BVD) tương đương của đầu hàn ở tần số cộng hưởng [14]. R_{SE} biểu thị cho sự mất mát trong dao động trong tinh thể; L_{SE} biểu thị cho dao động của gốm áp điện; C_{SE} biểu thị cho độ đàn hồi của tấm gốm; C_0 ở nhánh tĩnh là điện dung ký sinh của gốm.

Với mô hình điện BVD tương đương của đầu hàn ở tần số cộng hưởng như hình 4, ta có trở kháng đầu vào tương đương của mạch là:

$$Z = R + jX = \frac{[R_{SE} + j(X_{L_{SE}} - X_{C_{SE}})] j(-X_{C_0})}{R_{SE} + j(X_{L_{SE}} - X_{C_{SE}}) + j(-X_{C_0})} \quad (1)$$

Với:

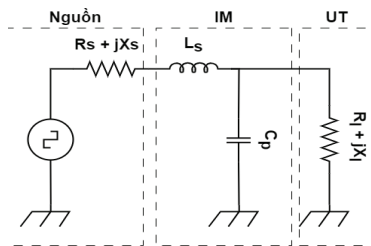
$$R = \frac{R_{SE}}{\omega^2 C_0^2 R_{SE}^2 + [\omega C_0 (\omega L_{SE} - \frac{1}{\omega C_{SE}}) - 1]^2} \quad (2)$$

$$X = \frac{(\omega L_{SE} - \frac{1}{\omega C_{SE}}) - \omega C_0 [R_{SE}^2 + (\omega L_{SE} - \frac{1}{\omega C_{SE}})^2]}{\omega^2 C_0^2 R_{SE}^2 + [\omega C_0 (\omega L_{SE} - \frac{1}{\omega C_{SE}}) - 1]^2} \quad (3)$$

Khi đầu rung siêu âm xảy hiện tượng cộng hưởng thì $\omega = 1/\sqrt{L_{SE}C_{SE}}$, khi đó:

$$R = \frac{R_{SE}}{\omega^2 C_0^2 R_{SE}^2 + 1} \quad (4)$$

$$X = \frac{-\omega C_0 R_{SE}^2}{\omega^2 C_0^2 R_{SE}^2 + 1} \quad (5)$$



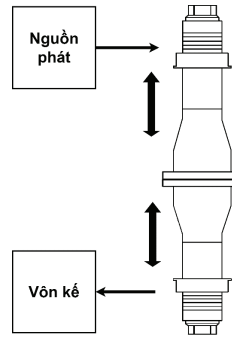
Hình 5. Mô hình IM loại L với lọc thông thấp. UT: ultrasonic transducer - đầu dò siêu âm.

Để đạt được hiệu suất truyền tải tốt nhất thì trở kháng của nguồn phải bằng trở kháng của tải, tuy nhiên trong thực tế thì cần sử dụng mạch IM (hình 5). Do trở kháng của nguồn được sử dụng ở đây nhỏ hơn trở kháng của tải nên IM sử dụng ở đây là loại L với lọc thông thấp [15] nên lựa chọn mức công suất tối đa của nguồn là 2.000 W ta có $R_s \approx 52 \Omega$.

$$R_s = \frac{R_{SE}}{\omega^2 (C_0 + C_p)^2 R_{SE}^2 + 1} \quad (6)$$

$$L_s = \frac{(C_0 + C_p) R_{SE}^2}{\omega^2 (C_0 + C_p)^2 R_{SE}^2 + 1} \quad (7)$$

Từ các thông số C_0 và R_{SE} đã đo được, lựa chọn giá trị $R_s = 50 \text{ nF}$ và $L_s = 280 \mu\text{H}$. IM được đánh giá dựa trên mô hình điện được bố trí như ở hình 6.



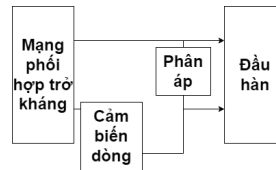
Hình 6. Cấu hình thử nghiệm dao động [16].

Kết quả đo từ máy LRC cho thấy tần số cộng hưởng của đầu dò trong mô hình này là $f_r \approx 19974 \text{ kHz}$ và góc lệch pha là 23° .

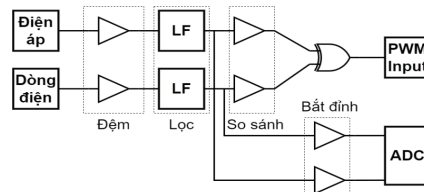
2.5. Theo dõi tần số tự động

Đầu dò siêu âm là một hệ thống thay đổi phi tuyến theo thời gian. Ở tần số hoạt động khác nhau, sự khác biệt giữa các đặc tính trở kháng và rung cơ học là rất lớn. Khi tần số hoạt động bằng với tần số cộng hưởng, đầu dò có tổn thất điện năng thấp nhất, biên độ dao động lớn nhất và tần số hoạt động tốt nhất. Vì vậy, việc lựa chọn thông số mạch phối hợp phù hợp có ý nghĩa hết sức quan trọng [17].

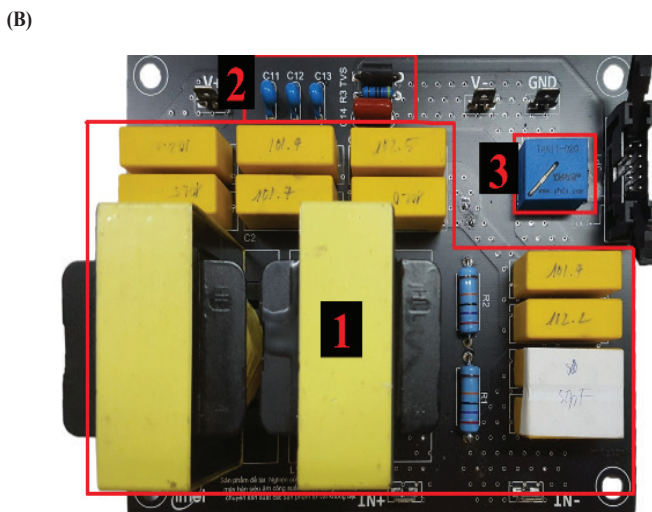
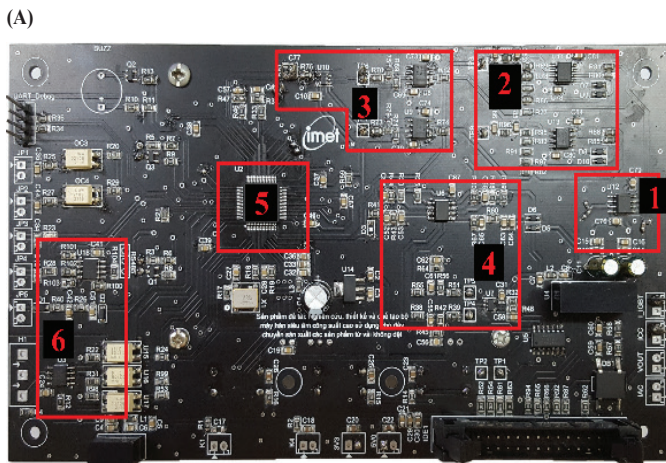
Phương pháp theo dõi tần số tự động được thực hiện bằng cách lấy mẫu đỉnh của điện áp và dòng điện cấp cho đầu dò kết hợp với góc lệch pha của điện áp và dòng điện. Sau đó dựa vào kết quả tính toán độ lệch pha mà MCU điều chỉnh tần số đầu ra và tìm tần số cộng hưởng của đầu dò (hình 7, 8). Một tín hiệu góc lệch pha giả lập tạo ra bằng máy tạo sóng đa năng BK Precision - 4070 A được sử dụng để đánh giá khả năng phát hiện chính xác góc lệch pha giữa điện áp và dòng điện, giá trị tính toán được MCU truyền ra bằng UART.



Hình 7. Mô hình lấy mẫu của dòng điện và điện áp cho đầu dò.



Hình 8. Mô hình xử lý tín hiệu dòng điện và điện áp để tính toán tần số cộng hưởng.

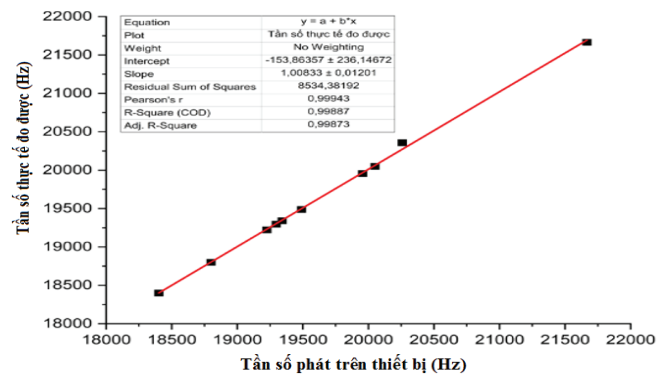


Hình 9. Hình ảnh mạch điều khiển và tạo tần số (A); mạch IM của USPGB (B).

Hình 9A cho thấy, mạch điều khiển và tạo tần số sau khi đã ráp linh kiện. Mạch này bao gồm các thành phần: mạch đệm và lọc (vị trí 1) sử dụng vi mạch TLC2272; mạch bắt đỉnh tần số cao (vị trí 2) sử dụng 2 vi mạch TLC2272; mạch xử lý pha (vị trí 3) gồm 2 vi mạch LM311 dùng so sánh và vi mạch XOR SN74LVC1G86; mạch phát hiện quá dòng, quá áp (vị trí 4); MCU và RS485 (vị trí 5, 6). Hình 9B cho thấy, mạch phối hợp trở kháng (vị trí 1), mạch phân áp với tỷ lệ điện áp vào trên điện áp ra là 1000:1 (vị trí 2) và cảm biến dòng (vị trí 3).

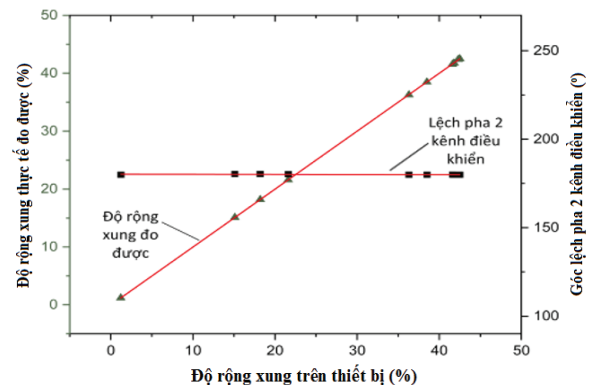
3. Kết quả và bàn luận

Kết quả phân tích độ chính xác của phương pháp tạo tần số bằng HRTIM (hình 10) cho thấy, ngoại vi này có thể tạo tần số với độ ổn định và chính xác cao với sai số lớn nhất trong phép thử nghiệm này là 0,006% ở 18401,12 Hz. Kết quả đo cũng cho thấy ở các tần số thấp sai số của tần số có xu hướng cao hơn khi phát ở tần số cao. Điều này có thể lý giải do sai số của bộ xung đồng trong HRTIM, khi ở tần số thấp HRTIM phải đếm nhiều giá trị hơn nên dẫn đến sai số lũy kế.

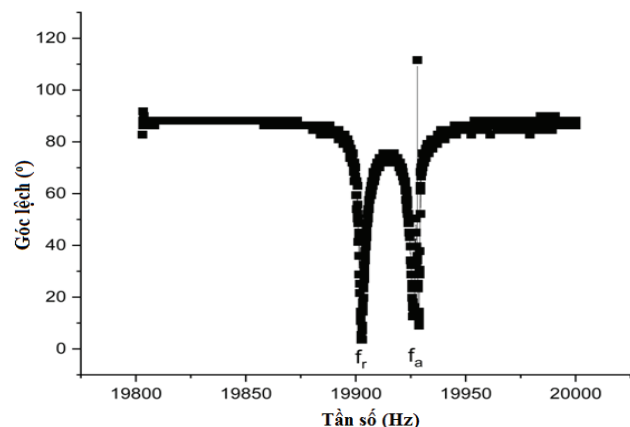


Hình 10. Sai khác giữa giá trị tần số phát trên thiết bị và giá trị tần số đo được trên máy hiện sóng Agilent DSO8064A.

Theo như tính toán lý thuyết cho thấy, với độ phân giải 32 bit của HRTIM thì việc điều khiển công suất bằng độ rộng xung có thể đạt chính xác rất cao cho nên các giá trị tính toán điều khiển độ rộng xung gần như khớp với kết quả đo trên máy (hình 11). Yếu tố độ lệch pha giữa hai kênh tín hiệu điều khiển cũng được kiểm chứng, kết quả cho thấy độ lệch nhỏ nhất là 179,9° và lớn nhất là 180,4°, việc độ lệch pha có sai lệch có thể gây ra hiện tượng đoàn mạch do thời gian trễ quá thấp, do vậy để đảm bảo độ trễ cho thời gian đóng ngắt IGBT, thiết bị được giới hạn ở mức <49%.

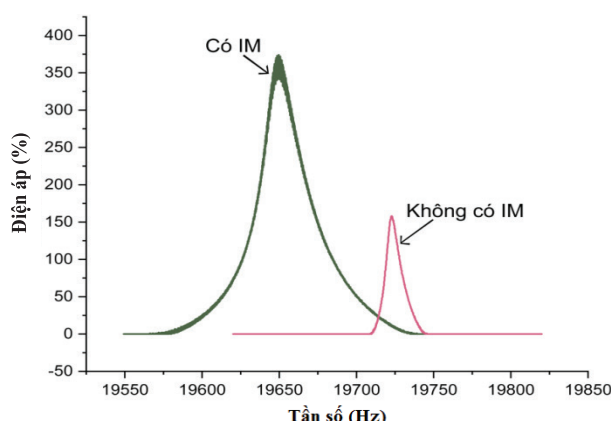


Hình 11. Kết quả kiểm nghiệm độ chính xác trong việc điều khiển độ rộng xung của HRTIM và sự ổn định của góc lệch pha giữa 2 kênh tín hiệu A và B.



Hình 12. Sự phụ thuộc của góc lệch pha theo tần số khi quét trên thiết bị.

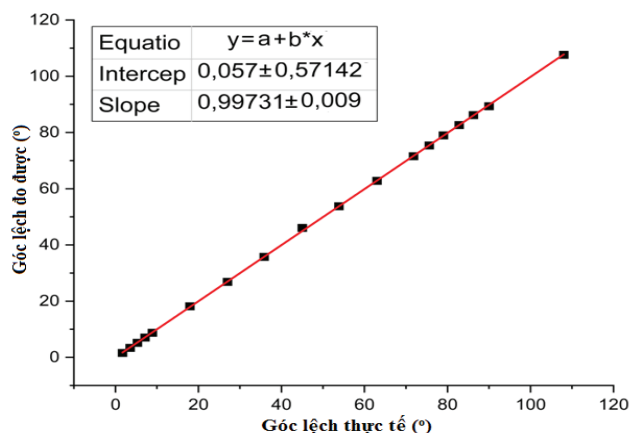
Kết quả quét tần số cộng hưởng dựa trên góc lệch pha (hình 12) cho thấy, thiết bị có thể tìm được khá chính xác tần số cộng hưởng theo góc lệch pha giá trị f_r tìm được bằng thiết bị vào khoảng 19902,5 Hz với góc lệch pha là $3,6^\circ$ khớp với giá trị f_r trong hình 1. Giá trị f_a đạt 19928,7 Hz với góc lệch pha là 9° , giá trị f_a thường khó xác định hơn do trở kháng của đầu dò tại điểm này vô cùng lớn, do vậy điểm này thường được bỏ qua nếu không cần tính toán các thông số khác liên quan (hình 13).



Hình 13. Sự khác biệt giữa biên độ điện áp đo được trong cấu hình thử nghiệm dao động khi sử dụng IM và không sử dụng IM.

Cấu hình thử nghiệm dao động điện cơ của đầu dò cho thấy, ở cùng một thông số cài đặt của thiết bị là độ rộng xung 40%, tần số 19-21 kHz thì nguồn phát với mạch có sử dụng IM cho biên độ dao động lớn so với không sử dụng IM, điều này thể hiện bằng biên độ điện áp thu được trên đầu dò tải ghép nối đầu dò phát (hình 6) trong tính chất cơ - điện. Tần số đỉnh khi sử dụng IM có xu hướng thay đổi, điều này là do các thông số trong IM được tính toán cho UTW mà không phải mô hình này dẫn đến sự dịch chuyển này và có thể chưa khai thác hết hiệu suất của nguồn [18].

Giá trị lệch pha giữa tín hiệu điện áp và dòng điện mô phỏng là 0-60%, tương ứng với góc lệch 0-108° (hình 14) cho thấy ngoại vi có thể đọc độ rộng xung có giá trị 1-60%, với sai số lớn nhất là 5,3% ở 1%, tương ứng với $1,8^\circ$ và sai số trung bình là 1,1%.



Hình 14. Sai số của giá trị pha thực tế tạo bởi máy tạo sóng đa năng BK Precision - 4070 A và góc lệch pha đo được trên mạch điều khiển.

4. Kết luận

Thiết bị nguyên mẫu được chế tạo với phương pháp tạo tần số cho việc điều khiển mạch công suất bằng HRTIM cho thấy, độ chính xác là 0,006% trong dải 18-22 kHz, khả năng điều khiển tần số và độ rộng xung dễ dàng. Kết quả thử nghiệm dao động trên UST cho thấy tầm quan trọng của mạng IM. Theo dõi tần số tự động bằng cách lấy mẫu đỉnh của điện áp và dòng điện cấp cho đầu dò kết hợp với góc lệch pha của điện áp và dòng điện cho thấy độ ổn định cao dễ dàng thực hiện. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn còn nhược điểm do tối ưu việc đo góc lệch ở gần điểm cộng hưởng có sai số khá cao lên đến 5,3% và sai số trung bình là 1,1%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Mahvi (2009), "Application of ultrasonic technology for water and wastewater treatment", *Iran J. Public Health*, **38**(2), pp.1-17.
- [2] A. Bakhtiari, T. Berberashvili, P. Kervalishvili (2017), "Water treatment improvement by ultrasonic approach", *American Journal of Condensed Matter Physics*, **7**(4), pp.81-86, DOI: 10.5923/j.ajcmp.20170704.01.
- [3] A. Carovac, F. Smajlovic, D. Junuzovic, et al. (2011), "Application of ultrasound in medicine", *Acta. Inform. Med.*, **19**(3), pp.168-171, DOI: 10.5455/aim.2011.19.168-171.
- [4] A. Vladisaukas, R. Sliteris, R. Raisutis, et al. (2009), "Application of ultrasonic transducers for investigation of composite materials", *Ultrasonics (e-Journal of Nondestructive Testing)*, **64**(4), pp.36-43.
- [5] K. Mannay, J. Urena, A. Hernandez, et al. (2020), "Characterization of an ultrasonic local positioning system for 3D measurements", *Sensors*, **20**(10), DOI: 10.3390/s20102794.
- [6] R. Manwar, K. Krutkiewicz, K. Avnaki, et al. (2020), "Overview of ultrasound detection technologies for photoacoustic imaging", *Micromachines*, **11**(7), DOI: 10.3390/mi11070692.
- [7] L. Quintino (2013), "Introduction to joining methods in medical applications", *Joining and Assembly of Medical Materials and Devices*, **2013**, pp.28-46, DOI: 10.1533/9780857096425.1.28.
- [8] A. Benatar, M. Marcus (2015), "Ultrasonic welding of plastics and polymeric composites", *Power Ultrasonics*, **2**(1), pp.295-312, DOI: 10.1016/B978-0-12-820254-8.00006-3.
- [9] I. Jones (2013), "Ultrasonic and dielectric welding of textiles", *Joining Textiles*, **2013**, pp.374-397, DOI: 10.1533/9780857093967.3.374.
- [10] K. Zhang, G. Gao, C. Zhao, et al. (2023), "Review of the design of power ultrasonic generator for piezoelectric transducer", *Ultrasonics Sonochemistry*, **96**, DOI: 10.1016/j.ulsonch.2023.106438.
- [11] J. Moon, S. Park, S. Lim (2022), "A novel high-speed resonant frequency tracking method using transient characteristics in a piezoelectric transducer", *Sensors* **2022**, **22**(17), DOI: 10.3390/s22176378.
- [12] Z. Hongjie, W. Fujun, Z. Dawei, et al. (2015), "A new automatic resonance frequency tracking method for piezoelectric ultrasonic transducers used in thermosonic wire bonding", *Sensors and Actuators A: Physical*, **235**(1), pp.140-150, DOI: 10.1016/j.sna.2015.09.040.
- [13] M. Tse (2003), "Impedance matching for high-frequency circuit design elective", *Technical Report*, **1**, pp.1-53.
- [14] M.G. Rodriguez, J.G. Alvarez, Y. Yanez, et al. (2010), "Low cost matching network for ultrasonic transducers", *Phys. Procedia*, **3**, pp.1025-1031, DOI: 10.1016/j.phpro.2010.01.132.
- [15] V.T. Rathod (2019), "A review of electric impedance matching techniques for piezoelectric sensors", *Actuators and Transducers Electronics*, **8**(2), DOI: 10.3390/electronics8020169.
- [16] C.P. Christopher (2010), *Failure Analysis of a 30kHz Ultrasonic Welding Transducer*, Thesis master of Science, University of Illinois, **1**, 103pp.
- [17] I. Barbi, J.C.O. Bolacell, D.C. Martins, et al. (1990), "Buck quasi-resonant converter operating at constant frequency: Analysis, design, and experimentation", *IEEE Transactions on Power Electronics*, **5**(3), pp.276-283, DOI: 10.1109/PESC.1989.48572.
- [18] M.H. Hasan, F.M. Alsaleem, N. Jaber, et al. (2018), "Simultaneous electrical and mechanical resonance drive for large signal amplification of micro resonators", *AIP Advances*, **8**(1), pp.1-7, DOI: 10.1063/1.5018321.

Các phương pháp nâng cao an toàn cho robot cộng tác người - máy

Nguyễn Văn Thuởng*, Trần Xuân Thịnh, Giang Mạnh Khôi

Viện Ứng dụng Công nghệ, 25 Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 23/6/2023; ngày chuyển phản biện 26/6/2023; ngày nhận phản biện 19/7/2023; ngày chấp nhận đăng 21/7/2023

Tóm tắt:

Trong thời gian gần đây, các nghiên cứu về robot đã dần chuyển hướng tập trung vào nghiên cứu các đặc điểm của sự hợp tác giữa con người và robot trong các ứng dụng sản xuất công nghiệp, nhằm kết hợp độ chính xác và sức mạnh của robot với khả năng nhận thức và tính linh hoạt của con người. Với mục đích này, một thế hệ robot mới, được gọi là robot cộng tác, hay cobots được ra đời. Đặc điểm của cobots là làm việc cộng tác cùng con người mà không có rào chắn vật lý, do đó tính an toàn của con người luôn được đặt lên hàng đầu. Trong bài báo này, các tác giả trình bày tổng quan các phương pháp nâng cao an toàn cho robot cộng tác người - máy, đồng thời đề xuất một số hướng phát triển trong tương lai, nhằm không những đảm bảo sự an toàn mà còn nâng cao hiệu suất làm việc của cobots.

Từ khóa: an toàn, cobots, cộng tác, robot cánh tay, robot công nghiệp.

Chỉ số phân loại: 2.3

Research on methods of improving safety for collaborative robot

Van Thuong Nguyen*, Xuan Thinh Tran, Manh Khoi Giang

National Center for Technological Progress,

25 Le Thanh Tong Street, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

Received 23 June 2023; revised 19 July 2023; accepted 21 July 2023

Abstract:

Recently, robotics research has gradually shifted its focus to studying the characteristics of human-robot cooperation in industrial production applications in order to combine the precision and power of robots with human perception and flexibility. For this purpose, a new generation of robots, known as collaborative robots, or cobots, was born. The characteristic of cobots is to work collaboratively with humans without physical barriers, so human safety is always a top priority. In the scope of this research, the authors provide a synthesis of methods to improve safety for collaborative robots. Then, the authors suggest some future development directions in order to not only ensure safety but also improve the working efficiency of cobots.

Keywords: arm robot, cobots, collaborative, industrial robot, safety.

Classification number: 2.3

1. Đặt vấn đề

Trong những năm trước, robot chủ yếu được hình thành để làm việc một mình trong môi trường có cấu trúc cao, thay thế con người thực hiện các hoạt động lặp đi lặp lại, nguy hiểm hoặc đòi hỏi độ chính xác cao. Trong bối cảnh như vậy, robot hoạt động tách biệt khỏi con người bằng các hàng rào an toàn. Tuy nhiên, mặt hạn chế của robot là thiếu tính linh hoạt và khả năng thích ứng giống như con người. Do đó trong thời gian gần đây, các nghiên cứu về robot đã dần chuyển hướng tập trung vào nghiên cứu các đặc điểm của sự hợp tác giữa con người và robot trong các ứng dụng sản xuất công nghiệp, nhằm kết hợp độ chính xác và sức mạnh của robot với khả năng nhận thức và tính linh hoạt của con người. Trong môi trường làm việc này, con người có thể làm việc song song với các robot trong khoảng cách gần, mà không bị giảm đi sự an toàn hoặc hiệu quả [1]. Với mục đích này, một thế hệ robot mới, được gọi là robot cộng tác, hay cobots được ra đời. Cobots được thiết kế không nhất thiết để nâng cao kỹ năng của người điều hành hay thay thế con người, mà là để tập trung vào các hoạt động lặp đi lặp lại, nhằm giúp người điều hành có thể tập trung vào các nhiệm vụ khó.

Do đặc tính chia sẻ không gian làm việc chung, khi nghiên cứu và phát triển cobots, sự an toàn của con người phải là yếu tố được xem xét đầu tiên. Robot phải có phản ứng khi có vật thể lạ, hoặc va chạm với vật thể, con người trong quá trình làm việc. Bên cạnh đó, không gian làm việc của robot phải được giám sát. Phản ứng có thể ở các mức độ khác nhau tùy vào hệ thống và yêu cầu làm việc. Về mặt an toàn, cần cảnh báo bằng âm thanh và ánh sáng báo động và dừng robot. Các hệ thống tiên tiến hơn có thể cung cấp tính năng điều khiển tuân thủ - điều chỉnh chuyển động bằng cách đẩy nó theo cùng hướng với hướng của lực tác động.

*Tác giả liên hệ: Email: thuongbkhn94@gmail.com

Hiện nay, một trong những tính năng đang được quan tâm nhiều nhất đó là loại bỏ toàn bộ va chạm mà vẫn đạt hiệu quả làm việc bằng cách điều chỉnh quỹ đạo chuyển động. Trong bài báo này, chúng tôi đưa ra khảo sát các phương pháp đảm bảo an toàn cho robot cộng tác người - máy, từ đó đề xuất một số hướng phát triển nghiên cứu trong tương lai, nhằm không những đảm bảo sự an toàn mà còn nâng cao hiệu suất làm việc của cobots [1].

2. Các phương pháp nâng cao an toàn cho cobots

Trong các ứng dụng cobots, tính an toàn luôn được đặt lên hàng đầu. Do đó, các công bố nghiên cứu về tính an toàn cũng chiếm số lượng lớn trong các công trình nghiên cứu về cobots nói chung. Các phương pháp chính để nâng cao tính an toàn cho cobots bao gồm: phương pháp tránh va chạm, phát hiện va chạm và hoạch định chuyển động.

2.1. Tránh va chạm

Các biện pháp an toàn dựa vào việc tránh va chạm chủ yếu dựa trên các thuật toán dự đoán trước ý định của con người, với các phương pháp tiếp cận: học máy; sử dụng các cảm biến; giám sát tốc độ và khoảng cách; giới hạn công suất và lực cho phép cobots dừng hoặc sửa đổi quỹ đạo của nó trước khi va chạm.

2.1.1. Phương pháp học máy: Việc dự đoán các chuyển động của con người có khả năng dẫn đến va chạm có thể đạt được bằng các kỹ thuật dựa trên học tập, ví dụ sử dụng mạng nơ-ron (Neural network - NNs), mạng nơ-ron tuần hoàn (Recurrent neural network - RNNs). X. Yu và cs (2019) [2] đề xuất một mô hình học máy hoàn chỉnh cho an toàn cobots, trong đó việc học của robot không chỉ được áp dụng cho nhận biết ý định chuyển động của con người mà còn cho nhận biết trở kháng của con người, được ước tính theo thời gian thực bằng phương pháp RBFNNs và phương pháp bình phương nhỏ nhất, tương ứng. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã giới thiệu một phương pháp học sử dụng RNNs nhằm mục đích dự đoán chuyển động của tất cả các tác nhân trong một không gian làm việc nhất định. Hiệu suất của mô hình học đã được đánh giá là có thể ngăn chặn va chạm và lập kế hoạch hành động cho robot một cách chính xác hơn so với các phương pháp khác [2]. Một kỹ thuật khác để dự đoán chuyển động của con người trong dây chuyền sản xuất, kết hợp giữa RNNs và mô hình động học ngược được giới thiệu bởi R. Liu và cs (2021) [3]. Trong đề xuất này, một mô hình được sử dụng để dự đoán chuyển động của cổ tay, trong khi một mô hình khác được mở rộng để dự đoán cho cả cánh tay. Trong nghiên cứu của H. Liu và cs (2021) [4] đã đề xuất một phương pháp dựa trên nhận thức ngữ cảnh, kết hợp giữa một mô-đun cảm biến va chạm và một thuật toán hiệu chỉnh cảm biến. Một thuật toán học máy sau đó được triển khai để xác định tư thế của người vận hành trong quá trình lắp ráp.

2.1.2. Sử dụng cảm biến: Trong kỹ thuật này, các hệ thống điều khiển đa cảm biến được sử dụng để tránh va chạm bằng cách phát hiện sự hiện diện của con người và đánh giá trong thời gian thực khoảng cách giữa robot và đối tượng trong không gian làm việc. S.A. Hovhannisyan và cs (2022) [5] đã đề xuất một phương pháp điều khiển để tránh vật cản tĩnh và động trong thời gian thực sử dụng cảm biến tiệm cận loại kép được phát triển để đánh giá khoảng cách. Một sơ đồ hoạch định quỹ đạo và phương pháp lực ảo cũng được các tác giả trình bày để kiểm chứng thực nghiệm. N. Nikolakis và cs (2019) [6] trình bày đề xuất tập trung vào hệ thống vật lý mạng (Cyber - physical system - CPS). Theo đó, hệ thống điều khiển vòng kín, dựa trên sự gắn gủi giữa con người và robot được triển khai để cho phép đánh giá độ an toàn và đảm bảo tránh va chạm. Các cảm biến quang học cũng được đưa vào trong hệ thống CPS để giám sát không gian làm việc và đánh giá khoảng cách giữa con người và robot.

2.1.3. Giám sát tốc độ và khoảng cách: Z. Liu và cs (2020) [7] đã đề xuất một phương pháp đánh giá rủi ro động nhằm giảm thiểu nó bằng cách sử dụng thuật toán suy giảm độ dốc. F. Ferraguti và cs (2020a) [8] đề xuất một thuật toán điều khiển dựa trên tối ưu hóa, trong đó sự khác biệt giữa gia tốc đầu vào và lệnh điều khiển được giảm thiểu.

2.1.4. Giới hạn công suất và lực: Gia tốc và vận tốc con người có thể được tính bằng một ngân hàng các bộ lọc Kalman. Trong F. Ferraguti và cs (2020b) [9] đã cung cấp một phương pháp điều khiển hoạt động như một bộ lọc, nhằm giới hạn công suất và lực của robot khi an toàn bị đe dọa.

2.2. Phát hiện va chạm

Đôi khi tiếp xúc với đối tượng khác là bắt buộc trong các nhiệm vụ của cobots. Do đó, các phương pháp phát hiện va chạm dựa trên học máy, cảm biến và tối ưu hóa phi tuyến được phát triển để đáp ứng nhu cầu này.

2.2.1. Phương pháp học máy: Cũng giống như phương pháp tránh va chạm, trong phát hiện va chạm, các kỹ thuật sử dụng học máy cũng được sử dụng nhiều nhất. Y.J. Heo và cs (2019) [10] đã đề xuất một phương pháp dựa trên cách tiếp cận học sâu, có khả năng giám sát và nhận ra bất kỳ va chạm nào. Một mạng nơ-ron phức hợp được sử dụng để đạt được cả độ nhạy cao đối với va chạm và độ nhạy thấp đối với cảnh báo sai. K.M. Park và cs (2021) [11] thiết kế hai phương pháp phát hiện va chạm dựa trên máy vector hỗ trợ (Support vector machine - SVM) và mạng nơ-ron tích chập (Convolutional neural network - CNNs). Các phép đo dòng điện của động cơ cùng với mô hình động học của robot và bộ quan sát động lượng bắt buộc được thực hiện để phát hiện các ngưỡng va chạm, từ đó điều chỉnh thủ công cho mỗi khớp robot.

2.2.2. Sử dụng cảm biến: E. Mariotti và cs (2019) [12] đã đề xuất sử dụng một cảm biến lực/momen xoắn (F/T) 6D ở bộ hiệu ứng cuối cùng với thông tin động học đầu vào.

Tính năng phát hiện lực của cảm biến này giúp ngăn ngừa va chạm ngẫu nhiên và tránh các tiếp xúc ngoài ý muốn trong quá trình chuyển động của robot. Để phát hiện các điểm tiếp xúc trên robot và đánh giá các lực tiếp xúc được trao đổi, E. Magrini và cs (2017) [13] đã triển khai một thuật toán xử lý đồ họa song song (GPU) theo dõi trong thời gian thực khoảng cách động giữa robot và các chướng ngại vật di chuyển trong môi trường.

2.2.3. Tối ưu hoá phi tuyến: Khác với các cách tiếp cận trên, phương pháp tiếp cận phát hiện va chạm dựa trên tối ưu hoá phi tuyến có ràng buộc [14], trong đó việc thay đổi tốc độ của robot được xây dựng bằng cách sử dụng chỉ số nguy hiểm và thuật toán di truyền mã hóa tối ưu (ERGA) được sử dụng để đảm bảo an toàn cho người vận hành.

2.3. Hoạch định chuyển động

Trong các ứng dụng cộng tác, hoạch định quỹ đạo cho phép giảm thiểu rủi ro có thể xảy ra với người điều hành. Hoạch định chuyển động cho cobots có thể được phát triển dựa trên các phương pháp tiếp cận như học máy, tối ưu hóa phi tuyến, hay điều khiển tuân thủ.

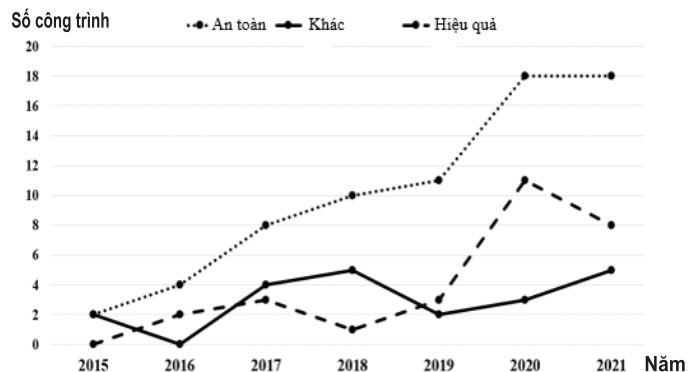
2.3.1. Tối ưu hóa phi tuyến: Hầu hết các công việc liên quan đến việc lập quỹ đạo đều như một vấn đề tối ưu hóa có giới hạn, trong khi đó, các yêu cầu về an toàn ISO phải được tuân thủ để đảm bảo sự an toàn trong sản xuất. A. Oleinikov và cs (2021) [15] đề xuất cách tiếp cận điều khiển dự báo mô hình phi tuyến để lập kế hoạch thời gian thực dựa trên các đặc tả giám sát tốc độ và khoảng cách cho các ứng dụng công nghiệp. Trong C. Sloth và cs (2018) [16] trình bày một phương pháp tính toán vận tốc quỹ đạo an toàn theo các yêu cầu ISO/TS 15066 để tránh va chạm giữa người và robot, bằng cách tối ưu hóa một đa thức liên quan đến vật thể tĩnh kết hợp với tìm kiếm theo đường cho các cơ thể chuyển động.

2.3.2. Học máy: M. Costanzo và cs (2021) [17] đã trình bày một ý tưởng dựa trên giám sát tốc độ và khoảng cách. Cụ thể, an toàn thông qua dự đoán được kết hợp với an toàn thông qua kiểm soát bằng cách kết hợp theo dõi khoảng cách và dự đoán hành động của con người với các khu vực an toàn và giám sát tốc độ để tránh va chạm có thể xảy ra. Các tác giả đã triển khai mạng CNN kết hợp thông tin về không gian và nhiệt độ phát hiện con người và phương pháp tiếp cận logic mờ nâng cao để mở rộng tốc độ robot bằng cách theo dõi khoảng cách người - robot trong thời gian thực. Hoạch định quỹ đạo thời gian tối thiểu được trình bày bởi A. Pallechi và cs (2021) [18], trong đó an toàn được đảm bảo bằng cách sử dụng mô-đun an toàn và mô-đun đánh giá an toàn. Ở mỗi chu kỳ hoạt động, các chuyển động tốc độ cao được khôi phục ngay sau khi vấn đề an toàn được giải quyết.

2.3.3. Điều khiển tuân thủ: Để thay thế cho các phương pháp tiếp cận tối ưu hóa, B. Maric và cs (2020) [19] đã đề xuất một phương pháp luận để chuyển trực tiếp kinh nghiệm của con người sang robot thông qua hệ thống điều khiển hợp tác dựa trên kiểm soát tuân thủ động lực học chuyển tiếp (FDCC). Mô hình này được thiết kế để khai thác kinh nghiệm của người vận hành, sau đó áp dụng để lập quỹ đạo cho robot. Tương tự, X. Zhao và cs (2021) [20] đề xuất một phương pháp dựa trên học tập củng cố (Reinforcement learning - RL) với một công cụ ước tính nguy cơ để cân bằng giữa việc bám quỹ đạo và theo dõi chuyển động của con người.

3. Hướng phát triển trong nghiên cứu nâng cao an toàn và hiệu quả cho cobots

Để tổng hợp về xu hướng nghiên cứu cobots trong những năm qua, S. Proia và cs (2022) [1] đưa ra biểu đồ phân tích số lượng các công trình nghiên cứu đã được công bố liên quan đến các lĩnh vực chính: an toàn, hiệu quả và nội dung khác (hình 1).

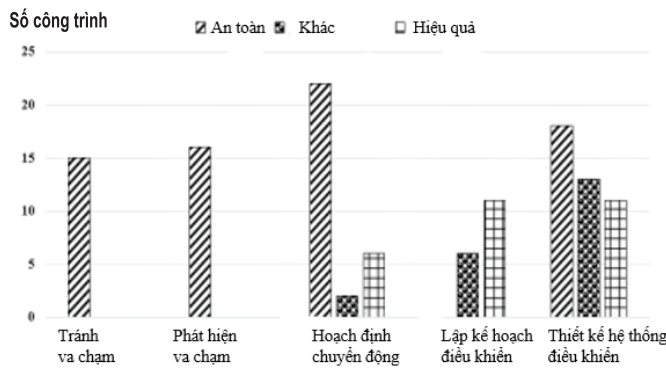


Hình 1. Xu hướng các công trình nghiên cứu về cobots từ năm 2015.

Từ biểu đồ hình 1 có thể thấy được vấn đề an toàn ngay từ đầu đã được quan tâm đầu tiên, tăng mạnh trong giai đoạn 2019-2020 và ổn định trong giai đoạn 2020-2021, điều này cho thấy việc tìm kiếm một giải pháp cobots an toàn tiếp tục là nhu cầu chính trong ngành công nghiệp số.

Trong những năm qua, số lượng cobots trong sản xuất đã tăng lên theo cấp số nhân trên toàn thế giới để đối phó với sự thay đổi của thị trường. Mục đích cơ bản của ngành công nghiệp số là đạt được đồng thời chất lượng cao và thời gian ngắn nhất, độ chính xác và tính linh hoạt trong công nghiệp. Do đó, số lượng công trình nghiên cứu liên quan đến độ hiệu quả cũng tăng đáng kể và đạt mức cao nhất vào năm 2020.

Để xác định phương pháp tiếp cận nào phổ biến trong những năm qua, S. Proia và cs (2022) [1] cũng đưa ra một biểu đồ khác liên quan đến số lượng các công trình nghiên cứu đại diện cho các phương pháp tiếp cận khác nhau (hình 2).



Hình 2. Số lượng công trình nghiên cứu liên quan đến các phương pháp tiếp cận khác nhau trong giai đoạn 2015-2021.

Từ biểu đồ hình 2 có thể thấy rằng, việc thiết kế các bộ điều khiển tối ưu chiếm ưu thế lớn cho cả hai lĩnh vực an toàn và hiệu quả. Nếu chỉ nhìn vào khía cạnh an toàn, các vấn đề tối ưu hoạch định chuyển động được ưu tiên để phản ứng với những thay đổi đột ngột của môi trường và tránh thương tích cho người vận hành. Các kỹ thuật phát hiện và tránh va chạm cũng chiếm số lượng lớn, tuy nhiên các hướng tiếp cận này chỉ giải quyết được vấn đề an toàn mà không đặt vào bài toán hiệu quả.

Một vấn đề cần lưu ý trong cuộc khảo sát của S. Proia và cs (2022) [1] là chỉ có một số lượng nhỏ các bài báo nhằm mục đích tối ưu hóa nhiều mục tiêu thông qua các phương pháp tiếp cận ở trên. Cụ thể, chỉ có gần 10 công trình nghiên cứu được xây dựng để đảm bảo cả hai mặt an toàn và hiệu quả. Do đó, trong bối cảnh công nghiệp hiện nay, các nghiên cứu cần thiết phải đáp ứng giải quyết cả hai mục tiêu cùng một lúc. Các kỹ thuật cần vừa đảm bảo sự an toàn cho người vận hành, mà vẫn đạt hiệu suất làm việc tốt.

Trong xu thế hiện nay, để hợp tác cùng nhau, con người và robot cần có chung nhận quan về môi trường làm việc của họ. Điều này yêu cầu một cách thiết yếu rằng cobots cần có một hệ thống kiểm soát dựa vào công cụ và kỹ thuật như cảm biến, tự tổng hợp và phân tích dữ liệu, học sâu, khả năng ra quyết định, thực thi và tối ưu hóa các nhiệm vụ chung một cách an toàn, hiệu quả. Với sự phát triển gần đây về công nghệ đo lường lấy cảm hứng từ sinh học đã giúp các cảm biến có giá thành thấp hơn, nhẹ, cũng như dễ sử dụng trên robot. Các phương pháp dựa trên cảm biến cũng được sử dụng nhiều trong các nhiệm vụ cộng tác nhân sự. 4 loại cảm biến khác nhau (dựa trên âm thanh, cảm ứng, thị giác và khoảng cách) thường được triển khai trong các hệ thống robot mà gần đây chúng thường được kết hợp với thực tế ảo để giảm tính toán của điều khiển và làm cho giao diện trực quan hơn, dễ đọc hơn bởi những người dùng không phải là chuyên gia.

Dựa vào những phân tích kể trên, có thể thấy các phương pháp tiếp cận nhằm giúp cải thiện không chỉ tính an toàn mà còn làm tăng hiệu suất của cộng tác con người - robot sẽ còn được phát triển trong thời gian tới. Hơn nữa, sự phổ biến và

hỗ trợ mạnh mẽ từ các cảm biến (âm thanh, thị giác, khoảng cách) sẽ là công cụ đắc lực để tìm ra các giải pháp mới cho ngành công nghiệp số.

Một hướng tiếp cận nghiên cứu phổ biến trong những năm trở lại đây là hoạch định quỹ đạo chuyển động của robot trong môi trường có thể thay đổi. Hai vấn đề phổ biến trong hướng tiếp cận này đó là khả năng nhận biết môi trường và đáp ứng của robot. Một mặt, cần phải nhận biết đầy đủ chương ngại vật có thể có của môi trường xung quanh và nguy cơ va chạm của chúng. Nếu không có sự nhìn nhận đúng đắn về các vật thể rủi ro có thể xảy ra hoặc ý định di chuyển của chúng, robot sẽ khó có thể phản ứng đầy đủ với những thay đổi của môi trường. Hai là, việc tính toán đúng thời gian và chính xác các vị trí chương ngại vật phụ thuộc vào khả năng tính toán của hệ thống ghi nhận sự thay đổi môi trường. Các hệ thống này thường dựa trên máy ảnh 3D hoặc cảm biến phạm vi phải chụp và xử lý càng nhanh càng tốt. Do đó, sức mạnh tính toán của các hệ thống nhận dạng là một yếu tố quan trọng của các nỗ lực phản ứng tránh va chạm. Bất kỳ thất bại hoặc chậm trễ nào đều có thể dẫn đến một tình huống rủi ro. Việc biết chính xác môi trường và những thay đổi của chúng đều trở nên vô nghĩa trừ khi hệ thống phản hồi đúng lúc. Tùy thuộc vào rủi ro cho phép, tình huống và cấu hình của robot, các phản ứng nhanh hơn sẽ được yêu cầu.

Để cho phép các thuật toán điều khiển tránh va chạm cho các hệ thống sản xuất công nghiệp, thời gian xử lý dữ liệu theo yêu cầu của ứng dụng và độ chính xác yêu cầu của ứng dụng phải được cân bằng. Nếu không, hệ thống sẽ không thể phản ứng trong thời gian thực với những thay đổi bất ngờ trong môi trường xung quanh của robot, dẫn đến các tình huống mà sự an toàn của người vận hành bị xâm phạm. Do đó, một nghiên cứu về phương pháp hoạch định chuyển động tránh va chạm đáp ứng thời gian thực là rất quan trọng trong thời điểm này. Kết quả của nghiên cứu không chỉ nâng cao khả năng an toàn, mà còn làm tăng hiệu suất làm việc của môi trường cộng tác.

Trong nghiên cứu sắp tới, nội dung nghiên cứu về nâng cao tính hiệu quả và an toàn cho robot cộng tác sử dụng phương pháp hoạch định quỹ đạo động đáp ứng thời gian thực dựa trên thị giác máy học sẽ được triển khai. Mục tiêu của nghiên cứu này là nâng cao đồng thời cả tính hiệu quả và an toàn cho cobots, sử dụng phương pháp hoạch định quỹ đạo động với sự trợ giúp của các cảm biến thị giác. Với khả năng đáp ứng thay đổi của môi trường trong thời gian thực, kết quả nghiên cứu dự kiến sẽ mang lại một giải pháp phù hợp cho các cobots thực tế trong sản xuất hiện nay.

4. Kết luận

Trong sản xuất công nghệ cao ngày nay, cộng tác người - máy được sử dụng để tăng năng suất, tính linh hoạt và khả năng sinh lời. Thời gian sản xuất có thể được giảm gần một nửa khi sử dụng cobots thay vì chỉ sử dụng công nhân. Do

đó, cần thiết để phát triển những nghiên cứu nhằm không chỉ đảm bảo sự an toàn mà còn nâng cao hiệu suất làm việc cho robot. Nội dung nghiên cứu này trình bày tổng quan các phương pháp nâng cao an toàn cho robot cộng tác người - máy, từ đó đưa ra hướng nghiên cứu phát triển tiềm năng trong thời gian tới.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ một phần bởi đề tài nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ cấp quốc gia giai đoạn 2021-2024: “Nghiên cứu, thiết kế, chế tạo, tích hợp thiết bị robot cắt kim loại sử dụng bức xạ fiber laser”. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Proia, R. Carli, G. Cavone (2022), “Control techniques for safe, ergonomic, and efficient human-robot collaboration in the digital industry: A survey”, *IEEE Transactions on Automation Science and Engineering*, **19**(3), pp.1798-1819, DOI: 10.1109/TASE.2021.3131011.
- [2] X. Yu, W. He, C. Xue, et al. (2019), “Adaptive neural admittance control for collision avoidance in human-robot collaborative tasks”, *Int. Conf. Intell. Robots Syst.*, **2**, pp.7574-7579, DOI: 10.1109/IROS40897.2019.8967720.
- [3] R. Liu, C. Liu (2021), “Human motion prediction using adaptable recurrent neural networks and inverse kinematics”, *IEEE Control Syst. Lett.*, **5**(5), pp.1651-1656, DOI: 10.1109/LCSYS.2020.3042609.
- [4] H. Liu, L. Wang (2021), “Collision-free human-robot collaboration based on context awareness”, *Robotics and Computer - Integrated Manufacturing*, **67**, DOI: 10.1016/j.rcim.2020.101997.
- [5] S.A. Hovhannisyan, H.A. Gasparyan, S.S. Agaian, et al. (2022), “AED-Net: A single image dehazing”, *IEEE Access*, **10**, pp.12465-12474, DOI: 10.1109/ACCESS.2022.3144402.
- [6] N. Nikolakis, V. Maratos, S. Makris (2019), “A cyber physical system (CPS) approach for safe human-robot collaboration in a shared workplace”, *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, **56**(3), pp.233-243, DOI: 10.1016/j.rcim.2018.10.003.
- [7] Z. Liu, X. Wang, Y. Cai, et al. (2020), “Dynamic risk assessment and active response strategy for industrial human-robot collaboration”, *Comput. Ind. Eng.*, **141**, DOI: 10.1016/j.cie.2020.106302.
- [8] F. Ferraguti, C.T. Landi, S. Costi, et al. (2020a), “Safety barrier functions and multi-camera tracking for human-robot shared environment”, *Robot. Auton. Syst.*, **124**, DOI: 10.1016/j.robot.2019.103388.
- [9] F. Ferraguti, M. Bertuletti, C.T. Landi, et al. (2020b), “A control barrier function approach for maximizing performance while fulfilling to ISO/TS 15066 regulations”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **5**(4), pp.5921-5928, DOI: 10.1109/LRA.2020.3010494.
- [10] Y.J. Heo, D. Kim, W. Lee, et al. (2019), “Collision detection for industrial collaborative robots: A deep learning approach”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **4**(2), pp.740-746, DOI: 10.1109/LRA.2019.2893400.
- [11] K.M. Park, J. Kim, J. Park, et al. (2021), “Learning-based real-time detection of robot collisions without joint torque sensors”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **6**(1), pp.103-110, DOI: 10.1109/LRA.2020.3033269.
- [12] E. Mariotti, E. Magrini, A.D. Luca (2019), “Admittance control for human-robot interaction using an industrial robot equipped with a F/T sensor”, *2019 Int. Conf. Robot. Automat.*, pp.6130-6136, DOI: 10.1109/ICRA.2019.8793657.
- [13] E. Magrini, A.D. Luca (2017), “Human-robot coexistence and contact handling with redundant robots”, *Proc. IEEE/RSJ Int. Conf. Intell. Robots Syst.*, pp.4611-4617, DOI: 10.1109/IROS.2017.8206331.
- [14] C.C. Chan, C. Tsai (2020), “Collision-free speed alteration strategy for human safety in human-robot coexistence environments”, *IEEE Access*, **8**, pp.80120-80133, DOI: 10.1109/ACCESS.2020.2988654.
- [15] A. Oleinikov, S. Kusdavitov, A. Shintemirov, et al. (2021), “Safety-aware nonlinear model predictive control for physical human-robot interaction”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **6**(3), pp.5665-5672, DOI: 10.1109/LRA.2021.3083581.
- [16] C. Sloth, H.G. Petersen (2018), “Computation of safe path velocity for collaborative robots”, *Proc. IEEE/RSJ Int. Conf. Intell. Robots Syst.*, **5**(1), pp.6142-6148, DOI: 10.1109/IROS.2018.8594217.
- [17] M. Costanzo, G.D. Maria, G. Lettera (2021), “A multimodal approach to human safety in collaborative robotic workcells”, *IEEE Trans. Autom. Sci. Eng.*, **19**(2), pp.1-15, DOI: 10.1109/TASE.2020.3043286.
- [18] A. Pallechi, M. Hamad, S. Abdolshah, et al. (2021), “Fast and safe trajectory planning: Solving the cobot performance/safety trade-off in human-robot shared environments”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **6**(3), pp.5445-5452, DOI: 10.1109/LRA.2021.3076968.
- [19] B. Maric, A. Mutka, M. Orsag (2020), “Collaborative human-robot framework for delicate sanding of complex shape surfaces”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **5**(2), pp.2848-2855, DOI: 10.1109/LRA.2020.2969951.
- [20] X. Zhao, T. Fan, Y. Li, et al. (2021), “An efficient and responsive robot motion controller for safe human-robot collaboration”, *IEEE Robot. Autom. Lett.*, **6**(3), pp.6068-6075, DOI: 10.1109/LRA.2021.3088091.

Tối ưu một số yếu tố ảnh hưởng đến quy trình thu nhận hợp chất tannin có hoạt tính kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* từ lá cây bàng (*Terminalia catappa* L.)

Lê Thị Huyền^{1*}, Trương Minh Ngọc¹, Hồ Viết Thế², Nguyễn Bá Thọ¹, Nguyễn Thị Liên¹

¹Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh, 366A Trường Chinh, phường 13, quận Tân Bình, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Công Thương TP Hồ Chí Minh, 140 Lê Trọng Tấn, phường Tây Thạnh, quận Tân Phú, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/7/2023; ngày chuyển phản biện 7/7/2023; ngày nhận phản biện 18/7/2023; ngày chấp nhận đăng 21/7/2023

Tóm tắt:

Cây bàng (*Terminalia catappa* L.) là một cây thuốc quan trọng trong y học dân gian để điều trị các triệu chứng rối loạn tiêu hóa và các tình trạng viêm nhiễm. Loài cây này chứa nhiều thành phần thiết yếu về mặt y học, đặc biệt là nhóm tannin. Nghiên cứu này đánh giá một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất tannin trong lá cây bàng với sự hỗ trợ của phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM). Các yếu tố được sử dụng để đánh giá là nồng độ dung môi, tỷ lệ dung môi:nguyên liệu (DM:NL) (v/w) và thời gian ngâm chiết (giờ). Kết quả cho thấy, hàm lượng tannin tổng (TTC) cao nhất là 1,54 mg TAE/g nguyên liệu, các điều kiện tối ưu được xác định như sau: Ethanol (EtOH) 54%, tỷ lệ DM:NL là 41:1 (v/w) với thời gian ngâm chiết là 2 giờ. Các giá trị thực nghiệm (TTC=1,54±0,02 mg TAE/g nguyên liệu) cho thấy sự phù hợp tốt với giá trị dự đoán (TTC=1,54 mg TAE/g nguyên liệu). Thí nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn cho thấy loại cao thu được qua chiết xuất tối ưu từ lá cây bàng có khả năng kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Kết quả của nghiên cứu này có thể tạo tiền đề cho việc sản xuất các hợp chất loại được liệu có thành phần tannin từ lá bàng cũng như nâng cao giá trị sử dụng của loại cây trồng phổ biến này.

Từ khóa: đáp ứng bề mặt, tannin, *Terminalia catappa* L., *Vibrio parahaemolyticus*.

Chỉ số phân loại: 2.4

1. Đặt vấn đề

Trong 40 năm qua, ngành nuôi trồng thủy sản tôm của châu Á bị ảnh hưởng bởi các đợt dịch bệnh, đặc biệt là bệnh hoại tử gan tụy cấp (Acute hepatopancreatic necrosis disease - AHPND), dẫn đến thiệt hại đáng kể về thu nhập quốc dân [1], gây thiệt hại 43 tỷ USD cho ngành nuôi tôm trên toàn cầu [2]. Tác nhân gây bệnh chính của AHPND là *V. parahaemolyticus* [3-5]. Nhóm *Vibrio* được biết như là tác nhân chính gây ngộ độc thực phẩm trong các sản phẩm thủy hải sản tươi sống châu Á. Kháng kháng sinh ở *V. parahaemolyticus* đã được công nhận là mối đe dọa nghiêm trọng đối với an toàn thực phẩm [6]. *V. parahaemolyticus* là tác nhân gây bệnh viêm dạ dày ruột cấp tính ở người [7], chủ yếu sau khi tiêu thụ hải sản sống, nấu chưa chín hoặc xử lý sai [8]. Do những đặc tính gây độc này, *V. parahaemolyticus* trở thành một trong những đối tượng đã và đang được quan tâm trong các nghiên cứu, với mục đích kiểm soát vi khuẩn gây bệnh bằng cách tìm vật liệu kháng khuẩn mới.

Thực vật là nguồn nguyên liệu tiềm năng và phong phú để nghiên cứu tìm các hoạt chất kháng khuẩn mới. Có nhiều loài thực vật khác nhau đã được chứng minh có nhiều hợp chất với các hoạt tính sinh học khác nhau được ứng dụng trong y học, đặc biệt là y học dân gian sử dụng các cây thuốc chứa hoạt chất có tính kháng khuẩn [9]. Cây bàng thuộc họ *Combretaceae* được tìm thấy ở các vùng nhiệt đới của châu Á, châu Phi và châu Đại Dương. Trong chiết

xuất từ lá của cây bàng có chứa 3,20% alkaloid, 11,66% saponin, glycoside cyanogenic 7,84%, flavonoid 10,49%, tannin 1,24% và phenol 0,80% [10]. Tannin trong lá cây bàng có 2 nhóm là tannin thủy phân và không thủy phân, tannin thủy phân được ứng dụng nhiều trong kháng oxy hóa và kháng khuẩn [11]. Dịch chiết từ lá bàng có khả năng tiêu diệt được vi khuẩn *V. parahaemolyticus* [12]. Nồng độ tối thiểu của dịch chiết lá cây bàng có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn *V. harveyi* là 1,56% và nồng độ tối thiểu có khả năng tiêu diệt là 3,12% [13].

Hàm lượng TTC trong quá trình ly trích có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau. Cụ thể như dung môi ngâm chiết, thời gian ngâm chiết và tỷ lệ DM:NL được xem là những yếu tố chính ảnh hưởng đến TTC. Phương pháp phổ biến nhất là tiếp cận “từng yếu tố một”. Phương pháp này dựa trên việc cố định tất cả các tham số ngoại trừ một biến độc lập có ảnh hưởng riêng đến các thành phần môi trường và điều kiện, cách tiếp cận này là dễ dàng và đơn giản. Mặt khác, nó tốn thời gian và sự tương tác giữa các yếu tố khác nhau có thể bị bỏ qua, do đó cơ hội đạt được mức tối ưu thực sự là rất khó xảy ra [14, 15]. Phương pháp RSM có thể khắc phục những khó khăn này, vì nó cho phép tính toán các tác động tương tác có thể có giữa các biến [16]. Nếu được sử dụng đầy đủ, công cụ mạnh mẽ này có thể cung cấp các điều kiện tối ưu giúp cải thiện quy trình [17]. Chúng hiệu quả hơn cách tiếp cận “từng yếu tố một” trong việc sàng lọc các tương tác giữa các biến khác nhau và

*Tác giả liên hệ: Email: lethihuyen0404@gmail.com

Optimisation of the process of acquiring tannin compounds with anti - *Vibrio parahaemolyticus* from the leaves of sea almond tree (*Terminalia catappa* L.)

Thi Huyen Le^{1*}, Minh Ngoc Truong¹, Viet The Ho²,
Ba Tho Nguyen¹, Thi Lien Nguyen¹

¹National Center for Technological Progress, Ho Chi Minh City Branch,
366A Trung Chinh Street, Ward 13, Tan Binh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Ho Chi Minh City University of Industry and Trade,
140 Le Trong Tan Street, Tay Thanh Ward, Tan Phu District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 4 July 2023; revised 18 July 2023; accepted 21 July 2023

Abstract:

Terminalia catappa L. (so-called Bang in Vietnamese) is considered an important medicinal plant in folk medicine for the treatment of digestive disorders and other inflammatory conditions. This plant contains several medicinally essential components, especially the tannin group. This study evaluated a number of factors affecting tannin extraction from the leaves of sea almond tree with the help of response surface methodology (RSM). The factors used to evaluate are solvent concentration, solvent:material ratio (v/w) and soaking time (hours). Research results show that the highest total tannin content (TTC) is 1.54 mg GAE/g raw material, the optimal conditions are determined as follows: ethanol 54%, solvent:material ratio (S:MR) is 41:1 (v/w) and soaking time 2 hours. The experimental values (TTC=1.54±0.02 mg TAE/g raw material) show good agreement with the predicted value (TTC=1.54 mg TAE/g raw material). Experiments evaluating antibacterial activity show that the optimal extract of sea almond tree leaves has the ability to resist *Vibrio parahaemolyticus* bacteria. The results of this study could pave the way for the mass production of medicinal compounds containing tannins from sea almond tree leaves and improve the usage value of this popular plant.

Keywords: response surface methodology, tannin, *Terminalia catappa* L., *Vibrio parahaemolyticus*.

Classification number: 2.4

mô tả vai trò tương tác của từng thành phần trong quy trình. Trong RSM, thiết kế Box-Behnken là một trong những mô hình phổ biến nhất để xác định các điều kiện tối ưu. Box-Behnken là một mô hình rất hiệu quả vì yêu cầu số lần chạy nhỏ. Đây là một giải pháp thay thế quan trọng để tránh các thí nghiệm tốn thời gian.

Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm áp dụng phương pháp RSM để tối ưu hóa quy trình thu nhận

hợp chất tannin từ lá cây bàng, với mục tiêu xác định được điều kiện chiết xuất tannin một cách tối ưu các thông số công nghệ như: nồng độ dung môi, tỷ lệ DM:NL, thời gian chiết xuất. Đánh giá được khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trong thủy sản của cao chiết giàu tannin của lá cây bàng, góp phần nâng cao giá trị cây bàng ứng dụng trong lĩnh vực thủy sản hiện nay.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá cây bàng được thu tại khuôn viên Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh. Lá bánh tẻ của cây bàng được thu hái vào mùa hè (khoảng tháng 4 đến tháng 5), lá trên cây sau khi thu hái về được rửa sạch, sau đó cắt nhỏ và sấy ở 55°C cho đến khi khối lượng không thay đổi. Tiếp đó, lá cây bàng được nghiền và rây để đạt kích thước ≤2 mm.

Chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học thuộc Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh. Vi khuẩn được bảo quản ở điều kiện -80°C, sau đó hoạt hóa trên môi trường Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) ở điều kiện khoảng 25°C trước khi sử dụng cho các thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng tannin:

Xác định loại dung môi chiết tách tannin thích hợp: Bột lá cây bàng được ngâm chiết lần lượt trong các dung môi methanol 50% (M50), EtOH 50% (E50) và nước với tỷ lệ DM:NL là 20:1 (v/w) trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dịch chiết được tiến hành lọc qua giấy lọc và xác định hàm lượng tannin.

Xác định nồng độ dung môi ly trích thích hợp: Bột lá cây bàng được ly trích với loại dung môi được chọn ở thí nghiệm trên với nồng độ dung môi 30, 50, 70 và 90%. Tỷ lệ DM:NL là 10:1 (v/w), ngâm trong thời gian 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dịch chiết được tiến hành lọc qua giấy lọc và xác định hàm lượng.

Xác định tỷ lệ DM:NL thích hợp: Bột lá cây bàng ngâm chiết với nồng độ dung môi thích hợp xác định được ở thí nghiệm trên với tỷ lệ DM:NL lần lượt 10:1, 15:1, 20:1, 25:1, 30:1, 35:1, 40:1 và 45:1 (v/w) ngâm trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dịch chiết được tiến hành lọc qua giấy lọc và xác định hàm lượng tannin.

Xác định thời gian chiết tách thích hợp: Bột lá cây bàng ngâm chiết với nồng độ dung môi và tỷ lệ DM:NL thích hợp đã được xác định ở các thí nghiệm trên ở nhiệt độ 30°C trong thời gian chiết tách lần lượt là 2, 4, 6, 8, 12, 24 và 48 giờ. Sau đó, dịch chiết được tiến hành lọc qua giấy lọc và xác định hàm lượng tannin.

2.2.2. Xác định điều kiện chiết tách tối ưu tannin: Dựa trên kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến hàm lượng tannin, các yếu tố đơn có ảnh hưởng được chọn để xây dựng quy trình tách chiết tối ưu hóa. Thí nghiệm tối ưu hóa quá trình ly trích tannin từ lá cây bàng được bố trí theo kiểu mô hình Box-Behnken. Mô hình bao gồm 15 thí nghiệm, trong đó giá trị biên của 3 yếu tố được lựa chọn tối ưu là nồng độ dung môi (A), tỷ lệ DM:NL (B) và thời gian ngâm (C) được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Mã hóa các yếu tố khảo sát.

Yếu tố	Ký hiệu	Các giá trị được mã hóa		
		-1	0	1
Nồng độ EtOH (%)	A	30	50	70
Tỷ lệ DM:NL (v/w)	B	35:1	40:1	45:1
Thời gian ngâm chiết (giờ)	C	1	2	3

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 15 thí nghiệm, trong đó có 3 thí nghiệm ở tâm.

2.2.3. Phương pháp định lượng TTC: Xây dựng đường chuẩn acid tannic (dung dịch acid tannic chuẩn 0,1 mg/ml): hòa tan 25 mg acid tannic trong 25 ml nước rồi pha loãng tiếp với nước thành dung dịch theo tỷ lệ 1:10. Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng. Dung dịch chỉ pha khi dùng. Sau đó pha thành các dãy nồng độ 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 và 0,5 ml. Ứng với mỗi nồng độ dung dịch được thực hiện theo bảng 2.

Bảng 2. Công thức đường chuẩn tannin.

Ống nghiệm	Dung dịch acid tannic (0,1 mg/ml)	Nước cất (ml)
Đôi chứng	0,00	2,5
1	0,1	2,4
2	0,2	2,3
3	0,3	2,2
4	0,4	2,1
5	0,5	2,0

Tiếp theo, bổ sung 1,25 ml thuốc thử Folin-ciocalte và 6,25 ml dung dịch natri carbonat 20% (TT), lắc đều để yên ở nhiệt độ phòng trong 60 phút. Đo độ hấp thụ của phức màu ở bước sóng 725 nm. Giá trị hấp thụ được ghi nhận để đường chuẩn được sử dụng cho việc xác định hàm lượng tannin trong các mẫu dịch chiết. Các mẫu dịch chiết được tiến hành tương tự với acid tannic chuẩn. Hàm lượng tannin được xác định theo phương pháp Folin-Denis dựa trên mô tả của W.S. Laitonjam và cs (2013) [18]. Hàm lượng tannin được tính theo công thức sau:

$$T = \frac{a \times V \times K}{1000 \times m \times (1 - w)}$$

trong đó: T là hàm lượng tannin tổng (mg/g vật liệu khô); a là giá trị x từ đường chuẩn với tannic acid (μg/ml); V là thể tích dung dịch trích (ml); K là độ pha loãng; m là khối lượng bột lá bàng (g); w là độ ẩm của bột lá bàng.

2.2.4. Khảo sát khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*: Sau khi đã xác định được điều kiện chiết xuất cao chiết chứa hàm lượng tannin tối ưu (nồng độ dung môi, tỷ lệ DM:NL, thời gian ngâm), các điều kiện này sẽ được áp dụng trong quá trình ly trích cao chiết từ lá cây bàng. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết được thực hiện trên chủng vi khuẩn *V. Parahaemolyticus*.

2.2.5. Xác định khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của cao chiết tối ưu lá cây bàng: Khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* của cao chiết lá cây bàng giàu hàm lượng tannin được xác định dựa trên sự hình thành vòng kháng khuẩn xung quanh giếng thạch nhỏ cao chiết, dựa trên mô tả của N.T.H. Nhi (2020) [19]. Dịch vi khuẩn với mật số 10^6 CFU/ml được trải đều trên bề mặt đĩa thạch Luria Bertani (LB) với thể tích dịch khuẩn là 100 μl. Các đĩa petri chứa vi khuẩn được đục lỗ tạo giếng thạch có đường kính 7 mm, sau đó, 50 μl dịch chiết tối ưu lá cây bàng ở các nồng độ khác nhau được nhỏ vào mỗi giếng. Đường kính vòng kháng vi khuẩn được đo bằng thước đo đơn vị mm (không bao gồm đường kính giếng thạch 7 mm), sau 24 giờ ủ mẫu ở nhiệt độ 30°C.

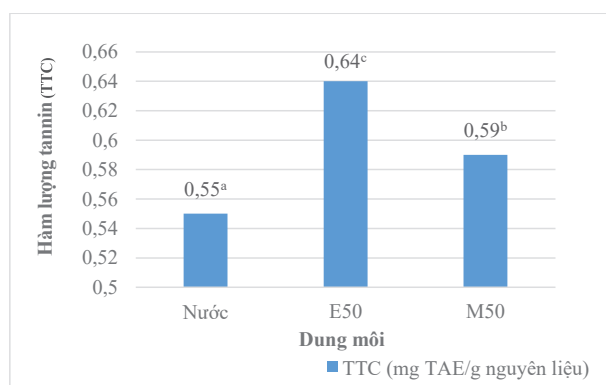
2.3. Xử lý và phân tích số liệu

Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần, kết quả được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ giá trị độ lệch phương sai (mean $\pm$ SD). Kết quả thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVII phân tích thống kê số liệu thí nghiệm và phân tích phương sai ANOVA ($p < 0,05$) đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Thiết kế thí nghiệm và xử lý kết quả RSM theo mô hình Box-Behnken bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVII.

3. Kết quả và bàn luận

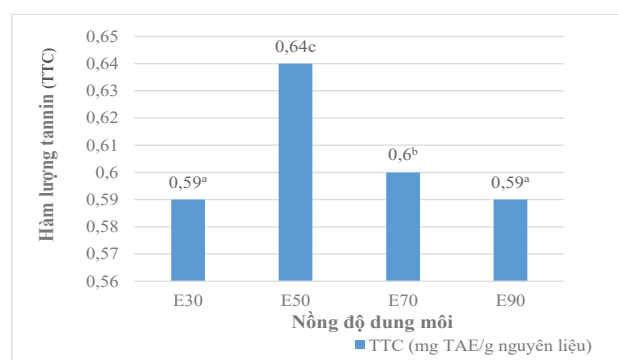
3.1. Xác định ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng tannin

Độ hòa tan của tannin có thể thay đổi, vì vậy tùy thuộc vào hợp chất mục tiêu, các dung môi có độ phân cực tương đối khác nhau có thể được chọn, chẳng hạn như nước, EtOH, axeton hoặc metanol. Tannin cô đặc có độ hòa tan hạn chế trong dung môi hữu cơ phân cực, trong khi nước hoặc EtOH là dung môi thường được sử dụng để chiết xuất tannin thủy phân [11]. Lựa chọn được loại dung môi phù hợp sẽ giúp tăng hiệu quả đồng thời giảm chi phí và thời gian tách chiết. Kết quả hình 1 cho thấy hàm lượng tannin của dung môi EtOH là cao nhất (0,64 mg TAE/g nguyên liệu), hàm lượng tannin của dung môi nước là thấp nhất (0,55 mg TAE/g nguyên liệu). Sự khác biệt về hàm lượng tannin ở các loại dung môi khác nhau có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%. Kết quả lựa chọn dung môi cho thấy, EtOH cho khả năng tách chiết hợp chất có hàm lượng tannin cao nhất trong các loại dung môi trong khảo sát, vì vậy dung môi EtOH được lựa chọn cho nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Ảnh hưởng của loại dung môi đến hàm lượng tannin.
a, b, c: các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p \leq 0,05$.

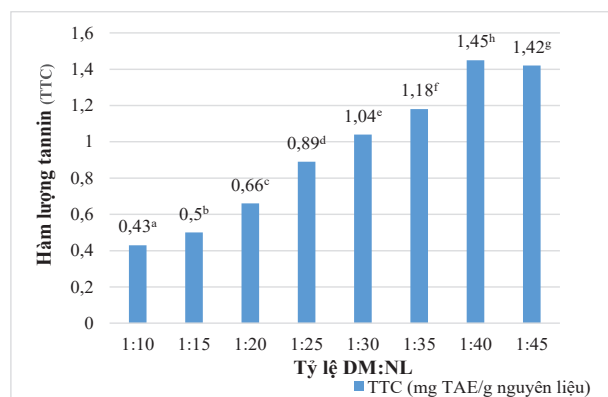
I.S. Che Sulaiman và cs (2017) [20] cho rằng, việc phối trộn EtOH với nước có thể làm tăng hiệu suất ly trích các hợp chất thiên nhiên. Trong nghiên cứu này, dung môi EtOH đã được pha loãng để tạo các môi trường dung môi có độ phân cực khác nhau với mục đích tìm ra được nồng độ EtOH thích hợp cho quá trình chiết xuất tannin từ lá cây bàng. Điều này có thể giải thích rằng, việc tăng hàm lượng nước trong hệ dung môi gây ra hiện tượng trương nở ở thực vật dẫn đến tăng tiếp xúc giữa các tế bào thực vật và dung môi, do đó góp phần tăng năng suất tách chiết. Kết quả khảo sát nồng độ dung môi trực trình bày ở hình 2. Kết quả cho thấy, với nồng độ EtOH 50% cho hàm lượng tannin cao nhất với hàm lượng 0,64 mg TAE/g nguyên liệu, sau đó giảm dần qua các nồng độ EtOH 70 và 90%. Theo N. Medina-Torres và cs (2017) [21], dung môi hữu cơ tinh khiết như cồn cao độ có thể làm biến tính protein ở thành tế bào, gây khó khăn cho việc khuếch tán các hợp chất vào trong dung môi, hỗn hợp dung môi cồn - nước sẽ thích hợp hơn cho việc chiết xuất, cả những hợp chất phân cực lẫn không phân cực. Trong khảo sát này, nồng độ EtOH 50% được chọn làm thông số cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng tannin.
a, b, c: các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p \leq 0,05$.

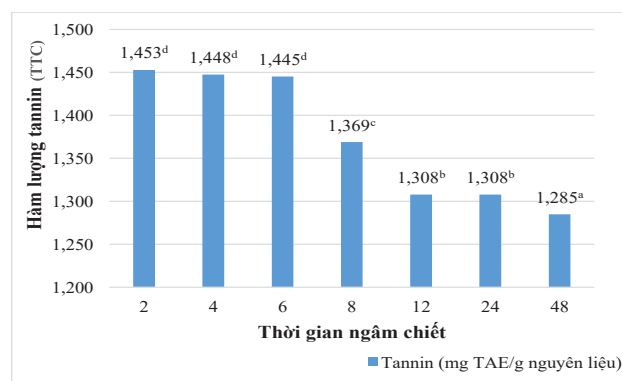
Tỷ lệ DM:NL có liên quan đến vấn đề diện tích tiếp xúc của vật liệu và dung môi, vì thế sẽ ảnh hưởng đến việc chiết xuất tannin. Đồng thời xác định được tỷ lệ phù hợp sẽ giúp tiết kiệm được nguyên liệu và chi phí dung môi sử dụng. Từ kết quả của hình 3 nhận thấy, hàm lượng tannin của tỷ

lệ 40:1 là cao nhất với chỉ số là 1,45 mg TAE/g nguyên liệu, sau đó hàm lượng tannin trong dịch chiết giảm dần khi tăng tỷ lệ DM:NL lên 45:1 với chỉ số 1,42 mg TAE/g nguyên liệu, hàm lượng tannin của 10:1 là thấp nhất với chỉ số là 0,43 mg TAE/g nguyên liệu. Điều này chứng minh rằng, khi bột lá cây bàng được phân tán hoàn toàn trong tỷ lệ dung môi cao do diện tích tiếp xúc lớn sẽ tăng cường quá trình trích ly. Tuy nhiên, khi thể tích dung môi tăng liên tục và diện tích tiếp xúc đạt tới mức bão hòa sẽ làm cho lượng TTC thu được không thay đổi nhiều [22]. Khi chiết tannin từ lá cây bàng, tỷ lệ DM:NL 40:1 thu được hàm lượng cao nhất nên được chọn để làm thông số cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ DM:NL đến hàm lượng tannin.
a, b, c, d, e, f, g, h: các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p \leq 0,05$.

Thời gian ngâm chiết ảnh hưởng đến quá trình phân hủy của các hợp chất tự nhiên khi sử dụng thời gian quá dài, chính vì thế cần lựa chọn thời gian thích hợp cho quá trình thu nhận tannin từ lá cây bàng. Kết quả hình 4 cho thấy, thời gian ngâm 2 giờ cho hàm lượng tannin cao nhất với chỉ số là 1,453 mg TAE/g nguyên liệu, thời gian ngâm 48 giờ là thấp nhất với chỉ số là 1,285 mg TAE/g nguyên liệu. Điều này phản ánh rằng các hợp chất đã được trích ly hết sau 2 giờ ngâm. Hàm lượng tannin thu được ở thời điểm 2 giờ kể từ khi ngâm chiết có chỉ số cao nhất nên được làm thông số cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian ngâm chiết đến hàm lượng tannin.
a, b, c, d: các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p \leq 0,05$.

3.2. Kết quả xác định điều kiện chiết tách tối ưu tannin

Sau khi thực hiện các khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến hàm lượng tannin chiết tách từ lá cây bàng đã thu nhận được các giá trị tối ưu của từng yếu tố. Dựa vào kết quả trên, tiến hành bố trí thí nghiệm tối ưu hóa quá trình chiết tách tannin bằng phương pháp RSM với 3 yếu tố là nồng độ dung môi, tỷ lệ DM:NL và thời gian ngâm. Nồng độ EtOH được chọn từ 30 đến 70%, tỷ lệ DM:NL từ 35:1 đến 45:1 (v/w) và thời gian ngâm từ 1 đến 3 giờ. Hàm lượng tannin thu được từ thực nghiệm theo mô hình Box-Behnken, tiến hành phân tích kết quả để chọn ra nồng độ tối ưu của các yếu tố tác động đến sự trích ly tannin. Kết quả thực nghiệm và giá trị dự đoán từ mô hình Box-Behnken của các nghiệm thức được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Mô hình bố trí thí nghiệm và hàm lượng tannin chiết tách được từ lá cây bàng.

Nghiệm thức	Điều kiện			Hàm lượng tannin (mg TAE/g nguyên liệu)	
	A (%)	B (v/w)	C (giờ)	Thực nghiệm	Dự đoán
NT1	70	45	2	1,427	1,408
NT2	50	45	3	1,336	1,308
NT3	70	40	3	1,370	1,338
NT4	50	35	1	1,206	1,194
NT5	30	40	3	1,348	1,338
NT6	50	35	3	1,116	1,107
NT7	70	35	2	1,214	1,215
NT8	30	45	2	1,341	1,340
NT9	30	35	2	1,193	1,212
NT10	70	40	1	1,369	1,379
NT11	30	40	1	1,356	1,348
NT12	50	45	1	1,264	1,274
NT13	50	40	2	1,538	1,533
NT14	50	40	2	1,525	1,533
NT15	50	40	2	1,536	1,533

Phương trình hồi quy:

$$Y = -10,795 + 0,00779A + 0,5828B + 0,1383C - 0,000136A^2 - 0,007390B^2 - 0,11775C^2 + 0,000163AB + 0,000113AC + 0,00810BC \quad (1)$$

trong đó: Y là hàm lượng tannin (mg TAE/g nguyên liệu); A: nồng độ EtOH (%); B: tỷ lệ DM:NL (v/w); C: thời gian trích ly (giờ). Hệ số hồi quy (R^2) tính được là 0,9930, điều này thể hiện rằng có 99,30% số liệu thực nghiệm tương thích với số liệu tiên đoán theo mô hình. Giá trị R^2 lớn hơn 0,8 thể hiện mô hình tương thích với thực nghiệm có nghĩa là có sự tương quan rất chặt chẽ giữa các yếu tố thí nghiệm và hàm lượng tannin.

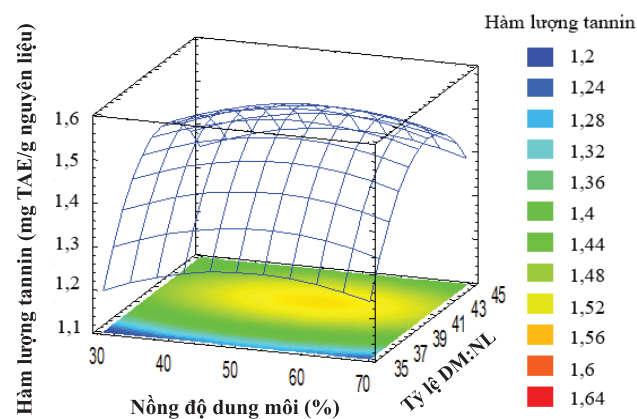
Tính tương thích của các hàm mục tiêu đối với thực nghiệm được thể hiện ở bảng 4. Hệ số sai số của mô hình (Lack of fit) có giá trị p-value là 0,089 (>0,05) cho thấy mô hình phù hợp với thực nghiệm.

Bảng 4. Phân tích phương sai cho mô hình thực nghiệm của tannin.

Nguồn	Tổng bình phương	Hệ số tự do	Trung bình bình phương	f-value	p-value
A: nồng độ dung môi	0,002521	1	0,002521	51,44	0,019
B: tỷ lệ DM:NL	0,051040	1	0,051040	1041,64	0,001
C: thời gian ngâm	0,000078	1	0,000078	1,59	0,334
A ²	0,010967	1	0,010967	223,82	0,004
AB	0,001056	1	0,001056	21,56	0,043
AC	0,000020	1	0,000020	0,41	0,586
B ²	0,126028	1	0,126028	2572,00	0,000
BC	0,006561	1	0,006561	133,90	0,007
C ²	0,051194	1	0,051194	1044,78	0,001
Lack-of-fit	0,001524	3	0,000508	10,37	0,089
Pure error	0,000098	2	0,000049		
Tổng số	0,232784	14			

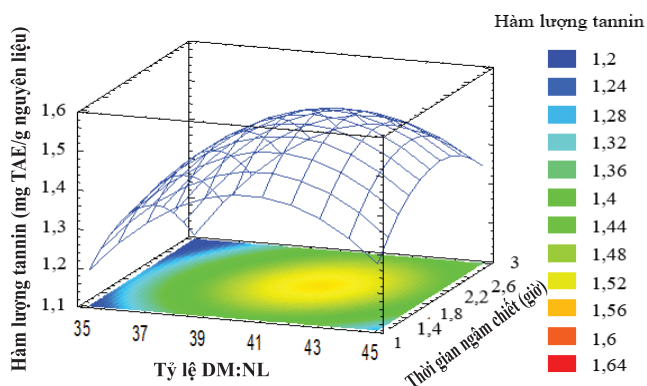
A: nồng độ EtOH (%); B: tỷ lệ DM:NL (v/w); C: thời gian trích ly (giờ).

Dựa trên kết quả phân tích ANOVA ở bảng 4, các tham số hồi quy bậc 1 và bậc 2 đều có $p < 0,05$ cho thấy phương trình hồi quy có ý nghĩa về mặt thống kê ở độ tin cậy 95%. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng tannin thu nhận được bị ảnh hưởng bởi các yếu tố bậc 1 là nồng độ EtOH (A) và tỷ lệ DM:NL (B), chịu ảnh hưởng của các yếu tố bậc 2 bao gồm tỷ lệ nồng độ EtOH (A^2), tỷ lệ DM:NL (B^2) và thời gian ngâm chiết (C^2). P-value của tham số C (thời gian) và AC cao hơn 0,05 (không có ý nghĩa thống kê) nên các tham số này ảnh hưởng không đáng kể đến mô hình thực nghiệm. Dựa vào bảng 4 và phương trình hồi quy (1) cho thấy, khi sử dụng hợp lý các yếu tố nồng độ EtOH (A), tỷ lệ DM:NL (B), sự kết hợp giữa nồng độ EtOH với tỷ lệ DM:NL (AB) và sự kết hợp giữa tỷ lệ DM:NL với thời gian ngâm (BC) sẽ mang lại tác động tích cực làm tăng hàm lượng tannin. Ngược lại, nếu quá lạm dụng các yếu tố nồng độ (A^2), tỷ lệ DM:NL (B^2) và thời gian (C^2) sẽ gây ra tác động tiêu cực làm giảm hàm lượng tannin chiết tách được từ lá cây bàng. Tương quan giữa các yếu tố trong phương trình hồi quy được biểu diễn ở các hình 5-7.



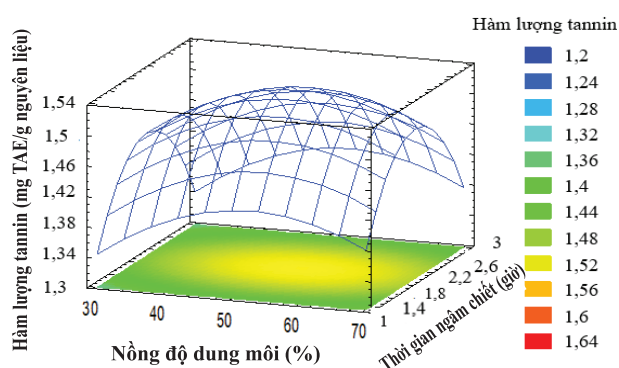
Hình 5. Tương quan giữa nồng độ dung môi EtOH và tỷ lệ DM:NL đến hàm lượng tannin.

Hình 5 mô tả sự ảnh hưởng của nồng độ EtOH và tỷ lệ DM:NL đến hàm lượng tannin thu nhận. Ở bất kỳ giá trị nồng độ EtOH nào, khi thay đổi tỷ lệ DM:NL từ 35:1 đến 45:1 sẽ làm thay đổi hàm lượng tannin. Cụ thể, ở bất kỳ nồng độ dung môi nào khi tăng tỷ lệ DM:NL từ 35:1 lên 40:1 sẽ làm tăng hiệu suất trích ly. Sự chênh lệch gradient nồng độ giữa bên trong và bề mặt vật liệu rắn càng cao, làm tăng sự khuếch tán của chất tan từ vật liệu ra môi trường hay làm tăng hiệu suất trích ly.



Hình 6. Tương quan giữa tỷ lệ DM:NL và thời gian ngâm đến hàm lượng tannin.

Hình 6 mô tả sự ảnh hưởng của tỷ lệ DM:NL và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng tannin thu nhận. Tại tỷ lệ DM:NL nhất định, khi tăng thời gian ngâm chiết từ 3 giờ thì hàm lượng tannin có xu hướng giảm do quá trình oxy hóa xảy ra trong dịch chiết khi thời gian trích ly quá lâu.



Hình 7. Tương quan giữa nồng độ EtOH và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng tannin.

Hình 7 mô tả sự ảnh hưởng của nồng độ EtOH và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng tannin thu nhận. Tại mốc thời gian xác định (1-3 giờ), khi tăng nồng độ dung môi chiết 30-70% thì hàm lượng tannin tăng và giảm ở nồng độ EtOH từ 70%. Nhưng khi đánh giá sự tương tác của nồng độ EtOH và thời gian ngâm (AC) thì không có ý nghĩa về mặt thống kê giữa hai yếu tố này (bảng 4).

Thiết kế thí nghiệm bằng phương pháp RSM để tìm ra các điều kiện tối ưu của từng yếu tố để cải thiện quy trình trích ly tannin từ lá bàng. Từ kết quả thực nghiệm thu được, tiến hành xác định các giá trị mã hóa tối ưu của từng yếu tố trong thí nghiệm

Các điều kiện chiết tách hàm lượng tannin trong lá cây bàng tối ưu đạt được từ mô hình với nồng độ EtOH là 53,95%, tỷ lệ DM:NL là 41,14 (v/w) và thời gian ngâm là 2,03 giờ thì giá trị hàm lượng tannin kỳ vọng là 1,54 mg TAE/g nguyên liệu.

Kết quả kiểm chứng thực nghiệm các điều kiện tách chiết tannin từ lá cây bàng cụ thể như sau: Nồng độ dung môi EtOH 54%, tỷ lệ DM:NL 41:1 (v/w) và thời gian ngâm 2 giờ thì hàm lượng tannin thực tế thu được là $1,54 \pm 0,02$ mg TAE/g nguyên liệu.

Bảng 5. Kết quả kiểm tra thực nghiệm các thông số tối ưu từ phương trình hồi quy.

Giá trị tối ưu			Hàm lượng tannin (mg/g nguyên liệu)	
Tỷ lệ DM:NL (v/w)	Nồng độ EtOH (%)	Thời gian (giờ)	Thực nghiệm	Dự đoán
41:1	54	2,0	$1,54 \pm 0,02$	1,54

Kết quả bảng 5 cho thấy, hàm lượng tannin cao, không có sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa kết quả thực nghiệm và kết quả dự đoán từ phương trình hồi quy. Như vậy, kết quả tối ưu hóa phù hợp với thực nghiệm.

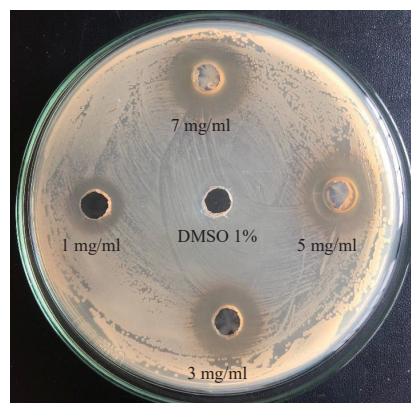
3.3. Kết quả kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus* của cao chiết tối ưu từ lá cây bàng

Mẫu cao chiết lá bàng được hòa tan bằng DMSO 1% ở các nồng độ 1, 3, 5 và 7 mg/ml. Tiến hành đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết bằng phương pháp khuếch tán qua giếng thạch với chỉ tiêu theo dõi là đường kính vòng vô khuẩn thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết lá bàng kháng *V. paraheamolyticus*.

STT	Nồng độ cao chiết (mg/ml)	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
1	DMSO 1%	$0,0 \pm 0,00$
2	1	$9,0 \pm 0,15$
3	3	$13,8 \pm 0,08$
4	5	$14,6 \pm 0,05$
5	7	$16,5 \pm 0,06$

a, b, c, d: các ký tự theo hàng dọc khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p \leq 0,05$.



Hình 8. Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết tối ưu từ lá cây bàng với vi khuẩn *V. paraheamolyticus*.

Hoạt tính kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus* của cao tối ưu lá cây bàng được xác định dựa vào sự hình thành vòng kháng khuẩn theo phương pháp khuếch tán giếng thạch trình bày ở bảng 6. Từ kết quả bảng 6 và hình 8 cho thấy, cao chiết tối ưu từ lá cây bàng có khả năng kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus*, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của J. Velazquez-Roman và cs (2014) [8].

4. Kết luận

Phương pháp RSM đã được sử dụng để thiết kế thí nghiệm tách chiết tối ưu tannin từ lá cây bàng. Kết quả nghiên cứu đã xác định được các yếu tố đưa vào mô hình tối ưu hóa quy trình trích ly hàm lượng tannin từ lá cây bàng là nồng độ dung môi (A), tỷ lệ DM:NL (v/w) (B) và thời gian ngâm (C). Hàm lượng tannin từ lá cây bàng được thu nhận cao nhất là 1,54 mg TAE/g nguyên liệu, với các điều kiện tối ưu như sau: nồng độ dung môi EtOH 54%, tỷ lệ DM:NL 41:1 (v/w) và thời gian ngâm chiết 2 giờ. Kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn cho thấy: cao chiết tối ưu từ lá cây bàng có khả năng kháng vi khuẩn *V. paraheamolyticus*. Kết quả này là cơ sở cho việc nghiên cứu chiết xuất hợp chất tannin từ lá cây bàng nhằm ứng dụng vào lĩnh vực thủy sản hoặc các lĩnh vực có liên quan khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.P. Shinn, J. Jiravanichpaisal, D. Griffiths, et al. (2018), "Effect of biofloc on the survival of whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei* Boone 1931, when challenged with a pathogenic strain of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease", *Asian Fish*, **31S**, pp.210-225, DOI: 10.33997/j.afs.2018.31.S1.015.
- [2] V. Kumar, S. Roy, B.K. Behera, et al. (2021), "Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture", *Toxins*, **13**(8), DOI: 10.3390/toxins13080524.
- [3] P. Li, L.N. Kinch, A. Ray, et al. (2017), "Acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus* strains maintain an antibacterial type VI secretion system with versatile effector repertoires", *Applied and Environmental Microbiology*, **83**(13), DOI: 10.1128/AEM.00737-17.
- [4] H.M. Santos, C.Y. Tsai, K.R.A. Maquiling, et al. (2020), "Diagnosis and potential treatments for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): A review", *Aquaculture International*, **28**(1), pp.169-185, DOI: 10.1007/s10499-019-00451-w.
- [5] M.M.M. Hossain, M.I. Uddin, H. Islam, et al. (2020), "Diagnosis, genetic variations, virulence, and toxicity of AHPND-positive *Vibrio parahaemolyticus* in *Penaeus monodon*", *Aquaculture International*, **28**(6), pp.2531-2546, DOI: 10.1177/11779322221136002.
- [6] Y. Hu, F. Li, Y. Zheng, et al. (2020), "Isolation, molecular characterization and antibiotic susceptibility pattern of *Vibrio parahaemolyticus* from aquatic products in the southern Fujian coast, China", *J. Microbiol. Biotechnol.*, **30**(6), pp.856-867, DOI: 10.4014/jmb.2001.01005.
- [7] N. O'Boyle, A. Boyd (2022), "Validation of a random *Vibrio parahaemolyticus* genomic library by selection of quinolone resistance in a heterologous host", *Microbiology*, **168**(5), DOI: 10.1099/mic.0.001189.
- [8] J. Velazquez-Roman, N. León-Sicairos, L. de Jesus Hernández-Díaz, et al. (2014), "Pandemic *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 on the American continent", *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **3**, DOI: 10.3389/fcimb.2013.00110.
- [9] F. Israr, F. Hassan, B.S. Naqvi, et al. (2012), "Report: Studies on antibacterial activity of some traditional medicinal plants used in folk medicine", *Pak. J. Pharm. Sci.*, **25**(3), pp.669-674.
- [10] A. Kharisma, W. Tjahjaningsih, S. Sigit (2020), "Determination of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentration of ketapang (*Terminalia catappa*) leaves extract against *Vibrio harveyi*", *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **441**, DOI: 10.1088/1755-1315/441/1/012012.
- [11] I. Mueller-Harvey (2001), "Analysis of hydrolysable tannins", *Animal Feed Science and Technology*, **91**(1-2), pp.3-20, DOI: 10.1016/S0377-8401(01)00227-9.
- [12] N. Chansue, N. Assawawongkasem (2011), "The *in vitro* antibacterial activity and ornamental fish toxicity of the water extract of Indian almond leaves (*Terminalia catappa* Linn.)", *KKU Veterinary Journal*, **18**(1), pp.36-45.
- [13] M. Sarfarazi, S.M. Jafari, G. Rajabzadeh (2015), "Extraction optimization of saffron nutraceuticals through response surface methodology", *Food Analytical Methods*, **8**(9), pp.2273-2285, DOI: 10.1007/s12161-014-9995-3.
- [14] C. Liyana-Pathirana, F. Shahidi (2005), "Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology", *Food Chemistry*, **93**(1), pp.47-56, DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.08.050.
- [15] E.M. Silva, H. Rogez, Y. Larondelle (2007), "Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology", *Separation and Purification Technology*, **55**(3), pp.381-387, DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.008.
- [16] D.C. Montgomery, G.C. Runger (2003), *Applied Statistics and Probability for Engineers*, John Wiley and Sons, Inc., 790pp.
- [17] D. Bas, I.H. Boyac (2007), "Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology", *Journal of Food Engineering*, **78**(3), pp.836-845, DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.11.024.
- [18] W.S. Laitonjam, R. Yumnam, S.D. Asem, et al. (2013), "Evaluative and comparative study of biochemical, trace elements and antioxidant activity of *Phlogacanthus pubinervius* T. Anderson and *Phlogacanthus jenkinsii* CB Clarke leaves", *Indian Journal of Natural Products and Resources*, **4**(1), pp.67-72.
- [19] N.T.H. Nhi (2020), "Antibacterial activity of Moringa extract against *Vibrio* spp. causes disease in whiteleg shrimp under *in vitro* conditions", *Vietnam Journal of Agricultural Science and Technology*, **5**(114), pp.77-81 (in Vietnamese).
- [20] I.S. Che Sulaiman, M. Basri, H.R. Fard Masoumi, et al. (2017), "Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology", *Chemistry Central Journal*, **11**(1), pp.1-11, DOI: 10.1186/s13065-017-0285-1.
- [21] N. Medina-Torres, T. Ayora-Talavera, H. Espinosa-Andrews, et al. (2017), "Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources", *Agronomy*, **7**(3), DOI: 10.3390/agronomy7030047.
- [22] R. Tabaraki, A. Nateghi (2011), "Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology", *Ultrasonics Sonochemistry*, **18**(6), pp.1279-1286, DOI: 10.1016/j.ultrsonch.2011.05.004.

Tối ưu hóa điều kiện tách chiết saponin steroid từ lá cây *Costus pictus* bằng phương pháp đáp ứng bề mặt và khảo sát kháng khuẩn của cao chiết thu được trong điều kiện tối ưu hóa

Nguyễn Đào Thanh Hương^{1*}, Hồ Thị Nguyệt¹, Trương Minh Ngọc¹,
Lê Thanh Bình¹, Đỗ Thị Mai Trinh¹, Bùi Dương Xuân An²

¹Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh, 366A Trường Chinh, phường 13, quận Tân Bình, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Công Thương TP Hồ Chí Minh, 140 Lê Trọng Tấn, phường Tân Thạnh, quận Tân Phú, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/7/2023; ngày chuyển phản biện 5/7/2023; ngày nhận phản biện 21/7/2023; ngày chấp nhận đăng 25/7/2023

Tóm tắt:

Mục đích của nghiên cứu là tối ưu hóa quá trình chiết xuất saponin steroid từ lá cây *Costus pictus* và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết lá *C. pictus* thu được. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn lẻ chính là nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và thời gian chiết được khảo sát bằng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) để đưa ra điều kiện chiết tối ưu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các điều kiện tối ưu để chiết tách saponin steroid như sau: nồng độ dung môi ethanol 79%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/31 g/ml và thời gian chiết (60 giờ) cho kết quả đạt 7,62% saponin steroid. Cao chiết lá *C. pictus* sau khi tối ưu hóa điều kiện chiết xuất cho thấy có hiệu quả ức chế cả 4 dòng vi khuẩn *Bacillus subtilis*, *Vibrio* sp., *E. coli* và *Salmonella* sp. được khảo sát. Trong đó, hiệu lực ức chế *Vibrio* sp. cao nhất và hiệu lực ức chế *Salmonella* sp. thấp nhất.

Từ khóa: *Costus pictus*, kháng khuẩn, phương pháp đáp ứng bề mặt, saponin steroid.

Chỉ số phân loại: 2.4

1. Mở đầu

C. pictus là cây thuộc họ *Costaceae* có nguồn gốc từ Nam Mỹ, sau đó phát triển mạnh tại châu Á (Ấn Độ, Trung Quốc, Malaysia...) như loài cây cảnh. *C. pictus* đã được sử dụng trong nhiều bài thuốc cổ truyền của Ấn Độ và một số nước Đông Nam Á để điều trị đau khớp, viêm phổi, thấp khớp, tiêu chảy, đau đầu, nôn mửa [1]. Cây *C. pictus* có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như flavonoid, polyphenol, saponins, terpenoid, tannin, tinh dầu và các nguyên tố vi lượng (K, Ca, Cr, Mn, Cu và Zn) [2-4]. *C. pictus* có nhiều tác dụng y học như kháng nấm, kháng vi khuẩn, virus [5, 6], kháng oxy hóa [7], chống viêm [8], làm thuốc chống ung thư [9], trị bệnh tiểu đường [10, 11].

Saponin là một nhóm hợp chất đa dạng được đặc trưng bởi cấu trúc của chúng có chứa aglycone steroid hoặc triterpenoid và được gắn với một hoặc nhiều chuỗi đường [12], đặc trưng bởi tính chất hoạt động bề mặt vì có thể hòa tan trong nước tạo thành dung dịch tạo bọt. Saponin thường được nhóm thành hai loại chính: saponin steroid tồn tại chủ yếu trong cây một lá mầm và saponin triterpenoid có trong cây hai lá mầm [13]. Theo một số nghiên cứu cho thấy, chi *Costus* sp. được coi là một nguồn nguyên liệu mới có tiềm năng khai thác saponin, đặc biệt là saponin steroid [4, 10].

Trong quá trình ly trích hàm lượng saponin steroid bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau như nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi, thời gian chiết cũng như sự tương tác giữa các yếu tố với nhau. Mặc dù, đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hoạt chất và tác dụng sinh học của cây *C. pictus* nhưng vẫn chưa có nhiều bài báo nghiên cứu và điều kiện chiết

saponin steroid cũng như tối ưu quy trình chiết saponin steroid trên loài cây này. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm tối ưu hóa điều kiện chiết xuất saponin steroid bằng phương pháp RSM và khảo sát một số hoạt tính sinh học của cao chiết lá *C. pictus*. Nghiên cứu này góp phần cơ sở khoa học cho các nghiên cứu chiết xuất saponin steroid và khảo sát một số hoạt tính của cao chiết giàu saponin từ lá cây *C. pictus* và định hướng khai thác nguồn dược liệu một cách hiệu quả.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá trưởng thành 1 năm tuổi của cây *C. pictus* được thu hái, rửa sạch dưới nước máy, thái nhỏ, phơi khô trong bóng râm 7 ngày. Lá khô được xay nhuyễn bằng máy xay được liệu YB-600 (Trung Quốc). Sau đó, bột được lọc qua rây lọc có kích thước lỗ 1 mm để đạt được kích thước đồng nhất.

Hóa chất thí nghiệm: Ethanol ($\geq 99,8\%$, tỷ trọng: 0,79 g/cm³ (20°C), Merck); Diosgenin (Sigma-Aldrich, 95%); p-Anisaldehyde ($>99\%$, Merck); ethyl acetate (99,9%, Merck), H₂SO₄ (98%, Merck).

Các chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis*, *Vibrio* sp., *E. coli* và *Salmonella* sp. được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Vi sinh của Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Cân 500 g bột lá ngâm trong 5.000 ml n-hexan, lắc và để qua đêm để loại béo, sau đó loại n-hexan, bột lá được thu lại và sấy khô để làm nguyên liệu trong các thí nghiệm khảo sát đơn yếu tố.

*Tác giả liên hệ: Email: ngdthanhuong2312@gmail.com

Optimising steroid saponins extraction from *Costus pictus* leaves using response surface methodology and investigating antibacterial properties of extracts obtained under optimised conditions

Dao Thanh Huong Nguyen^{1*}, Thi Nguyet Ho¹,
Minh Ngoc Truong¹, Thanh Binh Le¹,
Thi Mai Trinh Do¹, Duong Xuan An Bui²

¹National Center for Technological Progress, Ho Chi Minh City Branch,
366A Truong Chinh Street, Ward 13, Tan Binh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Ho Chi Minh City University of Industry and Trade,
140 Le Trong Tan Street, Tan Thanh Ward, Tan Phu District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 3 July 2023; revised 21 July 2023; accepted 25 July 2023

Abstract:

The aim of the study was to optimise the extraction of steroid saponins from *Costus pictus* leaves and investigate the antibacterial activity of the obtained *C. pictus* leaf extract. The influence of major single factors, including ethanol concentration, ratio of raw materials to solvent, and extraction time, were investigated, and the use of the response surface methodology provided optimal extraction conditions. The results of the study showed that the optimal conditions for steroid saponins extraction were as follows: ethanol solvent concentration (79%), material/solvent ratio (1/31 g/ml), and extraction time (60 hours), resulting in 7.62% steroid saponin content. The *C. pictus* leaf extract obtained under these optimised conditions exhibited effective inhibition against all four bacterial strains: *Bacillus subtilis*, *Vibrio* sp., *E. coli*, and *Salmonella* sp.. Among them, the inhibitory effect on *Vibrio* sp. was the highest, while the inhibitory effect on *Salmonella* sp. was the lowest.

Keywords: antibacterial effect, *Costus pictus*, response surface methodology, steroid saponins.

Classification number: 2.4

2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng saponin steroid thu được: Cân 10 g bột lá đã loại bỏ và ngâm với ethanol có nồng độ 50, 60, 70, 80 và 90% với tỷ lệ 1/10 g/ml trên máy lắc với tốc độ 90 vòng/phút. Sau 24 giờ ngâm chiết, dịch chiết được lọc qua bông thấm và giấy lọc whatman 01 nhằm loại cặn và thu dịch lọc. Hàm lượng saponin steroid (%) được xác định bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 430 nm, tương tự với phương pháp dựng đường chuẩn diosgenin.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu với dung môi đến hàm lượng saponin steroid thu được: Cân 10 g bột lá đã loại bỏ và tiến hành ngâm trong ethanol với nồng độ được xác định trong thí nghiệm khảo sát nồng độ dung môi với các tỷ lệ 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 và 1:60 g/ml trong thời gian 24 giờ (có lắc

với tốc độ 90 vòng/phút). Sau đó dịch chiết được lọc và tiến hành đo hàm lượng saponin steroid tương tự như thí nghiệm khảo sát dung môi.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng yếu tố thời gian ngâm chiết đến hàm lượng saponin steroid thu được: Cân 10 g bột lá cho tiến hành ngâm trong ethanol với nồng độ và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi được xác định từ hai thí nghiệm trên, ngâm trong thời gian 24, 48, 72 và 96 giờ. Hỗn hợp dung dịch được lọc và đo hàm lượng saponin steroid có trong mẫu tương tự như các thí nghiệm trên.

2.2.4. Thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện chiết: Dựa trên kết quả của các thí nghiệm đơn yếu tố, phương pháp RSM được sử dụng để tối ưu hóa các điều kiện chiết saponin steroid từ bột lá *C. pictus* với 3 thông số quan trọng được lựa chọn là nồng độ dung môi (70-90%), tỷ lệ nguyên liệu với dung môi (1:20-1:40 g/ml) và thời gian ngâm chiết (24-72 giờ). Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp CCD (Central composite design) gồm 20 thí nghiệm và ma trận thí nghiệm được xây dựng bằng phần mềm Minitab 18.0. Mỗi yếu tố có 3 mức độ thay đổi theo bảng 1.

Bảng 1. Bảng mã hóa các biến độc lập.

Yếu tố khảo sát	Ký hiệu	Các mức mã hóa		
		-1	0	1
Nồng độ EtOH (%)	X ₁	70	80	90
Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	X ₂	1:20	1:30	1:40
Thời gian ngâm chiết (giờ)	X ₃	24	48	72

2.2.5. Khảo sát khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá *C. pictus* sau khi tối ưu hóa điều kiện chiết xuất: Khả năng kháng khuẩn của các cao chiết lá *C. pictus* được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa được thực hiện theo mô tả của J. Oonmetta-Aree và cs (2006) [14] có điều chỉnh. Trên mỗi đĩa thạch chứa môi trường LB được trải đều 100 µl dịch vi khuẩn (10⁶ CFU/ml). Sau đó, mỗi đĩa thạch được đục giếng có đường kính 7 mm và nhỏ 100 µl cao chiết ở các nồng độ 17,5, 35, 70 và 140 mg/ml vào mỗi giếng, dung dịch DMSO 10% được sử dụng làm đối chứng. Đường kính vòng vô khuẩn được đo bằng thước đo đơn vị mm sau 24 giờ ủ mẫu ở 32°C.

2.2.6. Xác định hàm lượng saponin steroid trong mẫu: Phương pháp xác định hàm lượng saponin steroid được thực hiện theo R. Singh và cs (2015) [15], J.C. Baccou và cs (1977) [16] có điều chỉnh. Nguyên lý của phương pháp đo saponin steroid dựa trên phản ứng của saponin steroid với anisaldehyde và ethyl acetate trong môi trường acid để tạo phức chất có màu, độ hấp thụ của phức chất được đo ở bước sóng λ=430 nm. Phần trăm hàm lượng saponin steroid (%) được xác định dựa trên đường chuẩn diosgenin đã biết. Phương pháp dựng đường chuẩn diosgenin như sau: hút 1 ml dung dịch diosgenin được pha trong ethyl acetate (nồng độ 10, 20, 30, 40 và 50 µg/ml) vào ống nghiệm, sau đó thêm 1 ml dung dịch A (0,5 ml anisaldehyde pha trong 99,5 ml ethyl acetate) và 1 ml dung dịch B (hỗn hợp 50 ml H₂SO₄ và 50 ml ethyl acetate). Hỗn hợp dung dịch được đun cách thủy trong nước 60°C trong 20 phút, sau đó làm lạnh trong bể nước ở nhiệt độ phòng 15 phút. Hỗn hợp được đo mật độ quang bằng máy đo quang phổ Genesys 50 -

Thermo USA ở bước sóng $\lambda=430$ nm, ethyl acetate được sử dụng làm mẫu đối chứng. Đường chuẩn diosgenin được biểu diễn dưới dạng: $Y = 0,0067x + 0,0568$, với $R^2=0,9966$. Phần trăm hàm lượng saponin steroid (%) trong dịch chiết lá *C. pictus* được đo tương tự và saponin steroid trong mẫu thí nghiệm được biểu thị bằng % saponin steroid (mg diosgenin đương lượng/khối lượng khô) và được tính theo công thức sau:

$$\text{Hàm lượng saponin steroid (\%)} = \frac{C \times n \times V}{m \times 1000 \times (100 - h)} \times 100\%$$

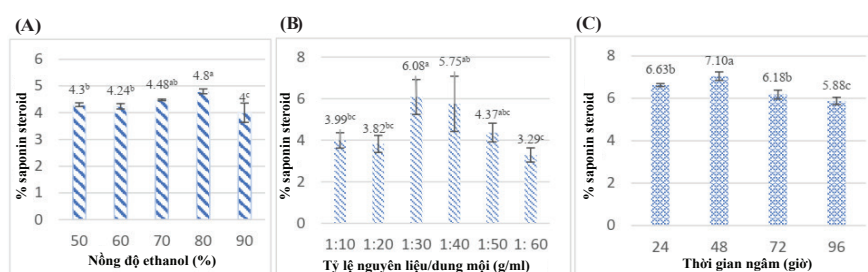
trong đó: C là nồng độ saponin steroid theo đường chuẩn diosgenin ($\mu\text{g/ml}$); n là hệ số pha loãng; V là thể tích dịch chiết; m là khối lượng mẫu ngâm; h là độ ẩm mẫu.

2.2.7. Xử lý dữ liệu: Tất cả các thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, kết quả được biểu diễn dưới dạng mean $\pm$ SD. Các số liệu liên quan đến định lượng hoạt chất trong dịch chiết được xử lý phân tích hồi quy, đưa ra hệ số tương quan bằng cách sử dụng phân tích hồi quy tuyến tính. Số liệu thu nhận được xử lý và tính toán trên phần mềm Excel, phân tích số liệu ANOVA (One-way analysis of variance), so sánh thống kê số liệu và xây dựng mô hình tối ưu hóa các điều kiện ly trích saponin steroid bằng phần mềm Minitab 18.0. Kiểm định Turkey được thực hiện để đánh giá mức độ khác biệt có ý nghĩa giữa các giá trị với mức ý nghĩa $p<0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hàm lượng saponin steroid thu nhận được

Ảnh hưởng của các yếu tố đơn được khảo sát bao gồm nồng độ ethanol, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng saponin steroid thu nhận được được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến phần trăm hàm lượng saponin steroid thu được. (A) Ảnh hưởng của nồng độ ethanol; (B) Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi; (C) Ảnh hưởng của thời gian ngâm. ^{a, b, c}: Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$.

Ảnh hưởng của nồng độ ethanol đến phần trăm hàm lượng saponin steroid thu nhận thể hiện ở hình 1A cho thấy, nồng độ ethanol có ảnh hưởng đến hàm lượng saponin steroid thu nhận được. Cụ thể, hàm lượng saponin steroid thu được tăng dần tỷ lệ thuận với nồng độ dung môi và đạt cực đại khi chiết với dung môi EtOH 80% (tương ứng 4,8%), nhưng không có nhiều khác biệt so với các nồng độ ethanol thấp hơn và giảm mạnh khi tăng nồng độ EtOH lên 90% (tương ứng 4,0%). Điều này cho thấy, trong quá trình chiết xuất saponin steroid từ lá *C. pictus*, nồng độ dung môi trong khoảng khảo sát ảnh hưởng không mạnh đến hiệu suất thu

nhận saponin steroid. Mặt khác, nồng độ ethanol cao không thích hợp cho việc chiết xuất saponin vì có thể làm biến tính protein trong vách tế bào làm giảm hiệu quả chiết xuất. Như vậy, nồng độ ethanol 80% được chọn làm nồng độ dung môi thích hợp cho thí nghiệm tiếp theo.

Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến phần trăm hàm lượng saponin steroid thu nhận được thể hiện ở hình 1B. Số liệu thực nghiệm cho thấy, hàm lượng saponin steroid tăng mạnh khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi tăng dần từ tỷ lệ 1/10 lên 1/30 mg/ml, tương đương với hàm lượng saponin steroid thu được tăng từ 3,99 lên 6,08%, sau đó giảm dần khi tiếp tục tăng tỷ lệ nguyên liệu/dung môi từ 1/30 lên đến 1/60 mg/ml. Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi có ảnh hưởng đến tốc độ hòa tan hoạt chất trong dung môi nên khi tỷ lệ này quá nhỏ thì dẫn đến hiệu quả chiết hoạt chất thấp, khi tăng thể tích dung môi dẫn đến nồng độ chất hòa tan trong dung môi giảm giúp tăng tốc độ chiết hoạt chất. Tuy nhiên, khi tỷ lệ dung môi và nguyên liệu đạt được điểm cân bằng thì hàm lượng hoạt chất trong dung môi không thể tăng thêm. Hiện tượng này đều được ghi nhận khi tách chiết các nhóm hoạt chất khác như flavonoid, polyphenol [17] và tách chiết saponin triterpenoid [18]. Do đó, tỷ lệ 1/30 g/ml là tỷ lệ nguyên liệu/dung môi thích hợp cho thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả của thí nghiệm ảnh hưởng của thời gian ngâm đến hàm lượng saponin steroid được thể hiện ở hình 1C. Kết quả cho thấy, phần trăm hàm lượng saponin steroid gia tăng khi tăng thời gian ngâm dung môi từ 24 lên 48 giờ (tương đương với % hàm lượng saponin steroid thu được tăng từ 6,63 lên 7,10%). Khi tiếp tục tăng thời gian ngâm dung môi từ 48 lên 72 và 96 giờ thì hàm lượng saponin steroid bắt đầu giảm (tương đương 7,10% ở 48 giờ giảm xuống 6,18% ở mốc 72 giờ và 5,88% ở mốc 96 giờ) có khác biệt thống kê với nghiệm thức ngâm 48 giờ. Điều này có thể được lý giải là thời gian đầu chiết xuất dài giúp saponin hòa tan và khuếch tán từ trong tế bào ra môi trường, sau đó khi tăng thêm thời gian chiết xuất thì các tạp chất và các thành phần khác trong dịch chiết đạt trạng thái cân bằng, độ hòa tan thay đổi có thể dẫn các phản ứng keo tụ làm giảm lượng saponin [19].

3.2. Kết quả tối ưu hóa điều kiện chiết saponin steroid từ lá cây *C. pictus*

Trên cơ sở khảo sát các yếu tố đơn ảnh hưởng đến hàm lượng saponin steroid thu nhận được bằng phương pháp ngâm chiết cho thấy, hàm lượng saponin steroid trong dịch chiết từ lá *C. pictus* chịu ảnh hưởng từ các điều kiện chiết như nồng độ dung môi, tỷ lệ nguyên liệu với dung môi và thời gian chiết. Do đó, phương pháp RSM theo ma trận thiết kế thí nghiệm Plackett-Burman với mô hình CCD được thiết kế với 3 biến được sử dụng nhằm tối ưu hóa điều kiện chiết xuất saponin steroid. Kết quả hàm lượng saponin steroid thu nhận được theo ma trận thực nghiệm Plackett-Burman được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Bảng ma trận thực nghiệm Plackett-Burman và hàm lượng saponin steroid thực nghiệm và dự đoán.

STT	Nồng độ dung môi EtOH (%)	Tỷ lệ nguyên liệu với dung môi (g/ml)	Thời gian ngâm (giờ)	Hàm lượng saponin steroid (%)	
	X_1	X_2	X_3	Thực nghiệm	Dự đoán
1	70	1:20	24	4,42 ^a ±0,03	4,57
2	90	1:20	24	4,86 ^a ±0,35	5,09
3	70	1:40	24	5,54 ^a ±0,22	5,61
4	90	1:40	24	6,62 ^a ±0,73	6,38
5	70	1:20	72	6,93 ^a ±0,34	7,26
6	90	1:20	72	6,70 ^a ±0,05	6,71
7	70	1:40	72	7,09 ^b ±0,10	6,96
8	90	1:40	72	6,73 ^a ±0,30	6,66
9	63	1:30	48	6,59 ^a ±0,13	6,37
10	97	1:30	48	6,46 ^a ±0,12	6,55
11	80	1:13	48	6,65 ^a ±0,01	6,26
12	80	1:47	48	6,85 ^a ±0,43	7,10
13	80	1:30	8	4,42 ^a ±0,07	4,33
14	80	1:30	88	6,87 ^a ±0,17	6,83
15	80	1:30	48	7,38 ^{abc} ±0,07	7,62
16	80	1:30	48	7,78 ^{ab} ±0,47	7,62
17	80	1:30	48	7,31 ^{abc} ±0,07	7,62
18	80	1:30	48	8,06 ^a ±0,05	7,62
19	80	1:30	48	7,37 ^{abc} ±0,05	7,62
20	80	1:30	48	7,80 ^{ab} ±0,14	7,62

a, b, c...: Các ký tự theo hàng dọc khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa $p < 0,05$.

Kết quả bảng 2 cho thấy, dữ liệu thu được từ thực nghiệm không có sự chênh lệch nhiều so với dữ liệu dự đoán từ mô hình với R^2 hồi quy (đạt 0,9511), có 95,11% số liệu thực nghiệm tương thích với mô hình dự đoán. Hàm lượng saponin steroid thu được từ ma trận thí nghiệm có sự biến thiên, trong đó 5 thí nghiệm trung tâm (từ thí nghiệm 15 đến thí nghiệm 20) cho hiệu suất thu nhận saponin cao và ổn định. Cụ thể, hàm lượng saponin steroid thu nhận được thấp nhất trong thí nghiệm số 1 (đạt 4,42%) và cao nhất trong thí nghiệm số 18 (đạt 8,06%).

Sau khi đưa số liệu kết quả hàm lượng saponin steroid thu được từ ma trận thí nghiệm Plackett-Burman gồm 20 thí nghiệm vào phần mềm Minitab 18.0 cho thấy, hàm lượng saponin steroid thu được tuân theo quy trình hồi quy bậc 2:

$$Y = -31,90 + 0,695X_1 + 0,242X_2 + 0,2814X_3 - 0,004099X_1^2 - 0,003320X_2^2 - 0,001253X_3^2 - 0,00062X_1X_2 - 0,001101X_1X_3 - 0,001404X_2X_3$$

trong đó: Y là hàm lượng saponin steroid dự đoán thu nhận được từ lá *C. pictus*; X_1 là nồng độ dung môi ethanol; X_2 là tỷ lệ nguyên liệu với dung môi; X_3 là thời gian ngâm chiết.

Từ bảng phân tích ANOVA (bảng 3) cho thấy, chỉ số sai số mô hình đạt $0,430 > 0,05$ nên mô hình có độ phù hợp với số liệu thực nghiệm và có độ chính xác cao (p -value mô hình = 0,00).

Bảng 3. Bảng phân tích ANOVA của mô hình thực nghiệm.

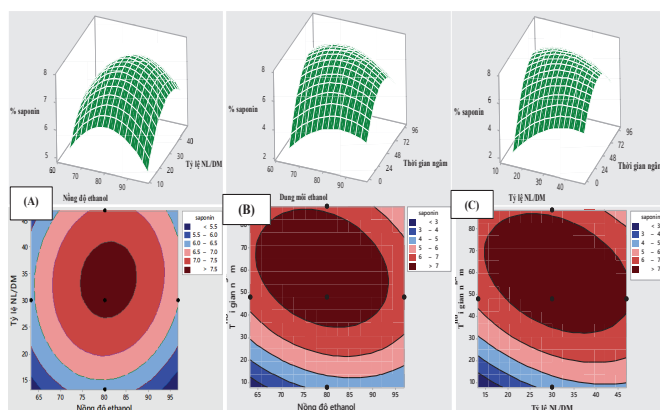
Nguồn	Hệ số tự do	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	f-value	p-value
Mô hình	9	19,8529	2,20588	21,65	0,000
Tuyến tính	3	8,4106	2,80355	27,51	0,000
Nồng độ ethanol (X_1)	1	0,0375	0,03754	0,37	0,557
Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (X_2)	1	0,8457	0,84569	8,3	0,016
Thời gian ngâm (X_3)	1	7,5274	7,52741	73,87	0,000
Bình phương	3	9,9443	3,31477	32,53	0,000
X_1^2	1	2,4215	2,42149	23,76	0,001
X_2^2	1	1,5884	1,58844	15,59	0,003
X_3^2	1	7,5041	7,50408	73,64	0,000
Tương tác 2 chiều	3	1,4979	0,49931	4,9	0,024
X_1X_2	1	0,0307	0,03068	0,3	0,595
X_1X_3	1	0,5584	0,5584	5,48	0,041
X_2X_3	1	0,9088	0,90883	8,92	0,014
Sai số	10	1,019	0,1019		
Sai số mô hình	5	0,5515	0,1103	1,18	0,430
Sai số ngẫu nhiên	5	0,4675	0,0935		
Tổng số	19	20,8719			

R-sq=95,12%
R-sq(adj)=90,72%
R-sq(pred)=76,16%

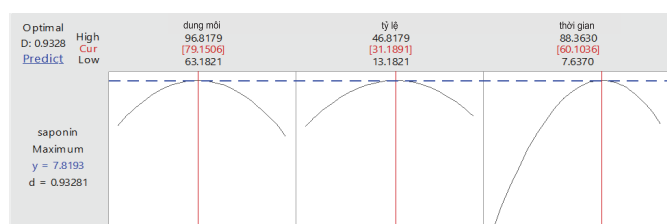
Phân tích ANOVA (bảng 3) được sử dụng để đánh giá độ tin cậy của mô hình thực nghiệm được thiết kế ở bảng 1 cho thấy mô hình có độ chính xác cao ($p=0,000$). Cụ thể, phần trăm hàm lượng saponin steroid chịu ảnh hưởng của 2 tham số bậc 1, bao gồm tỷ lệ nguyên liệu với dung môi (X_2), thời gian ngâm (X_3), 3 tham số bậc 2 là X_1^2 , X_2^2 , X_3^2 và 2 tham số có tương tác hai chiều là nồng độ ethanol với thời gian ngâm (X_1X_3) và tỷ lệ nguyên liệu/dung môi với thời gian ngâm chiết (X_2X_3). Ngược, lại các tham số X_1 và X_1X_2 không có ảnh hưởng đến mô hình thực nghiệm. Dựa vào kết quả phân tích cho thấy phương trình hồi quy biểu diễn phần trăm hàm lượng saponin steroid mới như sau:

$$Y = -31,90 + 0,242X_2 + 0,2814X_3 - 0,004099X_1^2 - 0,003320X_2^2 - 0,001253X_3^2 - 0,001101X_1X_3 - 0,001404X_2X_3$$

Đồ thị đồng mức và đồ thị RSM (hình 2) cho thấy, hàm lượng saponin steroid biến đổi phụ thuộc vào tỷ lệ nguyên liệu với dung môi, thời gian ngâm chiết cũng như sự tương tác của 2 yếu tố này. Cụ thể, phần trăm hàm lượng saponin steroid thu được biến thiên khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và thời gian ngâm thay đổi (hình 2A-2C), trong khi đó, hàm lượng saponin steroid (%) không có sự thay đổi rõ ràng khi thay đổi nồng độ ethanol (hình 2A và 2B), điều này phù hợp với phương trình hồi quy của mô hình thí nghiệm.



Hình 2. Đồ thị biểu thị sự tương quan giữa các yếu tố khác nhau lên hàm lượng saponin steroid thu nhận được. Phần trăm hàm lượng saponin steroid thu được biến thiên khi tỷ lệ nguyên liệu/dung môi và thời gian ngâm thay đổi (A, B, C), trong khi đó hàm lượng saponin steroid (%) không có sự thay đổi rõ ràng khi thay đổi nồng độ ethanol (A, B).



Hình 3. Đồ thị biểu diễn điểm tối ưu của điều kiện chiết xuất saponin steroid từ lá *C. pictus*.

Từ các kết quả trên và đồ thị biểu diễn điểm tối ưu của điều kiện chiết xuất saponin steroid (hình 3) chúng tôi đưa ra điều kiện chiết xuất saponin steroid tối ưu (bảng 4) như sau.

Bảng 4. Bảng biểu diễn hàm lượng saponin trong điều kiện tối ưu hóa chiết xuất.

Điều kiện chiết xuất tối ưu			Saponin steroid (%)	
Nồng độ ethanol (%)	Tỷ lệ nguyên liệu/dung môi (g/ml)	Thời gian ngâm (giờ)	Thực nghiệm	Dự kiến
79	1/31	60	7,62±0,31	7,82

3.3. Kết quả kháng khuẩn của cao chiết *C. pictus* đã tối ưu hóa

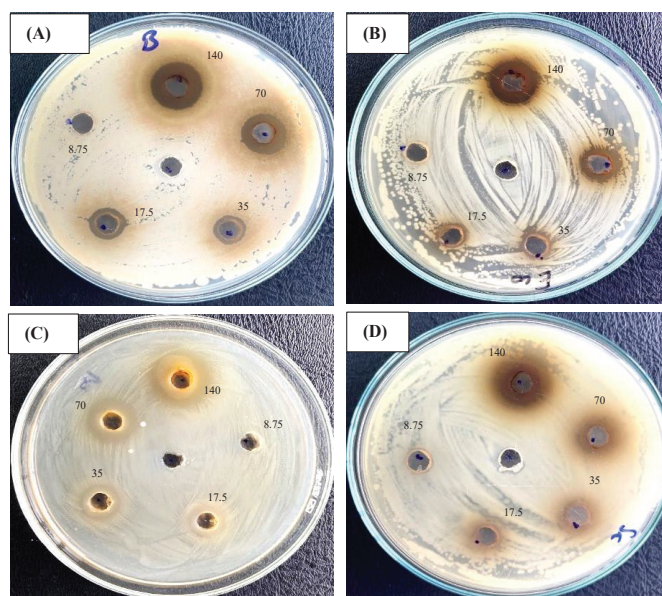
Khả năng kháng khuẩn của cao chiết lá *C. pictus* được xác định dựa trên khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn thể hiện qua đường kính vòng kháng khuẩn được tạo ra trên đĩa petri được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết *C. pictus*.

Nồng độ cao chiết (mg/ml)	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)			
	<i>B. subtilis</i>	<i>Vibrio</i> sp.	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.
8,75	-	-	-	-
17,5	2,33±0,57	4,33±0,58	1,33±1,15	-
35	4,33±1,15	4,67±1,16	1,67±0,57	-
70	5,67±0,57	8,00±0,00	4,67±0,57	4,33±0,58
140	8,33±1,16	10,33±0,58	7,33±0,58	5,67±0,57

a, b, c: các ký tự khác nhau theo sau các số trung bình thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p<0,05.

Từ bảng kết quả đường kính kháng khuẩn (bảng 5) cho thấy, cao chiết lá *C. pictus* có khả năng ức chế sự phát triển của *B. subtilis*, *Vibrio* sp., *E. coli* và *Salmonella* sp.. Nồng độ cao chiết có khả năng kháng khuẩn từ 17,5 mg/ml với đường kính kháng khuẩn tỷ lệ thuận với nồng độ cao chiết. Khả năng ức chế vi khuẩn của cao *C. pictus* mạnh nhất thể hiện trên chủng *Vibrio* sp. và yếu nhất trên chủng *Salmonella* sp. (bảng 5, hình 4). Cụ thể, nồng độ cao chiết nhỏ nhất có thể ức chế vi khuẩn là 17,5 mg/ml khi thử nghiệm với *B. subtilis*, *E. coli* và *Vibrio* sp., đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 1,33 đến 4,33 mm, trong đó chủng vi khuẩn bị ức chế tại nồng độ này cao nhất là *Vibrio* sp., với đường kính vòng kháng khuẩn đạt 4,33 mm. Đối với chủng *Salmonella* sp., ở nồng độ 17,5 mg/ml vẫn chưa có khả năng ức chế. Đường kính vòng kháng khuẩn tăng dần khi tăng nồng độ cao chiết *C. pictus* từ 17,5 đến 140 mg/ml, cả 4 chủng thí nghiệm đều bị ức chế mạnh nhất ở nồng độ cao chiết 140 mg/ml với đường kính vòng kháng khuẩn dao động từ 5,67 đến 10,33 mm (bảng 5).



Hình 4. Đường kính vòng kháng khuẩn của cao chiết *C. pictus* với các chủng vi khuẩn khác nhau. (A) *B. subtilis*; (B) *E. coli*; (C) *Vibrio* sp.; (D) *Salmonella* sp..

Từ thí nghiệm kháng khuẩn cho thấy, cao chiết *C. pictus* có khả năng kháng cả 2 loại vi khuẩn gram dương và gram âm, kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu của R. Ramya và cs (2015) [20], nhưng khả năng kháng khuẩn trong thí nghiệm của chúng tôi có hiệu quả yếu hơn của nhóm tác giả này. Từ những thí nghiệm định tính và các khảo sát trước trong nghiên cứu của N.D.T. Huang và cs (2022) [17] cho thấy, cao chiết ethanol lá *C. pictus* có chứa nhiều nhóm hoạt tính sinh học như flavonoid, polyphenol, saponin, glycoside và tannin. Các thành phần hóa học thực vật như tanin, flavonoid, alkaloid và một số hợp chất thơm khác là các chất chuyển hóa thứ cấp đóng vai trò là cơ chế bảo vệ thực vật chống lại nhiều vi sinh vật. Trong đó, flavonoid là chất chống oxy hóa hòa tan trong nước mạnh giúp ngăn ngừa tổn thương tế bào oxy hóa và có hoạt tính chống ung thư, hoạt động chống viêm [21]. Một

số nghiên cứu khác cho thấy, saponin và polyphenol có nhiều tác dụng như kháng viêm, kháng khuẩn, kháng virus, kháng nấm [19, 22, 23]. Do đó, khả năng kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao chiết lá *C. pictus* là kết quả của sự tác động của các nhóm hoạt chất sinh học chứa trong cao chiết.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, điều kiện tối ưu cho quá trình tách chiết saponin steroid từ lá cây *C. pictus* với nồng độ ethanol 79%, tỷ lệ nguyên liệu/dung môi 1/31 g/ml và thời gian tách chiết là 60 giờ với hàm lượng saponin steroid đạt cao nhất là 7,62%.

Sau khi thực hiện tối ưu hóa quy trình tách chiết saponin steroid trong lá *C. pictus* cho thấy cao chiết thu được từ quá trình tối ưu hóa có hoạt tính sinh học. Cao chiết lá *C. pictus* có khả năng kháng khuẩn đối với cả 4 chủng vi khuẩn được khảo sát bao gồm *B. subtilis*, *E. coli*, *Vibrio* sp. và *Salmonella* sp., trong đó hiệu quả kháng khuẩn của cao chiết đạt cao nhất ở nồng độ 140 mg/ml ở cả 4 chủng và hiệu quả ức chế mạnh nhất thể hiện ở chủng *Vibrio* sp. (tương đương 10,33 mm) và yếu nhất ở chủng *Salmonella* sp. (tương đương 5,67 mm).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Selvakumarasamy, B. Rengaraju, S.A. Arumugam, et al. (2021), “*Costus pictus*-transition from a medicinal plant to functional food: A review”, *Futur. Foods*, **4**(7), DOI: 10.1016/j.fufo.2021.100068.
- [2] A. Aruna, R. Nandhini, V. Karthikeyan, et al. (2014), “Insulin plant (*Costus pictus*) leaves: Pharmacognostical standardization and phytochemical evaluation”, *Am. J. Pharm. Heal. Res.*, **2**(8), pp.106-119.
- [3] G.M.R. Devi (2019), “A comprehensive review on *Costus pictus* D. Don”, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **10**(7), pp.3187-3195, DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(7).3187-95.
- [4] V. Manimozhi (2019), “Phytochemical investigation of the medicinal plant *Costus pictus* D. Don”, *J. Emerg. Technol. Innov. Res.*, **6**(6), pp.49-59.
- [5] O. Guclu-Ustundag, G. Mazza (2007), “Saponins: Properties, applications and processing”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **47**(30), pp.231-258, DOI: 10.1080/10408390600698197.
- [6] J. Raj, R. Kalaivani (2016), “Comparative *invitro* evaluation of anthelmintic property of leaves and rhizome of *Costus pictus* D. Don against albendazole”, *Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.*, **6**(5), pp.438-441, DOI: 10.5455/njppp.2016.6.0205423032016.
- [7] M. Majumdar, P. Parihar (2012), “Antibacterial, anti-oxidant and antiproliferative potential of *Costus pictus* from southern region, India”, *Asian J. Plant Sci. Res.*, **2**(2), pp.95-101.
- [8] S. Ashwini, Z. Bobby, M. Joseph, et al. (2015), “Insulin plant (*Costus pictus*) extract improves insulin sensitivity and ameliorates atherogenic dyslipidaemia in fructose induced insulin resistant rats: Molecular mechanism”, *J. Funct. Foods*, **17**, pp.749-760, DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.024.
- [9] V. Prejeena, S.N. Suresh, V. Varsha (2017), “Phytochemical screening, antioxidant analysis and antiproliferative effect of *Costus pictus* D. Don leaf extracts”, *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research*, **4**(3), pp.2373-2378.
- [10] G.V. Srinivasan, K.K. Vijayan, P. Sharanappa, et al. (2016), “Identification of chemical compounds in the essential oil from *Costus pictus* D. Don plant parts antimicrobial studies isolation and quantification of diosgenin from its root”, *J. Chem. Pharm. Res.*, **8**(7), pp.594-604.
- [11] M.A. Jayasri, S. Gunasekaran, A. Radha, et al. (2008), “Anti-diabetic effect of *Costus pictus* leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats”, *International Journal of Diabetes and Metabolism*, **16**(3), pp.117-122.
- [12] J. Navarro del Hierro, G. Reglero, D. Martin (2020), “Chemical characterization and bioaccessibility of bioactive compounds from saponin-rich extracts and their acid-hydrolysates obtained from fenugreek and quinoa”, *Foods*, **9**(9), DOI: 10.3390/foods9091159.
- [13] M. Abdelrahman, S. Jogaiah (2020), *Bioactive Molecules in Plant Defense*, Springer International Publishing, DOI: 10.1007/978-3-030-61149-1.
- [14] J. Oonmetta-Aree, T. Suzuki, P. Gasaluck, et al. (2006), “Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on staphylococcus aureus”, *LWT - Food Sci. Technol.*, **39**(10), pp.1214-1220, DOI: 10.1016/j.lwt.2005.06.015.
- [15] R. Singh, V.D. Mendhulkar (2015), “*Abutilon indicum* (Linn.) sweet leaves, a natural source of saponin: A spectrophotometric assay”, *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, **8**(4), pp.725-729.
- [16] J.C. Baccou, F. Lambert, Y. Sauvaire (1977), “Spectrophotometric method for the determination of total steroidal sapogenin”, *Analyst*, **102**, pp.458-465, DOI: 10.1039/an9770200458.
- [17] N.D.T. Huong, H.T. Nguyet, T.M. Ngoc (2022), “Effects of extract conditions on polyphenols and flavonoids from the extract of *Costus pictus* D. Don leaves grown in Vietnam.”, *Journal of Science of Food*, **22**(4), pp.55-63 (in Vietnamese).
- [18] D.T.M. Trinh, T.M. Ngoc, N.T. Lien, et al. (2022), “Optimization conditions for extraction of saponin triterpenoid from *Camellia oleifera* by surface response method (RSM)”, *Journal of Science of Food*, **22**(4), pp.76-87 (in Vietnamese).
- [19] Y. Hu, X. Cui, Z. Zhang, et al. (2018), “Optimisation of ethanol-reflux extraction of saponins from steamed panax notoginseng by response surface methodology and evaluation of hematopoiesis effect”, *Molecules*, **23**(5), DOI: 10.3390/molecules23051206.
- [20] R. Ramya, R. Dhamotharan (2015), “Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Costus speciosus*”, *Int. J. Heal. Sci. Res.*, **5**(12), pp.170-176.
- [21] C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga (1996), “Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids”, *Free Radic. Biol. Med.*, **20**(7), pp.933-956, DOI: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.
- [22] S. Dong, X. Yang, L. Zhao, et al. (2020), “Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria”, *Ind. Crops Prod.*, **149**(7), DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112350.
- [23] K. Vijayaraghavan, J. Rajkumar, M.A. Seyed (2018), “Phytochemical screening, free radical scavenging and antimicrobial potential of *Chromolaena odorata* leaf extracts against pathogenic bacterium in wound infections - A multispectrum perspective”, *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, **15**(7), pp.103-112, DOI: 10.1016/j.bcab.2018.05.014.

Tối ưu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết hợp chất polyphenol từ hạt cau (*Areca catechu* L.) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt

Nguyễn Bá Thọ*, Trương Minh Ngọc, Lê Thị Huyền, Nguyễn Thị Liên

Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh, 366A Trường Chinh, phường 13, quận Tân Bình, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/7/2023; ngày chuyển phản biện 7/7/2023; ngày nhận phản biện 18/7/2023; ngày chấp nhận đăng 21/7/2023

Tóm tắt:

Polyphenol là một nhóm hợp chất tự nhiên có trong thực vật với đặc tính kháng khuẩn và chống oxy hóa, mang lại nhiều tiềm năng ứng dụng trong sản xuất dược phẩm và nông nghiệp. Với mục đích tách chiết và thu nhận hàm lượng hợp chất polyphenol cao từ hạt cau (*Areca catechu* L.), nghiên cứu đã sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt để đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố kỹ thuật như nồng độ dung môi (X_1), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (DM/NL) (v/w) (X_2) và thời gian ngâm (giờ) (X_3) đến hàm lượng hợp chất polyphenol (Y) được trích ly trong hạt cau. Kết quả nghiên cứu thu được mô hình mô tả tách chiết hợp chất polyphenol từ hạt cau bằng hàm mục tiêu $Y = 80,64 + 3,10X_1 - 1,27X_2 - 6,00X_1^2 - 3,66X_2^2 - 5,07X_3^2$. Dựa vào hàm mục tiêu, kết quả hàm lượng polyphenol được thu nhận cao nhất là 80,72 mg GAE/g nguyên liệu, với các điều kiện tối ưu như sau: nồng độ dung môi ethanol 55%, tỷ lệ ngâm DM/NL (v/w) 35/1 và thời gian ngâm 2 giờ. Kết quả hàm lượng polyphenol của thực nghiệm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với kết quả dự đoán của mô hình. Kết quả này là tiền đề cho quy trình thu nhận hợp chất polyphenol từ hạt cau ứng dụng kháng khuẩn trong nông nghiệp và y dược.

Từ khóa: *Areca catechu* L., đáp ứng bề mặt, hạt cây cau, polyphenol.

Chỉ số phân loại: 2.4

1. Đặt vấn đề

Cây cau (*Areca catechu* L.) thuộc họ Cau (*Areaceae*) [1], được trồng phổ biến ở Việt Nam và nhiều nơi trên thế giới. Hạt cây cau được xác định có hơn 59 hợp chất, trong đó các nhóm có hàm lượng cao là polyphenol [2], alkaloid, flavonoid, tanin, triterpen [3]. Trong đó, hợp chất polyphenol có nhiều hoạt tính sinh học như kháng khuẩn (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*), chống oxy hóa và ký sinh trùng (*Ascaridia galli*, *Ascaris suum*, *Fasciolopsis buski*) [4]. Một nghiên cứu gần đây đã dự đoán sự gia tăng nhu cầu sử dụng polyphenol [5], theo đó nhu cầu về polyphenol trên thị trường polyphenol toàn cầu được định giá 761,9 triệu USD vào năm 2020 và dự kiến sẽ đạt 969,2 triệu USD vào cuối năm 2026, tăng trưởng 3,5% trong giai đoạn 2021-2026.

Trong các bước thu nhận hợp chất polyphenol trong thực vật thì chiết xuất là bước quan trọng. Tuy nhiên, có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của quá trình chiết xuất. Tính chất không ổn định, đa dạng của các hợp chất polyphenol từ các loài thực vật khác nhau nên đòi hỏi một cách chiết xuất phù hợp cho từng mẫu thực vật [6, 7]. Do đó, việc xác định các điều kiện chiết xuất rất quan trọng để thu nhận tối đa hàm lượng polyphenol có trong mẫu. Một số yếu tố cần được xem xét khi sử dụng các kỹ thuật chiết xuất bao gồm loại và tỷ lệ dung môi, thời gian chiết và tỷ lệ chất rắn với chất lỏng để đảm bảo chiết xuất hoàn toàn các hợp chất quan tâm, đồng thời tránh biến đổi hóa học [6, 8-10].

Các nghiên cứu chiết xuất có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp đơn yếu tố [11, 12] hoặc phương pháp đáp ứng bề mặt [7, 13]. Trong cách tiếp cận đơn yếu tố thì tại một thời điểm chỉ có một yếu tố được chọn thay đổi trong khi tất cả các yếu tố khác không đổi. Cách tiếp cận này tốn thời gian và tốn kém. Ngoài ra, các tác động tương tác giữa các biến không thể đánh giá được [7, 14]. Phương pháp đáp ứng bề mặt là một phương pháp thống kê sử dụng dữ liệu từ các thiết kế thí nghiệm phù hợp để xác định và giải đồng thời các phương trình đa biến. Các phương trình này có thể được biểu diễn bằng đồ thị dưới dạng các bề mặt đáp ứng, có thể được sử dụng theo 3 cách: i) Để mô tả ảnh hưởng của các biến thử nghiệm ở đơn lẻ đến kết quả; ii) Để xác định mối quan hệ giữa các biến thử nghiệm với nhau; iii) Để mô tả hiệu quả kết hợp của các biến thử nghiệm lên kết quả [15]. Cách tiếp cận này có thể khắc phục được những nhược điểm của phương pháp đơn yếu tố [14] và đã có nghiên cứu sử dụng trong việc chiết xuất các hợp chất polyphenol từ các nguồn thực vật như từ hạt quả chokeberry, vỏ quả lựu, vỏ cây vân sam, hạt lúa mì [16-19].

Mặc dù, việc tối ưu hóa các điều kiện chiết xuất hợp chất thực vật bằng phương pháp đáp ứng bề mặt có nhiều ưu điểm nhưng chưa có nhiều nghiên cứu trong nước về tối ưu hóa việc chiết xuất các hợp chất polyphenol từ hạt cây cau. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là tối ưu một số điều kiện chiết xuất (nồng độ dung môi, thời gian chiết xuất và tỷ lệ dung môi) cần thiết để chiết xuất các thành phần

*Tác giả liên hệ: Email: nguyentbatho0705@gmail.com

Optimising certain factors influencing the process of extracting polyphenolic compounds from areca nuts (*Areca catechu* L.) using response surface methodology

Ba Tho Nguyen*, Minh Ngoc Truong,
Thi Huyen Le, Thi Lien Nguyen

National Center for Technological Progress,
Ho Chi Minh City Branch, 366A Truong Chinh Street,
Ward 13, Tan Binh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 4 July 2023; revised 18 July 2023; accepted 21 July 2023

Abstract:

Polyphenols are a group of natural compounds found in plants with antibacterial and antioxidant properties, offering significant potential applications in pharmaceutical and agricultural production. To extract and obtain a high content of polyphenolic compounds from areca nuts (*Areca catechu* L.), the study utilised a surface response methodology to assess the impact of various technical factors such as solvent concentration (X_1), solvent-to-material ratio (v/w) (X_2), and soaking time (hours) (X_3) on the yield of polyphenolic compounds (Y) extracted from areca nuts. The study's results yielded a model describing the extraction of polyphenolic compounds from areca nuts using the objective function $Y = 80.64 + 3.10X_1 - 1.27X_3 - 6.00X_1^2 - 3.66X_2^2 - 5.07X_3^2$. Based on the objective function, the highest polyphenol content obtained was 80.72 mg GAE/g of raw material under the following conditions: ethanol solvent concentration of 55%, solvent-to-material ratio (v/w) of 35/1, and soaking time of 2 hours. The experimental polyphenol content results showed no statistically significant differences compared to the model-predicted outcomes. These results serve as a basis for the polyphenol extraction process from areca nuts with antibacterial applications in agriculture and medicine.

Keywords: *Areca catechu* L., areca nut, phenolic, response surface methodology.

Classification number: 2.4

polyphenol trong hạt cây cau và xác định các điều kiện tối ưu cho hiệu suất chiết xuất tối đa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Quả cau đã già có vỏ màu vàng được thu nhận vào tháng 9-12, được rửa sạch. Sau đó, phần hạt được tách lấy ra khỏi vỏ và được sấy ở nhiệt độ 60°C để đạt độ ẩm dưới 10%.

Tiến hành nghiền mịn hạt cau và ray mẫu qua khay ray có kích thước lỗ 1 mm. Mẫu bột được bảo quản trong túi polyethylene tối màu kín khí, ở nhiệt độ phòng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Ảnh hưởng đơn yếu tố đến hàm lượng polyphenol trong dịch chiết hạt cau: Các yếu tố nồng độ dung môi ethanol (E), methanol (M) (30 đến 90%, bước nhảy 20%) và nước, tỷ lệ DM/NL (25/1 đến 45/1 (v/w), bước nhảy 5 ml), thời gian ngâm (2 đến 8 giờ, bước nhảy 2 giờ) được lần lượt khảo sát đơn yếu tố. Các thí nghiệm tiếp theo được kế thừa kết quả của các thí nghiệm đơn yếu tố trước. Mẫu dịch chiết được lắc liên tục trong quá trình ngâm với tốc độ 100 vòng/phút trong suốt quá trình tách chiết. Dịch chiết sau khi được lọc thô bằng bông thấm nước, sau đó được lọc qua giấy lọc (đường kính lỗ lọc 15-20 μ m) và thực hiện định lượng hợp chất polyphenol có trong dịch chiết phương pháp Folin-Ciocalteu [20].

2.2.2. Tối ưu hóa quá trình ly trích polyphenol từ hạt cây cau trong dung môi ethanol: Dựa trên kết quả khảo sát ảnh hưởng của các đơn yếu tố đến hàm lượng polyphenol, các đơn yếu tố có ảnh hưởng được chọn để xây dựng quy trình tách chiết tối ưu hóa. Thí nghiệm tối ưu hóa quá trình ly trích polyphenol từ hạt cây cau được bố trí theo kiểu mô hình Box-Behnken. Mô hình bao gồm 15 thí nghiệm, trong đó giá trị biên của 3 yếu tố được lựa chọn tối ưu là nồng độ dung môi (X_1), tỷ lệ DM/NL (X_2) và thời gian ngâm (X_3) được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Mã hóa giá trị các yếu tố khảo sát cho thí nghiệm tối ưu theo mô hình Box-Behnken.

Các biến	Mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu		
			-1	0	1
Nồng độ dung môi ethanol	X_1	%	30	50	70
Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu	X_2	v/w	30/1	35/1	40/1
Thời gian ngâm	X_3	giờ	1	2	3

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 15 thí nghiệm, trong đó có 3 thí nghiệm ở tâm. Mô hình dạng toàn phương bậc hai được xác định bằng hồi quy đa biến.

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{23}X_2X_3 + a_{13}X_1X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2$$

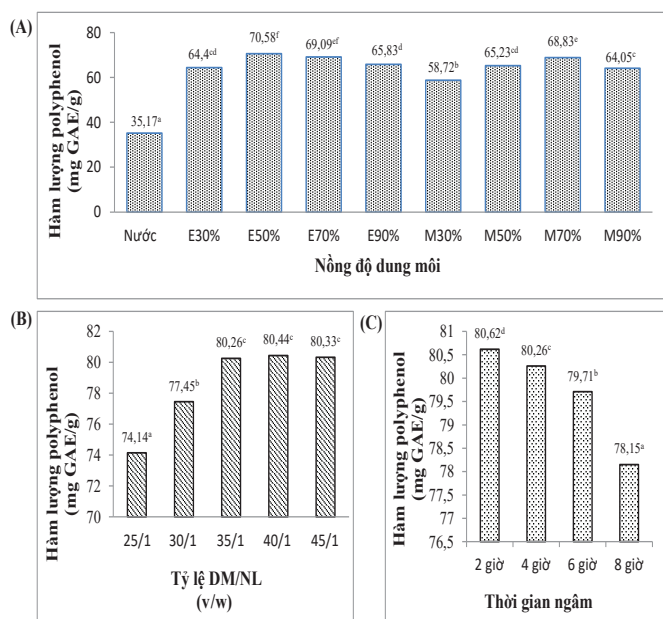
trong đó: Y : hàm lượng polyphenol (mg GAE/g nguyên liệu); a_0 : hệ số hồi quy; a_1, a_2, a_3 : hệ số bậc 1; a_{12}, a_{23}, a_{13} : hệ số tương tác đôi từng cặp yếu tố; a_{11}, a_{22}, a_{33} : hệ số bậc 2.

2.2.3. Phương pháp thống kê: Các số liệu thí nghiệm được ghi nhận và biểu đồ được vẽ bằng phần mềm Microsoft Excel 2010. Kết quả đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa giữa các mẫu thí nghiệm bằng phương pháp thống kê ANOVA và kiểm định LSD với $p < 0,05$ bằng phần mềm thống kê Statgraphic XV. Thí nghiệm mô hình tối ưu hóa và số liệu, biểu đồ được thiết kế bằng phần mềm Minitab 18.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của các yếu tố đơn đến hàm lượng polyphenol

Ảnh hưởng của các loại dung môi đến khả năng tách chiết polyphenol trong hạt cây cau được thể hiện ở hình 1A. Trong 9 dung môi khảo sát, hàm lượng polyphenol được trích ly bằng dung môi ethanol ở nồng độ ethanol 30-50% tăng lần lượt từ 64,40 đến 70,58 mg GAE/g nguyên liệu, tiếp tục tăng nồng độ ethanol từ 70 đến 90% thì hàm lượng polyphenol giảm lần lượt từ 69,09 đến 65,83 mg GAE/g nguyên liệu. Tương tự, dung môi methanol có hiệu quả trích ly polyphenol tăng từ nồng độ dung môi 30 đến 70% (58,72-68,83 mg GAE/g nguyên liệu) và tiếp tục tăng nồng độ dung môi đến 90% thì hàm lượng polyphenol giảm. Trong các dung môi khảo sát, hàm lượng polyphenol ở dung môi ethanol 50% là cao nhất và thấp nhất khi tách bằng nước (35,17 mg GAE/g nguyên liệu). Do đó, dung môi ethanol có nồng độ 50% được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu đã chứng minh hàm lượng polyphenol được thu nhận cao trong dung môi phân cực methanol/ethanol với nước hơn trong dung môi methanol/ethanol tuyệt đối [21-23].



Hình 1. Hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau được ly trích ở các điều kiện đơn. (A) Ảnh hưởng của nồng độ dung môi đến hàm lượng polyphenol; (B) Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng polyphenol; (C) Ảnh hưởng của thời gian ngâm đến hàm lượng polyphenol. Các giá trị theo sau bởi các chữ cái giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,05$ bằng trắc nghiệm phân hạng LSD.

Tỷ lệ dung môi và nguyên liệu là một trong những yếu tố quan trọng trong tối ưu hóa quy trình thu nhận hoạt chất thực vật. Kết quả ở hình 1B cho thấy, hàm lượng polyphenol tăng dần từ tỷ lệ DM/NL (v/w) là 25/1 đến 35/1, giá trị tương ứng tăng từ 74,14 đến 80,26 mg GAE/g nguyên liệu và có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Tuy nhiên, khi tăng tỷ lệ DM/NL từ 35/1 đến 45/1 hàm lượng polyphenol không có sự khác biệt so với các tỷ lệ ($p>0,05$). Do vậy, tỷ lệ DM/NL được chọn cho các thí nghiệm tối ưu tiếp theo là 35/1 (v/w).

Kết quả ảnh hưởng của thời gian ngâm đến hàm lượng polyphenol trích ly từ hạt cây cau được thể hiện ở hình 1C cho thấy, khi tăng thời gian ngâm từ 2 đến 8 giờ thì hàm lượng polyphenol giảm từ 80,62 xuống 78,15 mg GAE/g nguyên liệu và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Kết quả này tương ứng với kết quả trong nghiên cứu của T.N.H. Lai và cs (2014) [24] là quá trình chiết xuất kéo dài hơn ở mức 120 phút có thể dẫn đến quá trình oxy hóa hoặc phân hủy hợp chất phenol do tiếp xúc với ánh sáng, oxy hoặc nhiệt độ cao. Do vậy, mốc thời gian 2 giờ được chọn là thời gian ngâm thích hợp cho các thí nghiệm tiếp theo trong tối ưu hóa

3.2. Tối ưu quá trình thu nhận polyphenol từ hạt cây cau

Dựa vào kết quả khảo sát ảnh hưởng đến hàm lượng polyphenol của 3 yếu tố đơn, dung môi ethanol (X_1) 30 đến 70% được chọn, tỷ lệ DM/NL (v/w) (X_2) từ 30 đến 40 và thời gian ngâm (giờ) (X_3) từ 1 đến 3 giờ để tối ưu quy trình trích ly polyphenol trong hạt cau. Các nghiệm thức thiết kế được dựa vào phần mềm Minitab 18 theo mô hình Box-Behnken và các mức thí nghiệm được trình bày ở bảng 2 với 3 nghiệm thức trung tâm (nghiệm thức 13 đến 15). Kết quả ở bảng 2 cho thấy, trong 15 nghiệm thức, hàm lượng polyphenol thu nhận từ hạt cây cau trong khoảng 63,98 (nghiệm thức 7) đến 81,39 mg GAE/g vật liệu khô (nghiệm thức 14). Hàm lượng polyphenol thu nhận được từ hạt cây cau trong 3 nghiệm thức trung tâm (nghiệm thức 13 đến 15) cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) so sánh với các nghiệm thức còn lại.

Phân tích ANOVA đã được thực hiện để đánh giá tác động của các yếu tố đơn, sự tương tác giữa các yếu tố và mức độ phù hợp của mô hình dự đoán với thực nghiệm được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, hàm lượng polyphenol thu nhận được ảnh hưởng trực tiếp bởi 3 yếu tố khảo sát

Bảng 2. Ma trận thiết kế thí nghiệm Box-Behnken, số liệu thực nghiệm và giá trị dự đoán theo mô hình.

Thí nghiệm thứ	Nồng độ EtOH (%)	Tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w)	Thời gian trích ly (giờ)	Hàm lượng polyphenol (mg GAE/g nguyên liệu)	
	X_1	X_2	X_3	Thực nghiệm	Dự đoán
1	30	30:1	2	68,87 ^{bc} ±2,60	68,58
2	70	30:1	2	72,70 ^{def} ±0,12	73,50
3	30	40:1	2	68,58 ^{bc} ±0,29	67,77
4	70	40:1	2	74,98 ^f ±0,26	75,27
5	30	35:1	1	67,86 ^b ±0,45	68,26
6	70	35:1	1	74,08 ^e ±0,28	73,40
7	30	35:1	3	63,98 ^a ±0,20	64,66
8	70	35:1	3	72,35 ^{de} ±3,14	71,94
9	50	30:1	1	72,25 ^d ±1,39	72,12
10	50	40:1	1	74,44 ^e ±1,55	74,83
11	50	30:1	3	72,21 ^d ±1,17	71,82
12	50	40:1	3	69,95 ^c ±1,35	70,07
13	50	35:1	2	80,28 ^g ±4,56	80,64
14	50	35:1	2	81,39 ^g ±0,16	80,64
15	50	35:1	2	80,25 ^g ±5,41	80,64

Trong cùng một cột, các giá trị theo sau bởi các chữ cái giống nhau khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,05$ bằng trắc nghiệm phân hạng LSD.

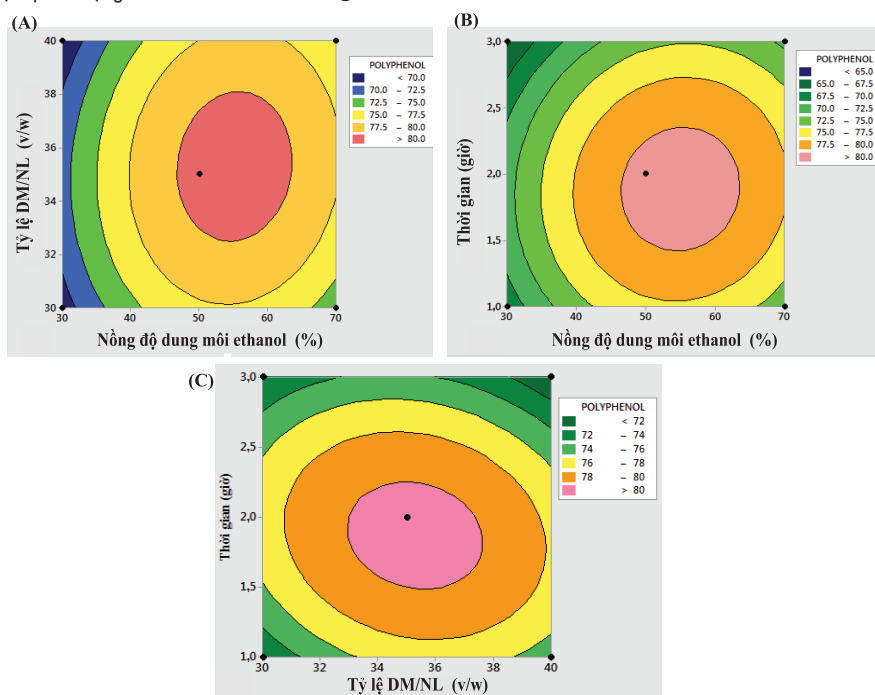
là nồng độ ethanol (X_1), tỷ lệ DM/NL (X_2) và thời gian ngâm (X_3). Tuy nhiên, các yếu tố khác nhau có xu hướng ảnh hưởng đến hàm mục tiêu khác nhau. Trong đó, khi tăng nồng độ dung môi ethanol (X_1) thì hàm lượng polyphenol sẽ tăng, nhưng khi tiếp tục tăng nồng độ ethanol (X_1^2) thì hàm lượng polyphenol giảm. Các yếu tố X_2 và X_3 đều ảnh hưởng tiêu cực đến hàm mục tiêu biểu diễn hàm lượng polyphenol, do vậy khi tăng thời gian ngâm và tỷ lệ ngâm thì hàm lượng polyphenol thu nhận càng giảm. Bên cạnh đó, các cặp yếu tố tương tác (X_1X_2 , X_1X_3 và X_2X_3) không có ảnh hưởng đến hàm mục tiêu ($p>0,05$). Dựa vào các kết quả trên, phương trình hồi quy thực nghiệm được xây dựng là: $Y = 80,64 + 3,10X_1 - 1,27X_3 - 6,00X_1^2 - 3,66X_2^2 - 5,07X_3^2$.

Bảng 3. Ý nghĩa thống kê của các hệ số trong mô hình thực nghiệm.

Các hệ số	Giá trị	Độ lệch chuẩn	t-value	p-value
Hệ số tự do	80,64	0,51	158,56	0,000
X_1	3,10	0,31	9,97	0,000
X_2	0,24	0,31	0,77	0,477
X_3	-1,27	0,31	-4,07	0,010
X_1^2	-6,00	0,46	-13,09	0,000
X_2^2	-3,66	0,46	-7,33	0,001
X_3^2	-5,07	0,46	-11,07	0,000
X_1X_2	0,64	0,44	1,46	0,205
X_1X_3	0,54	0,44	1,22	0,278
X_2X_3	-1,11	0,44	-2,53	0,053

X_1 : nồng độ ethanol (%); X_2 : tỷ lệ DM/NL (v/w); X_3 : thời gian trích ly (giờ).

Tính tương thích của hàm mục tiêu với thực nghiệm được thể hiện ở bảng 4, giá trị xác suất p-value của mô hình đạt 0,000 ($<0,05$) cho thấy mô hình có ý nghĩa thống kê. Hệ số hồi quy $R^2=97,62\%$ cho thấy mối quan hệ của các yếu tố chiết suất với hiệu suất thu nhận polyphenol và mô hình phù hợp để chiết xuất. Hệ số sai số của mô hình (Lack of fit) có giá trị p-value đạt 0,304 ($>0,05$) cho thấy mô hình phù hợp với thực nghiệm.



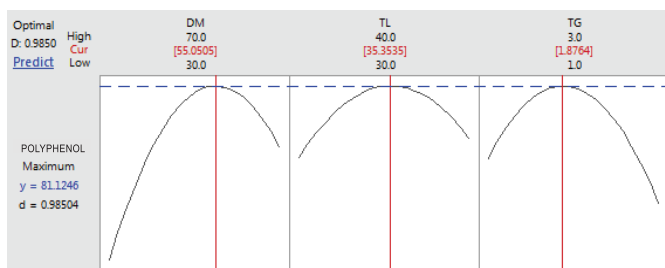
Hình 2. Tương quan giữa các yếu tố trong phương trình hồi quy. (A) Tương tác giữa tỷ lệ dung môi/nguyên liệu và nồng độ ethanol; (B) Tương tác giữa nồng độ ethanol và thời gian ngâm chiết; (C) Tương tác giữa tỷ lệ DM/NL và thời gian ngâm chiết.

Bảng 4. Phân tích phương sai cho mô hình thực nghiệm.

Nguồn	Hệ số tự do	Tổng bình phương	Trung bình bình phương	f-value	p-value
Sai số của mô hình	3	3,047	1,016	2,44	0,304
Sai số ngẫu nhiên	2	0,833	0,417		
Tổng số	14	338,560			

Sự tương tác của từng cặp yếu tố đến hàm lượng polyphenol được mô tả dưới dạng đồ thị 2D trong hình 2. Biểu đồ bề mặt đáp ứng giữa tỷ lệ ngâm và nồng độ ethanol được thể hiện ở hình 2A cho thấy, tại nồng độ ethanol 30-50% khi tăng tỷ lệ ngâm (v/w) ở tất cả các nồng độ sẽ làm tăng hàm lượng polyphenol, tuy nhiên khi tăng tỷ lệ ngâm (v/w) từ 35/1 đến 40/1, ở nồng độ ethanol 50-70% hàm lượng polyphenol giảm. Hình 2B mô tả sự ảnh hưởng của nồng độ ethanol và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng polyphenol thu nhận, tại mốc thời gian xác định (1-3 giờ), khi tăng nồng độ dung môi chiết 30-50% thì hàm lượng polyphenol tăng và giảm ở nồng độ ethanol 50-70%. Sự ảnh hưởng của tỷ lệ ngâm và thời gian ngâm chiết đến hàm lượng polyphenol được thể hiện ở hình 2C, tại tỷ lệ ngâm nhất định, khi tăng thời gian ngâm chiết 1-2 giờ thì hàm lượng polyphenol tăng và tiếp tục tăng thời gian chiết thì hàm lượng polyphenol có xu hướng giảm do quá trình oxy hóa xảy ra trong dịch chiết khi thời gian trích ly quá lâu.

Các điều kiện chiết suất hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau tối ưu đạt được từ mô hình với nồng độ ethanol là 55,05%, tỷ lệ ngâm (v/w) 35,35/1 và thời gian ngâm 1,88 giờ thì giá trị hàm lượng polyphenol kỳ vọng là 81,12 mg GAE/g nguyên liệu (hình 3). Kết quả kiểm chứng thực nghiệm các điều kiện tách chiết polyphenol từ hạt cây cau cụ thể như sau: nồng độ dung môi ethanol 55%, tỷ lệ ngâm (v/w) 35/1 và thời gian ngâm 2 giờ thì hàm lượng polyphenol thực tế thu được là 80,72 mg GAE/g nguyên liệu.



Hình 3. Đồ thị biểu diễn các điểm tối ưu của các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol từ hạt cau.

Với các điều kiện chiết suất hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau tối ưu thì hàm lượng polyphenol được thu nhận cao hơn khi so sánh với kết quả nghiên cứu của R. Wang và

cs (2021) [25] cho thấy, hàm lượng polyphenol được trích ly từ hạt cây cau sử dụng phương pháp vi sóng 400 W trong dung môi ethanol 50%, tỷ lệ ngâm 10/1 (v/w) trong 60 phút ở 45°C đạt 57,92 mg GAE/g nguyên liệu.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được các yếu tố đưa vào mô hình tối ưu hóa quy trình trích ly hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau là nồng độ dung môi (X_1), tỷ lệ dung môi/nguyên liệu (v/w) (X_2) và thời gian ngâm (X_3). Mô hình tối ưu được thể hiện qua phương trình: $Y = 80,64 + 3,10X_1 - 1,27X_2 - 6,00X_1^2 - 3,66X_2^2 - 5,07X_3^2$.

Hàm lượng polyphenol trong hạt cây cau được thu nhận cao nhất là 80,72 mg GAE/g nguyên liệu, với các điều kiện tối ưu như sau: nồng độ dung môi ethanol 55%, tỷ lệ ngâm (v/w) 35/1 và thời gian ngâm 2 giờ. Kết quả này là tiền đề cho quy trình thu nhận hợp chất polyphenol từ hạt cau ứng dụng kháng khuẩn trong nông nghiệp và y dược.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.T. Loi (1995), *Vietnamese Medicinal Plants and Herbs*, Science and Technics Publishing House, pp.172-174 (in Vietnamese).
- [2] Y.V. Chavan, R.S. Singhal (2013), "Separation of polyphenols and arecoline from areca nut (*Areca catechu* L.) by solvent extraction, its antioxidant activity, and identification of polyphenols", *Journal of The Science of Food and Agriculture*, **93**(10), pp.2580-2589, DOI: 10.1002/jsfa.6081.
- [3] W. Peng, Y.J. Liu, N. Wu, et al. (2015), "*Areca catechu* L. (*Areaceae*): A review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology", *Journal of Ethnopharmacology*, **164**, pp.340-356, DOI: 10.1016/j.jep.2015.02.010.
- [4] M. Grover (2021), "*Areca catechu* L. (Chikni Supari): A review based upon its ayurvedic and pharmacological properties", *The Journal of Phytopharmacology*, **10**(5), pp.338-344, DOI: 10.31254/phyto.2021.10510.
- [5] G. Baron, G. Ferrario, C. Marinello, et al. (2021), "Effect of extraction solvent and temperature on polyphenol profiles, antioxidant and anti-inflammatory effects of red grape skin by-product", *Molecules*, **26**(18), DOI: 10.3390/molecules26185454.
- [6] M. Majeed, A.I. Hussain, S.A.S Chatha, et al. (2016), "Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology", *Saudi. J. Biol. Sci.*, **23**, pp.389-396, DOI: 10.1016/j.sjbs.2015.04.010.
- [7] E.M. Silva, H. Rogez, Y. Larondelle (2007), "Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology", *Sep. Purif. Technol.*, **55**(3), pp.381-387, DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.008.
- [8] J.W. Lee, E.J. Mo, J.E. Choi, et al. (2016), "Effect of Korean red ginseng extraction conditions on antioxidant activity, extraction yield, and ginsenoside Rg1 and phenolic content: Optimization using response surface methodology", *J. Ginseng Res.*, **40**(3), pp.229-236, DOI: 10.1016/j.jgr.2015.08.001.

- [9] K.M. Hammi, A. Jdey, C. Abdelly, et al. (2015), "Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian *Zizyphus lotus* fruits using response surface methodology", *Food Chem.*, **184**, pp.80-89, DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.047.
- [10] X. Wu, X. Yu, H. Jing (2011), "Optimization of phenolic antioxidant extraction from wuweizi (*Schisandra chinensis*) pulp using random-centroid optimization methodology", *Int. J. Mol. Sci.*, **12**, pp.6255-6266, DOI: 10.3390/ijms12096255.
- [11] R. Kossah, C. Nsabimana, H. Zhang, et al. (2010), "Optimization of extraction of polyphenols from Syrian sumac (*Rhus coriaria* L.) and Chinese sumac (*Rhus typhina* L.) fruits", *Research Journal of Phytochemistry*, **4**(3), pp.146-153, DOI: 10.3923/rjphyto.2010.146.153.
- [12] R. Chirinos, H. Rogez, D. Campos, et al. (2007), "Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers", *Separation and Purification Technology*, **55**(2), pp.217-225, DOI: 10.1016/j.seppur.2006.12.005.
- [13] D.R. Pompeu, E.M. Silva, H.J.B.T. Rogez (2009), "Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using response surface methodology", *Bioresource Technology*, **100**(23), pp.6076-6082, DOI: 10.1016/j.biortech.2009.03.083.
- [14] K.K. Chew, M.Z. Khoo, S.Y. Ng, et al. (2011), "Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts", *International Food Research Journal*, **18**(4), pp.1427-1435.
- [15] M. Radojkovic, Z. Zekovic, S. Jokic, et al. (2012), "Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using Response surface methodology (RSM)", *Romanian Biotechnological Letters*, **17**(3), pp.7295-7308.
- [16] V.M. Simic, K.M. Rajkovic, S.S. Stojicevic, et al. (2016), "Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network", *Separation and Purification Technology*, **160**, pp.89-97, DOI: 10.1016/j.seppur.2016.01.019.
- [17] K. Sinha, P.D. Saha, S. Datta (2012), "Response surface optimization and artificial neural network modeling of microwave assisted natural dye extraction from pomegranate rind", *Industrial Crops and Products*, **37**(1), pp.408-414, DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.12.032.
- [18] R.E. Ghitescu, I. Volf, C. Carausu, et al. (2015), "Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark", *Ultrasonics Sonochemistry*, **22**, pp.535-541, DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.07.01.
- [19] C. Liyana-Pathirana, F. Shahidi (2005), "Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology", *Food Chemistry*, **93**(1), pp.47-56, DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.08.050.
- [20] H. Cheng, X. Liu, C. Wang, et al. (2021), "Optimization of purification conditions for areca seeds using microporous resins", *Journal of Food Measurement and Characterization*, **15**, pp.2440-2447, DOI: 10.1007/s11694-021-00831-y.
- [21] P. Siddhuraju, K. Becker (2003), "Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**(8), pp.2144-2155, DOI: 10.1021/jf020444+.
- [22] F. Anwar, A. Jamil, S. Iqbal, et al. (2006), "Antioxidant activity of various plant extracts under ambient and accelerated storage of sunflower oil", *Grasas y Aceites*, **57**(2), pp.189-197, DOI: 10.3989/gya.2006.v57.i2.36.
- [23] B. Sultana, F. Anwar, R. Przybylski (2007), "Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees", *Food Chemistry*, **104**(3), pp.1106-1114, DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.01.019.
- [24] T.N.H. Lai, C.M. Andre, R. Chirinos, et al. (2014), "Optimisation of extraction of piceatannol from *Rhodomyrtus tomentosa* seeds using response surface methodology", *Separation and Purification Technology*, **134**, pp.139-146, DOI: 10.1016/j.seppur.2014.07.032.
- [25] R. Wang, F. Pan, R. He, et al. (2021), "Areca nut (*Areca catechu* L.) seed extracts extracted by conventional and eco-friendly solvents: Relation between phytochemical compositions and biological activities by multivariate analysis", *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **25**, DOI: 10.1016/j.jarmap.2021.100336.

Lắng đọng lớp phủ vàng trên bề mặt màng PET bằng phương pháp phun xạ magnetron

Nguyễn Thị Thanh Lan, Phạm Hồng Tuấn, Nguyễn Thành Hợp*

Trung tâm Quang điện tử, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/6/2023; ngày chuyển phản biện 21/6/2023; ngày nhận phản biện 14/7/2023; ngày chấp nhận đăng 17/7/2023

Tóm tắt:

Phun xạ magnetron xung DC tần số 100 kHz được sử dụng để lắng đọng lớp phủ vàng trên bề mặt màng polyethylene terephthalate (PET). Tính chất quang học của lớp phủ vàng được đánh giá dựa trên các phép đo phản xạ và truyền qua trên máy quang phổ Jasco V-770/SLM-907. Phân tích quang phổ cho biết thông tin về màu sắc, tạp chất, chất lượng bề mặt và độ dày của lớp phủ. Thí nghiệm phun xạ từ bia tròn, lớp kim loại vàng có màu sắc tương đối đồng đều trong vùng đối diện bia, độ dày >60 nm, điện trở <6 Ω . Tính chất độ dày của lớp phủ vàng giảm dần về phía xa trung tâm có ảnh hưởng đến các tính chất vật lý khác, do vậy cần được quan tâm và sử dụng để tính toán khi phủ màng trên diện tích lớn. Lớp phủ vàng chế tạo vượt qua các phép thử về độ bám dính, độ bền ma sát và độ bền với tác nhân làm sạch, phù hợp cho các ứng dụng trong công nghiệp và đời sống như trang trí hoặc chế tạo điện cực cho cảm biến sinh học và linh kiện điện tử.

Từ khóa: lớp phủ vàng, màng composite kim loại - polymer, màng PET, màu sắc màng mỏng vàng, phun xạ magnetron xung DC.

Chỉ số phân loại: 2.5

1. Mở đầu

Màng PET là một trong những polymer được dùng phổ biến để làm nền cho lớp phủ kim loại. Tùy vào công thức sản xuất, màng có thể ở dạng vô định hình hoặc bán tinh thể [1], giữ được các đặc tính cơ học tốt ở nhiệt độ lên tới 175°C với độ co ngót nhiệt thấp [2]. Màng PET quang học có độ bóng và độ trong suốt cao, bề mặt có thể đã được xử lý bằng một số phương pháp như plasma, tĩnh điện corona hoặc phủ primer, nhằm giảm khuyết tật bề mặt và điều khiển độ bám dính với các lớp phủ chức năng khác, sử dụng nhiều trong ngành công nghiệp màn hình, pin mặt trời hữu cơ [3].

Vàng là kim loại quý với màu sắc đẹp, điện trở nhỏ, dẫn nhiệt tốt và tính trơ hóa học cao. Sự kết hợp giữa kim loại vàng với màng polymer dẫn tới nhiều ứng dụng trong đời sống, điển hình là lĩnh vực điện tử như chế tạo màng chắn nhiễu điện từ, điện cực cho các kit xét nghiệm nhanh tại chỗ, cảm biến sinh học, cảm biến âm thanh [4-6], hay lĩnh vực trang trí (chế tác tranh mỹ nghệ).

Về công nghệ chế tạo, phủ kim loại trên màng polymer có những đặc trưng riêng so với các loại đế khác do tính chất hai vật liệu không tương đồng [7]. Độ bền của lớp phủ kim loại trên đế polymer phụ thuộc vào quá trình tiền xử lý bề mặt và kỹ thuật lắng đọng. Vì tạo được màng chất lượng tốt, phun xạ magnetron là lựa chọn chính trong nhiều nghiên cứu và sản xuất thương mại. Phương pháp này ít gây ảnh hưởng nhiệt lên đế hơn so với phương pháp bốc bay. Đồng thời nhờ có năng lượng từ plasma, độ bám dính, độ bền của lớp phủ tốt hơn và có thể phủ trên diện tích rộng [8, 9]. Các polymer chịu nhiệt kém,

ở nhiệt độ cao màng polymer sẽ tiết oligomer và biến dạng [10], do đó cần duy trì nhiệt độ thấp trong quá trình lắng đọng thông qua làm mát đế hoặc kiểm soát thông số công nghệ (áp suất, công suất, khoảng cách gá, tốc độ và thời gian lắng đọng). Nghiên cứu này tập trung vào việc tìm bộ thông số thích hợp để lắng đọng lớp phủ vàng có độ bền bám tốt, màu sắc đồng đều, hướng đến ứng dụng trong công nghiệp và đời sống.

2. Thực nghiệm

Bia vàng có kích thước $\varnothing 100 \times 0,1$ mm, độ tinh khiết 99,99%; do chiều dày mỏng và cơ tính yếu nên được dán trên tấm nền trợ lực bằng đồng đỏ kích thước $\varnothing 100 \times 9$ mm bằng lớp keo carbon có tính dẫn nhiệt, dẫn điện tốt (hình 1). Trong quá trình phun xạ, bia được giải nhiệt thông qua việc cho nước làm mát tiếp xúc trực tiếp với mặt sau của tấm nền này. Cấp điện cho đầu phun xạ magnetron bằng nguồn điện xung DC Pinnacle[®] Plus (Mỹ). Tần số xung 100 kHz cho phép dễ dàng khởi phát quá trình phun xạ và hạn chế hiện tượng hồ quang. Đế là màng PET Lumirror T60, kích thước 150×150 mm đặt cách bia một khoảng 100÷150 mm, được làm sạch bằng dung môi diethyl ether và tránh tiếp xúc với các nguồn gây bụi. Chiều dày màng và tốc độ lắng đọng được kiểm soát bởi bộ cộng hưởng dao động thạch anh XTC/2 (Inficon, Inc, Mỹ). Quá trình phủ kim loại trên bề mặt polymer diễn ra trong điều kiện không gia nhiệt. Mặt khác, do tính nhạy nhiệt, cần duy trì nhiệt độ lắng đọng thấp để tránh biến dạng. Tác nhân làm tăng nhiệt độ để bao gồm nhiệt bức xạ từ đầu phun xạ và nhiệt chuyển đổi trạng thái của các phân tử lắng đọng. Kiểm soát nhiệt độ bởi cặp nhiệt điện loại K, được đặt cạnh đế, xác định nhiệt độ trước và ngay sau quá trình phủ.

*Tác giả liên hệ: Email: thanhhop83@gmail.com

Deposition of gold on a PET film by pulsed DC magnetron sputtering

Thi Thanh Lan Nguyen, Hong Tuan Pham,
Thanh Hop Nguyen*

Center for Optoelectronics, National Center for Technological Progress,
C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 18 June 2023; revised 14 July 2023; accepted 17 July 2023

Abstract:

Pulsed DC magnetron sputtering was employed to deposit gold onto polyethylene terephthalate (PET) film. The optical properties of the gold coating were evaluated through reflectance and transmittance measurements using a Jasco V-770/SLM-907 spectrophotometer. Spectral analysis provides information about the colour, impurities, surface quality, and coating thickness. In sputtering experiments with a circular target, the gold coating exhibits a relatively uniform colour in the area opposite the target, with a thickness (d_f) greater than 60 nm and a resistance lower than 6 Ω . The coating thickness gradually decreases away from the center, therefore affecting other physical properties, so it should be considered and used for calculations when coating on a large substrate. The fabricated gold coating passes tests for adhesion, friction resistance and resistance to cleaning agents, making it suitable for industrial and daily applications such as decoration or making electrodes for biosensors and electronic components.

Keywords: colour of gold thin film, gold coating, metal-polymer composite membrane, PET film, pulsed DC magnetron sputtering.

Classification number: 2.5



Hình 1. Dán bia vàng để lắp đặt trên đầu phun xạ magnetron.

Trước khi sử dụng bia vàng, phun xạ crôm và đồng được thực hiện nhằm xác định các thông số hoạt động của đầu phun xạ bao gồm điện áp, dòng điện, áp suất khí trơ, sao cho lớp phủ kim loại lắng đọng trên màng polymer đạt độ bám dính tốt, giữ được màu sắc vốn có của kim loại, tốc độ lắng đọng nhanh, màng polymer ít chịu ảnh hưởng nhiệt từ vật liệu lắng đọng và nguồn phun xạ. Kết quả cho thấy plasma được kích hoạt ở áp suất khoảng 1 Pa, điện áp 400 V. Sau khi kích hoạt, giảm lưu lượng khí và điện áp về giá trị phù hợp. Phun xạ hoạt động ổn định với tốc độ lắng đọng hiệu quả ở áp suất

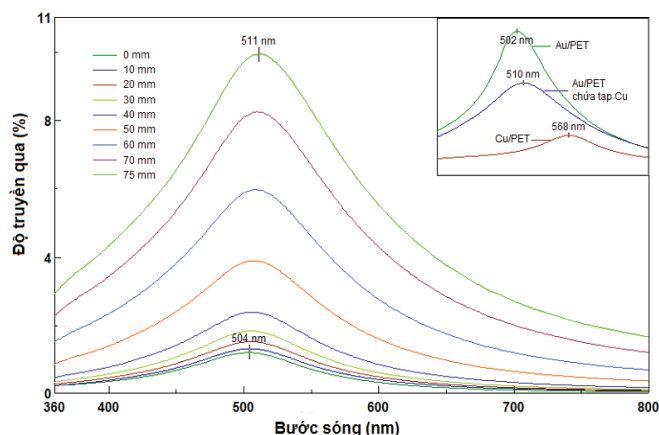
0,3÷0,5 Pa, điện áp 300÷400 V. Tốc độ lắng đọng giảm mạnh khi khoảng cách bia - đế tăng lên. Trong khoảng thời gian lắng đọng, nhiệt độ đế polymer duy trì dưới ngưỡng 100°C và màng không bị biến dạng bởi nhiệt.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân bố độ dày của lớp phủ vàng

Đối với lớp phủ xuyên sáng, độ truyền qua phụ thuộc vào chiều dày. Phổ truyền qua và phản xạ chứa thông tin về chiều dày, do đó phân tích trắc quang là một trong những phương pháp hữu ích để xác định chiều dày thực của màng mỏng quang học, bao gồm cả màng giao thoa và màng hấp thụ.

Lớp phủ vàng được lắng đọng ở khoảng cách bia đến đế là 120 mm, công suất phun xạ 0,17 kW, thời gian lắng đọng 95 giây. Hình 2 là phổ truyền qua của hệ màng Au/PET đo tại các vị trí khác nhau. Phép đo được thực hiện trên máy quang phổ Jasco V-770.

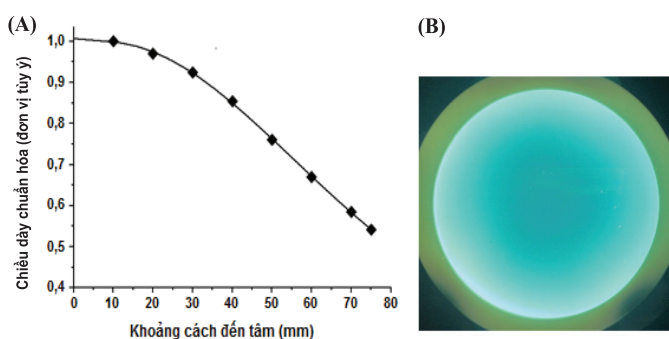


Hình 2. Phổ truyền qua của lớp phủ vàng tại các vị trí cách trục đối xứng của bia từ 0-75 mm, hình thu nhỏ là đỉnh truyền qua của các lớp phủ vàng và đồng có chiều dày gần bằng nhau.

Từ phổ truyền qua, căn cứ vào độ truyền qua ở bước sóng 800 nm, ước tính chiều dày lớp phủ bằng phần mềm thiết kế màng mỏng quang học. Độ truyền qua tăng và đỉnh truyền qua dịch chuyển đỏ khi chiều dày giảm. Kết quả ở bảng 1 và hình 3A thể hiện sự thay đổi chiều dày theo các vị trí lắng đọng khác nhau tính từ trục tâm của bia (ký hiệu x), chiều dày màng phân bố theo hàm Gauss.

Bảng 1. Chiều dày của lớp phủ vàng d_f tại những vị trí cách tâm một khoảng x và giá trị chuẩn hóa.

x (mm)	d_f (nm)	Chuẩn hóa
10	85,5	1
20	82,5	0,97
30	79	0,92
40	73	0,85
50	65	0,76
60	57	0,67
70	50	0,59
75	46	0,54



Hình 3. Phân bố độ dày của lớp phủ vàng với khoảng cách bia đến 120 mm (A) và màu truyền qua của mẫu Au/PET chiếu sáng dưới đèn LED khuếch tán (B).

Hình 3B cho thấy tính chất xuyên sáng của hệ màng Au/PET. Độ dày của lớp phủ vàng ở vị trí trung tâm là lớn nhất, giảm dần về phía xa trung tâm, tương ứng với chiều gia tăng của mức độ xuyên sáng. Với khoảng cách bia đến 120 mm, chế độ tĩnh, đường kính của vùng cho màu sắc tương đối đồng đều xấp xỉ 120 mm. Trong vùng này, độ dày trung bình của lớp phủ được tính như sau:

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^6 d_i \cdot S_i}{S_t} = 71 \text{ nm}$$

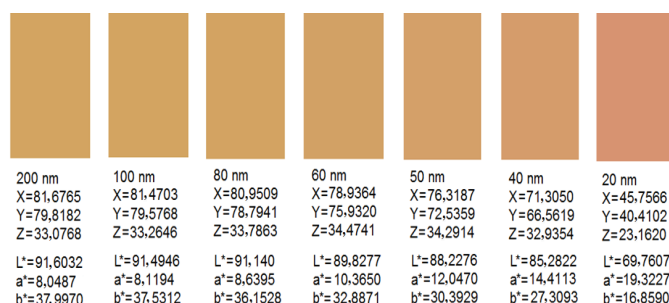
trong đó S_i là diện tích tương ứng với độ dày d_i , S_t là diện tích tổng cộng. Chênh lệch độ dày so với giá trị trung bình nằm trong khoảng 20%.

Chênh lệch độ dày so với giá trị trung bình nằm trong khoảng 20%.

3.2. Đánh giá màu sắc của lớp phủ vàng

Lớp phủ vàng không xuyên sáng khi độ truyền qua $T \approx 0$ ở tất cả các bước sóng trong vùng nhìn thấy, tương đương với chiều dày đạt khoảng 200 nm. Dưới 100 nm, sự xuyên sáng có thể quan sát dễ dàng dưới ánh đèn, truyền qua là màu xanh lam (màu bù của màu phản xạ). Khi đủ dày, lớp phủ có màu vàng kim rực rỡ tương tự như vật liệu khối.

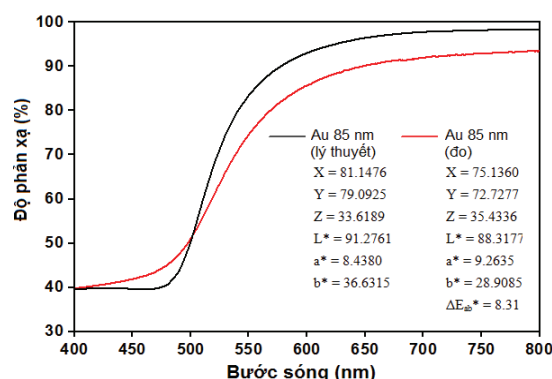
Màu sắc và các giá trị 3 kích thích (X, Y, Z) thay đổi nhanh chóng khi chiều dày của lớp phủ < 60 nm cùng với mức độ xuyên sáng tăng nhanh. Mặt khác, các thông số quang học của lớp phủ cũng thay đổi đáng kể ở chiều dày nhỏ [11, 12] phụ thuộc vào phương pháp và thông số phủ, cùng với những hiệu ứng quang học khác ở kích thước nano.



Hình 4. Màu sắc của lớp phủ vàng thay đổi theo chiều dày trên lý thuyết.

Hình 4 mô tả màu phản xạ của lớp phủ thay đổi theo chiều dày, tính toán trên phần mềm thiết kế quang học với thông số đầu vào tham khảo từ nghiên cứu của K.M. McPeak và cs (2015) [13] (nguồn sáng tiêu chuẩn ISO 9845-1, không phân cực, góc tới 10° , quan sát theo tiêu chuẩn CIE 1964). Chiều dày giảm đồng nghĩa với độ sáng L^* giảm, màu sắc thay đổi từ vàng cam nhạt sang tông màu tối hơn. Trong hệ tọa độ màu $L^*a^*b^*$, khi chiều dày lớp phủ giảm, biến độ sáng L^* giảm, các biến sắc độ a^* tăng và b^* giảm, tương ứng màu sắc thay đổi dần từ vàng cam nhạt sang tông màu đỏ và tối hơn.

Màu sắc của lớp phủ vàng được đánh giá dựa trên phổ phản xạ đo trên máy quang phổ Jasco V-770/SLM-907. Phổ phản xạ của bề mặt silic tham khảo theo M.A. Green (2008) [14]. Kim loại vàng hấp thụ ở bước sóng ngắn dưới 500 nm, do hai chuyển mức liên vùng của điện tử ở 330 và 470 nm. Do vùng xanh lam - tím bị cắt và phản xạ mạnh ở vùng còn lại của quang phổ khả kiến nên vật liệu có màu vàng ánh kim. Các tham số màu của lớp phủ theo tính toán thể hiện ở hình 5.



Hình 5. Phổ phản xạ của mẫu màng PET phủ 85 nm vàng theo tính toán và mẫu chế tạo.

Nguyên nhân chênh lệch màu sắc của mẫu chế tạo có thể do lẫn tạp chất kim loại đồng làm tấm nền (đỉnh truyền qua dịch chuyển từ 502 đến 511 nm (hình 2), độ bóng bề mặt PET thấp hơn cũng ảnh hưởng đến kết quả đo phản xạ.

3.3. Tính dẫn điện

Điện trở được đo trên mẫu kích thước $10 \times 10 \text{ mm}^2$ với hai đầu dò, giá trị thu được thay đổi từ 4,0 đến 5,8 Ω trên vùng diện tích 120 mm, điện trở tăng theo chiều giảm của độ dày từ trong ra ngoài. Ở độ dày này chưa có sự thay đổi đáng kể của điện trở suất do giới hạn kích thước.

3.4. Kiểm tra độ bền của lớp phủ

Các phép thử được thực hiện bao gồm kiểm tra độ bám dính, kiểm tra độ bền ma sát và độ bền với tác nhân làm sạch, chi tiết thể hiện ở bảng 2 và hình 6.

Bảng 2. Đánh giá độ bền của lớp phủ dưới tác động cơ học, nhiệt độ và hóa chất.

Kiểm tra độ bền		Kết quả	
Kiểm tra độ bám dính	Thử bám dính với băng dính Scotch 600, giặt theo phương 120÷180°	Thực hiện ở nhiệt độ phòng	Lớp phủ không bị bong, xuất hiện các lỗ kim nhỏ cỡ μm
		Sau khi sấy ở 150°C trong 30 phút	Màng PET trở nên mềm ở T>105°C, tính bám dính không thay đổi
Kiểm tra độ bền ma sát	Thử mài mòn bằng thiết bị mài với đầu tỷ bằng vải cotton, áp lực tỷ 4,5 N/cm ² , di chuyển 25 chu kỳ	Thực hiện ở nhiệt độ phòng	Lớp phủ vàng không bị loại bỏ, lỗ kim nhỏ, xước tơ do độ cứng nền thấp
		Sau khi sấy ở 150°C trong 30 phút	
Kiểm tra độ bền với tác nhân làm sạch	Lau bề mặt bằng cồn và ete, kiểm tra lỗ kim dưới ánh đèn khuếch tán	Thực hiện ở nhiệt độ phòng	Lớp phủ vàng không bị loại bỏ, lỗ kim nhỏ, xước tơ do độ cứng nền thấp
		Sau khi sấy ở 150°C trong 30 phút	



Hình 6. Mẫu màng PET phủ vàng và dụng cụ quan sát trong đánh giá độ bền.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã tìm được bộ thông số phù hợp để phủ kim loại vàng trên nền polymer PET bằng phương pháp phun xạ magnetron xung DC: khoảng cách bia đến đế 100÷150 mm, điện áp phun xạ 300-400 V, áp suất 0,3÷0,5 Pa, tốc độ lắng đọng 6,5÷9 Å/s, chiều dày lớp phủ vàng >60 nm trong vùng diện tích tương đương kích thước bia. Phân bố độ dày lớp phủ vàng được xác định đối với trường hợp lắng đọng từ bia tròn, để đứng yên là phân bố Gauss. Lớp kim loại vàng có màu sắc tương đối đồng đều trong vùng Φ120 mm, độ bền và độ bám dính tốt, điện trở nhỏ. Kết quả nghiên cứu có khả năng ứng dụng để phủ vàng trên các chi tiết có kích thước nhỏ dùng cho trang trí, hoặc chế tạo điện cực cho cảm biến sinh học và linh kiện điện tử.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.Z. Balbãg, S. Pat (2011), “Electrically conductive and optically transparent polyethylene terephthalate films coated with gold and silver by thermionic vacuum arc”, *Journal of Plastic Film and Sheeting*, **27**(3), pp.1-14, DOI: 10.1177/8756087911406702.
- [2] J.P. Jog (1995), “Crystallization of polyethyleneterephthalate”, *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, **35**(3), pp.531-553, DOI: 10.1080/15321799508014598.
- [3] W.A. MacDonald (2007), “Latest advances in substrates for flexible electronics”, *Journal of The SID*, **15**(12), pp.1075-1083, DOI: 10.1002/9783527679973.ch10.
- [4] Y. Wang, X. Wang, W. Lu, et al. (2019), “A thin film polyethylene terephthalate (PET) electrochemical sensor for detection of glucose in sweat”, *Talanta*, **198**(1), pp.86-92, DOI: 10.1016/j.talanta.2019.01.104.
- [5] C. Lang, J. Fang, H. Shao, et al. (2016), “High-sensitivity acoustic sensors from nanofibre webs”, *Nature Communications*, **7**, pp.1-7, DOI: 10.1038/ncomms11108.
- [6] S. Wang, A. Lifson, F. Inci, et al. (2016), “Flexible substrate-based devices for point-of-care diagnostics”, *Trends in Biotechnology*, **34**(11), pp.909-921, DOI: 10.1016/j.tibtech.2016.05.009.
- [7] V. Svorcik, J. Svorcikova, M. Spirkova, et al. (2006), “Characterization of evaporated and sputtered thin au layers on poly(ethylene terephthalate)”, *Journal of Applied Polymer Science*, **99**(4), pp.1698-1704, DOI: 10.1002/app.22666.
- [8] C.Z. Jiang, J.Q. Zhu, J.C. Han, et al. (2013), “Uniform film in large areas deposited by magnetron sputtering with a small target”, *Surface & Coatings Technology*, **229**, pp.222-225, DOI: 10.1016/j.surfcoat.2012.03.075.
- [9] T. Segawa, Y. Ikari, N. Ooba, et al. (2016), “New roll-to-roll sputtering system for wide film and application examples”, *Kobelco Technology Review*, **34**, pp.44-51.
- [10] C.A. Bishop (2011), *Vacuum Deposition onto Webs, Films and Foils* Elsevier, 530pp.
- [11] D.I. Yakubovsky, A.V. Arsenin, Y.V. Stebunov, et al. (2017), “Optical constants and structural properties of thin gold films”, *Opt. Express*, **25**(21), pp.25574-25587, DOI: 10.1364/OE.25.025574.
- [12] G. Rosenblatt, B. Simkhovich, G. Bartal, et al. (2020), “Nonmodal plasmonics: Controlling the forced optical response of nanostructures”, *Phys. Rev. X*, **10**(1), DOI: 10.1103/PhysRevX.10.011071.
- [13] K.M. McPeak, S.V. Jayanti, S.J.P. Kress, et al. (2015), “Plasmonic films can easily be better: Rules and recipes”, *ACS Photonics*, **2**(3), pp.326-333, DOI: 10.1021/ph5004237.
- [14] M.A. Green (2008), “Self-consistent optical parameters of intrinsic silicon at 300K including temperature coefficients”, *Sol. Energ. Mat. Sol. Cells*, **92**(11), pp.1305-1310, DOI: 10.1016/j.solmat.2008.06.009.

Khảo sát ảnh hưởng của công nghệ tôi laser tới độ cứng và cấu trúc tế vi của thép P18

Nguyễn Văn Thành*, Nguyễn Thành Hợp, Nguyễn Duy Dân

Viện Ứng dụng Công nghệ, 25 Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/7/2023; ngày chuyển phản biện 21/7/2023; ngày nhận phản biện 7/8/2023; ngày chấp nhận đăng 10/8/2023

Tóm tắt:

Bài báo giới thiệu công nghệ tôi laser và trình bày kết quả khảo sát độ cứng, cấu trúc tế vi của mẫu thép P18 sau khi tôi laser. Công nghệ tôi laser có ưu điểm chính xác, hạn chế cong vênh, tiết kiệm năng lượng và thân thiện với môi trường so với các công nghệ tôi truyền thống. Mẫu thép P18 có kích thước Ø22x20 mm được mài qua các giấy nhám #240, 400, 600, 1000 và 1200 trước khi tôi (truyền thống và laser). Nghiên cứu ảnh hưởng của công suất nguồn tôi laser và công nghệ tôi truyền thống (nung nóng thép trong lò điện trở và làm nguội trong dầu) đến độ cứng và tổ chức tế vi của thép P18. Tổ chức tế vi và độ cứng tế vi của mẫu lần lượt được xác định bằng kính hiển vi quang học Axiovert 40 MAT và máy đo độ cứng tế vi FM-700e. Độ cứng mẫu sau tôi với công suất nguồn laser 300, 500, 700 và 900 W tương ứng lần lượt là 280, 450, 940 và 1050 HV_{0,1}, độ cứng mẫu tôi truyền thống là 650 HV_{0,1}. Từ ảnh hiển vi quang học mẫu thép sau tôi laser, quan sát thấy vùng sáng màu và tối màu lần lượt tương ứng với vùng có độ cứng cao và vùng chuyển tiếp có độ cứng thấp hơn trong kết quả đo độ cứng tế vi.

Từ khóa: nhiệt luyện, thép P18, tôi laser, xử lý bề mặt.

Chỉ số phân loại: 2.5

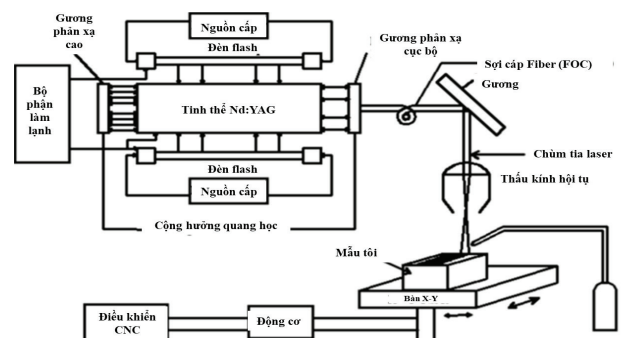
1. Đặt vấn đề

Trong quá trình sản xuất cơ khí, nhiệt luyện thường là khâu cuối cùng và quyết định đến chất lượng sản phẩm. Quá trình nhiệt luyện được thực hiện bằng cách nung nóng chi tiết đến nhiệt độ chuyển biến thành phần pha của thép, sau đó làm nguội nhanh trong môi trường phù hợp (nước, dầu, khí nén...) [1]. Sau quá trình nhiệt luyện, cấu trúc của thép thay đổi so với cấu trúc ban đầu, dẫn tới cơ tính (độ cứng, bền...) của thép được nâng cao. Công nghệ nhiệt luyện truyền thống như tôi nước, tôi dầu, khí nén... có những hạn chế như: có thể gây cong vênh, sai lệch kích thước, thời gian quá trình kéo dài [2].

Trong lĩnh vực xử lý bề mặt, laser đã được ứng dụng trong công nghệ tôi laser [3]. Chùm tia laser có năng lượng cao được quét trên bề mặt chi tiết, nung nóng bề mặt chi tiết đến nhiệt độ trên nhiệt độ austenit hóa, khi tia laser đi qua, bề mặt chi tiết xảy ra quá trình giảm nhiệt do truyền nhiệt vào thể tích vật tôi (còn gọi là tự tôi), kết quả dẫn đến hình thành tổ chức mactenxit với độ cứng cao [3]. Công nghệ tôi laser được nghiên cứu và ứng dụng lần đầu từ những năm 1970 [4].

Nguồn laser khí CO₂ với công suất 2-5 kW được ứng dụng đầu tiên để tôi laser cho thép, với hệ số hấp thụ năng lượng tia laser đạt tới 60-70%. Năm 2004, laser diode năng lượng cao đã được ứng dụng để tôi thép [4-7]. Ngoài thép và gang thì tôi laser đang được nghiên cứu ứng dụng cho nhiều loại vật liệu khác. Sơ đồ cấu trúc một hệ thống tôi laser được thể hiện ở hình 1.

*Tác giả liên hệ: Email: thanhmaterial@gmail.com



Hình 1. Mô hình tôi laser [2].

Trong công nghệ tôi truyền thống, cả khối chi tiết được nung nóng trong lò rồi làm nguội trong nước, trong dầu, khí nén... Ngược lại, công nghệ tôi laser cho phép lựa chọn chính xác vùng cần tôi, ví dụ chân răng trong bánh răng, phần lưỡi của mũi dao tiện... Do đó, công nghệ nhiệt luyện mới này giúp tiết kiệm thời gian và năng lượng, không gây cong vênh chi tiết sau tôi và là công nghệ thân thiện với môi trường.

Để tôi được thép, chùm tia laser cần phải nâng nhiệt của vùng thép tới nhiệt độ austenit hóa, đây là nhiệt độ xảy ra chuyển biến pha ferrit thành austenit của thép. Hàm biến đổi nhiệt độ trong quá trình nung nóng bởi chùm laser được thể hiện trong công thức sau:

$$T(r, z, \tau) = \frac{2P_{abs}}{\rho C \sqrt{4\pi a \tau}} \int_0^\tau \frac{1}{(\tau + \tau_f) \sqrt{\tau}} \exp\left(-\frac{z^2}{4a\tau} - \frac{r^2}{4a(\tau + \tau_f)}\right) d\tau \quad (1)$$

trong đó: $T(r, z, \tau)$ là hàm của nhiệt độ theo bán kính vùng nung nóng r và chiều sâu vùng tương tác z , nung nóng trong khoảng thời gian τ ; P_{abs} là công suất của tia hấp thụ; τ_f là thời gian cần

Investigating the effects of the laser quenching technology on the hardness and microstructure of P18 steel

Van Thanh Nguyen*, Thanh Hop Nguyen, Duy Dan Nguyen

National Center for Technological Progress,
25 Le Thanh Tong Street, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

Received 18 July 2023; revised 7 August 2023; accepted 10 August 2023

Abstract:

The article introduces laser quenching technology and presents the results of surveying the hardness and microstructure of P18 steel sample after laser quenching. Laser quenching is a new candidate technique for having precise heat treatment, limiting warping, saving energy, and being environmentally friendly compared to traditional quenching. Before quenching samples (laser quenching or normal quenching), the $\phi 22$ mm diameter x 20 mm thickness samples were sequentially ground by abrasive papers with a grit size of #240, 400, 600, 1000, and 1200. This study aimed to investigate the influence of laser quenching power and traditional quenching on the hardness and microstructure of P18 steel... The microstructure and microhardness were observed by the Axiovert 40 MAT optical microscope and the Future Tech Corp FM-700e hardness tester, respectively. The results showed that the quenched sample hardness with a laser source power of 300, 500, 700, and 900 W are 280, 450, 940, and 1050 HV_{0.1}, respectively, and compared to the traditional harden, it only reaches 650 HV_{0.1}. Observation of the microstructure of the laser-hardened sample in cross-section, including a bright white high-hardness region and a dark transition region.

Keywords: heat treatment, laser quenching, P18 steel, surface treatment.

Classification number: 2.5

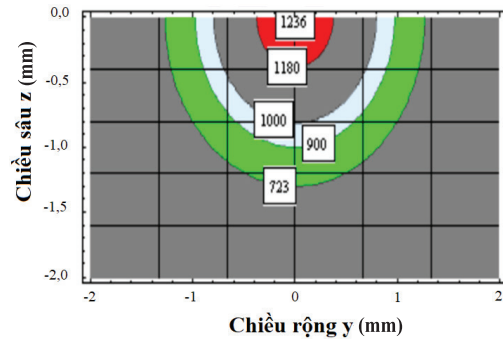
thiết để nhiệt truyền đến khoảng các r_f ($\tau_f = r_f^2/4a$); r_f là khoảng cách từ chùm tia từ công suất giảm xuống $1/e^2$ của giá trị lớn nhất trục chùm tia; z là tọa độ vuông góc với bề mặt vật liệu theo hướng nung nóng; r là bán kính tọa độ, vuông góc với tọa độ z ; c là nhiệt dung riêng của vật liệu; ρ là khối lượng riêng của vật liệu; a là hệ số dẫn nhiệt của vật liệu.

Trong thực tế tôi laser, quá trình nung nóng bằng một chùm tia cố định là hiếm gặp. Thông thường chùm tia laser hoặc bề mặt vật liệu được dịch chuyển với một vận tốc v cho trước. Trong trường hợp này nhiệt độ nung nóng được mô tả bằng phương trình phân bố nhiệt độ trong mặt phẳng, dọc theo trục x , đúng với phân bố Gaussian của mật độ công suất của chùm tia:

$$T(x, z, \tau) = T_0 + \frac{P_{abs}}{2\pi\lambda v[\tau(\tau + \tau_f)]^{1/2}} \exp\left\{-\left[\frac{(z - z_0)^2}{4a\tau} + \frac{x^2}{4a(\tau + \tau_f)}\right]\right\} \quad (2)$$

trong đó: T_0 là nhiệt độ môi trường; λ là hệ số dẫn nhiệt; v là tốc độ di chuyển chùm tia; z là tọa độ cao; z_0 là chiều sâu của nhiệt thâm nhập vào vật liệu trong quá trình chùm tia laser hoạt động trong thời gian $\tau = r_f/v$; x là tọa độ vuông góc với tọa độ z , phù hợp với hướng di chuyển của chùm tia.

Trong quá trình tôi thép, nhiệt độ là thông số công nghệ quan trọng nhất ảnh hưởng tới cấu trúc và tính chất của thép sau tôi. Thứ nhất, để tôi được thép thì cần nung thép đến nhiệt độ austenit hóa, đây là nhiệt độ xảy ra chuyển biến pha ferrit thành austenit. Thứ hai, tốc độ làm nguội phải đủ lớn để pha ferrit chuyển thành mactenxit. Do đó, tùy vào điều kiện tôi laser mà cấu trúc vùng được tôi có thể xuất hiện thành phần pha khác nhau. Dưới tác dụng của nhiệt độ do chùm laser cung cấp, quá trình nung nóng cục bộ và tôi thép cục bộ xảy ra. Thông số được sử dụng để điều khiển quá trình tôi laser chính gồm có công suất nguồn P_{abs} và tốc độ di chuyển của chùm tia v . Phân bố nhiệt độ trong vùng tôi laser được thể hiện như hình 2.



Hình 2. Phân bố nhiệt độ trong vùng tôi laser theo mặt cắt ngang của mẫu [3].

Mặc dù công nghệ tôi laser đã được ứng dụng rộng rãi tại các nước phát triển, nhưng ở Việt Nam công nghệ này vẫn chưa được ứng dụng vào nghiên cứu và sản xuất. Do đó, cần có những khảo sát và nghiên cứu để đưa công nghệ này vào sản xuất.

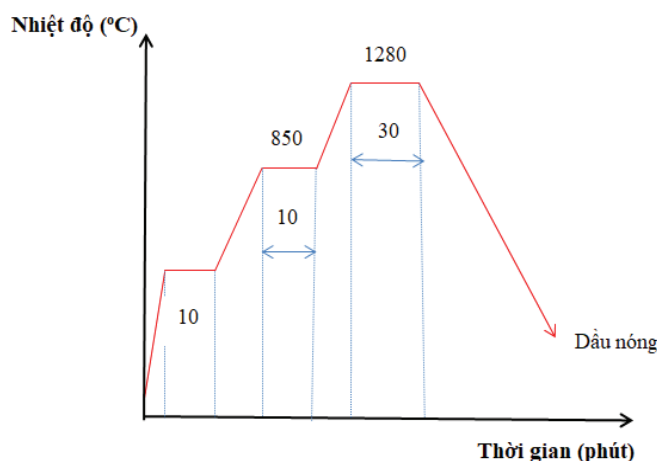
2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Thanh thép P18 có kích thước $\phi 22 \times 400$ mm ban đầu được cắt thành các mẫu thép có kích thước $\phi 22 \times 20$ mm. Mẫu thép trước khi tôi laser được phân tích thành phần quang phổ phát xạ ARL3460 để kiểm tra thành phần mác thép. Mẫu được mài lần lượt qua các giấy nhám #240, 400, 600, 1000 và 1200 trước khi tôi (truyền thống và laser). Ký hiệu mẫu thép ở trạng thái cung cấp là CC.

2.2. Thực nghiệm tôi mẫu

Tôi thử nghiệm mẫu thép trong lò nung điện trở có khí bảo vệ theo quy trình ở hình 3.



Hình 3. Quy trình tôi thép P18.

Ký hiệu mẫu thép tôi truyền thống như quy trình ở hình 3 là TT.

Sử dụng thiết bị laser fiber Model AKW-F1000W/CAS với công suất tối đa 8000 W với chế độ liên tục. Sử dụng công suất 300, 500, 700 và 900 W để tôi mẫu với khoảng cách cố định từ mẫu đến đầu tôi laser là 300 mm, thời gian tôi 120 giây. Ký hiệu mẫu tôi laser tương ứng với công suất 300, 500, 700 và 900 W lần lượt là LS0,3, LS0,5, LS0,7 và LS0,9.

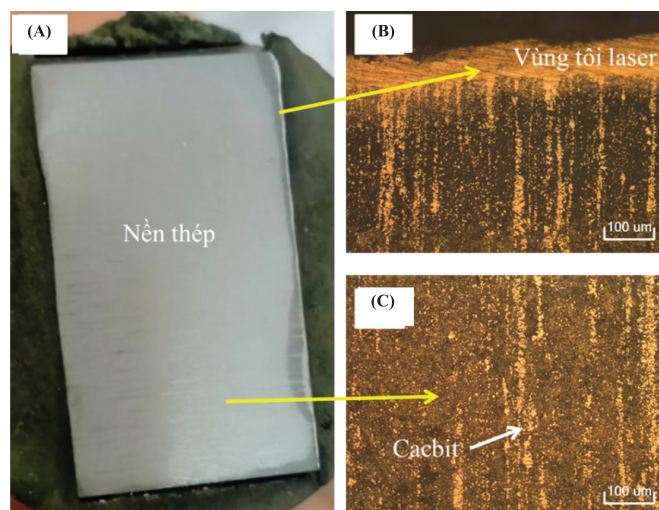
2.3. Đo đạc và phân tích mẫu trước và sau tôi

Thành phần mác thép mẫu được phân tích bằng máy quang phổ phát xạ ARL 3460 của Viện Công nghệ, Bộ Công Thương. Độ cứng bề mặt mẫu trước và sau tôi được đo bằng máy FM-700e với thang đo $HV_{0,1}$ (Vicker), tải trọng 100 g. Mẫu sau tôi laser được mài và đánh bóng theo mặt cắt ngang, sử dụng kính hiển vi quang học Axiovert 40 MAT để xác định cấu trúc tế vi vùng mẫu tôi laser. Ngoài ra, nghiên cứu cũng sử dụng máy đo độ cứng HRC (Hardness rockwell C) và các thiết bị phụ trợ để thực hiện quá trình gia công mẫu khác.

3. Kết quả và bàn luận

Mẫu nghiên cứu có thành phần phần trăm nguyên tố chính lần lượt là 0,81C, 4,05Cr, 0,34Si, 0,30Mn, 18,02W, 0,72Mo, 1,02V-Fe (còn lại). Kết quả cho thấy, mẫu thép sử dụng có thành phần tương đương với mác thép P18 theo tiêu chuẩn Nga GOST19265-73.

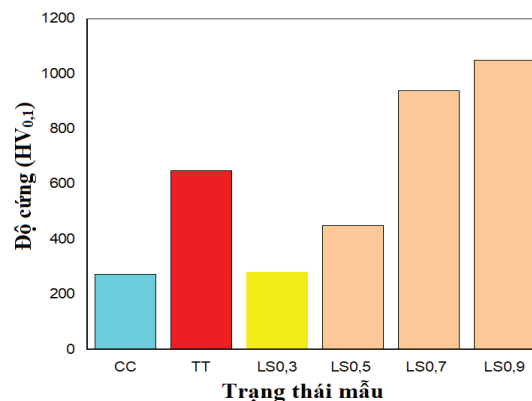
Hình 4 thể hiện mặt cắt ngang mẫu sau tôi laser (4A), gồm vùng vật liệu đã được tôi (4B) và nền thép chưa được tôi (4C). Quan sát bằng mắt thường có thể thấy, vùng tôi laser gồm hai vùng, ngoài bề mặt là vùng sáng màu có độ cứng cao và vùng chuyển tiếp tối màu có độ cứng thấp hơn. Trong khi đó, nền thép chưa tôi gồm cacbit hợp kim và nền ferrit.



Hình 4. Hình ảnh mẫu tôi laser thép P18 với công suất 0,7 kW (LS0,7), thời gian tương tác giữa chùm laser và bề mặt mẫu 120 giây. (A) Mặt cắt ngang mẫu; (B) Vùng mẫu ngoài cùng tôi laser; (C) Nền thép ban đầu.

So sánh cấu trúc mẫu tôi laser và tôi truyền thống có thể thấy tổ chức mẫu tôi truyền thống đồng nhất từ bề mặt vào lõi. Nguyên nhân trong công nghệ tôi truyền thống toàn bộ thể tích mẫu được nung nóng và làm nguội. Trong khi đó, trong công nghệ tôi laser chỉ một vùng vật liệu sát bề mặt được nung nóng và xảy ra chuyển biến sau tôi. Trong quá trình làm việc chỉ có bề mặt yêu cầu độ cứng cao để có khả năng chống mài mòn. Vì vậy, công nghệ tôi laser có ưu điểm đạt mục đích nâng cao độ cứng bề mặt, thời gian tôi ngắn (120 giây so với 2,5-3 giờ trong tôi truyền thống).

Tùy vào thành phần mác thép và chế độ tôi mà cấu trúc pha của mẫu thép sau tôi sẽ có sự thay đổi. Sự thay đổi thành phần pha dẫn tới thay đổi tính chất của vật liệu là độ cứng. Cụ thể, thép ở trạng thái ban đầu mềm (độ cứng thấp) do đặc tính của pha ferrit. Sau quá trình tôi, thép có độ cứng cao do pha mactenxit có độ cứng cao. Khác với công nghệ tôi truyền thống sử dụng thang đo độ cứng HRC để đo thì thang đo $HV_{0,1}$ thường được sử dụng để xác định thay đổi độ cứng này. Ảnh hưởng công suất nguồn tới độ cứng bề mặt mẫu sau tôi được thể hiện ở hình 5.

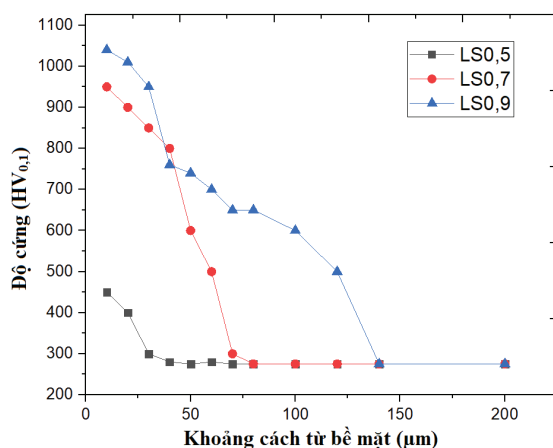


Hình 5. So sánh độ cứng mẫu trước tôi (CC), sau tôi truyền thống (TT) và mẫu tôi laser với công suất khác nhau.

Kết quả đo độ cứng trên bề mặt các mẫu CC ($275 \text{ HV}_{0,1}$), TT ($650 \text{ HV}_{0,1}$), LS0,3 ($280 \text{ HV}_{0,1}$), LS0,5 ($450 \text{ HV}_{0,1}$), LS0,7 ($940 \text{ HV}_{0,1}$) và LS0,9 ($1050 \text{ HV}_{0,1}$) cho thấy, mẫu thép ở trạng thái ban đầu CC có độ cứng thấp gồm nền ferrit và cacbit. Trong quá trình nung nóng và giữ nhiệt ở nhiệt độ austenit hóa, carbon và nguyên tố hợp kim, cacbit hòa tan vào nền austenit (do ferrit chuyển biến thành austenit). Quá trình tôi thành công khi austenit chuyển biến thành pha cứng mactenxit có độ cứng cao. Độ cứng của mẫu thép sau tôi phụ thuộc vào hàm lượng các nguyên tố hợp kim, cacbit đã hòa tan vào nền.

Ảnh hưởng của công suất nguồn tôi laser được thể hiện qua kết quả đo độ cứng bề mặt mẫu LS0,3, LS0,5, LS0,7 và LS0,9. Từ kết quả đo độ cứng có thể thấy duy nhất mẫu LS0,3 không tôi được (không tăng độ cứng so với mẫu CC). Nguyên nhân do công suất nguồn laser không đủ để nung nóng thép đến nhiệt độ chuyển biến austenit hóa T_A (với thép P18 thì $T_A=1280^\circ\text{C}$). Khi nâng công suất nguồn nung P_{abs} theo công thức (1) ở trên nhiệt độ truyền tới bề mặt mẫu thép tăng lên và nung nóng bề mặt thép. Khi tăng công suất lên đến 500 W, nhiệt độ nung bề mặt mẫu bắt đầu đủ để xảy ra quá trình chuyển pha từ nền ferrit thành austenit và sau đó có quá trình tôi austenit thành mactenxit. Kết quả làm tăng độ cứng lên $450 \text{ HV}_{0,1}$ so với độ cứng ban đầu là $275 \text{ HV}_{0,1}$. Tuy nhiên, công suất thấp nên hàm lượng C và nguyên tố hợp kim hòa tan vào nền nhỏ và vùng đạt nhiệt T_A mỏng trên bề mặt. Ngược lại, khi công suất đủ lớn mẫu LS0,7 và LS0,9 đạt độ cứng lên tới 940 và $1050 \text{ HV}_{0,1}$, cao hơn cả mẫu tôi truyền thống TT (chỉ đạt $650 \text{ HV}_{0,1}$). Nguyên nhân là do trong công nghệ tôi truyền thống hàm lượng carbon, nguyên tố hợp kim và cacbit hòa tan vào nền thấp hơn dẫn tới pha mactenxit sau tôi thấp hơn (không hoàn toàn). Một lý do khác là trong công nghệ tôi truyền thống bên cạnh quá trình tạo thành pha mactenxit cứng thì còn austenit dư.

Kết quả đo phân bố độ cứng của các mẫu tôi laser thành công LS0,5, LS0,7 và LS0,9 được thể hiện ở hình 6.



Hình 6. Phân bố độ cứng của các mẫu tôi laser thành công.

Kết quả cho thấy, độ cứng mẫu tôi laser giảm dần từ bề mặt vào trong lõi. Nếu xác định chiều dày lớp vật liệu hóa bền được tính từ bề mặt đến vị trí có độ cứng nền, thì chiều dày lớp hóa bền của các mẫu LS0,5, LS0,7 và LS0,9 lần lượt là 25, 70 và 125 μm. Kết quả phân bố độ cứng phù hợp với phân bố nhiệt độ như mô tả ở hình 2. Việc phân bố nhiệt độ như trên giải thích cho phân bố độ cứng theo mặt cắt ngang. Cụ thể, vùng sáng màu có độ cứng cao, vùng chuyển tiếp tối màu có độ cứng thấp hơn. Vùng vật liệu bên ngoài cùng có tốc độ nguội đủ lớn do đó chuyển biến thành pha mactenxit, vùng sát với nền không kịp chuyển biến do đó có thành phần pha là austenit dư. Giữa hai vùng mactenxit và vùng không chuyển biến austenit là vùng trung gian có sự xuất hiện cả hai pha này [3].

4. Kết luận

Tôi laser là một công nghệ xử lý bề mặt mới đang được nghiên cứu và ứng dụng trong nhiều lĩnh vực trên thế giới. Do đó cần có những nghiên cứu và dự án triển khai ứng dụng mới của laser ở Việt Nam.

Thép P18 tôi thành công trong điều kiện nghiên cứu với công suất tối thiểu 500 W, khoảng cách từ nguồn tới mẫu 300 mm và thời gian tương tác giữa nguồn laser với bề mặt thép P18 trong 120 giây.

Công nghệ tôi laser có khả năng tôi cứng cao hơn công nghệ truyền thống, tuy nhiên cần nghiên cứu khắc phục những nhược điểm gặp phải trong nghiên cứu này như bề mặt mẫu sau tôi bị oxy hóa mạnh, chiều dày lớp tôi còn thấp hơn nhiều so với các công bố trên thế giới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. Burakowski (1999), *Surface Engineering of Metals*, CRC Press, pp.135-146.
- [2] P. Dinesh Badu, K.R. Balasubramanian (2011), "Laser surface hardening: A review", *Int. J. Surface Science and Engineering*, **5**(2-3), pp.131-148, DOI: 10.1504/IJSURFSE.2011.041398.
- [3] A. Hussain, A. Farooq, R. Akhter (2010), "Estimation of the hardness for laser surface hardening of plain carbon steel", *Key Engineering Materials*, **442**, pp.164-171, DOI: 10.4028/www.scientific.net/KEM.442.164.
- [4] T. Hung, H. Shi (2018), "Temperature modeling of AISI 1045 steel during surface hardening processes", *Materials*, **11**(10), DOI: 10.3390/ma11101815.
- [5] L. Qingbin, L. Hong (1999), "Experimental study of the laser quenching of 40CrNiMoA steel", *Journal of Materials Processing Technology*, **88**(1-3), pp.77-82, DOI: 10.1016/S0924-0136(98)00381-1.
- [6] R. Carrera-Espinoza (2020), "Surface laser quenching as an alternative method for conventional quenching and tempering treatment of 1538 MV steel", *Advances in Materials Science and Engineering*, **2020**, pp.1-9, DOI: 10.1155/2020/7950684.
- [7] B. Wang, Y. Pan, Y. Liu (2020), "Effects of quench-tempering and laser hardening treatment on wear resistance of gray cast iron", *Journal of Materials Research and Technology*, **9**(4), pp.8163-8171, DOI: 10.1016/j.jmrt.2020.05.006.

Nghiên cứu và tích hợp hệ thiết bị khắc trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm

Trần Thị Vân Anh*, Đỗ Xuân Tiến, Cung Hồng Kiên, Đinh Văn Giang, Trương Đức Toàn, Trần Xuân Thịnh

Trung tâm Công nghệ Laser, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/7/2023; ngày chuyển phản biện 5/7/2023; ngày nhận phản biện 17/7/2023; ngày chấp nhận đăng 20/7/2023

Tóm tắt:

Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu, thiết kế và tích hợp hệ thiết bị khắc laser trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm, công suất 5 W được tích hợp từ các mô-đun bán thành phẩm có sẵn trên thị trường. Nhóm nghiên cứu đã khảo sát sự ảnh hưởng của các thông số kỹ thuật đến quá trình khắc laser UV lên vật liệu nhựa như: bước sóng, công suất laser lõi ra, độ rộng xung, tần số lặp lại xung, tốc độ khắc, kích thước vùng khắc, nguồn điện... Kết quả, nhóm nghiên cứu đã đưa ra được bộ tham số tối ưu của hệ thiết bị chế tạo cho một số loại vật liệu nhựa riêng biệt. Một số sản phẩm khắc thử nghiệm laser UV trên vật liệu nhựa của hệ thiết bị chế tạo được cho thấy hình ảnh có độ sắc nét và tương phản cao, vùng ảnh hưởng nhiệt nhỏ, có thể khắc được kích thước nhỏ cỡ micromet, tốc độ khắc nhanh. Kết quả nghiên cứu cho thấy thiết bị laser UV là sự lựa chọn tốt cho những ứng dụng của laser trong ngành công nghiệp bán dẫn, cơ khí vi mô, y học và thiết bị ngoại vi...

Từ khóa: khắc laser UV, laser khắc nhựa, laser UV.

Chỉ số phân loại: 2.5

1. Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, laser UV có nhiều ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực kinh tế - xã hội nhờ những đặc tính ưu việt như bước sóng ngắn và chất lượng chùm cao, chùm tia có thể được hội tụ đến kích thước điểm cỡ vài micromet ($\sim 10 \mu\text{m}$), tốc độ lặp lại cao và điểm hội tụ nhỏ làm cho những tia laser này rất phù hợp để gia công cắt, khắc độ chính xác cao. Khi tia laser UV được chiếu đến bề mặt vật liệu nhựa, laser UV cung cấp tỷ lệ hấp thụ vật liệu cao hơn các loại laser khác như laser CO_2 , laser sợi quang..., điều này giúp không cần tăng công suất để tạo ra các vết khắc rõ nét cũng như giảm sự khuếch tán nhiệt của vật liệu làm cho quá trình khắc ít bị ảnh hưởng bởi các biến dạng nhiệt (thiệt hại do nhiệt) ở các lớp bên trong và các khu vực lân cận của vùng cần gia công. Nhờ vậy, laser UV mở ra một loạt các ứng dụng mà các nguồn laser vùng khả kiến và hồng ngoại không thể giải quyết được, đặc biệt thích hợp để khắc các vật liệu nhựa, tấm bảng mạch điện tử cứng, tấm mềm và rất nhiều phụ kiện yêu cầu gia công chính xác cỡ micromet. Có thể nói rằng, laser UV nói chung và laser UV bước sóng 355 nm nói riêng đã trở thành công cụ gia công chủ đạo trong công nghiệp hiện nay, đặc biệt cho những ứng dụng gia công cỡ micromet [1-6].

Về công nghệ chế tạo, các laser UV bước sóng 355 nm dùng trong công nghiệp hiện nay hầu hết được chế tạo bằng cách điều biến nhân tần từ bước sóng cơ bản 1064 nm của laser rắn Neodymium (Nd^{3+}) hoặc laser sợi quang. Việc sử dụng kết hợp một số tính thể quang học phi tuyến sẽ cho phép chuyển đổi từ bước sóng vùng hồng ngoại sang bước sóng tử ngoại 355 nm của chùm tia laser lõi ra phù hợp cho gia công trong công nghiệp.

Tại Việt Nam, nhu cầu thị trường khắc trên vật liệu nhựa trong các nhà máy, doanh nghiệp sản xuất bắt đầu phát triển, các nghiên

cứu về quá trình khắc trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm vẫn còn rất hạn chế. Các thiết bị khắc sử dụng laser UV thương mại chủ yếu được nhập nguyên chiếc dẫn đến hạn chế trong các ứng dụng cũng như khó khăn trong việc làm chủ công nghệ khắc. Hiện tại trong nước chưa sản xuất, chế tạo được thiết bị này, vì vậy chúng tôi đặt mục tiêu nghiên cứu, chế tạo, tích hợp được hệ thiết bị khắc laser UV bước sóng 355 nm ứng dụng khắc tem nhãn trên vật liệu nhựa để nắm bắt, làm chủ công nghệ, chủ động trong chế tạo thiết bị cũng như làm chủ quy trình khắc trên các loại vật liệu nhựa khác nhau theo yêu cầu của thị trường.

2. Nội dung nghiên cứu

Trong bài báo này chúng tôi trình bày kết quả thiết kế và tích hợp hệ khắc laser trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm từ các mô-đun và linh kiện bán thành phẩm có sẵn trên thị trường. Điều này giúp đảm bảo chất lượng và độ ổn định của thiết bị trong quá trình sử dụng. Hệ thiết bị được chế tạo bước đầu đưa vào thử nghiệm để khắc trên vật liệu nhựa PVC, ABS, PP. Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi đã tìm ra được số liệu bộ thông số khắc trên vật liệu nhựa PVC, ABS, PP của hệ thiết bị laser UV vừa chế tạo.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thiết kế và xây dựng hệ khắc laser trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm

Hệ khắc laser trên vật liệu nhựa được nhóm nghiên cứu thiết kế, tích hợp trên cơ sở tìm hiểu tài liệu kết hợp với khảo sát thực tế. Sơ đồ thiết kế hệ thống cũng như lựa chọn các mô-đun linh kiện, thông số kỹ thuật của hệ thống được xây dựng trên cơ sở tìm hiểu, khảo sát giải mã một số cấu hình thiết bị, mô-đun bán sẵn trên thị

*Tác giả liên hệ: Email: vananhlaser@gmail.com

Research and integrate laser marking system on plastic materials using 355 nm UV laser

Thi Van Anh Tran*, Xuan Tien Do, Hong Kien Cung,
Van Giang Dinh, Duc Toan Truong, Xuan Thinh Tran

National Center for Laser Technology,
National Center for Technological Progress,
C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 3 July 2023; revised 17 July 2023; accepted 20 July 2023

Abstract:

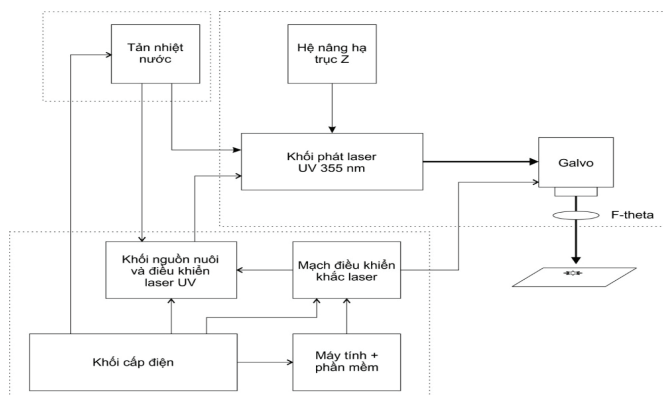
This article presents the results of research, design and integration of a laser equipment system on plastic materials using a UV laser of wavelength 355 nm, power of 5 W, integrated from semi-finished modules available on the market. The research team investigated the influence of technical parameters on the UV laser engraving process on plastic materials such as wavelength, output laser power, pulse width, engraving speed, engraving area size, electricity source... As a result, the research team has come up with a set of parameters for the manufacturing equipment system for a number of specific plastic materials. Some experimental UV laser engraving products on plastic materials of the manufactured equipment system show images with high sharpness and contrast, small heat-affected areas, can engrave sizes as small as micrometers, with a high speed. Research results showed that UV laser equipment is a good choice for laser applications in the semiconductor industry, micro-mechanics, medicine and peripheral equipment...

Keywords: plastic marking laser, UV laser, UV marking laser.

Classification number: 2.5

trường. Việc lựa chọn, sử dụng những mô-đun linh kiện từ các nhà sản xuất uy tín nhằm đảm bảo chất lượng và độ ổn định của thiết bị chế tạo tích hợp trong nước do trình độ khoa học của chúng ta chưa thể tự chế tạo được tất cả các bộ phận của thiết bị.

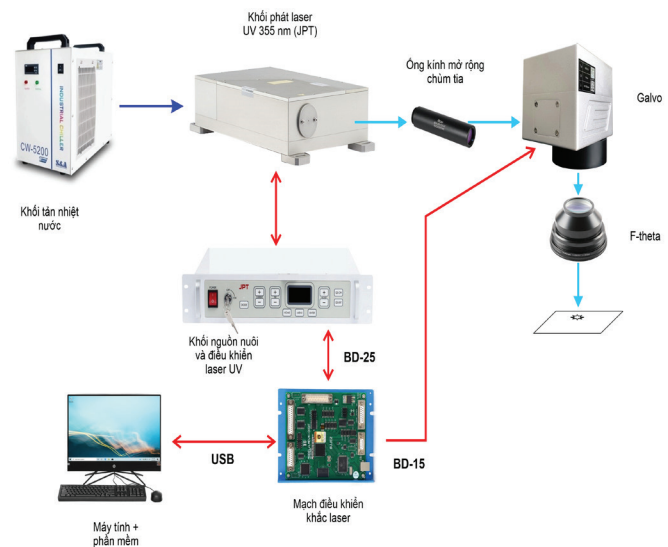
Sơ đồ thiết kế hệ thiết bị khắc trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ khối hệ thiết bị khắc laser UV bước sóng 355 nm.

Cấu hình tổng thể của thiết bị khắc laser UV bao gồm các khối bộ phận như: khối nguồn phát laser UV bước sóng 355 nm công suất 5 W của Hãng JPT (Trung Quốc); hệ quét chùm tia Galvo model ST10scan (355 nm) với chuẩn giao tiếp XY2-100, thấu kính hội tụ f-theta tiêu cự 254 mm; card điều khiển laser LMCV2-DIGIT của BJJCZ; nguồn nuôi cung cấp năng lượng và hệ thống được điều khiển bằng phần mềm khắc laser.

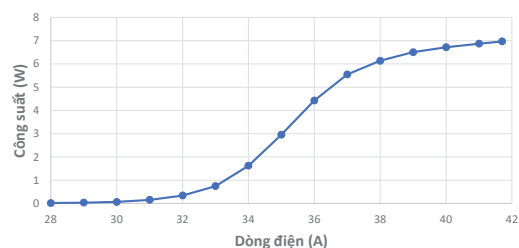
Các khối bộ phận này đều được kết nối và liên hệ chặt chẽ với nhau giúp thiết bị hoạt động ổn định và đạt hiệu quả cao. Sơ đồ ghép nối được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Sơ đồ khối ghép nối các bộ phận tích hợp của thiết bị khắc laser UV.

3.2. Khảo sát thực nghiệm, đo đạc các thông số kỹ thuật của hệ thiết bị vừa được chế tạo, tích hợp

Sau khi thiết kế, tích hợp hệ thiết bị, chúng tôi khảo sát một số thông số kỹ thuật chùm laser lõi ra của hệ laser UV bước sóng 355 nm vừa tích hợp tại phòng thí nghiệm của đơn vị. Đường đặc trưng công suất của laser được chỉ ra ở hình 3. Phép đo được thực hiện bằng cách đo trực tiếp công suất chùm tia laser UV, sau hệ quang học lõi ra của đầu phát laser. Hệ laser hoạt động ở chế độ phát xung Q-switch. Công suất trung bình chùm tia laser lõi ra được đo bởi đầu đo công suất nhiệt S322C và được hiển thị trên bảng điều khiển PM100D.



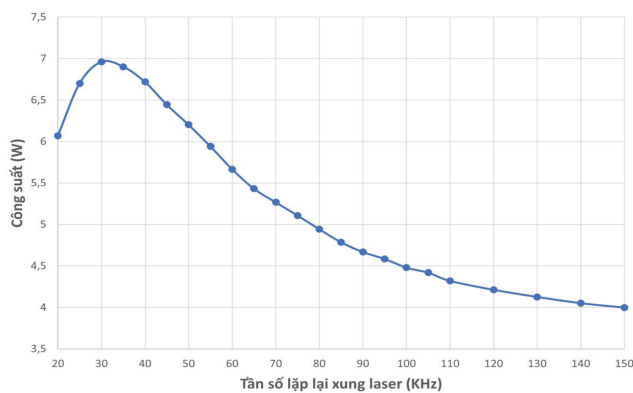
Hình 3. Đồ thị công suất laser UV lõi ra thay đổi theo dòng điện nuôi laser diode bơm.

Khi thay đổi cường độ dòng điện nuôi laser diode bơm, công suất laser UV lồi ra cũng thay đổi theo. Số liệu đo công suất laser P (W) theo cường độ dòng điện nuôi laser diode bơm I (A) được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Số liệu đo công suất laser P (W) theo cường độ dòng điện nuôi laser diode bơm I (A).

I (A)	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	41,7
P (W)	0,017	0,035	0,066	0,156	0,343	0,748	1,625	2,96	4,431	5,548	6,136	6,505	6,718	6,871	6,971

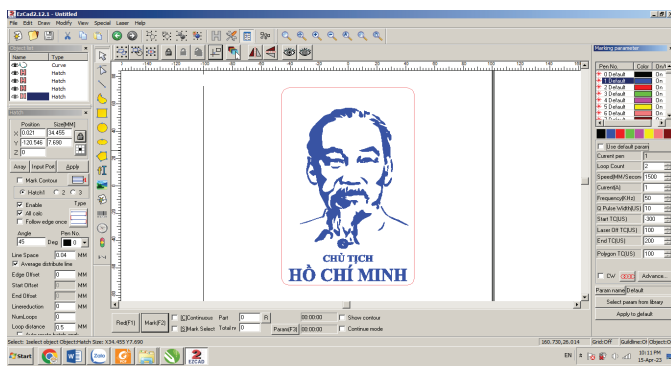
Tần số lặp lại của xung từ có thể thay đổi được từ 20 đến 150 KHz, công suất laser lồi ra thay đổi theo tần số lặp lại xung laser được thể hiện ở hình 4, độ rộng xung laser nằm trong khoảng từ 7 đến 31 ns. Với các thông số laser này, ta có thể dễ dàng thay đổi trong quá trình ứng dụng trong khắc trên vật liệu nhựa.



Hình 4. Đồ thị đặc trưng công suất laser lồi ra thay đổi theo tần số lặp lại xung của laser UV.

Quá trình kết nối mạch điều khiển của máy khắc laser như sau: đầu quét chùm tia galvo được kết nối với card điều khiển thông qua cổng DB-15 theo chuẩn XY2-100 Digital. Khối phát laser UV được kết nối qua cổng BD-25 cho phép điều khiển các chế độ hoạt động của laser. Ngoài ra, card điều khiển cũng được ghép nối với máy tính qua cổng USB 2.0 và được nuôi bằng bộ nguồn 5 VDC bên ngoài.

Quá trình khắc laser các hình ảnh thiết kế trên máy tính được thực hiện bằng cách kết hợp đồng bộ giữa chuyển động trong đầu quét galvo và chùm tia laser thông qua card điều khiển trung tâm.



Hình 5. Chương trình điều khiển hệ khắc laser UV bước sóng 355 nm trên máy tính.

Toàn bộ quá trình này được thực hiện trên phần mềm khắc laser EzCad2 thực hiện trên máy tính. Trong đó, người sử dụng có thể dễ dàng thiết lập trực tiếp trên phần mềm các thông số khắc laser như: công suất, tần số lặp lại xung, tốc độ quét tia... Ngoài ra, phần mềm này cũng hỗ trợ nhiều định dạng tệp tin đồ họa khác nhau (ví dụ: .plt, .dxf, .ai, .jpg) nhằm tối ưu hóa thiết kế, hoạt động và quan sát trước các hình ảnh khắc laser (hình 5).

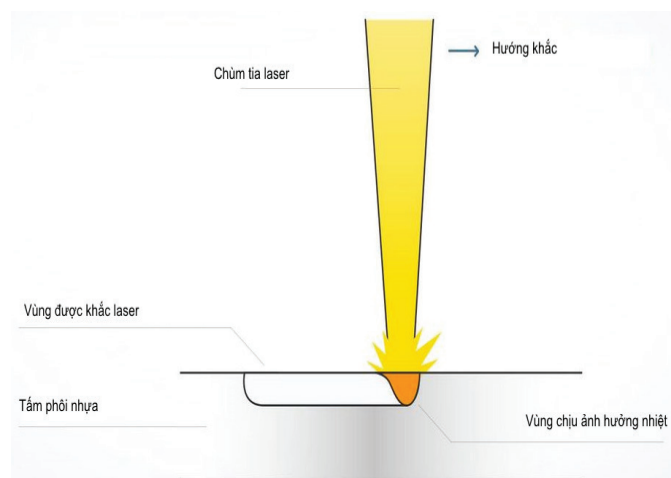
Hệ thiết bị máy khắc laser UV bước sóng 355 nm bước đầu được đo đạc và thử nghiệm các điều kiện hoạt động ổn định (bảng 2). Từ đó, có thể được sử dụng để nghiên cứu, thử nghiệm kỹ thuật khắc laser trên một số vật liệu nhựa.

Bảng 2. Thông số kỹ thuật của hệ thiết bị khắc laser UV được chế tạo.

Loại laser	Laser UV
Bước sóng	355 nm
Công suất laser lồi ra	>5 W
Độ rộng xung	7÷31 ns
Tần số lặp lại xung	20÷150 KHz
Tốc độ khắc	<6000 mm/s
Kích thước vùng khắc	110x110 mm
Làm mát bằng nước, ổn định nhiệt độ	25±2°C
Nguồn điện	220 V/50 Hz

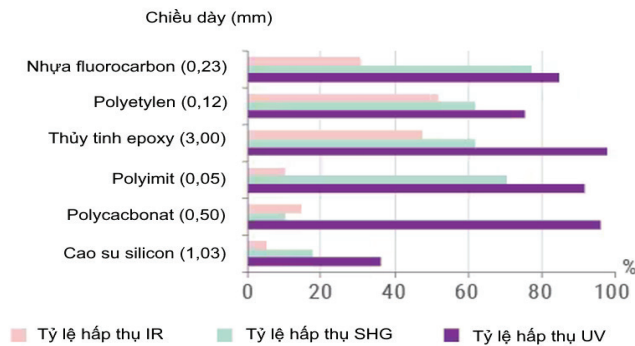
3.3. Nghiên cứu quá trình khắc laser UV trên vật liệu nhựa

Khắc laser trên vật liệu phi kim là quá trình tương tác giữa chùm tia laser với bề mặt vật liệu. Thông thường, toàn bộ ánh sáng trong một xung quang học sẽ được vật liệu hấp thụ và chuyển hóa thành nhiệt, do đó gây ra sự gia tăng nhiệt độ tức thời trong vật liệu, dẫn đến sự nóng chảy và phân giải bề mặt, làm carbon hóa, phân hủy hóa học... Kết quả thường bao gồm một vùng vật liệu đã bị biến đổi về màu sắc, thành phần và sẽ tạo thành các hình khắc laser tại vị trí chùm tia laser chiếu tới như minh họa ở hình 6 [5].



Hình 6. Sự hình thành vết khắc dưới tác dụng của chùm tia laser.

Chất lượng vết khắc phụ thuộc vào mức độ hấp thụ bức xạ của vật liệu. Tỷ lệ hấp thụ của vật liệu với mỗi loại laser khác nhau thì cũng khác nhau. Hình 7 mô tả tỷ lệ hấp thụ của một số vật liệu phi kim loại với các loại laser khác nhau.



Hình 7. Tỷ lệ hấp thụ vật liệu với các loại laser.

Ta thấy laser UV có tỷ lệ hấp thụ 70-90%, cao hơn hẳn so với các loại laser khác. Sử dụng loại laser không phù hợp để khắc trên vật liệu nhựa có thể dẫn đến hư hỏng vật liệu trong quá trình gia công do nhiệt sinh ra.

Sự hấp thụ của vật liệu nhựa dưới tác dụng của chùm tia laser chiếu tới phụ thuộc vào mật độ năng lượng của chùm tia laser và tính chất của vật liệu. Mật độ năng lượng của chùm tia laser được tính theo công thức sau:

$$F = \frac{2\sqrt{2}P}{\pi\omega_0 V} \quad (1)$$

trong đó: F là mật độ năng lượng của chùm tia laser (J/cm^2); P là công suất laser trung bình (W); ω_0 là bán kính chùm tia laser tại điểm hội tụ; V là tốc độ quét tia laser.

Năng lượng hấp thụ E trên một đơn vị thể tích ở độ sâu z trong vật liệu có dạng hàm e mũ [4]:

$$E(z) = I_0 \alpha e^{-\alpha z} \quad (2)$$

trong đó: α là hệ số hấp thụ tại bước sóng laser đối với vật liệu được khắc; I_0 là cường độ chùm tia laser chiếu tới vật liệu (tỷ lệ với mật độ năng lượng F); Δt là thời gian xung laser.

Công thức mô tả đơn giản về quá trình nung nóng và tăng nhiệt độ ΔT (trên một đơn vị khối lượng) đối với một thể tích vật liệu ở độ sâu z là:

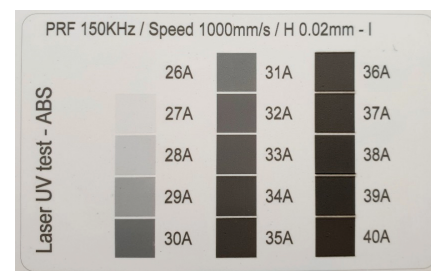
$$\Delta T = \frac{\text{Nhiệt lượng thêm vào} - \text{Nhiệt dẫn đi}}{\text{Nhiệt dung riêng của vật liệu}}$$

trong đó: nhiệt lượng thêm vào được xác định bởi lượng ánh sáng laser được hấp thụ trong vật liệu ở độ sâu z; nhiệt dẫn đi được xác định bởi độ dẫn nhiệt của vật liệu.

Vì xung laser có thời gian hữu hạn, nên công thức mô tả này phải được lấy tích phân theo thời gian. Sự nóng chảy và bốc bay của vật liệu cũng góp phần vào sự cân bằng năng lượng. Ngoài ra, quá trình hấp thụ bức xạ laser cũng phụ thuộc rất nhiều vào nhiệt độ của vật liệu.

Từ các công thức (1) và (2) nhận thấy, quá trình khắc laser trên vật liệu phi kim sẽ chịu ảnh hưởng của nhiều tham số như: bước sóng laser, công suất chùm tia laser chiếu tới, độ rộng xung laser, tần số lặp lại xung, phân bố chùm tia... Đây đều là những tham số cần phải xét đến khi sử dụng một hệ thiết bị máy khắc laser.

Sự ảnh hưởng của các thông số của hệ laser lên quá trình khắc laser UV lên vật liệu nhựa bước đầu được khảo sát bằng hệ thiết bị khắc laser UV vừa chế tạo. Công suất laser được thay đổi bằng cách thay đổi dòng điện I (A) nuôi laser diode bơm tinh thể laser rắn trong hệ thống thiết bị; giá trị này được điều chỉnh từ 0 đến 42 A. Hình ảnh khắc thử nghiệm trên vật liệu nhựa ABS nền màu trắng có chiều dày 1 mm với sự thay đổi của công suất laser được hiển thị ở hình 8.



Hình 8. Thử nghiệm khắc trên vật liệu nhựa ABS bằng cách thay đổi công suất laser (điều khiển bằng thay đổi cường độ dòng điện).

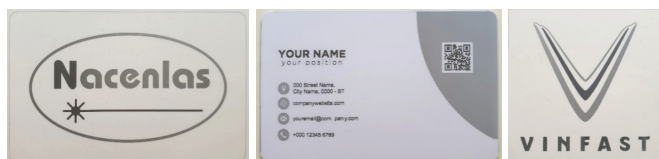
Nhóm tác giả đã tiến hành thử nghiệm khắc trên một số vật liệu nhựa khác nhau như PVC, ABS và PP nền màu trắng có chiều dày 1 mm. Từ kết quả nghiên cứu trong việc khắc trên các vật liệu nhựa khác nhau, chúng tôi bước đầu đã đưa ra được bộ tham số tối ưu của hệ thiết bị chế tạo cho một số loại vật liệu nhựa riêng biệt. Các kết quả thử nghiệm thông số khắc trên vật liệu nhựa PVC, ABS, PP đã được ghi nhận ở bảng 3.

Bảng 3. Số liệu bộ thông số khắc trên vật liệu nhựa PVC, ABS, PP của hệ thiết bị laser UV vừa chế tạo.

Loại nhựa	Nhựa PVC		Nhựa ABS		Nhựa PP	
	Đen	Xám	Đen	Xám	Đen	Xám
Công suất laser P điều khiển theo dòng điện I (A)	29,5	29	32	30	35	34
Tần số f (KHz)	40	40	40	40	40	40
Tốc độ khắc (mm/s)	1000	1000	900	1000	800	1000
Khoảng cách đường khắc (mm)	0,02	0,05	0,02	0,05	0,02	0,05

Hình 9 là hình ảnh một số sản phẩm thử nghiệm khắc laser UV trên vật liệu nhựa PVC, ABS, PP dựa trên các thông số khắc laser tối ưu ở bảng 3. Các kết quả thử nghiệm cho thấy, hình ảnh được khắc laser có độ rõ nét và tương phản cao, đặc biệt là các ký tự nhỏ đều được hiển thị đầy đủ và sắc nét. Ngoài ra, vết khắc

laser UV trên vật liệu nhựa không có hiện tượng bị cháy hay phồng rộp như khi được khắc bằng chùm tia laser hồng ngoại IR 1064 nm khác.



Hình 9. Một số mẫu thử nghiệm khắc laser UV bước sóng 355 nm trên các vật liệu nhựa PVC, ABS, PP.

4. Kết luận

Hệ thiết bị khắc trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm đã được chế tạo thành công với các thông số của thiết bị như: công suất đầu ra 5 W, tần số điều chỉnh được từ 20 đến 150 KHz, độ rộng xung 7-31 ns. Một số kết quả khắc thử nghiệm trên vật liệu nhựa như ABS, PVC, PP có độ sắc nét, độ tương phản cao, tốc độ xử lý, tính linh hoạt cao và khắc kích thước nhỏ cỡ micromet. Việc chế tạo thành công hệ thiết bị khắc laser UV sóng 355 nm góp phần chủ động trong công nghệ chế tạo, tích hợp thiết bị cũng như làm chủ quy trình khắc trên một số loại vật liệu phi kim loại, từ đó mở rộng, đa dạng hóa ứng dụng của laser trong công nghiệp, công nghiệp phụ trợ, gia dụng, y tế.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp Bộ Khoa học và Công nghệ năm 2022-2023: “Chế tạo hệ thiết bị khắc trên vật liệu phi kim sử dụng laser UV bước sóng 355 nm để khắc tem nhãn trên vật liệu nhựa” do Trung tâm Công nghệ Laser, Viện Ứng dụng Công nghệ chủ trì. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] <https://www.keyence.com.vn/ss/products/marketing/lasermarker/knowledge/uv-laser.jsp>, accessed 8 June 2023.
- [2] L. Liu, Z. Hou, R. Guo, et al. (2019), “High efficiency and high energy 355 nm generation in $\text{NaSr}_3\text{Be}_3\text{B}_3\text{O}_{10}\text{F}_4$ crystal”, *Optical Materials Express*, **9(8)**, pp.3527-3534, DOI: 10.1364/OME.9.003527.
- [3] Y. Yua, C.Y. Cheng, X. Peng, et al. (2015), “High power 355 nm diode-pumped solid-state laser”, *Proceedings of The International Conference on Optical and Photonic Engineering (icOPEN 2015)*, DOI: 10.1117/12.2189431.
- [4] J.F. Ready (2001), *Handbook of Laser Material Processing*, Springer, 717pp.
- [5] D.L. Elliott (1995), *Ultraviolet Laser Technology and Applications*, Elsevier Inc, Academic Press, 350pp.
- [6] N. Ikeda, T. Akaba, F. Inoue (2003), “Diode-pumped solid-state ultraviolet laser micro processing system”, Mitsubishi Heavy Industries, Ltd., *Technical Review*, **40(2)**, pp.1-5.

Đánh giá khả năng phân rã của bao bì thân thiện môi trường trong điều kiện ủ compost ở quy mô phòng thí nghiệm và quy mô pilot

Tưởng Thị Nguyệt Ánh, Lê Thị Thùy, Đoàn Hoàng Linh, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Ngọc Diệp,
Chu Xuân Quang, Trần Hùng Thuận, Đặng Thảo Yến Linh*

Trung tâm Công nghệ Vật liệu, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/5/2023; ngày chuyển phản biện 18/5/2023; ngày nhận phản biện 12/6/2023; ngày chấp nhận đăng 15/6/2023

Tóm tắt:

Nhu cầu sản xuất ngày càng tăng và ứng dụng đầy hứa hẹn của nhựa phân hủy sinh học đã thúc đẩy sự quan tâm đến việc đánh giá khả năng phân hủy sinh học của vật liệu này. Phân rã là giai đoạn đầu tiên của quá trình phân hủy sinh học, do đó nó có ảnh hưởng quan trọng nhất đến khả năng phân hủy của vật liệu. Nghiên cứu này tập trung vào việc đánh giá và so sánh khả năng phân rã của bao bì thân thiện môi trường đang được sản xuất và tiêu thụ phổ biến tại Việt Nam trong điều kiện ủ compost công nghiệp ở quy mô phòng thí nghiệm theo tiêu chuẩn TCVN 12409:2020 và quy mô pilot theo tiêu chuẩn TCVN 12408:2020. Sự biến thiên nhiệt độ, độ ẩm, pH và ngoại quan được ghi lại trong quá trình ủ compost. Kết quả cho thấy, động thái phân rã của bao bì thân thiện môi trường là tương tự nhau ở cả hai quy mô. Mức độ phân rã của bao bì thân thiện môi trường ở cả hai quy mô thử nghiệm đều đạt trên 90% sau 84 ngày.

Từ khóa: điều kiện ủ compost công nghiệp, mức độ phân rã, nhựa phân hủy sinh học, TCVN 12408:2020, TCVN 12409:2020.

Chỉ số phân loại: 2.7

1. Đặt vấn đề

Các vấn đề liên quan đến ô nhiễm rác thải nhựa đã thúc đẩy sự phát triển mạnh mẽ của nhiều loại vật liệu thân thiện với môi trường, trong đó có vật liệu nhựa phân hủy sinh học do chúng có khả năng phân hủy thành H_2O , CO_2 , CH_4 và sinh khối dưới tác động của điều kiện môi trường và vi sinh vật trong một khoảng thời gian xác định [1]. Quá trình phân hủy sinh học có thể diễn ra trong môi trường hiếu khí cũng như môi trường kỵ khí. Môi trường thường được nghiên cứu là hiếu khí, phổ biến nhất là môi trường ủ compost do phần lớn nhựa phân hủy sinh học có khả năng tạo compost trong môi trường này. Do đó, quá trình ủ compost là một trong những lựa chọn ưu tiên nhất khi đề cập đến việc xử lý nhựa phân hủy sinh học [2]. Các nghiên cứu đánh giá khả năng phân hủy sinh học của vật liệu nhựa được thực hiện hầu hết theo các tiêu chuẩn ASTM D6400, ISO 17088, EN 13432, TCVN 13114:2020... nhằm cung cấp các chỉ dẫn về điều kiện môi trường, thời gian và quy mô của các thử nghiệm [3]. Một sản phẩm nhựa được xác định là có khả năng tạo compost nếu đáp ứng được các yêu cầu nhất định về: đặc tính hóa học; khả năng phân rã trong quá trình tạo compost; khả năng phân hủy sinh học hiếu khí hoàn toàn; không ảnh hưởng bất lợi đến khả năng hỗ trợ sự phát triển cây trồng của compost theo tiêu chuẩn TCVN 13114:2020 [4].

Phân rã là khả năng bị bẻ gãy và vỡ ra thành các mảnh nhỏ hơn trong các điều kiện môi trường khác nhau của vật liệu. Nói cách khác, sự phân rã của vật liệu liên quan đến hình dạng vật lý của sản phẩm và do đó bị ảnh hưởng mạnh mẽ bởi độ dày (khối lượng riêng và/hoặc mật độ) [5, 6]. Sản phẩm được coi là thỏa mãn yêu cầu về khả năng phân rã nếu sau 84 ngày trong phép thử

tạo compost có kiểm soát, có không quá 10% khối lượng khô ban đầu bị giữ lại sau khi được sàng qua sàng có mắt lưới 2,0 mm [4].

Đánh giá khả năng phân rã trong quá trình tạo compost có thể được thực hiện ở quy mô phòng thí nghiệm theo tiêu chuẩn TCVN 12409:2020 (ISO 20200:2015) hoặc quy mô pilot theo tiêu chuẩn TCVN 12408:2020 (ISO 16929:2013). Môi trường mô phỏng, phương pháp đánh giá, chất cấy (compost nền), thời gian thử nghiệm... là các thông số quan trọng ảnh hưởng đến quá trình phân hủy sinh học nói chung cũng như quá trình phân rã. Vì vậy, nghiên cứu này tập trung đánh giá và so sánh các động thái, mức độ và tốc độ phân rã của bao bì thân thiện môi trường trong điều kiện ủ compost công nghiệp ở quy mô pilot và quy mô phòng thí nghiệm.

2. Vật liệu và phương pháp thực nghiệm

2.1. Vật liệu

Vật liệu thử nghiệm bao gồm: mùn cưa, thức ăn thỏ, phân bò ủ hoai, tinh bột ngô, urê, rác rau và trái cây, bao bì thân thiện môi trường (đang được sản xuất và tiêu thụ phổ biến tại Việt Nam).

2.2. Thử nghiệm

Hệ thống thử nghiệm phân rã cho hai quy mô được thiết kế như sau:

2.2.1. Chuẩn bị compost nền và màng thử nghiệm: Compost nền và mẫu màng sử dụng cho thử nghiệm phân rã ở quy mô phòng thí nghiệm và quy mô pilot được chuẩn bị phải đảm bảo theo yêu cầu của tiêu chuẩn TCVN 12409:2020 và TCVN 12408:2020. Thông số tính chất của compost nền được thể hiện ở bảng 1.

*Tác giả liên hệ: Email: dangthaoyenlinh@gmail.com

Evaluation of the disintegrability of eco-friendly packaging under laboratory and pilot-scale composting conditions

Thi Nguyen Anh Tuong, Thi Thuy Le, Hoang Linh Doan,
Tien Dat Nguyen, Ngoc Diep Nguyen, Xuan Quang Chu,
Hung Thuan Tran, Thao Yen Linh Dang*

Center for Advanced Materials Technology, National Center for Technological Progress,
C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 15 May 2023; revised 12 June 2023; accepted 15 June 2023

Abstract:

The growing production demand and promising applications of biodegradable plastic have spurred interest in assessing the biodegradability of this material. Disintegration is the first stage of the biodegradation process and therefore it affects the most important on the biodegradability of materials. This research focuses on evaluating and comparing the disintegration ability of eco-friendly packaging, which is being produced and commonly consumed in Vietnam, under industrial composting conditions at laboratory scale according to TCVN 12409:2020 standard and pilot scale according to TCVN 12408:2020 standard. The variations in temperature, humidity, pH, and visual appearance were monitored during the composting process. The results showed that the disintegration behaviours of eco-friendly packaging are similar at both scales. The disintegration rate of eco-friendly packaging at both testing scales reached over 90% after 84 days.

Keywords: biodegradable plastics, disintegration rate, industrial composting condition, TCVN 12408:2020, TCVN 12409:2020.

Classification number: 2.7

Bảng 1. Kiểm soát các thông số trong quá trình thử nghiệm.

Thông số	Quy mô phòng thí nghiệm theo TCVN 12409:2020	Quy mô pilot theo TCVN 12408:2020
Nhiệt độ	Duy trì ở 58±2°C	Được kiểm soát để nhiệt độ tối đa trong thùng ủ compost duy trì: <75°C trong tuần đầu tiên và <65°C trong thời gian sau đó; >60°C trong ít nhất 1 tuần; >40°C trong ít nhất 4 tuần tiếp theo.
Độ ẩm	- Thêm nước để đạt đến khối lượng ban đầu của compost: ngày 1-4, 7-11, 14, 16, 18, 21, 23, 25, 28 với tần suất: hàng ngày. - Thêm nước để đạt đến 80% khối lượng ban đầu của compost: ngày 30-60 với tần suất: 2 lần/tuần. - Thêm nước để đạt đến 70% khối lượng ban đầu của compost: ngày 60 trở đi với tần suất: 2 lần/tuần.	Thêm nước khi độ ẩm của compost <40%.
Đảo trộn	Đảo trộn khi thêm nước trừ các ngày 8, 10, 16, 18, 21, 23, 25, 28	Hàng tuần trong 4 tuần đầu, 1 lần 2 tuần cho đến khi kết thúc phép thử.
Thời khí	Không	Thời khí khi nồng độ oxy <10%, với tỷ lệ dòng khí ≤15 l/kg chất rắn khô tổng số giờ.

2.2.2. *Hệ thiết bị thử nghiệm:* Đối với quy mô phòng thí nghiệm tủ sấy tuần hoàn không khí được sử dụng để duy trì nhiệt độ cao và thùng ủ được làm bằng nhựa PP có kích thước (dài x rộng x cao) 34,0x22,0x14,5 cm.

Đối với quy mô pilot, tủ ủ là hệ gồm đèn, quạt và bơm thổi khí được sử dụng để duy trì nhiệt độ và điều kiện hiếu khí đối với quy mô pilot. Thùng ủ làm bằng nhựa PE có dung tích 50 l.

2.2.3. *Quy trình thử nghiệm:* Mẫu màng thử nghiệm và compost nền sau khi phối trộn được đưa vào các thùng ủ compost. Số lượng thùng ủ đối với quy mô PTN bao gồm 3 thùng mẫu trắng (chỉ chứa compost nền, ký hiệu lần lượt là M01_L, M02_L, M03_L) và 3 thùng mẫu thử (chứa compost nền và mẫu màng thử nghiệm, ký hiệu lần lượt là M1_L, M2_L, M3_L). Số lượng thùng ủ đối với quy mô pilot bao gồm 1 thùng mẫu trắng (M0_P) và 1 thùng mẫu thử (M1_P).

Các thùng ủ compost sau đó được đặt vào tủ ủ trong thời gian tối đa 90 ngày. Trong quá trình thử nghiệm, nhiệt độ, hàm lượng nước, đảo trộn và thổi khí của các thùng ủ compost được kiểm soát theo tiêu chuẩn tương ứng theo bảng 1. Kết thúc thử nghiệm, compost cuối được sàng để tách các miếng cặn của mẫu màng thử còn lại có kích thước lớn hơn 2 mm. Xác định khối lượng khô của cặn mẫu màng thử nghiệm để tính toán mức độ phân rã. Ngoài ra, thông số của compost cuối cũng được phân tích để đánh giá chất lượng quá trình ủ compost.

2.3. Phương pháp thử nghiệm đánh giá

2.3.1. *Phương pháp phân tích phổ FTIR:* Các liên kết, nhóm chức đặc trưng của mẫu thử được phân tích thông qua phổ FTIR bằng thiết bị Nicolet™ iS20 FTIR Spectrometer.

2.3.2. *Phương pháp xác định mức độ phân rã:* Mức độ phân rã của mẫu thử nghiệm (D_i , %) được tính toán dựa trên khối lượng phân cặn của mẫu thử có kích thước lớn hơn 2 mm thu được sau sàng và khối lượng của mẫu thử nghiệm cho vào ban đầu được tính theo công thức sau:

$$D_i = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100$$

trong đó: m_1 là khối lượng khô của mẫu thử nghiệm đầu vào (g); m_2 là khối lượng khô của mẫu thử nghiệm còn lại sau khi sàng (g).

2.3.3. *Phương pháp xác định hàm lượng carbon và hàm lượng nitơ:*

Hàm lượng carbon được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 6642:2000 trên thiết bị phân tích Multi N/C® 2100 S Duo [7].

Hàm lượng nitơ được xác định như sau: mẫu thử rắn được vô cơ hóa theo phương pháp Kjeldahl [8] để tạo thành mẫu lỏng và sau đó hàm lượng nitơ của mẫu lỏng được xác định trên thiết bị phân tích Multi N/C® 2100 S Duo.

2.3.4. *Phương pháp xác định độ ẩm, hàm lượng chất rắn bay hơi và pH:*

Độ ẩm của mẫu được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 6648:2000 sử dụng tủ sấy Memmert [9].

Hàm lượng chất rắn bay hơi được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 13114:2020 sử dụng lò nung WiseTherm [4]. pH của mẫu được xác định theo tiêu chuẩn TCVN 5979:2007 sử dụng thiết bị HQ40d Portable [10].

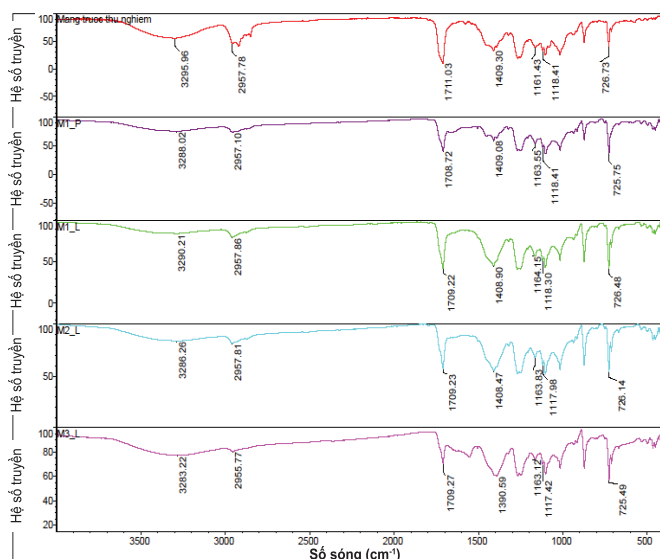
2.3.5. Phương pháp xác định độ giảm nồng độ chất rắn bay hơi: Độ giảm (R) của tổng hàm lượng chất rắn bay hơi giữa compost nền ban đầu và compost cuối trong mỗi bình tạo compost được xác định theo TCVN 12409:2020 [6].

2.3.6. Phương pháp xác định độ chín của compost: Độ chín của compost được xác định theo thang “Rottegrad” dựa trên cơ sở xác định nhiệt độ tối đa (Tmax) trong phép thử tự gia nhiệt trong bình Dewar [11].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phổ FTIR của mẫu màng thử trước và sau khi thử nghiệm

Phổ FTIR của mẫu màng thử nghiệm trước và sau khi phân rã được thể hiện trên hình 1. Đối với màng trước thử nghiệm, pic tại vị trí bước sóng 1712 và 728 cm^{-1} lần lượt ứng với dao động giãn của liên kết C=O trong nhóm este và dao động uốn ngoài mặt phẳng của liên kết =C-H trong vòng benzen. Pic ở vị trí 1118 và 1161 cm^{-1} tương ứng với dao động giãn của liên kết C-O. Các pic 728, 1118 và 1161 cm^{-1} là các pic đặc trưng để nhận biết nhựa polybutylene adipate terephthalate (PBAT) [12, 13]. Do đó, có thể xác định trong thành phần của màng thử nghiệm có chứa nhựa PBAT.



Hình 1. Phổ FTIR của mẫu màng trước và sau quá trình phân rã.

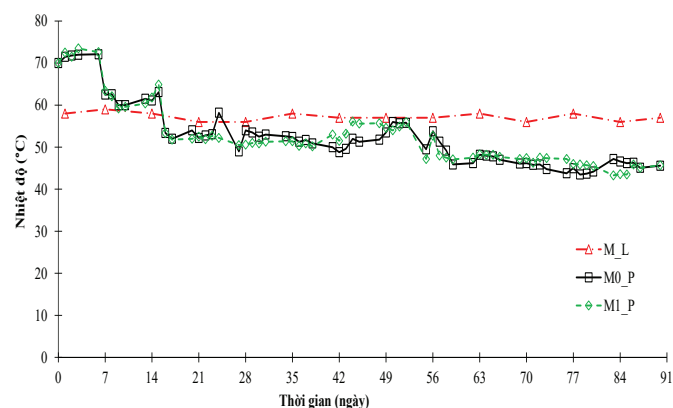
Hai pic 3295 và 2957 cm^{-1} lần lượt đặc trưng cho dao động giãn của liên kết -OH và dao động giãn của liên kết CH. Ngoài ra, pic 1409 cm^{-1} tương ứng với dao động cắt đối xứng của nhóm CH_2 . Các pic và dải hấp thụ này đặc trưng cho các liên kết của phân tử

trung hợp. Theo đó, có thể dự đoán ngoài PBAT thì có thể có cả tinh bột trong mẫu màng thử nghiệm [14]. Từ việc phân tích phổ FTIR có thể dự đoán mẫu màng thử nghiệm có thể chứa PBAT và tinh bột. Đây đều là các loại nhựa có khả năng phân hủy sinh học.

Tiếp theo, so sánh phổ FTIR của màng thử nghiệm sau quá trình phân rã ở cả hai quy mô có thể thấy các pic hấp thụ không có sự khác biệt đáng kể. Ngoài ra, kết quả hình 1 cũng cho thấy, màng trước và sau khi phân rã cũng có các pic tương tự nhau, điều này chứng tỏ cấu trúc hóa học của mẫu màng thử nghiệm không thay đổi sau quá trình phân rã [15].

3.2. Biến thiên nhiệt độ trong quá trình thử nghiệm

Trong quá trình ủ compost, nhiệt độ trong thùng ủ compost sẽ thay đổi do quá trình trao đổi chất của vi sinh vật, điều này sẽ ảnh hưởng đến tốc độ phân hủy của compost và các mẫu màng thử nghiệm. Do đó, sự thay đổi nhiệt độ trong các thùng ủ compost đã được ghi lại trong hình 2. Đối với thử nghiệm phân rã theo quy mô phòng thí nghiệm (M_L), nhiệt độ trong tủ ủ được duy trì ở mức $58 \pm 2^\circ\text{C}$. Kết quả hình 2 có thể thấy, nhiệt độ của tủ sấy biến thiên tương đối ổn định xung quanh giá trị cài đặt.

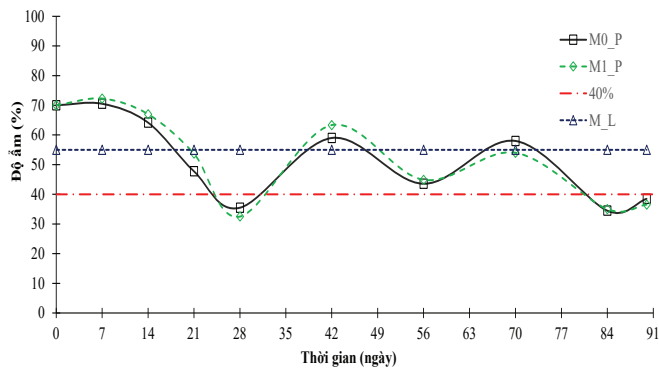


Hình 2. Biến thiên nhiệt độ trong quá trình ủ compost.

Ngược lại, thử nghiệm phân rã theo quy mô pilot chỉ định các yêu cầu hợp lệ đối với nhiệt độ như được nêu ở bảng 1. Do đó, nhiệt độ của tủ ủ phải được điều khiển trong quá trình thử nghiệm. Quan sát trên hình 2 có thể thấy, nhiệt độ cao nhất của thùng mẫu trắng tăng lên 72°C và sau đó giảm xuống khoảng 61°C sau 14 ngày. Trong khi đối với thùng mẫu thử, nhiệt độ đạt $73,5^\circ\text{C}$ sau 3 ngày, sau đó giảm xuống còn khoảng 63°C sau 7 ngày. Khoảng thời gian sau đó nhiệt độ ở cả 2 thùng mẫu trắng và mẫu thử nghiệm đều được duy trì trên 40°C [15]. Như vậy, nhiệt độ trong quá trình ủ ở quy mô pilot là đảm bảo hợp lệ theo tiêu chuẩn TCVN 12408:2020.

3.3. Biến thiên độ ẩm trong quá trình thử nghiệm

Độ ẩm là một thông số quan trọng trong quá trình ủ compost vì vi sinh vật cần độ ẩm thích hợp để tồn tại. Độ ẩm ảnh hưởng đến sự xâm nhập của không khí, chất dinh dưỡng, sự hấp thụ oxy, và nhiệt độ. Biến thiên độ ẩm của compost trong các thùng ủ trong quá trình thử nghiệm được thể hiện ở hình 3.



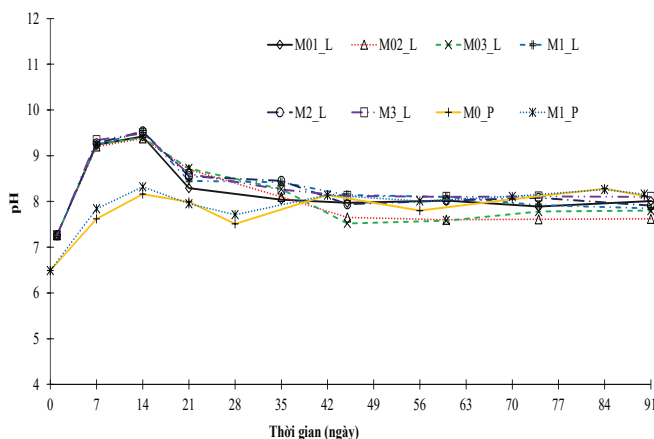
Hình 3. Biến thiên độ ẩm trong quá trình ủ compost.

Đối với thử nghiệm quy mô phòng thí nghiệm, độ ẩm trong các thùng ủ được duy trì $\geq 55\%$ bằng cách thêm một lượng nước đã mất đi tương ứng so với khối lượng compost ủ ban đầu theo từng giai đoạn của quá trình ủ như được nêu trong bảng 1. Nhìn chung, độ ẩm trong quá trình ủ compost được duy trì ở điều kiện ủ tối ưu.

Đối với thử nghiệm ở quy mô pilot, độ ẩm giảm dần trong quá trình ủ ở cả thùng mẫu trắng và thùng mẫu thử. Do trong giai đoạn ủ compost, sự bốc hơi sẽ tự nhiên xảy ra do nhiệt độ tăng cao và thổi khí. Độ ẩm khi bắt đầu thử nghiệm trong các thùng ủ là 70% và thay đổi trong khoảng 32-72% trong quá trình ủ. Quan sát trên hình có thể thấy, sau chu kỳ khoảng 4 tuần (28, 56 và ngày 84) thì độ ẩm giảm xuống dưới 40%. Do đó, khi độ ẩm $< 40\%$ thì nước được thêm vào các thùng ủ để đạt được độ ẩm 70% nhằm đảm bảo quy trình ủ diễn ra thuận lợi.

3.4. Biến thiên pH trong quá trình thử nghiệm

Kết quả hình 4 cho thấy, giá trị pH của compost trong quá trình thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm (7,26) là cao hơn ở quy mô pilot (6,49) do thành phần nguyên liệu đầu vào của compost nên là khác nhau.



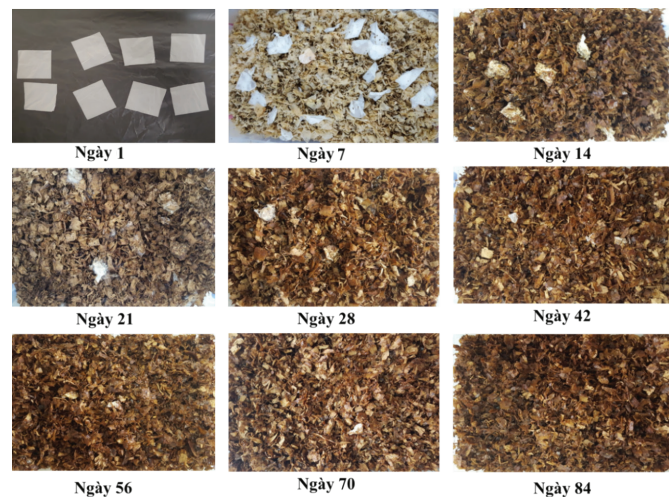
Hình 4. Biến thiên pH trong quá trình ủ compost.

Quan sát trên hình 4 có thể thấy, trong các thùng ủ ở quy mô phòng thí nghiệm, giá trị pH tăng dần trong tất cả các thùng ủ compost và đạt cao nhất sau 14 ngày với pH~9,5. Do khi bắt đầu quá trình ủ, giá trị pH giảm đi do hình thành các axit hữu cơ, nhưng sau đó pH tăng lên vì các axit hữu cơ chuyển hóa thành CH_4 , CO_2 . Việc tạo ra amoniac từ sự phân hủy các chất hữu cơ chứa nitơ làm tăng pH trong giai đoạn phân hủy nhiệt độ cao. NH_4^+ và HCO_3^- , các sản phẩm phân hủy khác hoạt động như chất đệm duy trì độ pH cao trong suốt quá trình ủ phân [16]. Khi quá trình ủ compost gần ổn định, pH của compost cuối dao động trong khoảng 7,5-8,5.

Ngược lại, ở quy mô pilot, giá trị pH tăng theo thời gian phân hủy. Giá trị pH cao nhất là 8,32 và thấp nhất là 6,49, tuy nhiên pH ổn định sau khoảng 42 ngày. So sánh giá trị pH trong quá trình thử nghiệm với các yêu cầu của tiêu chuẩn TCVN 12408:2020, có thể kết luận kết quả thử nghiệm là hợp lệ (pH tăng đến giá trị lớn hơn 7 trong quá trình thử và không giảm xuống dưới 5) [5].

3.5. Ngoại quan trong quá trình thử nghiệm

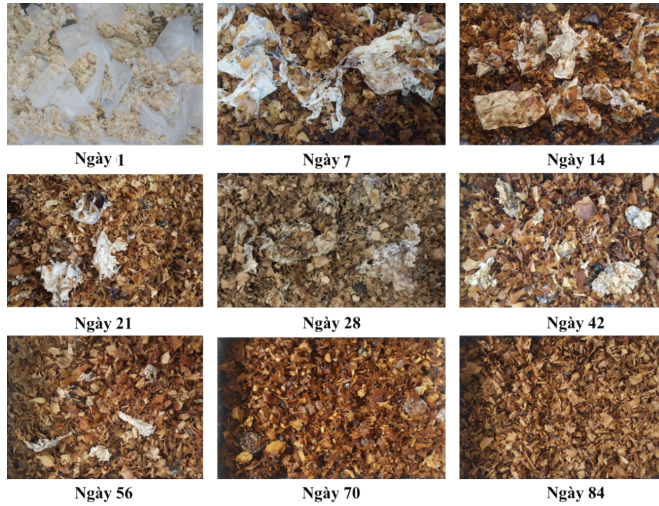
Ngoại quan của mẫu màng thử và compost nền được quan sát và ghi lại trong suốt quá trình thử nghiệm. Hình 5 thể hiện diễn biến quá trình phân rã của mẫu màng thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm trong khoảng thời gian 84 ngày.



Hình 5. Ngoại quan của compost và mẫu thử nghiệm trong quá trình thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm.

Về mùi, trong 2-3 ngày đầu compost có mùi chua và sau đó chuyển sang mùi khai trong vòng 5-10 ngày tiếp theo. Sau khoảng 14 ngày, compost có mùi gần giống mùi đất. Về ngoại quan, compost ban đầu có màu vàng nhạt do có nhiều mùn cưa sau khoảng 14 ngày thì chuyển dần sang màu nâu. Đối với mẫu màng thử nghiệm, trong tuần đầu tiên có các sợi nấm phát triển trên bề mặt màng và màng cũng có màu sẫm hơn. Quá trình phân rã xảy ra nhanh trong khoảng 30 ngày đầu tiên và diễn ra chậm hơn sau đó. Sau khoảng 70 ngày chỉ còn một vài mảnh nhỏ của màng thử nghiệm và không thể phân biệt được mẫu màng và compost vào ngày 84.

Hình 6 thể hiện diễn biến quá trình phân rã của mẫu màng thử nghiệm ở quy mô pilot, sau khoảng thời gian 7 ngày mẫu màng bắt đầu bị mủn ra và có màu sậm hơn. Tiếp đó, sau 14 ngày mẫu màng bắt đầu vỡ ra thành các mảnh nhỏ hơn. Quá trình phân rã diễn ra gần như hoàn toàn sau khoảng 2 tháng. Ngày 70, gần như không thể phân biệt được mẫu màng thử nghiệm và compost nền.



Hình 6. Ngoại quan của compost và mẫu thử nghiệm trong quá trình thử nghiệm ở quy mô pilot.

Từ diễn biến quá trình phân rã được mô tả ở trên có thể thấy, tốc độ phân rã của màng thử nghiệm ở quy mô pilot nhanh hơn so với quy mô phòng thí nghiệm do trong quá trình ủ compost, các điều kiện nhiệt độ, độ ẩm ở cả hai quy mô là khác nhau nên sẽ ảnh hưởng đến tốc độ phân hủy của mẫu [15, 17].

3.6. Mức độ phân rã và chất lượng compost sau quá trình thử nghiệm

Mức độ phân rã đối với quy mô phòng thí nghiệm và quy mô pilot lần lượt là 98,3 và 99,3% (bảng 2). Mức độ phân rã của mẫu màng thử nghiệm ở cả hai quy mô đều đạt >90%, điều này có nghĩa là đạt yêu cầu về độ phân rã theo tiêu chuẩn TCVN 13114:2020 [4].

Bảng 2. Mức độ phân rã của mẫu màng thử nghiệm.

Thông số	Quy mô phòng thí nghiệm			Quy mô pilot
	M1_L	M2_L	M3_L	M1_P
Khối lượng mẫu màng thử ban đầu (g)	20,009	20,001	20,000	85,000
Khối lượng mẫu màng thử còn lại sau sàng (g)	0,392	0,140	0,470	0,639
Mức độ phân rã (%)	98,04	99,30	97,65	99,25
Trung bình (%)	98,33			99,25

Ngoài ra, để xác định chất lượng của quá trình ủ phân, một số thông số của compost được xác định như hàm lượng chất rắn bay hơi, tỷ lệ C/N, độ giảm nồng độ chất rắn bay hơi và độ chín của compost như thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Thông số chất lượng của compost sau quá trình thử nghiệm.

Thông số	Quy mô phòng thí nghiệm							Quy mô pilot	
	Trước thử nghiệm	Sau thử nghiệm						Trước thử nghiệm	Sau thử nghiệm
		M01_L	M02_L	M03_L	M1_L	M2_L	M3_L	M0_P	M1_P
Hàm lượng C	35,18	31,42	32,65	33,24	32,57	32,02	33,64	31,89	29,58
Hàm lượng N	1,75	2,30	2,66	2,80	2,37	2,68	2,78	1,25	1,63
Tỷ lệ C/N	20,09	13,67	12,28	11,89	13,74	11,93	12,12	25,45	18,18
Chất rắn khô tổng số (%)	45,27	33,83	33,72	34,14	32,70	31,55	31,73	30,0	61,50
Hàm lượng chất rắn bay hơi (%)	94,60	83,02	82,81	83,43	79,88	79,93	80,15	92,73	82,59
Độ giảm nồng độ chất rắn bay hơi (%)	-	60,36	60,53	59,84	63,91	65,61	64,90	-	-
Độ chín của compost (Rottegrad)	-	-	-	-	-	-	-	-	V
pH	7,26	8,01	7,62	7,8	7,85	7,91	8,1	6,49	8,12

Hàm lượng chất rắn bay hơi của compost nền trước thử nghiệm đối với quy mô phòng thí nghiệm và quy mô pilot lần lượt là 94,6 và 92,73%. Có thể thấy, hàm lượng chất hữu cơ của compost nền tương đối cao điều này tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình ủ phân. Sau quá trình thử nghiệm, hàm lượng chất rắn bay hơi của compost cuối thấp hơn một chút so với trước thử nghiệm trong khoảng 80-83%, chứng tỏ một phần chất hữu cơ đã được chuyển hóa thành CO₂. Điều này cũng có thể xác nhận thông qua giá trị C/N của compost cuối giảm đi so với giá trị ban đầu đối với cả hai quy mô.

Độ giảm nồng độ chất rắn bay hơi trong thử nghiệm quy mô phòng thí nghiệm của tất cả các thùng ủ >30%. Kết quả thử nghiệm được xem là hợp lệ [6].

Độ chín của compost trong thử nghiệm quy mô pilot được xác định sử dụng thang đo Rottegrad. Compost trong thùng mẫu trắng và thùng mẫu thử đều có mức Rottegrad là V (T_{max} ≤30°C sau 2-5 ngày), điều này có nghĩa là compost đã chín và quá trình ủ compost đã ổn định.

4. Kết luận

Khả năng phân rã của bao bì thân thiện môi trường trong điều kiện ủ compost công nghiệp có kiểm soát đã được nghiên cứu và so sánh theo tiêu chuẩn TCVN 12409:2020 và TCVN 12408:2020. Diễn biến của các thông số nhiệt độ, độ ẩm, pH và ngoại quan trong quá trình ủ compost đã được so sánh đối với hai quy mô. Kết quả cho thấy, mức độ phân rã của bao bì thân thiện môi trường ở cả hai quy mô thử nghiệm đều đạt yêu cầu trên 90%. Nhìn chung, hai quy mô thử nghiệm này cho kết quả mức độ phân rã là tương đương nhau.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài cấp Bộ Khoa học và Công nghệ: “Nghiên cứu xây dựng quy trình thử nghiệm đánh giá khả năng phân hủy sinh học của vật liệu chất dẻo đang được sản xuất và tiêu thụ tại Việt Nam phù hợp với các tổ chức chứng nhận quốc tế” do Trung tâm Công nghệ Vật liệu chủ trì thực hiện. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.K. Linh (2020), “Biodegradable plastic and development potential in Vietnam”, *Vietnam Journal of Science and Technology*, **10(62)**, pp.19-20.
- [2] A. Folino, A. Karageorgiou, P.S. Calabro, et al. (2020), “Biodegradation of wasted bioplastics in natural and industrial environments: A review”, *Sustainability*, **12(15)**, DOI: 10.3390/su12156030.
- [3] F. Ruggero, R. Gori, C. Lubello (2019), “Methodologies to assess biodegradation of bioplastics during aerobic composting and anaerobic digestion: A review”, *Waste Management and Research*, **37(10)**, pp.959-975, DOI: 10.1177/0734242X19854127.
- [4] Ministry of Science and Technology (2020a), *TCVN 13114:2020: Plastics - Compostable Plastics - Technical Requirements and Test Methods* (in Vietnamese).
- [5] Ministry of Science and Technology (2020b), *TCVN 12408:2020: Plastics - Determination of The Degree of Disintegration of Plastic Materials Under Composting Conditions in a Pilot Test* (in Vietnamese).
- [6] Ministry of Science and Technology (2020c), *TCVN 12409:2020: Plastics - Determination of The Degree of Disintegration of Plastic Materials Under Simulated Composting Conditions in a Laboratory Test* (in Vietnamese).
- [7] Ministry of Science and Technology (2000a), *TCVN 6642:2020: Soil Quality - Determination of Organic Carbon and Total Carbon Content After Dry Combustion (Elemental Analysis)* (in Vietnamese).
- [8] R.B. Bradstreet (1965), *The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen*, Academic Press Inc., 241pp.
- [9] Ministry of Science and Technology (2000b), *TCVN 6648:2020: Soil Quality - Determination of Dry Matter and Water Content by Mass - Mass Method* (in Vietnamese).
- [10] Ministry of Science and Technology (2007), *TCVN 5979:2007: Soil Quality - Determination of pH* (in Vietnamese).
- [11] Federal Compost Quality Assurance Organization (1994), *Methods Book for The Analysis of Compost*, 94pp.
- [12] Y. Cai, J. Lv, J. Feng (2013), “Spectral characterization of four kinds of biodegradable plastics: Poly (lactic acid), poly (butylenes adipate-Co-terephthalate), poly (hydroxybutyrate-Co-hydroxyvalerate) and poly (butylenes succinate) with FTIR and raman spectroscopy”, *Journal of Polymers and Environment*, **21(1)**, pp.108-114, DOI: 10.1007/s10924-012-0534-2.
- [13] R. Muthuraj, M. Misra, A.K. Mohanty (2017), “Biodegradable biocomposites from poly(butylene adipate-co-terephthalate) and miscanthus: Preparation, compatibilization, and performance evaluation”, *Journal of Applied Polymer Science*, **134**, DOI: 10.1002/app.45448.
- [14] A.H.D. Abdullah, S. Chalimah, I. Primadona, et al. (2018), “Physical and chemical properties of corn, cassava, and potato starches”, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **160**, DOI: 10.1088/1755-1315/160/1/012003.
- [15] Y.X. Weng, Y. Wang, X.L. Wang, et al. (2010), “Biodegradation behavior of PHBV films in a pilot-scale composting condition”, *Polymer Testing*, **29(5)**, pp.579-587, DOI: 10.1016/j.polymertesting.2010.04.002.
- [16] C. Lin, N.K. Cheruiyot, X.T. Bui, et al. (2022), “Composting and its application in bioremediation of organic contaminants”, *Bioengineered*, **13(1)**, pp.1073-1089, DOI: 10.1080/21655979.2021.2017624.
- [17] P. Intaraksa, Y. Rudeekit, P. Siriyota, et al. (2013), “Comparative study of the bio-disintegration behavior of polylactic acid under laboratory and pilot-scale composting conditions”, *Advanced Materials Research*, **747**, pp.678-681, DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.747.678.

Nghiên cứu đề xuất giải pháp giảm mức tiếng ồn khi vận hành máy nén khí trong hệ thống xử lý nước thải

Đỗ Khắc Uẩn¹, Nguyễn Mạnh Cường¹, Nguyễn Văn Tuyên², Trần Hùng Thuận², Chu Xuân Quang^{2*}

¹Viện Khoa học và Công nghệ Môi trường, Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bách Khoa, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

²Trung tâm Công nghệ Vật liệu, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/7/2023; ngày chuyển phản biện 21/7/2023; ngày nhận phản biện 7/8/2023; ngày chấp nhận đăng 10/8/2023

Tóm tắt:

Hiện nay, phương pháp sinh học hiếu khí được sử dụng để xử lý nước thải khá phổ biến. Khi xử lý nước thải, không khí được cấp cưỡng bức bằng máy nén khí vào bể xử lý sinh học với công suất cao nên quá trình vận hành hệ thống thường xảy ra hiện tượng ô nhiễm tiếng ồn, ảnh hưởng đến sức khỏe của công nhân, cán bộ cũng như dân cư xung quanh. Do đó, nghiên cứu và thiết kế bộ phận che chắn để giảm tiếng ồn cho máy nén khí nhưng không ảnh hưởng đến hiệu quả hoạt động của thiết bị là cần thiết. Kết quả khảo sát trong nghiên cứu này cho thấy, sau 30 phút hoạt động liên tục thì nhiệt độ xung quanh máy nén khí tăng 2,5°C (từ 29,5 lên 32,0°C). Khi sử dụng một lớp xốp polyurethane (PU) dày 5 cm thì mức giảm tiếng ồn là 4,0 dBA; nếu thay thế bằng lớp bông khoáng dày 5 cm thì mức giảm tiếng ồn là 14,0 dBA. Khi kết hợp lớp xốp PU dày 5 cm bên ngoài và lớp bông khoáng dày 5 cm bên trong thì mức giảm tiếng ồn là 17,0 dBA; nếu sử dụng 2 lớp bông khoáng (mỗi lớp dày 5 cm) tạo thành khối đồng nhất thì mức giảm tiếng ồn giảm tới 24,0 dBA. Như vậy, sử dụng vật liệu xốp kết hợp bông khoáng cho phép giảm mức tiếng ồn phù hợp ngưỡng quy định của QCVN 26:2010/BTNMT (70 dBA).

Từ khóa: hộp giảm mức tiếng ồn, máy nén khí, nước thải, tiếng ồn, vật liệu phổ thông.

Chỉ số phân loại: 2.7

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, phương pháp sinh học hiếu khí được sử dụng phổ biến để xử lý nhiều loại nước thải. Đặc điểm chung của nhóm phương pháp này là không khí được cấp cưỡng bức bằng máy nén khí qua hệ thống đường ống đi vào trong bể xử lý sinh học [1]. Khi vận hành máy nén khí thì gây ra mức tiếng ồn lớn, có thể trên 90 dBA. Tiếng ồn của máy nén khí khi hoạt động gây ảnh hưởng đến cán bộ, công nhân và người dân xung quanh. Trên thế giới, đã có công trình nghiên cứu về khả năng giảm mức tiếng ồn khi sử dụng những vật liệu xốp cuộn, cao su non, bông thủy tinh [2, 3]... Ảnh hưởng của nhiệt độ đến mức giảm năng lượng âm thanh của nguồn âm nhân tạo khi sử dụng tấm đục lỗ cũng đã được nghiên cứu [4] và ứng dụng sản xuất hộp giảm tiếng ồn cho máy phát điện [5]. Nhìn chung, việc cách âm, tiêu âm cho các thiết bị phát sinh tiếng ồn thường dựa vào nguyên lý hấp thụ năng lượng sóng âm và phản xạ năng lượng sóng âm của vật liệu [6]. Trong thực tế, để giảm năng lượng sóng âm trên đường truyền có thể sử dụng màn chắn, hộp giảm tiếng ồn hoặc sử dụng lò xo giảm chấn khi thiết bị có độ rung lớn [7-9]. Đối với các thiết bị gây ồn trong các phòng kín có nhiều người thường xuyên ra vào làm việc thì sử dụng hộp giảm tiếng ồn đồng nhất để giảm tiếng ồn sẽ phù hợp hơn so với việc sử dụng màn chắn đơn lẻ.

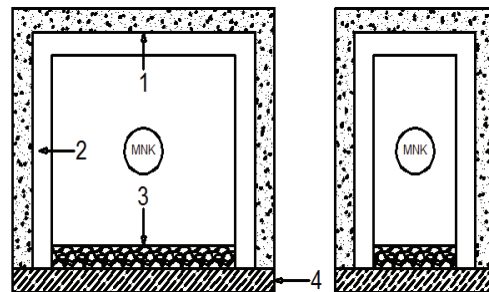
Việc nghiên cứu và thiết kế bộ phận che chắn giảm tiếng ồn cho máy nén khí vẫn chưa thực sự được quan tâm ở Việt Nam. Vì vậy, việc nghiên cứu bộ phận che chắn giảm tiếng ồn cho thiết bị này là rất cần thiết để đảm bảo hoạt động của máy nén khí không gây ảnh hưởng đến con người. Nghiên cứu này tiến hành kiểm chứng mức độ ô nhiễm tiếng ồn của máy nén khí thường dùng trong các trạm xử lý nước thải tại Việt Nam. Trên cơ sở đó, nghiên

cứ tiến hành đánh giá khả năng cách ồn của một số loại vật liệu và ảnh hưởng của kết cấu, cấu trúc bề mặt vật liệu tới hiệu quả cách ồn để lựa chọn được phương pháp giảm tiếng ồn hiệu quả cho quá trình vận hành máy nén khí.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Quá trình thí nghiệm

Nghiên cứu sử dụng máy nén khí loại XINGBAO 0,375 kW (Trung Quốc). Máy nén khí được đặt trong hộp thí nghiệm. Để giảm rung cho máy nén khí thì người thực hiện sử dụng xốp mềm đặt bên dưới để thiết bị (hình 1). Hộp giảm tiếng ồn được thiết kế thành khối đồng nhất, đảm bảo kín. Các khối xốp được lắp ráp bằng thanh gỗ nhỏ, dùng băng dính rộng 5 cm để bít kín. Đối với kết cấu nhiều lớp thì các lớp vật liệu sẽ được ép chặt với nhau bằng sợi dây nối có thanh ngang. Các tấm bên ngoài được lắp ráp bằng thanh gỗ nhỏ và dùng băng dính bít kín.



Hình 1. Mô hình lắp đặt hộp giảm tiếng ồn. 1: lớp vật liệu; 2: khoảng không khí; 3: lớp xốp chống rung; 4: nền gạch; MNK: máy nén khí.

*Tác giả liên hệ: Email: cxquang@most.gov.vn

Research on proposing solutions to reduce noise for the operation of air compressors in wastewater treatment system

Khac Uan Do¹, Manh Cuong Nguyen¹, Van Tuyen Nguyen²,
Hung Thuan Tran², Xuan Quang Chu^{2*}

¹School of Environmental Science and Technology, Hanoi University of Science and Technology,
1 Dai Co Viet Street, Bach Khoa Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

²Center for Advanced Materials and Environmental Technology, National Center for
Technological Progress, C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 18 July 2023; revised 7 August 2023; accepted 10 August 2023

Abstract:

Currently, aerobic biological methods are widely used for wastewater treatment. During the wastewater treatment process, air is forced by an air compressor into the biological treatment tank with high capacity, so, noise pollution often occurs during the system operation. This is affecting the health environment for workers, staff, and the surrounding population. Therefore, it is necessary to investigate and design a cover to reduce noise for the air compressor but not affect the operating efficiency of the device. The results in this study showed that after 30 minutes of continuous operation, the temperature around the air compressor increased by 2.5°C (from 29.5 to 32.0°C). The noise reduction is 4.0 dBA in case a polyurethane foam layer of 5 cm is used, and the noise reduction is 14.0 dBA if it is replaced with a mineral wool layer of 5 cm. The noise reduction is 17.0 dBA when combining the outer with a 5 cm polyurethane foam layer and the inner with a 5 cm mineral wool layer. Further, the noise reduction is reduced up to 24.0 dBA in case two layers of mineral wool (5 cm thick each) are used to form a homogeneous mass. Thus, using porous materials combined with mineral wool allows to reduce the noise level in accordance with the requirements of the QCVN 26:2010/BTNMT regulation (70 dBA).

Keywords: air compressor, noise, noise reduction box, popular material, wastewater.

Classification number: 2.7

Để nghiên cứu ảnh hưởng của kết cấu, cấu trúc bề mặt đến mức giảm tiếng ồn thì sử dụng xốp mòng PU2 (xốp PU dày 2 cm, khối lượng riêng 25 kg/m³), xốp PU3 (xốp PU dày 3 cm, khối lượng riêng 9,5 kg/m³) và xốp spong. Quá trình khảo sát bao gồm: kiểm chứng ảnh hưởng của nhiệt độ, ảnh hưởng của cấu trúc vật liệu đến hiệu quả giảm tiếng ồn trong thực tế của các kết cấu và khảo sát sự thay đổi mức tiếng ồn sau khi giảm rung.

Nghiên cứu lắp đặt hộp giảm tiếng ồn sử dụng bông khoáng, xốp PU4 (khối lượng riêng 25 kg/m³) để kiểm chứng mức giảm tiếng ồn thực tế. Thay đổi độ dày theo 3 mức: 50, 100 và 150 mm đối với mỗi loại vật liệu. Theo dõi mức giảm tiếng ồn sau thay đổi

độ dày. Kết hợp sử dụng bông khoáng 40 và xốp PU, tăng độ dày tổng theo 3 mức (50, 100 và 150 mm) và theo dõi mức giảm tiếng ồn khi thay đổi độ dày.

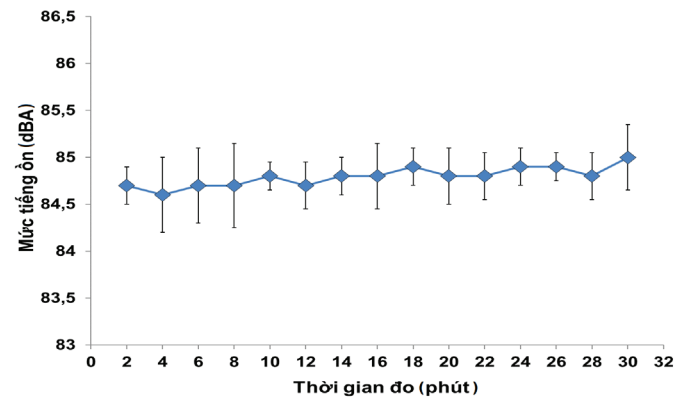
2.2. Đo mức tiếng ồn và phân tích dữ liệu

Thời gian thực hiện một chu trình hút - nén - xả liên tục của máy nén khí trong nghiên cứu này là 1,5-2 phút. Bật công tắc và để máy hoạt động ổn định khoảng 5 phút thì tiến hành đo nhiệt độ và mức tiếng ồn xung quanh với tần suất 2 phút/lần trong 30 phút. Ghi các thông số hiển thị vào phiếu kết quả. Phân tích mức tiếng ồn và xác định mức tiếng ồn lớn nhất mà máy nén khí có thể gây ra bằng thiết bị CENTER 320, Hãng CENTER, Đài Loan. Xác định mức giảm tiếng ồn cần thiết để đảm bảo QCVN 26:2010/BTNMT [10].

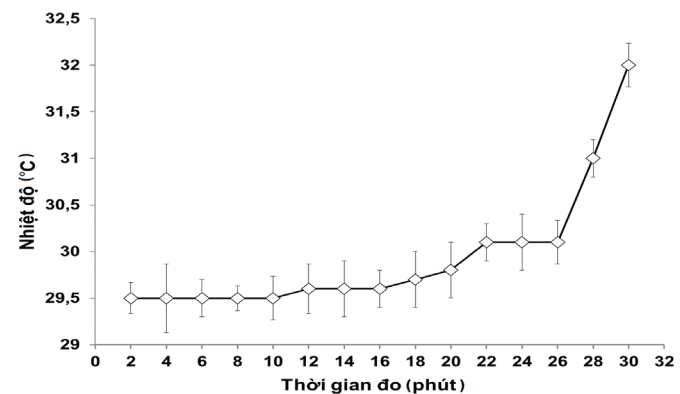
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mức tiếng ồn của máy nén khí

Tiếng ồn của máy nén khí hoạt động trước khi sử dụng hộp cách âm được thể hiện ở hình 2. Kết quả đo tiếng ồn trong 30 phút cho thấy, tiếng ồn dao động trong khoảng 84,5-85,1 dBA. Trong quá trình vận hành, lực hút của máy nén khí làm cho vận tốc không khí trước đầu lọc tăng đột ngột, ma sát giữa các chi tiết trong thiết bị, ma sát giữa không khí và các bề mặt làm cho nhiệt độ máy nén khí tăng lên [11, 12]. Trong 30 phút hoạt động liên tục thì nhiệt độ xung quanh sát máy nén khí tăng 2,5°C (hình 3). Vì vậy, để nhiệt độ máy nén khí không tăng quá cao làm giảm tuổi thọ thiết bị và gây ồn thì người sử dụng cần thay đổi phương thức vận hành, bảo dưỡng như giảm tần suất sử dụng bằng cách tăng thêm số lượng máy nén để thay phiên nhau hoạt động.



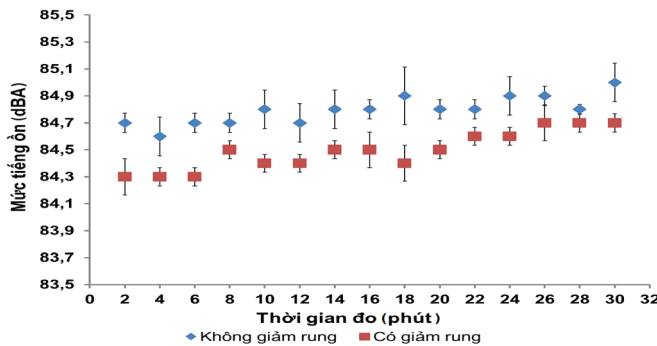
Hình 2. Biến thiên mức tiếng ồn máy nén khí khi hoạt động liên tục.



Hình 3. Nhiệt độ của máy nén khí khi hoạt động liên tục.

3.2. Ảnh hưởng của tấm đệm đến khả năng giảm tiếng ồn

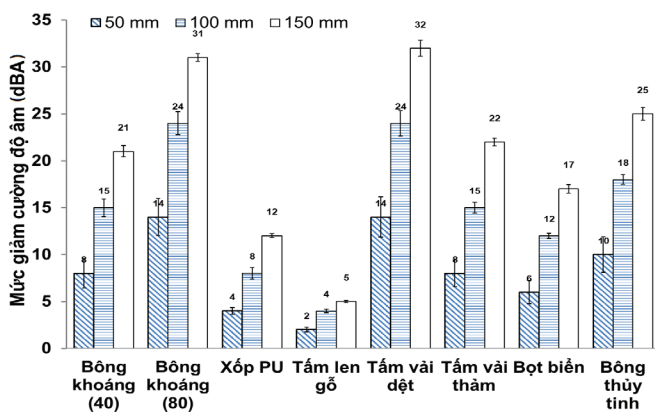
Rung động của máy nén khí sẽ gây nên va chạm giữa đế thiết bị và nền gạch, va chạm này sẽ tạo ra âm thanh và làm hao mòn đế, làm tăng mức tiếng ồn. Nghiên cứu theo dõi biến thiên mức tiếng ồn của máy nén khí trước và sau khi giảm rung. Khi sử dụng xốp lót mềm thì mức tiếng ồn máy nén khí giảm 0,1-0,4 dBA (hình 4). Vì vậy, chống rung cũng là một phương pháp giảm ồn, càng giảm rung tốt thì mức tiếng ồn của thiết bị càng thấp. Trong thực tế, có thể giảm rung bằng cách đặt bên dưới đế thiết bị một lớp xốp hoặc vật liệu mềm đủ dày để đế thiết bị không va chạm với sàn. Đối với các thiết bị có độ rung và khối lượng lớn thì có thể sử dụng lò xo giảm chấn.



Hình 4. Biến thiên mức tiếng ồn sau khi giảm rung cho máy nén khí.

3.3. Hiệu quả giảm tiếng ồn của các loại vật liệu

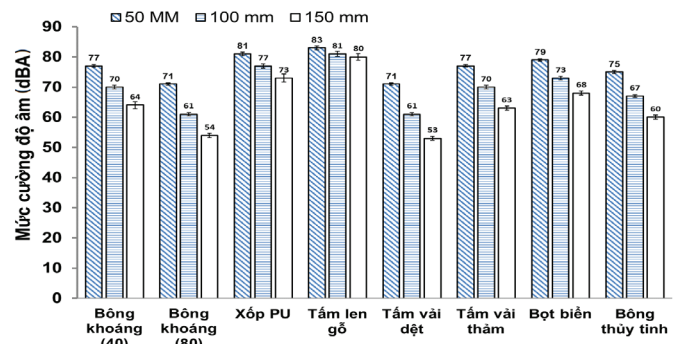
Khi tăng độ dày lớp vật liệu thì quãng đường sóng âm phải đi qua vật cản tăng, vận tốc sóng âm thay đổi và áp suất âm thanh trước, sau bề mặt vật liệu thay đổi [10]. Nếu áp suất âm thanh thấp hơn thì mức giảm tiếng ồn khi đi qua vật liệu giảm. Khi tăng độ dày theo 3 mức (50, 100 và 150 mm) thì mức giảm tiếng ồn không giảm tuyến tính mà thay đổi theo hình đường cong logarit (hình 5).



Hình 5. Mức giảm tiếng ồn của các loại vật liệu.

Mức tiếng ồn cao nhất máy nén khí trong nghiên cứu gây ra là 85 dBA và cần giảm 15 dBA để đảm bảo ngưỡng 70 dBA theo QCVN 26:2010/BTNMT. Kết quả mô hình cho thấy, sử dụng bông khoáng, bông thủy tinh hoặc tấm vải dệt là hiệu quả nhất (hình 6). Nếu độ dày vật liệu từ 100 mm trở lên thì hầu hết các loại vật liệu đều có khả năng giảm tiếng ồn đảm bảo quy chuẩn. Tuy nhiên, các

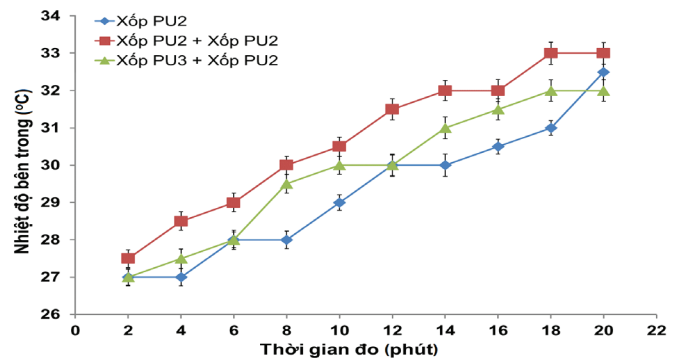
vật liệu như tấm vải dệt, tấm vải thảm, tấm len gỗ có giá thành cao và dạng mỏng nên để có độ dày mong muốn thì cần phải có biện pháp lắp ghép phức tạp, một số loại vật liệu khác như bông thủy tinh có khả năng gây độc... Trong khi đó, bông khoáng và xốp PU không mang những đặc điểm nêu trên. Chính vì vậy, nghiên cứu đã lựa chọn bông khoáng và xốp PU (dạng tấm và dạng sóng) để khảo sát các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 6. Mức tiếng ồn bên ngoài hộp giảm tiếng ồn.

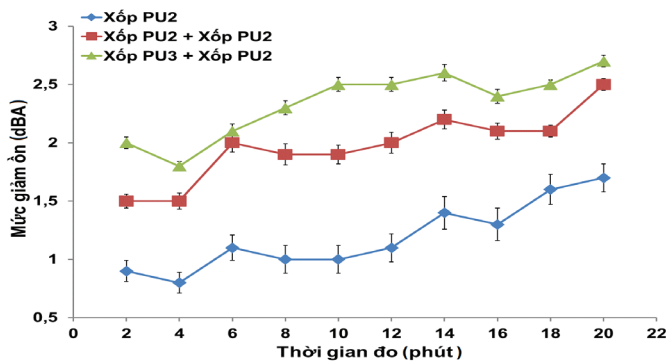
3.4. Ảnh hưởng của kết cấu, vật liệu đến nhiệt độ bên trong và mức giảm tiếng ồn

Khi sử dụng vật liệu là một lớp xốp PU2 (xốp PU dày 2 cm, khối lượng riêng 25 kg/m³) để giảm tiếng ồn thì nhiệt độ bên trong hộp nhỏ hơn so với việc sử dụng 2 lớp xốp PU2. Nếu thay thế một lớp xốp PU3 bên trong bằng một lớp xốp PU3 (xốp PU dày 3 cm, khối lượng riêng 9,5 kg/m³) thì nhiệt độ bên trong hộp nhỏ hơn (hình 7). Như vậy, khi sử dụng lớp vật liệu càng dày thì nhiệt độ bên trong hộp giảm tiếng ồn càng cao và khi sử dụng vật liệu càng xốp thì nhiệt độ bên trong hộp giảm tiếng ồn càng thấp.



Hình 7. Biến thiên nhiệt độ đối với từng dạng kết cấu.

Kết cấu hộp giảm tiếng ồn ảnh hưởng đến sự tăng nhiệt độ bên trong hộp giảm tiếng ồn. Nhiệt độ bên trong hộp là tổng tích lũy nhiệt lượng do biến đổi từ năng lượng sóng âm và nhiệt độ máy nén khí khuếch tán khi hoạt động. Giả thuyết, nhiệt độ máy nén khí tăng đồng đều và tương ứng trong mỗi điểm đo đối với từng dạng kết cấu. Nhiệt độ tích lũy do biến đổi năng lượng sóng âm càng thấp thì năng lượng sóng âm truyền qua kết cấu càng cao. Khi sử dụng 2 lớp vật liệu thì mức giảm tiếng ồn cao hơn so với 1 lớp nhưng không tăng tuyến tính. Kết cấu có độ xốp cao hơn thì năng lượng sóng âm truyền qua thấp hơn (hình 8).



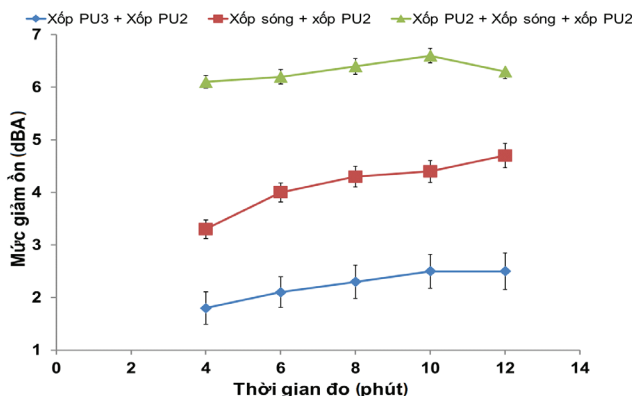
Hình 8. Ảnh hưởng của kết cấu đến mức giảm tiếng ồn.

Như vậy, độ dày càng lớn thì hiệu quả giảm tiếng ồn càng tốt nhưng hiệu quả tăng không tuyến tính theo độ dày [13, 14], khi sử dụng vật liệu nhiều lỗ xốp thì hiệu quả tiêu âm càng tốt nên trong nghiên cứu kết cấu cần tính toán đến tính kinh tế để công trình vừa có thể đảm bảo tính kỹ thuật, vừa có chi phí hợp lý.

3.5. Ảnh hưởng của cấu trúc bề mặt vật liệu đến mức giảm tiếng ồn

Khi năng lượng sóng âm tiếp xúc bề mặt vật liệu thì một phần năng lượng được phản xạ lại môi trường, một phần được hấp thụ và chuyển hóa thành nhiệt năng ở bên trong vật liệu và phần còn lại truyền qua lớp vật liệu, đây là phần năng lượng trực tiếp gây ra tiếng ồn. Khi tăng diện tích tiếp xúc của bề mặt năng lượng sóng âm với bề mặt kết cấu thì hiệu quả giảm năng lượng sóng âm cao hơn [15]. Khi góc tiếp xúc giữa sóng âm với bề mặt tăng thì xảy ra hiện tượng tán xạ âm làm cho thời gian tiếp xúc của các phân tử khí tăng và mức giảm năng lượng sóng âm phản xạ cao hơn so với góc tiếp xúc thấp.

Khi thay thế một lớp xốp phẳng bằng một lớp xốp sóng thì mức giảm tiếng ồn tăng lên 1,5 dBA (hình 9). Vì vậy, đối với những vật liệu xốp, có bề mặt dạng sóng hoặc xốp trùng thì có mức giảm tiếng ồn cao hơn so với các vật liệu xốp có bề mặt phẳng.



Hình 9. Ảnh hưởng của cấu trúc bề mặt vật liệu đến mức giảm tiếng ồn.

4. Kết luận

Kết quả khảo sát cho thấy, tiếng ồn của máy nén khí khi hoạt động đạt đến trên 85 dBA gây ảnh hưởng lớn đến người vận hành. Trong 30 phút hoạt động liên tục thì nhiệt độ xung quanh máy nén khí tăng lên. Nếu sử dụng vật liệu là tấm xốp PU dạng sóng thì mức

giảm tiếng ồn tăng 1,5 dBA so với tấm xốp PU dạng phẳng. Sử dụng vật liệu xốp, bông khoáng rất hiệu quả trong giảm mức tiếng ồn cho máy nén khí. Khi sử dụng kết hợp lớp xốp PU4 cố định bên ngoài và 2 lớp bông khoáng 40 ép chặt bên trong thì mức giảm tiếng ồn có thể đạt 15 dBA, đảm bảo QCVN 26:2010/BTNMT (70 dBA). Kết cấu này hoàn toàn có thể lắp đặt và ứng dụng trong thực tế. Dạng kết cấu và giá trị kiểm chứng trong nghiên cứu có thể được sử dụng làm giới hạn dưới để sản xuất hộp giảm tiếng ồn cho máy nén khí có mức tiếng ồn tương đương. Kết quả từ nghiên cứu này có thể cung cấp cơ sở để mở rộng nghiên cứu, sản xuất hộp giảm tiếng ồn cho các máy nén khí có công suất, mức tiếng ồn thấp hoặc cao hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.V. Nhan, N.T. Nga (2002), *Textbook of Wastewater Treatment Technology*, Science and Technics Publishing House, 332pp (in Vietnamese).
- [2] A. Patnaika, M. Mvubu, S. Muniyasamy, et al. (2015), "Thermal and sound insulation materials from waste wool and recycled polyester fibers and their biodegradation studies", *Energy and Buildings*, **92**(2015), pp.161-169, DOI: 10.1016/j.enbuild.2015.01.056.
- [3] A.K. Maria, C.J. James (2011), *Acoustic Absorption in Porous Materials*, Glenn Research Center, Cleveland, Ohio, 27pp.
- [4] L. Dong, L. Yadong (2010), "The effect of temperature gradient field inside sound absorbing materials and structures on their acoustical properties at normal incidence", *The 17th International Congress on Sound and Vibration*, International Institute of Acoustics and Vibration, pp.2155-2162.
- [5] R.O. Kuku, N.A. Raji, T. Bello (2012), "Development and performance evaluation of sound proof enclosure for portable generators", *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*, **4**(16), pp.2600-2603.
- [6] J.C. Trevor, D.A. Peter (2004), *Acoustic Absorbers and Diffusers: Theory, Design, and Application*, Spon Press, 428pp.
- [7] A.B. David, H.H. Colin (2009), *Engineering Noise Control: Theory and Practice*, London Press, 768pp, DOI: 10.1201/9781315273464.
- [8] L.V. Istvan, L.B. Leo (1992), *Noise and Vibration Control Engineering: Principles and Applications*, John Wiley & Sons, Inc., 966pp, DOI: 10.1002/9780470172568.
- [9] F.B. Randall (2001), *Industrial Noise Control and Acoustics*, Louisiana Tech University, USA, 556pp, DOI: 10.1201/9780203910085.
- [10] Ministry of Natural Resources and Environment (2010), *National technical regulation on noise - QCVN 26:2010/BTNMT* (in Vietnamese).
- [11] N. Bin (2004), *Processes and equipment in chemical and food technology*, Science and Engineering Publishing House, 262pp (in Vietnamese).
- [12] N.D. Y (2005), *Friction-wear-lubrication textbook*, Construction Publishing, 317pp (in Vietnamese).
- [13] P. Chetan, G. Ratnakar, A. Rajesh (2023), "Effect of air gap, thickness of polyurethane (PU) foam, and perforated panel on sound absorption coefficient for acoustic structures", *International Mechanical Engineering Congress and Exposition*, Columbus, Ohio, USA, 10pp, DOI: 10.1115/IMECE2022-96880.
- [14] W. Juan, Z. Chenxiao, Y. Deng, et al. (2022), "A review of research on the effect of temperature on the properties of polyurethane foams", *Polymers*, **14**(21), DOI: 10.3390/polym14214586.
- [15] X. Jiang, Z. Wang, Z. Yang, et al. (2018), "Preparation and sound absorption properties of barium titanate/nitrile butadiene rubber-polyurethane foam composites with stratified structure", *RSC Advances*, **8**(37), pp.20968-20975, DOI: 10.1039/C8RA03330G.

Tối ưu nhiệt độ sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng

Trần Hà, Mã Thị Bích Thảo*, Nguyễn Phương, Nguyễn Thị Hồng, Vũ Văn Liệu

Trung tâm Ươm tạo Công nghệ và Doanh nghiệp Khoa học Công nghệ, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 19/9/2022; ngày chuyển phản biện 22/9/2022; ngày nhận phản biện 14/10/2022; ngày chấp nhận đăng 18/10/2022

Tóm tắt:

Mục đích của nghiên cứu này là tối ưu nhiệt độ sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng (thực hiện trên hệ thống thiết bị sấy bơm nhiệt kết hợp vi sóng) sao cho thời gian sấy ngắn nhất và hàm lượng tinh dầu cao nhất. Nguyên liệu sử dụng cho nghiên cứu là quả hồi tươi thu hái tại huyện Văn Quán, tỉnh Lạng Sơn vào tháng 8/2021. Bằng thực nghiệm đã xác định được ảnh hưởng của nhiệt độ sấy ở các mức: 30, 35, 40, 45, 50 và 55°C đến thời gian sấy và hàm lượng tinh dầu trong quả hồi khô (độ ẩm quả hồi sau sấy $\leq 10\%$). Kết quả nghiên cứu đã xác định được nhiệt độ tối ưu sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng là $48,7 \pm 1^\circ\text{C}$, thời gian sấy 530 ± 5 phút, hàm lượng tinh dầu trong quả hồi khô đạt 9,9 ml/100 g. Các kết quả nghiên cứu thực nghiệm này đã cung cấp cơ sở khoa học về hàm lượng tinh dầu của quả hồi Lạng Sơn, các thông số kỹ thuật cho việc sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy ở nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng, giúp cho việc sản xuất, chế biến quả hồi ở quy mô công nghiệp, nâng cao giá trị hàng hóa, phục vụ xuất khẩu.

Từ khóa: quả hồi, thời gian, tinh dầu hồi, tối ưu nhiệt độ sấy, vi sóng.

Chỉ số phân loại: 2.11

Optimisation of the drying temperature of star anise by low-temperature drying technique combined with microwave

Ha Tran, Thi Bich Thao Ma*, Phuong Nguyen, Thi Hong Nguyen, Van Lieu Vu

Nacentech Technology and Business Incubator Center,
National Center for Technological Progress,
C6, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 19 September 2022; revised 14 October 2022; accepted 18 October 2022

Abstract:

The purpose of this study is to optimise the drying temperature of star anise fruit using the low-temperature drying technique combined with microwaves on a heat pump combined with microwave drying system so that the drying time is shortest and the essential oil is highest. The raw materials used for the research are fresh anise harvested in Van Quan district, Lang Son province in August 2021. Experimentally, the effects of drying temperatures at the levels: 30, 35, 40, 45, 50 and 55°C have been determined on drying time and essential oil content in dried anise fruit (moisture content of anise fruit after drying $\leq 10\%$). Research results have determined that the optimal temperature for drying anise fruits using the low-temperature drying technique combined with microwaves is $48,7 \pm 1^\circ\text{C}$, drying time is 530 ± 5 minutes, and the essential oil content in dried star anise fruits reaches 9.9 ml/100 g. These experimental research results have provided a scientific basis for the essential oil content of Lang Son star anise fruit, and technical parameters for drying star anise fruit using low-temperature drying techniques combined with microwaves, helping the production and processing of anise on an industrial scale, increasing the value of goods and serving export purposes.

Keywords: microwave, optimisation of the drying temperature, star anise, star anise essential oil, time.

Classification number: 2.11

1. Đặt vấn đề

Cây hồi có tên khoa học là *Illicium verum* Hook, tên gọi khác là đại hồi, đại hồi hương hoặc bát giác hồi hương. Quả của cây hồi là nguồn dược liệu quý trên thế giới, được sử dụng trong công nghiệp được phẩm và thực phẩm [1].

Ở Việt Nam, nói đến “hồi” là nói đến tỉnh Lạng Sơn, với diện tích trồng trên 33.000 ha, chiếm khoảng 71% tổng diện tích trồng cây hồi của cả nước. Quả hồi thu hoạch 2 vụ/năm, vụ chính từ tháng 7 tới tháng 9 và vụ sau là từ tháng 11 tới tháng 2 năm sau. Quả hồi tươi chứa hàm lượng nước từ 65 đến 85%, tinh dầu từ 3 đến 3,5%, tùy thuộc vào giống, điều kiện thổ nhưỡng, mùa vụ và thời điểm thu hoạch. Quả hồi khô là đặc sản của tỉnh Lạng Sơn. Trong quả hồi, thành phần quan trọng nhất là tinh dầu, có thành phần chủ yếu là trans - anethole chiếm 85 đến 90%, ngoài ra còn có hơn 20 hoạt chất khác là các terpen, terpineol, pinen, dipenten, limonen... [2]. Thực tế tại địa phương trồng hồi, quả hồi đem phơi, sấy chiếm khoảng 30% tổng sản lượng quả hồi thu hoạch, còn phần lớn quả hồi tươi được bán cho tư nhân, bị thương lái ép giá hoặc bán sang Trung Quốc, ảnh hưởng đến đời sống của người trồng hồi. Hiện nay, sản xuất quả hồi khô ở Lạng Sơn theo phương pháp thủ công, chủ yếu là đem phơi, dẫn tới chất lượng quả hồi khô có màu sắc không đồng đều, lẫn nhiều tạp chất, nấm mốc... ảnh hưởng đến việc bảo quản, làm giảm giá trị của quả hồi. Một số doanh nghiệp đã đầu tư lò sấy thủ công hoặc thiết bị sấy sử dụng năng lượng mặt trời..., tuy nhiên ở quy mô nhỏ và chất lượng quả hồi không ổn định nên chưa đáp ứng yêu cầu cho xuất khẩu.

Trên thế giới, hệ thống sấy bơm nhiệt (sấy lạnh) kết hợp vi sóng đã được ứng dụng rất hiệu quả cho ngành dược và chế biến thực phẩm [3]. Hiện nay, ở Việt Nam có nhiều công trình nghiên cứu ứng dụng sấy bơm nhiệt kết hợp vi sóng cho ngành chế biến thực phẩm như: cá, cà rốt, hành lá... đã thu được kết quả tốt, ngoài việc giảm được thời gian sấy còn nâng cao năng suất, chất lượng cho sản phẩm sấy [4]. Việc ứng dụng thiết bị sấy bơm nhiệt, kết hợp vi sóng để

*Tác giả liên hệ: Email: bichthaoacnsh@gmail.com

sấy quả hồi có ý nghĩa thực tế, do quả hồi chứa nhiều tinh dầu nên dễ bay hơi ở nhiệt độ cao và quả hồi hay bị biến đổi màu sắc trong quá trình sấy. Việc nghiên cứu xác định nhiệt độ sấy tối ưu là cần thiết nhằm đảm bảo màu sắc và giữ được lượng tinh dầu trong quả hồi tồn thất ít nhất, điều này có ý nghĩa quan trọng cho sản xuất quả hồi khô xuất khẩu [5].

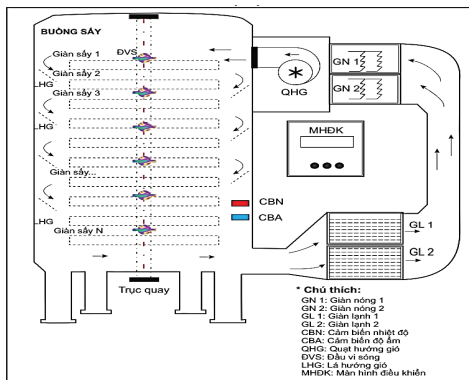
Mục đích của nghiên cứu này là tối ưu nhiệt độ sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng (thực nghiệm thực hiện trên hệ thống thiết bị sấy bơm nhiệt kết hợp vi sóng) đạt hàm mục tiêu: thời gian sấy ngắn nhất và hàm lượng tinh dầu cao nhất.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Sử dụng quả hồi tươi trồng tại huyện Văn Quán, tỉnh Lạng Sơn, được thu hái vào tháng 8/2021. Quả hồi tươi sau thu hái được đóng túi PE, bảo quản trong thùng carton và vận chuyển về nơi thí nghiệm, thời gian từ khi thu hái đến khi đưa vào thí nghiệm không quá 48 giờ.

Thiết bị sử dụng cho thí nghiệm là hệ thống hệ thống sấy bơm nhiệt kết hợp vi sóng dạng pilot, công suất 50 kg/m², khoảng điều chỉnh nhiệt độ 30-55°C, bộ vi sóng gồm 6 đầu công suất 1.000 W/đầu phát (hình 1).



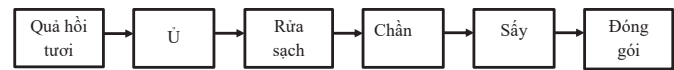
Hình 1. Hệ thống sấy bơm nhiệt kết hợp sử dụng vi sóng.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Công nghệ chế biến quả hồi khô được trình bày theo sơ đồ hình 2. Quả hồi tươi đem ủ thời gian 72 giờ, sau đó được rửa sạch và chần ở nhiệt độ 70°C với thời gian 3 phút, để ráo nước và đưa vào buồng sấy đặt trên các giàn có gắn trục quay để vi sóng phát huy tác dụng và nhiệt độ sấy được phân bố đều trên quả hồi. Mỗi thí nghiệm được tiến hành với 20 kg hồi tươi, nhiệt độ sấy khảo sát ở các mức: 30, 35, 40, 45, 50 và 55°C; sấy cho đến khi độ ẩm quả hồi ≤10%. Xác định thời gian sấy và hàm lượng tinh dầu trong quả hồi.

2.3. Phương pháp xác định độ ẩm của quả hồi

Xác định độ ẩm của quả hồi theo phương pháp dùng dung môi (Dược điển Việt Nam IV, phụ lục 12, 13, trang PL-240) [6].



Hình 2. Sơ đồ công nghệ chế biến quả hồi.

Độ ẩm X (%) của quả hồi được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{m_1 - m_2}{p} \times 100$$

trong đó: m_1 là khối lượng nước cất được sau lần cất 1 (g); m_2 là khối lượng nước cất được sau lần cất 2 (g); p là khối lượng mẫu (g).

2.4. Phương pháp xác định hàm lượng tinh dầu trong quả hồi

Xác định hàm lượng tinh dầu trong quả hồi bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn theo hơi nước trực tiếp (Dược điển Việt Nam III, phụ lục 9, trang PL-141) [7].

Hàm lượng tinh dầu hồi Y (ml/100 g) được tính theo công thức sau:

$$Y = \frac{m_{co}}{m(1-\chi)} \times 100$$

trong đó: m_{co} là lượng tinh dầu hồi thu được (ml); m là khối lượng quả hồi (g); χ là độ ẩm quả hồi (%).

2.5. Phương pháp toán học

Phương pháp phân tích hồi quy xây dựng mô hình thực nghiệm xác định ảnh hưởng nhiệt độ sấy ở các mức: 30, 35, 40, 45, 50, 55°C (đến khi độ ẩm quả hồi ≤10%) tới thời gian sấy và hàm lượng tinh dầu.

Yếu tố ảnh hưởng: A (nhân tố biến ký hiệu A) nhiệt độ sấy.

Hàm mục tiêu: Y_1 : thời gian sấy (phút) đạt min và Y_2 : hàm lượng tinh dầu (ml/100 g) đạt max.

Tối ưu hóa nhiệt độ sấy từ mô hình thực nghiệm đã được mã hóa sử dụng phần mềm Design-Expert 7.1 [8, 9].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Xây dựng mô hình thực nghiệm

Kết quả thực nghiệm quá trình sấy quả hồi theo mô hình thực nghiệm với một số yếu tố được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Nhân tố và các mức độ bố trí theo mô hình thực nghiệm.

Mẫu	A: nhiệt độ sấy (°C)	Y_1 : thời gian sấy (phút)	Y_2 : hàm lượng tinh dầu (ml/100 g)
1	30	816	11,9
2	35	751	11,2
3	40	659	10,8
4	45	558	10,3
5	50	525	9,9
6	55	500	9,0

3.2. Xây dựng phương trình hồi quy thực nghiệm thời gian sấy

Kết quả phân tích hồi quy của phương trình thời gian sấy được trình bày ở bảng 2. Theo đó, phương trình hồi quy tuyến tính được lựa chọn có giá trị $f=89,61$ ($p\text{-value}=0,0007$) cho biết mô hình tuyến tính hoàn toàn phù hợp với thực nghiệm. Thêm vào đó, giá trị hệ số xác định R^2 và $R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$ lần lượt bằng 0,9573 và 0,9466 cho thấy phương trình hồi quy tuyến tính đơn biến hoàn toàn tương thích, cho phép biểu diễn 95% sự phụ thuộc của thời gian sấy vào nhiệt độ sấy.

Bảng 2. Phân tích hồi quy của phương trình thời gian sấy.

Nguồn gốc	Tổng bình phương	Bậc tự do	Phương sai	f-value	p-value (prob>f)
Mô hình	79498,3	1	79498,3	89,61	0,0007
A - nhiệt độ sấy	79498,3	1	79498,3	89,61	0,0007
Phần dư	3548,53	4	887,13		
Tổng	83046,83	5			
R^2	0,9573				
$R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$	0,9466				

Giá trị các hệ số hồi quy của phương trình thời gian sấy và khoảng tin cậy 95% được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hệ số hồi quy của phương trình thời gian sấy.

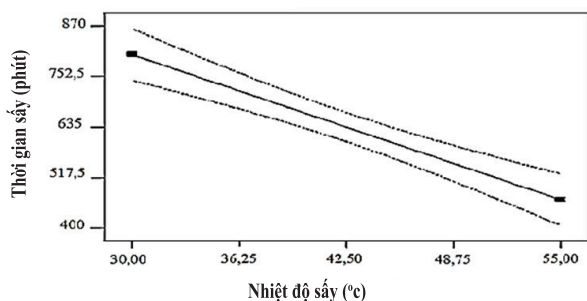
Thông số	Giá trị	df	Sai số chuẩn	Khoảng tin cậy 95%		VIF
				Cận dưới	Cận trên	
Hệ số chặn	634,83	1	12,16	601,07	668,59	
A - nhiệt độ sấy	-168,5	1	17,8	-217,92	-119,08	1

Ta có:

Phương trình hồi quy biến mã hóa: $Y_1=634,83-168,5x_A$.

Phương trình hồi quy biến thực: $Y_1=1207,73333-13,48x_{\text{Nhiệt độ sấy}}$.

Mối quan hệ tuyến tính giữa thời gian sấy và nhiệt độ sấy được biểu diễn ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến thời gian sấy.

3.3. Xây dựng phương trình hồi quy thực nghiệm hàm lượng tinh dầu

Kết quả phân tích hồi quy của phương trình hàm lượng tinh dầu được trình bày ở bảng 4. Theo đó, phương trình hồi quy tuyến tính được lựa chọn có giá trị $f=239,2$ ($p\text{-value}=0,0001$) cho biết

mô hình tuyến tính hoàn toàn phù hợp với thực nghiệm. Thêm vào đó, giá trị hệ số xác định R^2 và $R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$ lần lượt bằng 0,9836 và 0,9794 cho thấy phương trình hồi quy tuyến tính đơn biến hoàn toàn tương thích, cho phép biểu diễn 98% sự phụ thuộc của hàm lượng tinh dầu vào nhiệt độ sấy.

Bảng 4. Phân tích hồi quy của phương trình hàm lượng tinh dầu.

Nguồn gốc	Tổng bình phương	Bậc tự do	Phương sai	f	p-value (prob>f)
Phương trình	5,1	1	5,1	239,2	0,0001
A - nhiệt độ sấy	5,1	1	5,1	239,2	0,0001
Phần dư	0,085	4	0,021		
Tổng	5,19	5			
R^2	0,9836				
$R^2_{\text{hiệu chỉnh}}$	0,9794				

Giá trị các hệ số hồi quy của phương trình hàm lượng tinh dầu và khoảng tin cậy 95% được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Hệ số hồi quy của phương trình hàm lượng tinh dầu.

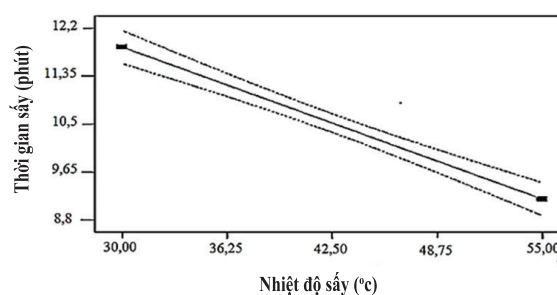
Thông số	Giá trị	df	Sai số chuẩn	Khoảng tin cậy 95%		VIF
				Cận dưới	Cận trên	
Hệ số chặn	10,52	1	0,06	10,35	10,68	
A - nhiệt độ sấy	-1,35	1	0,087	-1,59	-1,11	1

Ta có:

Phương trình hồi quy biến mã hóa: $Y_2=10,52-1,35x_A$.

Phương trình hồi quy biến thực: $Y_2=15,10667-0,108x_{\text{Nhiệt độ sấy}}$.

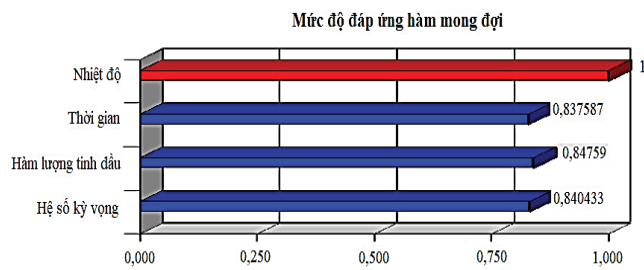
Mối quan hệ tuyến tính giữa hàm lượng tinh dầu và nhiệt độ sấy được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ sấy đến hàm lượng tinh dầu.

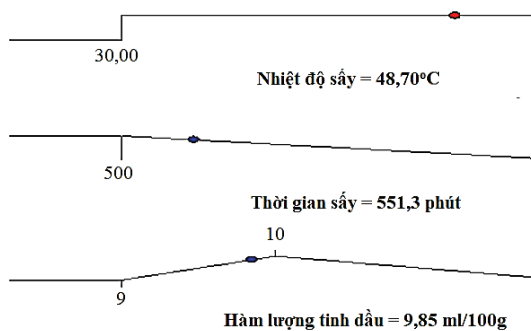
3.4. Tối ưu hóa nhiệt độ sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng

Quá trình sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng được tiến hành sao cho thời gian sấy nhỏ nhất và hàm lượng tinh dầu trong quả lớn nhất. Tiến hành giải bài toán tối ưu bằng cách chấp mục tiêu theo thuật toán “Hàm mong đợi” được đưa ra bởi G. Derringer và cs (1980) [9]. Kết quả tối ưu hóa sử dụng phần mềm Design-Expert 7.1 được trình bày ở hình 5 và 6.



Hình 5. Mức độ đáp ứng sự mong đợi của nhiệt độ sấy và các hàm mục tiêu.

Hình 5 cho thấy, khi yếu tố nhiệt độ sấy đáp ứng 100% thì khả năng đạt được hàm mục tiêu: thời gian sấy đạt 83,76%, hàm lượng tinh dầu đạt 84,76% so với mong muốn. Hàm mong đợi chung đạt được 84% là khá cao, như vậy đã đạt được mục tiêu đặt ra.



Hình 6. Kết quả tối ưu hóa của phương trình.

Hình 6 cho thấy, quá trình sấy quả hồi được tiến hành ở nhiệt độ 48,7°C, thời gian sấy 551,3 phút, hàm lượng tinh dầu đạt được là 9,85 ml/100 g với mức độ đáp ứng sự mong đợi là 84%.

3.5. Thực nghiệm kiểm tra lại kết quả tối ưu hóa

Thực nghiệm được lặp lại 3 lần với thông số tối ưu, điều chỉnh thông số nhiệt độ phù hợp với thực tế. Các giá trị thu được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả thực nghiệm sấy quả hồi ở điều kiện tối ưu.

Số thực nghiệm	Nhiệt độ (°C)	Thời gian sấy (phút)	Hàm lượng tinh dầu (ml/100 g)
1	48,5±0,5	547	9,90
2	48,5±0,5	545	9,90
3	48,5±0,5	543	9,90
Giá trị thực nghiệm trung bình		545	9,90
Giá trị dự báo theo bài toán tối ưu		551	9,85

Kết quả bảng 6 cho thấy, giá trị thực nghiệm trung bình là: thời gian sấy 545 phút và hàm lượng tinh dầu 9,9 ml/100 g. Giá trị dự báo theo bài toán tối ưu: thời gian sấy 551 phút và hàm lượng tinh

dầu 9,85 ml/100 g: Như vậy, giá trị thực nghiệm và giá trị dự báo gần tương đương nhau, có nghĩa là phương trình thực nghiệm phù hợp với thực tế.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã tối ưu hóa nhiệt độ sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng, kết quả thực nghiệm phù hợp với bài toán tối ưu cho thấy phương trình thực nghiệm phù hợp với thực tế, qua đó đã xác định nhiệt độ tối ưu cho sấy quả hồi là 48,5±0,5°C để đạt thời gian sấy 545 phút và hàm lượng tinh dầu 9,9 ml/100 g.

Kết quả nghiên cứu này cung cấp cơ sở khoa học về hàm lượng tinh dầu của quả hồi Lạng Sơn, các thông số kỹ thuật cho việc sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy ở nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng, giúp doanh nghiệp có thêm dữ liệu trong việc khai thác, sản xuất quả hồi khô từ quả hồi tươi ở tỉnh Lạng Sơn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua Đề tài cấp Bộ “Nghiên cứu hoàn thiện công nghệ chế biến một số sản phẩm từ quả hồi Lạng Sơn”. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.N. Binh, T.Q. Viet (2002) *Illicium verum* Hook, Agriculture Publisher, pp.5-12 (in Vietnamese).
- [2] L.D. Cu, T.A. Thu, (2005), *Chemical Composition of Lang Son Anise Essential Oil*, Science and Technics Publishing House, pp.27-33 (in Vietnamese).
- [3] M. Zareina, S.H. Samadib, B. Ghobadianb (2015), “Investigation of microwave dryer effect on energy efficiency during drying of apple slices”, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, **14**(1), pp.41-47. DOI: 10.1016/j.jssas.2013.06.002.
- [4] N. Hay, L.A. Duc, N.V.L, et al. (2015), "Research on fire drying of snakehead fish according to the principle of combined heat and microwave drying", *Conference Proceedings National Science and Technology in Mechanical Engineering - Fourth Edition*, **1**, Ho Chi Minh City National University Publisher (in Vietnamese).
- [5] Directorate for Standards, Metrology and Quality (2011), *National Standard, TCVN 8852: 2011, Star anise (Illicium verum* Hook. f) (in Vietnamese).
- [6] Ministry of Health (2010), *Vietnamese Pharmacopoeia IV*, 1497pp, Medical Publishing House (in Vietnamese).
- [7] Ministry of Health (2002), *Vietnamese Pharmacopoeia III*, 886pp, Medical Publishing House (in Vietnamese).
- [8] Nguyen Minh Tuyen (2005), *Experimental Regulations*, 227pp, Science and Technics Publishing House (in Vietnamese).
- [9] G. Derringer, R. Suich (1980), “Simultaneous optimization of several responses variables”, *Journal of Quality Technology*, **12**(4), pp.214-219.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI VIẾT ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài viết gửi đăng trên Tạp chí phải là bài viết nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài viết trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài viết gửi về Toà soạn dưới dạng file mềm và bản in; có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, Cầu Giấy, Hà Nội) hoặc qua hòm thư điện tử: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, không gạch chân hay viết nghiêng.
- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.
- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số (^{1,2,...}) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.
- Khi liệt kê cơ quan công tác của tác giả, cần nêu rõ tên cơ quan và địa chỉ cơ quan (tiếng Việt và tiếng Anh).

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh (khoảng 160-250 từ). Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khoá bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

Đặt vấn đề/dẫn nhập

Định nghĩa vấn đề; tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu. Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau. Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

Bàn luận (phần này có thể gộp với phần kết quả)

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài. Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài. Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

Chú thích và tài liệu tham khảo

- Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện (^{1,2,3...}) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote).
- Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chứng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với một hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.
- Lưu ý:
- Đối với trích dẫn trong bài báo: tài liệu tham khảo có nhiều hơn một tác giả chỉ để tên tác giả đầu tiên và cộng sự, viết tắt là cs, ví dụ: T.V. Nguyen và cs (năm xuất bản) [thứ tự trong danh mục tài liệu tham khảo].
 - Đối với danh mục tài liệu tham khảo cuối bài: tài liệu tham khảo bằng tiếng Anh, các tài liệu không phải tiếng Anh cần được dịch sang tiếng Anh và chú thích ở cuối câu, ví dụ: (in Vietnamese), (in French)...
 - Tài liệu tham khảo là các đường link cần bổ sung ngày truy cập.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập (số)**, pp<trang đầu-trang cuối>, số DOI (nếu có)

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả với những tài liệu tham khảo có ≤ 3 tác giả; liệt kê 3 tác giả đầu tiên và theo sau là "et al." khi có từ 4 tác giả trở lên.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn; Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách...

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được *in nghiêng*).

Tập (số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang đầu-trang cuối là số thứ tự các trang phản ánh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng 1 tác giả/nhóm tác giả, cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a).

Nếu có một số tài liệu tham khảo trong cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: Kitchen (1982, p.39).

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Toà soạn không trả lại bản thảo.
- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.
- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- Toán học và thống kê
- Khoa học máy tính và thông tin
- Vật lý
- Hóa học
- Khoa học trái đất và môi trường
- Khoa học sự sống
- Khoa học nano
- Khoa học tính toán
- Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- Kỹ thuật dân dụng: kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- Kỹ thuật hóa học
- Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- Kỹ thuật y học
- Kỹ thuật môi trường
- Công nghệ sinh học công nghiệp
- Công nghệ nano
- Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- Y học cơ sở
- Y học lâm sàng
- Y học dự phòng
- Dược học
- Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

4. Khoa học nông nghiệp

- Trồng trọt
- Chăn nuôi
- Thú y
- Lâm nghiệp
- Thủy sản
- Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- Tâm lý học
- Kinh tế và kinh doanh
- Khoa học giáo dục
- Xã hội học
- Pháp luật
- Khoa học chính trị
- Địa lý kinh tế và xã hội
- Thông tin đại chúng và truyền thông
- Lịch sử và khảo cổ học
- Ngôn ngữ học và văn học
- Triết học, đạo đức và tôn giáo
- Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 65 - Number 10DB - October 2023

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của chủng nấm dược liệu *Cordyceps militaris* bạch tạng (albino) phân lập tại Việt Nam.

Đỗ Thị Kim Trang, Đào Ngọc Ánh, Trần Bảo Trâm, Trương Thị Chiên, Nguyễn Minh Nam, Trần Văn Tuấn, Vũ Xuân Tạo

Định danh sả hương Tây Giang *Cymbopogon winterianus* Jowitt dựa trên phân tích phân tử và thành phần tinh dầu sả.

Mã Thị Bích Thảo, Nguyễn Phương, Trần Hà, Nguyễn Thị Thùy Trang, Nguyễn Thị Hồng, Hoàng Văn Tuấn

Nghiên cứu sử dụng vi khuẩn *Bacillus* có khả năng phân giải lân khó tan trong lên men chất thải chăn nuôi gà làm phân bón hữu cơ vi sinh dạng lỏng.

Trương Thị Chiên, Nguyễn Thị Thanh Mai, Trần Bảo Trâm, Mai Vũ Hoàng Giang, Vũ Xuân Tạo

Nghiên cứu, thử nghiệm công nghệ sóng âm bề mặt không dây thụ động để giám sát nhiệt độ trong các thiết bị dẫn điện cao áp.

Lê Quốc Tuấn, Nguyễn Văn Đưa, Nguyễn Quốc Hưng, Nguyễn Hoàng Long, Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Huệ

Nguồn phát cho máy hàn siêu âm sử dụng màng rung gồm áp điện ứng dụng hàn trên chất liệu vải không dệt.

Trần Văn Hiệp, Vũ Minh Thoại, Nguyễn Huy Khẩn, Vũ Xuân Mạnh, Nguyễn Huy Công, Nguyễn Đăng Cơ, Bùi Đình Tú, Nguyễn Hải Bình

Các phương pháp nâng cao an toàn cho robot cộng tác người - máy.

Nguyễn Văn Thường, Trần Xuân Thịnh, Giang Mạnh Khôi

Tối ưu một số yếu tố ảnh hưởng đến quy trình thu nhận hợp chất tannin có hoạt tính kháng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* từ lá cây bàng (*Terminalia catappa* L.).

Lê Thị Huyền, Trương Minh Ngọc, Hồ Viết Thế, Nguyễn Bá Thọ, Nguyễn Thị Liên

Tối ưu hóa điều kiện tách chiết saponin steroid từ lá cây *Costus pictus* bằng phương pháp đáp ứng bề mặt và khảo sát kháng khuẩn của cao chiết thu được trong điều kiện tối ưu hóa.

Nguyễn Đào Thanh Hương, Hồ Thị Nguyệt, Trương Minh Ngọc, Lê Thanh Bình, Đỗ Thị Mai Trinh, Bùi Dương Xuân An

Tối ưu một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách chiết hợp chất polyphenol từ hạt cau (*Areca catechu* L.) bằng phương pháp đáp ứng bề mặt.

Nguyễn Bá Thọ, Trương Minh Ngọc, Lê Thị Huyền, Nguyễn Thị Liên

Lắng đọng lớp phủ vàng trên bề mặt màng PET bằng phương pháp phun xạ magnetron.

Nguyễn Thị Thanh Lan, Phạm Hồng Tuấn, Nguyễn Thành Hợp

Khảo sát ảnh hưởng của công nghệ tôi laser tới độ cứng và cấu trúc tế vi của thép P18.

Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Thành Hợp, Nguyễn Duy Dân

Nghiên cứu và tích hợp hệ thiết bị khắc trên vật liệu nhựa sử dụng laser UV bước sóng 355 nm.

Trần Thị Vân Anh, Đỗ Xuân Tiến, Cung Hồng Kiên, Đinh Văn Giang, Trương Đức Toàn, Trần Xuân Thịnh

Đánh giá khả năng phân rã của bao bì thân thiện môi trường trong điều kiện ủ compost ở quy mô phòng thí nghiệm và quy mô pilot.

Tường Thị Nguyệt Ánh, Lê Thị Thùy, Đoàn Hoàng Linh, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Ngọc Diệp, Chu Xuân Quang, Trần Hùng Thuận, Đặng Thảo Yến Linh

Nghiên cứu đề xuất giải pháp giảm mức tiếng ồn khi vận hành máy nén khí trong hệ thống xử lý nước thải.

Đỗ Khắc Uẩn, Nguyễn Mạnh Cường, Nguyễn Văn Tuyền, Trần Hùng Thuận, Chu Xuân Quang

Tối ưu nhiệt độ sấy quả hồi bằng kỹ thuật sấy nhiệt độ thấp kết hợp vi sóng.

Trần Hà, Mã Thị Bích Thảo, Nguyễn Phương, Nguyễn Thị Hồng, Vũ Văn Liệu

1 Study on some biological characteristics of the albino strain of medicinal fungus *Cordyceps militaris* isolated in Vietnam.

Thi Kim Trang Do, Ngoc Anh Dao, Bao Tram Tran, Thi Chien Truong, Minh Nam Nguyen, Van Tuan Tran, Xuan Tao Vu

7 Identification of Tay Giang citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) based on molecular markers and essential oil compositions.

Thi Bich Thao Ma, Phuong Nguyen, Ha Tran, Thi Thuy Trang Nguyen, Thi Hong Nguyen, Van Tuan Hoang

14 Research on using *Bacillus* bacteria capable of insoluble phosphorus solubilisation in fermentation of chicken waste as liquid microbial organic fertiliser.

Thi Chien Truong, Thi Thanh Mai Nguyen, Bao Tram Tran, Vu Hoang Giang Mai, Xuan Tao Vu

19 Research and experiment the wireless passive surface acoustic wave technology for conductor temperature monitoring of high voltage equipment.

Quoc Tuan Le, Van Dua Nguyen, Quoc Hung Nguyen, Hoang Long Nguyen, Thi Thu Ha Nguyen, Thi Hue Nguyen

24 Design ultrasonic power generators for welding machines using piezoelectric ceramic materials for welding on non-woven fabrics.

Van Hiep Tran, Minh Thoai Vu, Huy Khan Nguyen, Xuan Manh Vu, Huy Cong Nguyen, Dang Co Nguyen, Dinh Tu Bui, Hai Binh Nguyen

30 Research on methods of improving safety for collaborative robot.

Van Thuong Nguyen, Xuan Thinh Tran, Manh Khoi Giang

35 Optimisation of the process of acquiring tannin compounds with anti - *Vibrio parahaemolyticus* from the leaves of sea almond tree (*Terminalia catappa* L.).

Thi Huyen Le, Minh Ngoc Truong, Viet The Ho, Ba Tho Nguyen, Thi Lien Nguyen

42 Optimising steroid saponins extraction from *Costus pictus* leaves using response surface methodology and investigating antibacterial properties of extracts obtained under optimised conditions.

Dao Thanh Huong Nguyen, Thi Nguyen Ho, Minh Ngoc Truong, Thanh Binh Le, Thi Mai Trinh Do, Duong Xuan An Bui

48 Optimising certain factors influencing the process of extracting polyphenolic compounds from areca nuts (*Areca catechu* L.) using response surface methodology.

Ba Tho Nguyen, Minh Ngoc Truong, Thi Huyen Le, Thi Lien Nguyen

54 Deposition of gold on a PET film by pulsed DC magnetron sputtering.

Thi Thanh Lan Nguyen, Hong Tuan Pham, Thanh Hop Nguyen

58 Investigating the effects of the laser quenching technology on the hardness and microstructure of P18 steel.

Van Thanh Nguyen, Thanh Hop Nguyen, Duy Dan Nguyen

62 Research and integrate laser marking system on plastic materials using 355 nm UV laser.

Thi Van Anh Tran, Xuan Tien Do, Hong Kien Cung, Van Giang Dinh, Duc Toan Truong, Xuan Thinh Tran

67 Evaluation of the disintegrability of eco-friendly packaging under laboratory and pilot-scale composting conditions.

Thi Nguyet Anh Tuong, Thi Thuy Le, Hoang Linh Doan, Tien Dat Nguyen, Ngoc Diep Nguyen, Xuan Quang Chu, Hung Thuan Tran, Thao Yen Linh Dang

73 Research on proposing solutions to reduce noise for the operation of air compressors in wastewater treatment system.

Khac Uan Do, Manh Cuong Nguyen, Van Tuyen Nguyen, Hung Thuan Tran, Xuan Quang Chu

77 Optimisation of the drying temperature of star anise by low-temperature drying technique combined with microwave.

Ha Tran, Thi Bich Thao Ma, Phuong Nguyen, Thi Hong Nguyen, Van Lieu Vu