

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

TẬP 66, SỐ 1, THÁNG 1 NĂM 2024
VOLUME 66 NUMBER 1, JANUARY 2024

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



HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Chủ tịch

Châu Văn Minh - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Thành viên

Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng, Việt Nam

Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Việt Nam

Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam, Việt Nam

Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân, Việt Nam

Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trương Nam Hải - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Trần Thanh Hải - Trường Đại học Mở - Địa chất, Việt Nam

Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải, Việt Nam

Phạm Gia Khánh - Hội Ghép tạng Việt Nam, Việt Nam

Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Bành Tiến Long - Đại học Bách khoa Hà Nội, Việt Nam

Lê Quan Nghiêm - Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trần Hữu Phúc - Hội đồng Giáo sư Nhà nước, Việt Nam

Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Tổng biên tập

Nguyễn Thị Hương Giang - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ban biên tập

Phạm Thị Minh Nguyệt - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Phí Công Thường - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Vũ Văn Hưng - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ninh Văn Diện - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thị Bắc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Tăng Xuân Bình - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Đoàn Đức Khải - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Trương Thị Thảo Dương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

EDITORIAL BOARD

Chairman

Chau Van Minh - Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Members

Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering, Vietnam

Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam, Vietnam

Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology, Vietnam

Tran Tho Dat - National Economics University, Vietnam

Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Vu Minh Giang - VNU, Hanoi, Vietnam

Truong Nam Hai - Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam

Pham Huy Khang - University of Transport and Communications, Vietnam

Pham Gia Khanh - Vietnam Society of Organ Transplantation, Vietnam

Ho Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam

Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, Hanoi, Vietnam

Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology, Vietnam

Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

Mai Trong Nham - VNU, Hanoi, Vietnam

Tran Huu Phuc - The State Council for Professorship, Vietnam

Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University, Vietnam

Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi, Vietnam

Editor-in-Chief

Nguyen Thi Huong Giang - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Managing Editors

Pham Thi Minh Nguyet - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Phi Cong Thuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Vu Van Hung - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Ninh Van Dien - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thi Bac - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Tang Xuan Binh - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Doan Duc Khai - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Truong Thi Thao Duong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội - Việt Nam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn

Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021

Số 50/GP-BTTTT ngày 01/02/2023

Giá: 18000^d

EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi - Vietnam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn

E-journal: b.vjst.vn

PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20th July 2021

No. 50/GP-BTTTT 1st February 2023

Nghiên cứu chuyển pha smectic - đẳng hướng của tinh thể lỏng

Nguyễn Thị Phương Thúy^{1,2*}, Nguyễn Thị Vân Anh¹, Ngô Văn Thanh^{2,3}

¹Viện Vật lý, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 10 Đào Tấn, phường Cống Vị, quận Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Ban Ứng dụng và Triển khai Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/10/2022; ngày chuyển phản biện 13/10/2022; ngày nhận phản biện 1/11/2022; ngày chấp nhận đăng 4/11/2022

Tóm tắt:

Pha smectic bao gồm các phân tử có hình khâu que, sắp xếp theo từng lớp và trục dài của các phân tử định hướng gần như song song. Chuyển pha smectic - đẳng hướng là hiện tượng chuyển từ pha tinh thể lỏng sang pha lỏng. Trong nghiên cứu này, các tác giả sử dụng mô hình Potts linh động 6 trạng thái khảo sát quá trình chuyển pha smectic - đẳng hướng của tinh thể lỏng. Tương tác vi mô giữa các phân tử lân cận trong mô hình này được bổ sung thêm thế năng Lennard-Jones. Nghiên cứu sử dụng mô phỏng Monte Carlo với thuật toán Wang-Landau nhằm xác định đặc trưng của chuyển pha smectic - đẳng hướng. Kết quả thu được cho thấy, chuyển pha smectic - đẳng hướng là chuyển pha bậc nhất. Khi tăng nhiệt độ của hệ, ban đầu các phân tử tinh thể lỏng smectic ở các lớp bề mặt mất trật tự định hướng, sau đó các phân tử mất dần trật tự vị trí. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra sự đồng tồn tại của pha smectic và pha đẳng hướng trong quá trình chuyển pha phù hợp với các nghiên cứu thực nghiệm.

Từ khóa: chuyển pha smectic - đẳng hướng, mô hình Potts, mô phỏng Monte Carlo, pha smectic, thuật toán Wang-Landau.

Chỉ số phân loại: 1.3

1. Đặt vấn đề

Trạng thái tinh thể lỏng được phát hiện tình cờ vào năm 1888 [1] trong quá trình đun nóng tinh thể rắn cholesterol benzoat thu được chất lỏng dạng vẩn đục, sau đó chất lỏng trở nên trong suốt. Dựa trên cơ chế hình thành có thể phân loại thành tinh thể lỏng lyotropic và thermotropic. Các pha tinh thể lỏng lyotropic hình thành dựa trên cơ chế thay đổi dung môi và nồng độ dung dịch. Trong khi đó, các pha tinh thể lỏng thermotropic hình thành dựa trên cơ chế thay đổi nhiệt độ. Cụ thể, các pha tinh thể lỏng thermotropic có thể xuất hiện bằng cách tăng nhiệt độ của hệ khi ở trạng thái rắn, hoặc giảm nhiệt độ khi ở trạng thái lỏng. Phân tử tinh thể lỏng có dạng hình thon dài, trục dọc phân tử định hướng theo một hướng ưu tiên. Đặc trưng cơ bản của các phân tử của tinh thể lỏng đó là trong cấu trúc vi mô, các phân tử có độ linh động tương tự như các phân tử trạng thái lỏng, tuy nhiên các phân tử duy trì một trật tự định hướng, trật tự vị trí giống như các phân tử trạng thái rắn. Pha cấu trúc của tinh thể lỏng thermotropic với các trật tự định hướng và trật tự vị trí khác nhau bao gồm: pha nematic, smectic và cholesteric [2]. Vật liệu tinh thể lỏng thermotropic không tồn tại tất cả các loại pha cấu trúc, nhưng có thể hình thành vài loại pha cấu trúc dưới sự tác động của nhiệt độ. Chính vì vậy, tinh thể lỏng dường như là "thiên đường" của nghiên cứu các hiện tượng chuyển pha cấu trúc. Nhiệt độ chuyển pha giúp ta xác định khoảng nhiệt độ ổn định của vật liệu và sự thay đổi về

tính chất quang học của vật liệu khi chuyển pha có đóng góp quan trọng trong việc phát triển các vật liệu mới trong chế tạo màn hình tinh thể lỏng.

Trong bài báo này, chúng tôi tập trung nghiên cứu về chuyển pha tinh thể lỏng smectic. Pha smectic có nguồn gốc từ tiếng Hy Lạp có nghĩa là xà phòng. Mặc dù cấu trúc pha smectic rất đa dạng nhưng chúng đều có những đặc điểm chung như các phân tử có trật tự vị trí theo từng lớp, toàn bộ các phân tử trong cùng một lớp có cùng trật tự định hướng. Trong cùng mặt phẳng, tồn tại trật tự tầm gần, dẫn đến các phân tử chỉ tương tác với các phân tử lân cận, các phân tử ở các mặt phẳng khác nhau chỉ tương tác yếu với các phân tử gần nhất. Chính các đặc điểm này là cơ sở cho các mô hình pha smectic trong các nghiên cứu lý thuyết và mô phỏng. Dưới tác động của nhiệt độ, các trật tự của phân tử pha smectic bị phá vỡ lần lượt và chuyển thành cấu trúc pha tinh thể lỏng khác hoặc pha đẳng hướng (isotropic). Chuyển pha smectic thu hút nhiều nghiên cứu bởi các phương pháp nghiên cứu lý thuyết [3-7] và mô phỏng [8, 9].

Về mặt lý thuyết, nghiên cứu chuyển pha smectic dựa trên lý thuyết chuyển pha Landau-de Gennes [3]. Tuy nhiên, lý thuyết này xây dựng chưa thực sự đầy đủ khi chỉ xem xét sự thay đổi của trật tự vị trí của pha smectic, dẫn đến chuyển pha smectic là quá trình nóng chảy thông thường với sự thay đổi của mật độ phân tử khi chuyển pha, bỏ qua sự thay đổi về trật tự định hướng của các phân tử. Bên cạnh

*Tác giả liên hệ: Email: ntpthuy@iop.vast.vn

Phase transitions of smectic-isotropic phase in liquid crystals

Thi Phuong Thuy Nguyen^{1,2*}, Thi Van Anh Nguyen¹,
Van Thanh Ngo^{2,3}

¹Institute of Physics, Vietnam Academy of Science and Technology,
10 Dao Tan Street, Cong Vi Ward, Ba Dinh District, Hanoi, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology,
Vietnam Academy of Science and Technology,

18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³Department of Application and Development Technology,
Vietnam Academy of Science and Technology,

18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 10 October 2022; revised 1 November 2022; accepted 4 November 2022

Abstract:

Smectic phases formed by rod-like molecules with long axes that are parallel and also arranged in planes. The smectic-isotropic phase transition is a phase change from the liquid crystal to the liquid phase. In this work, we use a mobile 6-state Potts model to study the nature of the smectic-isotropic phase transition. Microscopic interactions between neighbouring molecules in this model are supplemented with the Lennard-Jones potential. This study applies Monte Carlo simulation with the Wang-Landau algorithm to determine the characteristics of smectic-isotropic phase transitions. It is shown clearly that the smectic phase goes to the isotropic phase and undergoes a first-order transition. The results also point out that when the temperature increases, molecules on the surface are orientationally disordered, then the molecules gradually lose their positional order. These results are in agreement with experiments that revealed the coexistence of the smectic and isotropic phases during the phase transition process in accordance with experimental studies.

Keywords: Monte Carlo simulation, Potts model, smectic-isotropic phase transition, smectic phase, Wang-Landau algorithm.

Classification number: 1.3

đó, tinh thể lỏng được xem như trạng thái trung gian giữa trạng thái rắn và trạng thái lỏng, vì vậy mô hình lý thuyết nghiên cứu chuyển pha tinh thể lỏng có thể là mô hình chất rắn đàn hồi hoặc mô hình chất lỏng dị hướng. Tinh thể lỏng được xem như một chất rắn đàn hồi được nghiên cứu bằng phương pháp năng lượng tự do Frank [4-6] và chuyển pha smectic chỉ xem xét được sự biến đổi của trật tự vị trí. Khi tinh thể lỏng được xem như chất lỏng dị hướng thì cốt lõi chính là xây dựng tương tác giữa các phân tử. Trong phương pháp thống kê phân tử, W.L. McMillan (1971) [7] cũng đã xem xét sự biến đổi cả trật tự vị trí và vị trí định hướng trong quá trình chuyển pha. Về mặt mô phỏng, bằng cách mô tả hệ tinh thể lỏng ở mức độ vi mô, phương pháp mô phỏng là một sự lựa chọn tốt nhằm mô hình hóa cấu trúc tinh thể lỏng để hiểu bản chất, tính chất pha và hiện tượng chuyển pha. Mô hình đơn giản nhất mô tả tinh thể lỏng là Lebwohl-Lasher [8], trong đó mỗi phân tử đóng vai trò như một spin nằm cố định trên mỗi nút mạng tinh thể. Hạn chế của mô hình là Hamiltonian tương tác của các phân tử chỉ phụ thuộc vào định hướng của các phân tử tinh thể lỏng và các phân tử chỉ nằm cố định nên quá trình chuyển pha không thể hiện được sự biến đổi về trật tự vị trí. Một mô hình khác là Gay-Berne [9], với việc xem xét thế năng tương tác với các biến số phụ thuộc vào định hướng và vị trí của phân tử.

Mặc dù một số nghiên cứu đã mô tả chuyển pha smectic - đẳng hướng khi xét đến cả trật tự định hướng và trật tự vị trí, tuy nhiên không có công bố nào mô tả được quá trình động học của chuyển pha smectic - đẳng hướng. Trong nghiên cứu trước đây [10], với việc sử dụng mô hình Potts linh động 6 trạng thái, bằng mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau, chúng tôi đã mô tả được pha smectic tan chảy theo từng lớp, từ các lớp bề mặt đến các lớp bên trong lõi. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiếp tục sử dụng mô hình Potts và mở rộng Hamiltonian tương tác, bao gồm thêm thế năng Lennard-Jones giữa các phân tử nhằm đánh giá ảnh hưởng từ độ linh động của phân tử ảnh hưởng đến quá trình chuyển pha smectic - đẳng hướng.

2. Mô hình và phương pháp mô phỏng

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành mô phỏng cấu trúc pha smectic của tinh thể lỏng bởi mô hình Potts linh động 6 trạng thái [11, 12] bằng phương pháp mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau.

2.1. Mô hình

Mô hình sử dụng để mô phỏng cấu trúc pha smectic trong nghiên cứu này là Potts linh động 6 trạng thái. Cụ thể, các phân tử tinh thể lỏng sẽ được mô hình hóa thành các spin $\vec{S}_i$ với trạng thái spin (σ_i), độ lớn và vị trí spin đảm bảo các đặc trưng của pha smectic. *Thứ nhất*, phân tử tinh

thể lỏng có cấu trúc dị hướng, các phân tử có thể quay xung quanh trục của nó, vì vậy trạng thái của các phân tử rất đa dạng, do đó ta lựa chọn mô hình Potts có 6 trạng thái khác nhau, tương ứng $\sigma_i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$. *Thứ hai*, đặc trưng cho tính linh động của phân tử tinh thể lỏng, đồng nghĩa vị trí phân tử có thể di chuyển đến các vị trí nút mạng trống trong tinh thể. Xét mô hình bao gồm N_s phân tử nằm trên một mạng tinh thể với kích thước $N = N_x \times N_y \times N_z$. Để đảm bảo tính linh động của các phân tử có thể di chuyển tới các vị trí nút mạng trống xung quanh nó cần có điều kiện $N_s < N$. *Thứ ba*, các phân tử pha smectic sắp xếp theo lớp, phân tử mỗi lớp tuân theo trật tự định hướng riêng. *Cuối cùng*, tương tác giữa các phân tử, xét đến thành phần thế năng tương tác trao đổi giữa các phân tử và thế năng Lennard-Jones được mô tả bởi hàm Hamiltonian như sau:

$$H = \sum_{\langle i,j \rangle} U(r_{ij}) - \sum_{\langle i,j \rangle} J_{\parallel} \delta_{\sigma_i, \sigma_j} - \sum_{\langle i,j \rangle} J_{\perp} \delta_{\sigma_i, \sigma_j} \quad (1)$$

trong đó $\langle i,j \rangle$ là biểu diễn các cặp phân tử lân cận gần nhất; $J_{\parallel}, J_{\perp}$ lần lượt là các hằng số tương tác trao đổi giữa các phân tử lân cận gần nhất trong cùng mặt phẳng và giữa các mặt phẳng. Số hạng đầu tiên là thế năng tương tác Lennard-Jones có dạng sau:

$$U(r_{ij}) = U_0 \left[\left(\frac{r_0}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r_0}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2)$$

với U_0 là hằng số; $r_0 \approx a$ là khoảng cách giữa các phân tử lân cận tại trạng thái cân bằng; $r_{ij} = \|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|$ là khoảng cách giữa các phân tử. Để xây dựng cấu trúc pha smectic thỏa mãn các phân tử sắp xếp theo lớp và trong mỗi lớp các phân tử tuân theo định hướng riêng thì $J_{\parallel} = J > 0$, $J_{\perp} = -aJ < 0$, $U_0 = bJ < J_{\parallel}$, với $a, b > 0$. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đặt $J = 1$, hằng số Boltzmann $k_B = 1$, do đó các đại lượng mô phỏng đều đã được khử thứ nguyên.

Để mô tả một cách trực quan về quá trình động học của chuyển pha smectic - đẳng hướng, ta đưa ra định nghĩa về các thông số trật tự định hướng theo lớp M_m :

$$M_m = \frac{1}{q-1} \left[\frac{q}{N_m} \max_{j \in [1,q]} \left(\sum_{i=1}^{N_m} \delta_{j, \sigma_i} \right) - 1 \right] \quad (3)$$

trong đó q là tổng số trạng thái của các phân tử, trong nghiên cứu này $q = 6$; N_m là tổng số phân tử trên lớp thứ m . Xét một lớp m bất kỳ, j là một trạng thái trong 6 trạng thái của mô hình Potts; σ_i là trạng thái của các phân tử nằm trên lớp thứ m . Nếu tất cả các phân tử trên lớp m có cùng trạng thái, ta

thu được $\sum_{i=1}^{N_m} \delta_{j, \sigma_i} = N_m$ dẫn đến thông số trật tự định hướng

$M_m = 1$. Đây chính là pha smectic, với mỗi lớp được lấp đầy bởi các phân tử có cùng định hướng. Bên cạnh đó, khi nhiệt

độ của hệ tăng cao, các phân tử bắt đầu trở nên mất trật tự định hướng, mỗi lớp có thể bao gồm các phân tử có trật tự định hướng khác nhau, khi đó $\sum_{i=1}^{N_m} \delta_{j, \sigma_i} = N_m/q$ và $M_m = 0$. Đây chính là pha chất lỏng đẳng hướng, với các phân tử mất trật tự hoàn toàn.

Tiếp theo ta định nghĩa về thông số trật tự vị trí của các phân tử trong mô hình. Thực tế rằng, các phân tử pha smectic nằm tại các lớp, khi xảy ra quá trình chuyển pha, cấu trúc lớp dần mất, các phân tử di chuyển tự do trong tinh thể. Để đặc trưng cho sự thay đổi vị trí của phân tử, ta đưa ra hệ số khuếch tán $D(T)$ nhằm mô tả khoảng cách của các phân tử thay đổi theo nhiệt độ T .

$$\langle D(T) \rangle = \frac{1}{N_s t_{MC}} \sum_t \sum_{l=1}^N (\vec{r}_l^f(T, t) - \vec{r}_l^i(T, t))^2 \quad (4)$$

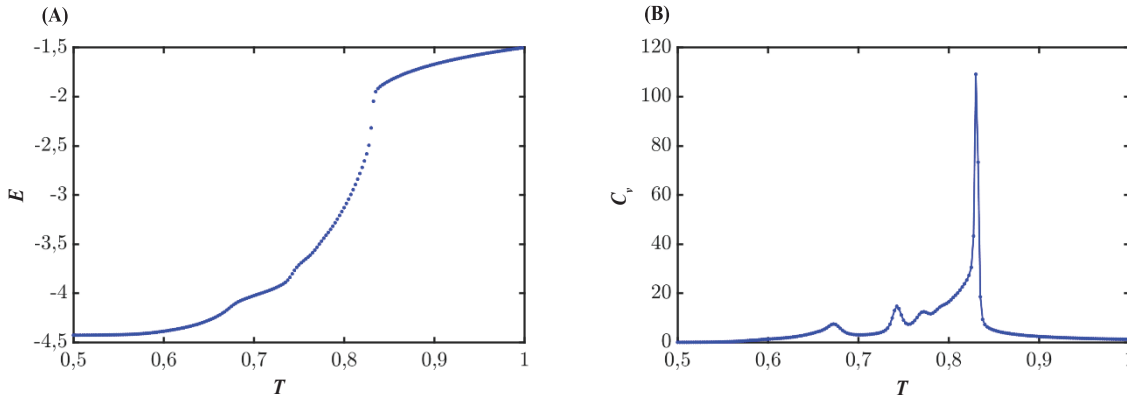
với N_s là tổng số phân tử; t_{MC} là thời gian mô phỏng; $\vec{r}_l^i(T, t)$, $\vec{r}_l^f(T, t)$ là vector xác định vị trí của phân tử trước và sau khi di chuyển do nhiệt độ của hệ tăng lên tại thời điểm t , nhiệt độ T .

2.2. Phương pháp mô phỏng

Chúng tôi thực hiện phương pháp mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau [13] cho mô hình Potts linh động 6 trạng thái được biểu diễn thông qua Hamiltonian (1). Mục đích của nghiên cứu là khảo sát hiện tượng chuyển pha, vì vậy chúng tôi sẽ mô phỏng để thiết lập cấu trúc pha tinh thể lỏng smectic và tính toán các đại lượng vật lý của hệ thay đổi theo nhiệt độ, từ đó kết luận chuyển pha smectic - đẳng hướng diễn ra như thế nào và phân loại chuyển pha. Cụ thể thuật toán thực hiện hai thao tác: thứ nhất, tính mật độ trạng thái $g(E)$ và từ đó tính các đại lượng nhiệt động từ $g(E)$ thu được theo công thức của vật lý thống kê như các phương trình (6), (7), (8) và (9). Phương pháp sử dụng thuật toán Wang-Landau là một lựa chọn tốt khi đại lượng $g(E)$ không phụ thuộc vào nhiệt độ, giúp tăng tốc độ tính toán và kết quả chính xác tại khu vực gần các điểm chuyển pha [14]. Chi tiết quá trình mô phỏng được mô tả dưới đây.

Bước đầu tiên của chương trình mô phỏng là định nghĩa cấu trúc của mạng tinh thể trong không gian ba chiều với kích thước $N = N_x \times N_y \times N_z$, bao gồm N_s phân tử thỏa mãn điều kiện biên tuần hoàn theo mặt phẳng xy . Tiếp theo là xây dựng tương tác giữa các spin cho bởi Hamiltonian theo phương trình (1) với các hằng số là U_0 , r_0 , $J_{\parallel}$ và $J_{\perp}$.

Bước tiếp theo là lựa chọn một spin của một cấu hình spin bất kỳ với năng lượng E_i , thực hiện thay đổi vị trí và trạng thái của spin đó để tạo ra cấu hình spin thử với năng lượng E_j . Cấu hình spin thử được chấp nhận nếu thỏa mãn điều kiện xác suất $P(E_i \rightarrow E_j) = \min \left(\frac{g(E_i)}{g(E_j)}, 1 \right)$. Quá trình này



Hình 1. Kết quả mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau. (A) Đồ thị năng lượng E thay đổi theo nhiệt độ T ; **(B)** Đồ thị nhiệt dung riêng C_v theo nhiệt độ T .

sẽ được lặp đi lặp lại cho đến khi biểu đồ năng lượng $H(E)$ là phẳng với điều kiện sau:

$$H(E) \geq 95\% \langle H(E) \rangle \quad (5)$$

Cuối cùng, sau khi thu được kết quả $g(E)$, ta xác định được các đại lượng nhiệt động của hệ.

Năng lượng E :

$$\langle E \rangle = \frac{1}{Z} \sum_E E g(E) \exp(-E/k_B T) \quad (6)$$

Nhiệt dung riêng C_v

$$C_v = \frac{\langle E^2 \rangle - \langle E \rangle^2}{k_B T^2} \quad (7)$$

Thông số trật tự định hướng M

$$\langle M \rangle = \frac{1}{Z} \sum_E M g(E) \exp(-E/k_B T) \quad (8)$$

Sự thay đổi của thông số trật tự vị trí χ

$$\chi = \frac{\langle M^2 \rangle - \langle M \rangle^2}{k_B T} \quad (9)$$

trong đó tổng thống kê Z được xác định bởi

$$Z = \sum_E g(E) \exp(-E/k_B T) \quad (10)$$

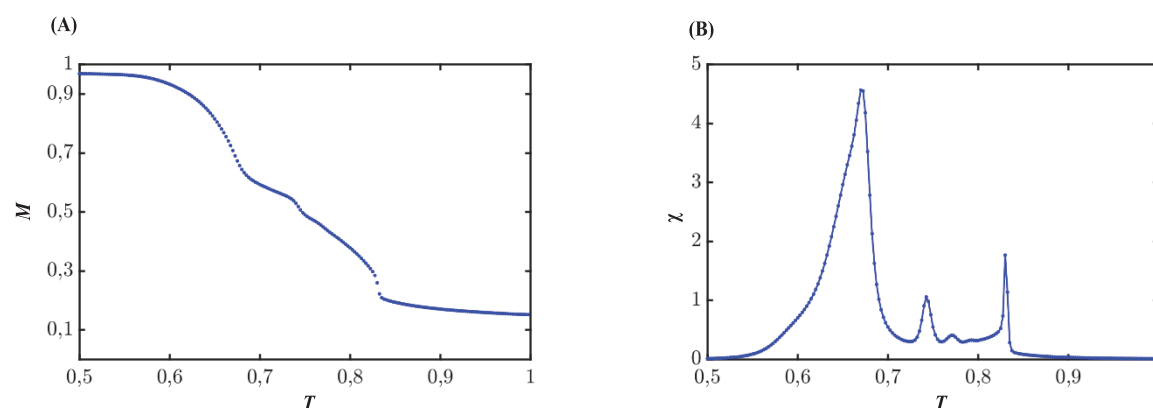
Thông qua biểu diễn của các đại lượng trên theo nhiệt độ ta sẽ xác định được nhiệt độ chuyển pha. Để xem xét chuyển pha là loại 1 hay loại 2, tại các điểm nhiệt độ chuyển pha, ta thực hiện tính toán hàm phân bố theo năng lượng tại các nhiệt độ xác định cho bởi:

$$P(E, T) = \frac{1}{Z} g(E) \exp(-E/k_B T) \quad (11)$$

3. Kết quả và bàn luận

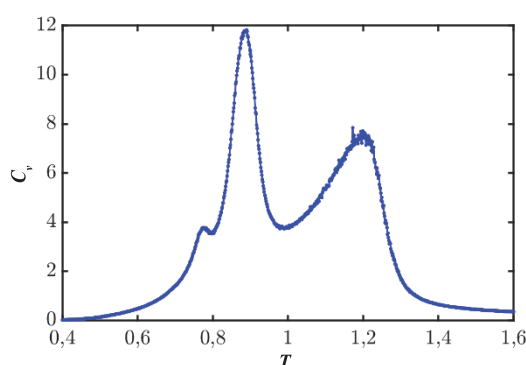
Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng mô hình Potts linh động bao gồm $N_s=12^3$ phân tử nằm trong khối hộp 3 chiều chứa các nút mạng với kích thước $N=12 \times 12 \times 36$, phù hợp với điều kiện $N_s < N$ để đảm bảo trong tinh thể có các vị trí trống để các phân tử di chuyển. Các giá trị hằng số trong biểu thức Hamiltonian (1) lần lượt như sau: hằng số thể năng Lennard-Jones $U_0 = 0,85$, khoảng cách giữa các phân tử khi hệ đạt trạng thái cân bằng $r_0=1$, tương tác trao đổi giữa các phân tử trong cùng mặt phẳng $J_{||} = 1$ và tương tác trao đổi giữa các phân tử khác mặt phẳng $J_{\perp} = -0,5$. Thực hiện quá trình mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau, với cấu trúc pha smectic ban đầu gồm 12 lớp phân tử, chúng tôi tăng nhiệt độ của hệ từ từ để theo dõi diễn biến quá trình chuyển pha smectic. Đầu tiên, ta khảo sát kết quả đường biểu diễn năng lượng E và nhiệt dung riêng C_v theo nhiệt độ T biểu diễn như ở hình 1.

Dễ dàng nhận thấy trên đồ thị nhiệt dung riêng ở hình 1B, pha smectic có 3 điểm chuyển pha lần lượt tại các nhiệt độ $T_1=0,669$, $T_2=0,747$ và $T_3=0,832$. Điểm chuyển pha thứ nhất tương ứng với pha mất trật tự định hướng một phần trên các lớp của hệ và điểm chuyển pha cuối cùng tương ứng với pha đẳng hướng, trong đó các phân tử bị mất trật tự cả định hướng lẫn vị trí. So sánh với kết quả thu được ở nghiên cứu trước của chúng tôi [10], khi Hamiltonian của hệ không xét đến thành phần thể năng Lennard-Jones thì kết quả mới cho thấy số lượng điểm chuyển pha giảm nhiều. Điều này được giải thích là do đóng góp của thể năng tương tác Lennard-Jones giữa các phân tử trong cùng một lớp, đặc biệt là làm tăng liên kết giữa các lớp, dẫn đến pha smectic tan chảy theo từng khối lớp thay vì tan chảy từng lớp một như trước đây [10].



Hình 2. Kết quả mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau. (A) Đồ thị thông số trật tự vị trí M theo nhiệt độ T ; **(B)** Đồ thị sự thay đổi thông số trật tự vị trí χ theo nhiệt độ T .

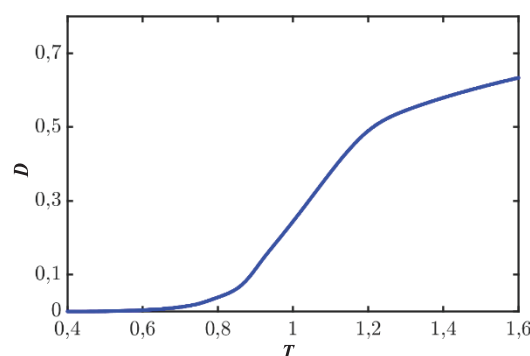
Hình 2 mô tả kết quả thông số trật tự định hướng M và sự thay đổi của thông số trật tự định hướng χ phụ thuộc vào nhiệt độ T . Hình 3 và 4 lần lượt biểu diễn đồ thị nhiệt dung riêng và thông số trật tự vị trí được cho bởi hệ số khuếch tán D phụ thuộc vào nhiệt độ sử dụng thuật toán Metropolis. Do thông số trật tự vị trí được cho bởi đồ thị hệ số khuếch tán không được tính toán dựa vào hàm mật độ trạng thái $g(E)$, nên hệ số khuếch tán được tính toán thông qua mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Metropolis với các hằng số giữ nguyên như trong thuật toán Wang-Landau. Do vậy, về mặt định lượng, các nhiệt độ chuyển pha thu được khi sử dụng 2 thuật toán là có sự chênh lệch tại đồ thị nhiệt dung riêng trong hình 1B và hình 3, vì vậy khi nhận xét kết quả ở hình 4 ta hoàn toàn chỉ quan tâm về mặt định tính. Tiếp theo, sau khi xác định được các điểm chuyển pha, ta sẽ khảo sát sự biến đổi các thông số trật tự định hướng và thông số trật tự vị trí tại 3 điểm chuyển pha vừa thu được dựa vào hình 2, 3 và 4.



Hình 3. Đồ thị nhiệt dung riêng C_v theo nhiệt độ T sử dụng thuật toán Metropolis.

Tại điểm chuyển pha thứ nhất $T_1=0,669$, tương ứng với đỉnh thứ nhất trên đồ thị C_v . Quan sát hình 2A nhận thấy, trật tự định hướng M giảm nhanh từ 1,0 xuống 0,67, tương ứng $(12-4)/12 \approx 0,67$, cho thấy phân tử ở 4 lớp bề mặt của tinh thể có sự mất trật tự định hướng. Bên cạnh đó, tại đồ thị hệ số khuếch tán như hình 4, các phân tử không có sự thay đổi về trật tự vị trí. Điều này cho thấy, tại điểm chuyển pha thứ nhất, các phân tử vẫn giữ nguyên trật tự vị trí và một số lớp phân tử bề mặt của pha smectic có sự thay đổi về trật tự định hướng. Kết quả này được giải thích rằng, nhiệt năng cung cấp chưa đủ lớn để phá vỡ các liên kết giữa những phân tử tinh thể lỏng, do đó chúng chỉ dao động xung quanh trục phân tử và làm mất đi một phần trật tự định hướng.

Tại điểm chuyển pha thứ hai $T_2=0,747$, tương ứng với đỉnh thứ hai của nhiệt dung riêng trong hình 1B. Các phân tử bắt đầu có sự mất trật tự về vị trí được thể hiện qua sự tăng lên của độ khuếch tán (hình 4), đồng thời trật tự định



Hình 4. Đồ thị hệ số khuếch tán theo nhiệt độ T sử dụng thuật toán Metropolis.

hướng cũng giảm (hình 2A). Rõ ràng, khi nhiệt độ của hệ tăng dần lên các phân tử ở một số lớp ngoài cùng bắt đầu tan chảy ra, thể hiện sự mất trật tự cả về định hướng và vị trí.

Tại điểm chuyển pha thứ ba $T_3=0,832$, ta thấy sự giảm đột ngột của thông số trật tự định hướng M trong hình 2A và đỉnh nhọn trong đồ thị χ , thông số trật tự vị trí cũng tăng rất nhanh trong hình 4. Điều này cho thấy, tại nhiệt độ chuyển pha này, các phân tử ở các lớp còn lại mất hoàn toàn trật tự định hướng và trật tự vị trí, hay nói cách khác, tại nhiệt độ này pha smectic chuyển sang pha đẳng hướng. Sự gián đoạn của thông số trật tự trên hình 2A tại nhiệt độ T_3 là một trong những dấu hiệu của chuyển pha bậc nhất.

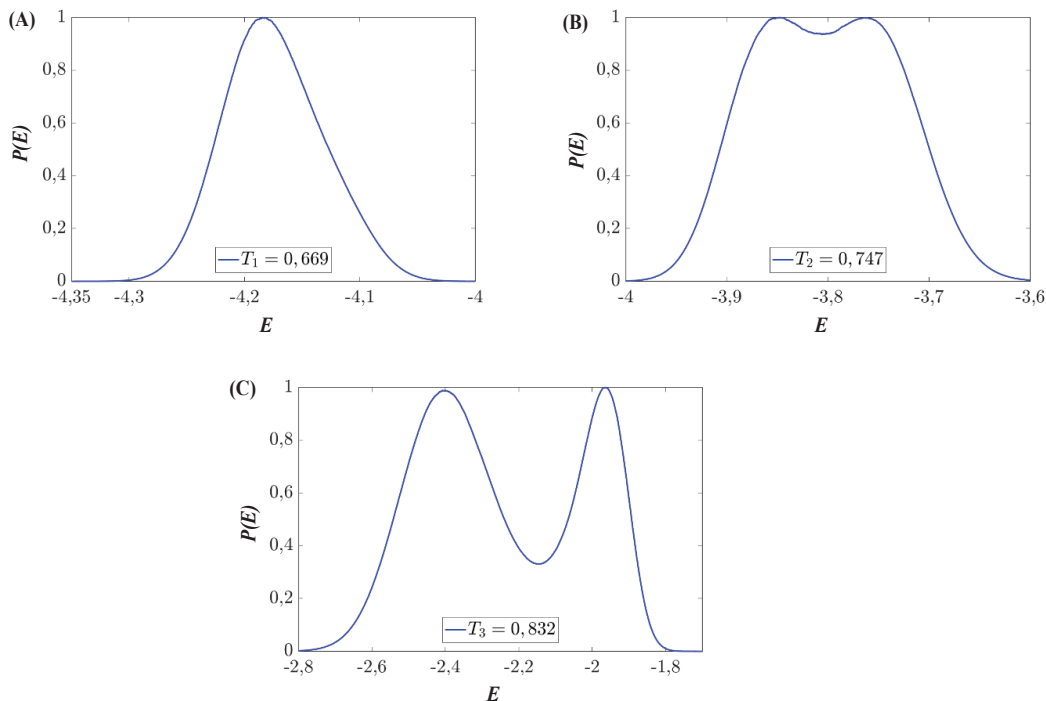
Để khảo sát chi tiết bậc chuyển pha tại từng điểm nhiệt độ chuyển pha. Chúng tôi thiết lập biểu đồ phân bố năng lượng tại các điểm nhiệt độ trên. Kết quả thu được cho thấy, tại nhiệt độ T_1 , đồ thị có dạng phân bố Gauss trên hình 5A là đặc trưng của chuyển pha bậc 2, tương ứng với chuyển pha mất trật tự định hướng của các phân tử định xứ tại các lớp bề mặt, hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu trước đây về mô hình Potts [15]. Tại nhiệt độ T_2 và T_3 , đồ thị phân bố năng lượng theo nhiệt độ có đỉnh kép (hình 5B và 5C) đã minh chứng cho loại chuyển pha bậc nhất trong chuyển pha tinh thể lỏng smectic. Tại hai nhiệt độ này, hệ đồng thời xảy ra mất trật tự về định hướng và trật tự vị trí.

So sánh với kết quả của nghiên cứu trước [10], mặc dù xét trong mạng tinh thể 3 chiều, nhưng do liên kết giữa các phân tử ở các lớp lân cận là rất yếu nên mô hình có thể xem như “giả” 2 chiều (quasi-2D). Mặc dù mô hình đã mô tả tốt quá trình tan chảy của smectic theo từng lớp (từ lớp bề mặt đến các lớp bên trong), tuy nhiên chưa thực sự khảo sát chi tiết được hành vi của các phân tử khi xảy ra quá trình chuyển pha. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thêm thế năng Lennard-Jones, tăng độ lớn liên kết giữa các phân tử ở khác lớp, đưa mô hình về 3 chiều (3D), đồng thời giảm độ linh động của các phân tử tinh thể lỏng.

Các kết quả thực nghiệm về chuyển pha smectic - đẳng hướng, với một số loại hợp chất khác nhau như cấu trúc hạt virus semi-flexible [16], hợp chất 12 CB [17], đã tìm ra chuyển pha smectic bậc nhất. Bên cạnh đó, kết quả thực nghiệm cũng tìm thấy sự đồng tồn tại pha smectic và pha đẳng hướng tương ứng với khoảng nhiệt độ khi bắt đầu xảy ra quá trình chuyển pha và chuyển pha hoàn toàn ở nhiệt độ cao. Quá trình này đã được giải thích chi tiết nhờ những kết quả mô phỏng của chúng tôi.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, pha smectic của tinh thể lỏng bao gồm các phân tử sắp xếp theo từng lớp, mỗi lớp gồm các phân tử có cùng định hướng được mô phỏng bằng mô hình Potts linh động 6 trạng thái. Rõ ràng, các phân tử duy trì



Hình 5. Kết quả mô phỏng Monte Carlo sử dụng thuật toán Wang-Landau. (A) Đồ thị hàm phân bố theo năng lượng E tại nhiệt độ $T_1=0,669$; (B) Đồ thị hàm phân bố theo năng lượng E tại nhiệt độ $T_2=0,747$; (C) Đồ thị hàm phân bố theo năng lượng E tại nhiệt độ $T_3=0,832$.

cấu trúc pha bởi trật tự định hướng và trật tự vị trí được biểu diễn thông qua các tương tác vi mô trong biểu thức Hamiltonian. Kết quả mô phỏng của chúng tôi đã trình bày chi tiết quá trình chuyển pha smectic - đẳng hướng hay hành vi của các nguyên tử trong quá trình nhiệt độ của hệ tăng dần và dẫn tới chuyển pha. Cụ thể, khi nhiệt độ của hệ tăng lên đến khoảng $T_f=0,669$, các phân tử ở lớp bề mặt bắt đầu mất trật tự định hướng và sau đó di chuyển lên những vị trí trống. Trong khi đó, các phân tử ở các lớp lõi bên trong cấu trúc tinh thể lỏng vẫn giữ nguyên trật tự định hướng và trạng thái tinh thể lỏng. Khi nhiệt độ của hệ đạt giá trị đủ lớn $T_s=0,832$, trật tự định hướng và trật tự vị trí mất hoàn toàn, pha smectic chuyển sang pha chất lỏng đẳng hướng. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu đã giảm được số chuyển pha trung gian so với nghiên cứu trước (chỉ còn một chuyển pha tại $T_2=0,747$) và chuyển pha ở nhiệt độ cao thể hiện rõ là chuyển pha bậc nhất, hoàn toàn phù hợp với kết quả thực nghiệm. Tuy nhiên, mô hình mô phỏng còn bị giới hạn bởi số trạng thái khả dĩ của các phân tử tinh thể lỏng. Trong các nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi sẽ xây dựng một số mô hình spin như mô hình spin XY, mô hình Heisenberg nhằm mô tả tốt hơn về trạng thái của các phân tử tinh thể lỏng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu thuộc Trung tâm Vật lý Quốc tế, Viện Vật lý, mã số ICP.2022.16. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.J. Cristaldi, S. Pennisi, F. Pulvirenti (2009), *Liquid Crystal Display Drivers: Techniques and Circuits*, Dordrecht Springer, 2, pp.1-2.
- [2] I.C. Khoo (2022), *Liquid Crystals*, John Wiley & Sons, pp.7-10.
- [3] G. Vertogen, W.H.D. Jeu (2012), *Thermotropic Liquid Crystals, Fundamentals*, Springer Science & Business Media, pp.221-244.
- [4] I.C. Gârlea, B.M. Mulder (2017), "The Landau-de Gennes approach revisited: A minimal self-consistent microscopic theory for spatially inhomogeneous nematic liquid crystals", *The Journal of Chemical Physics*, **147(24)**, DOI: 10.1063/1.4993574.
- [5] J.H. Chen, T.C. Lubensky (1976), "Landau-Ginzburg mean-field theory for the nematic to smectic-C and nematic to smectic-A phase transitions", *Physical Review A*, **14(3)**, DOI: 10.1103/PhysRevA.14.1202.
- [6] K.C. Chu, W.L. McMillan (1977), "Unified Landau theory for the nematic, smectic A, and smectic C phases of liquid crystals", *Physical Review A*, **15(3)**, DOI: 10.1103/PhysRevA.15.1181.
- [7] W.L. McMillan (1971), "Simple molecular model for the smectic A phase of liquid crystals", *Physical Review A*, **4(3)**, DOI: 10.1103/PhysRevA.4.1238.
- [8] U. Fabbri, C. Zannoni (1986), "A Monte Carlo investigation of the Lebwohl-Lasher lattice model in the vicinity of its orientational phase transition", *Molecular Physics*, **58(4)**, pp.763-788, DOI: 10.1080/00268978600101561.
- [9] R. Berardi, C. Fava, C. Zannoni (1995), "A generalized Gay-Berne intermolecular potential for biaxial particles", *Chemical Physics Letters*, **236(4-5)**, pp.462-468, DOI: 10.1016/0009-2614(95)00212-M.
- [10] V.T. Ngo, P.T. Nguyen, H.T. Diep (2020), "Statistical physics approach to liquid crystals: Dynamics of mobile Potts model leading to smectic phase, phase transition by Wang-Landau method", *Entropy*, **22(11)**, DOI: 10.3390/e22111232.
- [11] F.Y. Wu (1982), "The Potts model", *Reviews of Modern Physics*, **54(1)**, pp.235-268, DOI: 10.1103/RevModPhys.54.235.
- [12] A.B. Reyre, H.T. Diep (2015), "Phase transition of mobile Potts model for liquid crystals", *Physics Procedia*, **75**, pp.557-564, DOI: 10.1016/j.phpro.2015.12.071.
- [13] F. Wang, D.P. Landau (2001), "Determining the density of states for classical statistical models: A random walk algorithm to produce a flat histogram", *Physical Review E*, **64(5)**, DOI: 10.1103/PhysRevE.64.056101.
- [14] V.T. Ngo, D.T. Hoang, H.T. Diep (2011), "Flat energy-histogram simulation of the phase transition in an Ising fully frustrated lattice", *Journal of Physics: Condensed Matter*, **23(22)**, DOI: 10.48550/arXiv.1012.5667.
- [15] A.B. Reyre, H.T. Diep, M. Kaufman (2015), "Phase transition and surface sublimation of a mobile Potts model", *Physical Review E*, **92(4)**, DOI: 10.1103/PhysRevE.92.042160.
- [16] Z. Dogic, S. Fraden (1997), "Smectic phase in a colloidal suspension of semiflexible virus particles", *Physical Review Letters*, **78(12)**, DOI: 10.1103/PhysRevLett.78.2417.
- [17] H.J. Coles, C. Strazielle (1979), "Pretransitional behaviour of the direct isotropic to smectic A phase transition of dodecylcyanobiphenyl (12CB)", *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, **49(8)**, pp.259-264, DOI: 10.1080/00268944908070422.

Phân hủy các hợp chất chống cháy cơ photpho bởi tổ hợp các chủng vi khuẩn phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội

Nguyễn Thị Lan Anh*, Trần Thị Thu Lan, Phạm Thị Phương, Trần Thị Thu Hiền, Đào Hải Yến

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/7/2023; ngày chuyển phản biện 23/7/2023; ngày nhận phản biện 4/8/2023; ngày chấp nhận đăng 8/8/2023

Tóm tắt:

Hợp chất chống cháy cơ photpho (OPFRs) bị phân hủy bởi tổ hợp 10 chủng vi khuẩn được phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội bị ô nhiễm các OPFRs. Tổ hợp vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường A-CI có bổ sung riêng lẻ các hợp chất thuộc OPFRs (nồng độ 10 mg/l) cho kết quả mật độ quang ở bước sóng 600 nm nằm trong khoảng 1-1,5. Tổ hợp 10 chủng vi khuẩn này có khả năng phân hủy tris(2-ethylhexyl) phosphate (TEHP) đạt hiệu suất 98,5 và 100% sau 2 và 3 ngày nuôi. Triethyl phosphate (TEP) cũng bị phân hủy 76,1 và 100% sau 2 và 5 ngày nuôi cấy. Hiệu suất phân hủy trimethyl phosphate (TMP), tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TCDPP) và tributoxy ethyl phosphate (TBEP) đạt 97-100% sau 4 ngày nuôi. Trong thí nghiệm bổ sung hỗn hợp 7 chất thuộc OPFRs có nồng độ 10 mg/l mỗi hợp chất, chỉ có TEHP bị phân hủy hoàn toàn sau 6 ngày nuôi. Hiệu suất phân hủy của các OPFRs khác tăng lên từ 93,2 đến 100% sau 6 ngày nuôi. So sánh tốc độ phân hủy các hợp chất thuộc OPFRs ở cả 2 thí nghiệm, kết quả thể hiện mẫu nuôi cấy có bổ sung từng hợp chất riêng lẻ cho tốc độ phân hủy xảy ra nhanh hơn so với khi bổ sung hỗn hợp các OPFRs.

Từ khóa: các hợp chất chống cháy cơ photpho (OPFRs), phân hủy, tributoxy ethyl phosphate, triethyl phosphate, tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate, tris(2-chloroethyl) phosphate, tris(2-ethylhexyl) phosphate.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.6

1. Đặt vấn đề

OPFRs là các hợp chất mà nguyên tử hydro của axit photphoric được thay thế bằng các nhóm thế hydrocarbon khác nhau như aryl, ankyl và ankyl clo hóa. Các hợp chất này có tác dụng ức chế hóa học đối với quá trình đốt cháy và có xu hướng giảm tính dễ cháy của các sản phẩm chứa chúng. Các OPFRs được sử dụng rộng rãi làm chất chống cháy trong các sản phẩm tiêu dùng khác nhau như dệt may, điện tử, vật liệu công nghiệp và đồ nội thất để ngăn ngừa nguy cơ hỏa hoạn. Ngoài ra, chúng cũng được sử dụng trong sản xuất chất làm dẻo, chống tạo bọt hoặc chống mài mòn trong sơn mài, chất lỏng thủy lực và đánh bóng sàn [1]. Các OPFRs đại diện cho một nhóm các hợp chất có phạm vi rộng về độ phân cực, hòa tan và độ bền của chúng. Hiện nay, các hợp chất polybrominated diphenyl ethers (PBDE) đã bị cấm sử dụng trong các ngành công nghiệp do tính bền vững, khả năng tích lũy sinh học trong chuỗi thức ăn dưới nước và trên cạn cũng như độc tính của nó. Do đó, việc sản xuất và sử dụng các OPFRs đã tăng lên đáng kể trong những năm gần đây. Tiêu thụ toàn cầu của các chất chống cháy photpho hữu cơ tăng từ 186.000 tấn năm 2001 lên 680.000 tấn năm 2015, với ước tính tăng hàng năm là 4,6% [2]. Các nước châu Á - Thái Bình Dương (như Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản và Hàn Quốc) tạo thành thị trường khu vực lớn

nhất cho OPFR và chiếm 55% lượng tiêu thụ OPFRs toàn cầu vào năm 2018 [2]. Hầu hết các hợp chất chống cháy (halogen, cơ photpho) được phân tán vật lý và tạo liên kết yếu với vật liệu nền trong quá trình tổng hợp nên chúng dễ dàng được phóng thích vào môi trường thông qua các quá trình bay hơi và biến đổi của vật liệu trong suốt quá trình sử dụng sản phẩm. Do đó, các OPFRs đã được phát hiện trong các môi trường khác nhau, bao gồm không khí trong nhà và bụi, khí quyển, nước thải, nước bề mặt, nước biển, đất, trầm tích và các mẫu sinh học như máu, sữa và nhau thai [3].

Các nghiên cứu gần đây tập trung vào việc đánh giá độc tính của OPFRs và các tác động tiêu cực có thể có của chúng. Con người khi bị nhiễm OPFRs do tiếp xúc qua da, hay qua đường ăn uống sẽ gây ra ảnh hưởng xấu đến sức khỏe như nhiễm độc thần kinh, nhiễm độc tế bào, nhiễm độc gen, rối loạn nội tiết và có tác dụng gây ung thư tiềm tàng ở các sinh vật sống... [4]. Đặc biệt là mối lo ngại về cụm este photphat có chứa nhóm clo của chất chống cháy gồm TCEP, tris(2-chloroisopropyl) phosphate (TCPP) và tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP). Hợp chất TCEP và tri-n-butyl phosphate (TnBP) được báo cáo là có đặc tính gây độc thần kinh sau khi tiếp xúc lâu dài. Ngoài ra, TCEP và TDCPP đã được chứng minh là những chất gây ung thư, trong khi TCPP và TBEP cũng bị nghi ngờ là

*Tác giả liên hệ: Email: lananh86dn@gmail.com

Degradation of organophosphate flame retardants by a consortium of bacterial strains isolated from the Tô Lịch river, Hanoi

Thi Lan Anh Nguyen*, Thi Thu Lan Tran,
Thi Phuong Pham, Thi Thu Hien Tran, Hai Yen Dao

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

Received 21 July 2023; revised 4 August 2023; accepted 8 August 2023

Abstract:

Organophosphate flame retardants (OPFRs) are degraded by a consortium of 10 bacterial strains isolated from the Tô Lịch river, contaminated with OPFRs. The bacterial consortium is cultured in an A-Cl medium supplemented individually with OPFRs (10 mg/l), resulting in optical density at 600 nm ranging from 1 to 1.5. The consortium of 10 bacterial strains exhibits the ability to degrade tris(2-ethylhexyl) phosphate (TEHP) by 98.5 and 100% after two and three days of cultivation, respectively. Triethyl phosphate (TEP) is also degraded by 76.1 and 100% after two and five days of cultivation, respectively. The degradation efficiency of trimethyl phosphate (TMP), tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TCDPP), and tributoxo ethyl phosphate (TBEP) is also in the range of 97 to 100% after four days of cultivation. In the experiment adding a mixture of 7 substances in OPFRs at a concentration of 10 mg/l for each compound, only TEHP is completely degraded after six days of cultivation. The degradation efficiency of other OPFRs increases from 93.2 to 100% after six days of cultivation. Comparing the degradation rates of OPFRs in both experiments, the results indicate that the cultures supplemented with each compound individually exhibit a faster degradation rate than when a mixture of OPFRs compounds is added.

Keywords: degradation, organophosphorus flame retardants (OPFRs), tributoxo ethyl phosphate, triethyl phosphate, tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate, tris(2-chloroethyl) phosphate, tris(2-ethylhexyl) phosphate.

Classification numbers: 1.4, 1.6

chất gây ung thư [5]. Nghiên cứu của X. Liu và cs (2012) [6] cho thấy, một số hợp chất OPFR như TDCPP, triphenyl phosphate (TPhP), TCrP có khả năng gây rối loạn nội tiết và có thể ảnh hưởng đến sự cân bằng hormone giới tính.

Do nhu cầu sử dụng các OPFRs ngày càng tăng và ảnh hưởng xấu đến sức khỏe, nên sự xuất hiện của OPFRs đối với môi trường là mối quan tâm lớn đối với các ngành khoa học và công nghiệp trong những năm gần đây. Ngoài ra, các OPFRs thuộc nhóm alkyl clo hóa được coi là những chất gây ô nhiễm bền do khả năng khó phân hủy của chúng. Cho đến nay, một số phương pháp loại bỏ OPFRs đã được nghiên cứu, như quang xúc tác, phản ứng Fenton và sự phân hủy bằng vi sinh vật [7]. Trong các phương pháp nêu trên thì xử lý bằng phương pháp sinh học được xem là một cách tiếp cận phù hợp để loại bỏ các OPFRs không mong muốn một cách hiệu quả, tiết kiệm chi phí và thân thiện với môi trường. Hiện nay, trên thế giới có ít nghiên cứu về các vi sinh vật thuần khiết có khả năng phân hủy các OPFRs. Một số chủng vi khuẩn thuộc chi *Roseobacter*, *Rhodococcus*, *Sphingopyxis* [7], *Sphingomonas*, *Sphingobium* và *Brevibacillus* [8] đã được báo cáo có khả năng phân hủy các OPFRs. Theo các tài liệu tiếp cận được, hiện nay nghiên cứu về khả năng phân hủy các OPFRs bằng vi sinh vật ở Việt Nam còn ít. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá khả năng phân hủy các OPFRs bởi tổ hợp vi khuẩn được phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội bị ô nhiễm các OPFRs.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Các chủng vi khuẩn *Achromobacter* sp. BWTL1, *Pseudomonas* sp. BWTL2, *Bordetella* sp. BWTL3, *Pseudomonas* sp. BWTL4, *Pseudomonas* sp. BWTL5, *Achromobacter* sp. BWTL6, *Rhizobium* sp. BWTL7, *Rhizobium* sp. BWTL8, *Pseudomonas* sp. BWTL9 và *Pseudomonas* sp. BWTL10 được lấy từ bộ sưu tập của Phòng Hóa sinh Môi trường, Viện Hóa học có nguồn gốc được phân lập từ nước thải sông Tô Lịch bị ô nhiễm các OPFRs.

Môi trường A-Cl có thành phần môi trường: glucose 10 g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g/l, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,032 g/l, cao nấm men 0,5 và 1 ml/l dung dịch vi lượng, pH 7. Dung dịch vi lượng bao gồm 500 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 143 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 22 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 12 mg $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 2,3 mg $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và 2 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ trong 1 l nước cất [9].

Hóa chất: 7 chất tiêu chuẩn chống cháy cơ photpho, gồm TMP, TEP, TEHP, TBEP, TPhP, TCEP và TDCPP được cung cấp bởi Dr. Ehrenstorfer (LCG, Đức). Các chất chuẩn

đồng hành (TEP-d15, phosphoric acid tripropyl ester-d21 phosphoric acid, tributyl ester-d27, triphenyl phosphate-d15 và tris(2-ethylhexyl) phosphate-d51) được cung cấp bởi Toronto Research Chemicals Inc. (Canada). Dung môi phân tích methanol được cung cấp bởi Công ty Merck (Đức). Tất cả các dụng cụ thủy tinh đã được rửa và tráng bằng dung môi trước khi sử dụng. Methanol được sử dụng để chuẩn bị dung dịch hỗn hợp (chứa tất cả các chất phân tích, nồng độ 4.000 mg/l) và dung dịch đường chuẩn (1-100 μ g/l) được sử dụng trong khi phân tích nồng độ của các OPFRs. Dung dịch gốc hỗn hợp đã chuẩn bị được giữ ở -20°C.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Sự phân hủy các OPFRs bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy ở 150 vòng/phút, 30°C trong 24 giờ để tăng sinh khối. Sau đó, dịch nuôi cấy tế bào được ly tâm (6.000 vòng/phút trong 10 phút) và được rửa 3 lần bằng môi trường A-Cl. Dịch nuôi cấy huyền phù (OD₆₀₀~0,2) của 10 chủng vi khuẩn được chuyển sang bình tam giác 250 ml có chứa 80 ml môi trường A-Cl đã bổ sung 10 mg/l OPFRs riêng lẻ (thí nghiệm 1) và hỗn hợp 7 OPFRs với nồng độ 10 mg/l mỗi hợp chất (thí nghiệm 2) là nguồn carbon và photpho để đánh giá sự phân hủy các OPFRs trong 6 ngày nuôi cấy (theo cơ chế đồng trao đổi chất). Mẫu đối chứng chỉ chứa môi trường và các OPFRs có nồng độ như trên. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Mẫu nuôi cấy được lấy tại thời điểm 0, 1, 2, 3, 4, 5 và 6 ngày để xác định nồng độ của các OPFRs và tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn dựa trên phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 600 nm (OD₆₀₀) sử dụng máy quang phổ Hitachi UV-2900 (Hitachi, Nhật Bản).

2.2.2. Định lượng hợp chất OPFR

Hệ thống UHPLC (UltiMate 3000+, Thermo Scientific, MA, Mỹ) kết hợp với máy quang phổ MS/MS (API 3200), hệ thống sinh học ứng dụng - MDS SCIEX (Mỹ) được sử dụng để phân tích các OPFRs trong nghiên cứu này. Cột HILIC chế độ hỗn hợp Acclaim (2,1×150 mm, 5 μ m, Thermo Fisher) đã được chọn để tách các chất phân tích mục tiêu. Nhiệt độ buồng cột được duy trì ở 35°C. Pha di động bao gồm 2 kênh, kênh A (nước siêu tinh khiết) và kênh B (acetonitrile). Tốc độ dòng pha động là 0,3 ml/phút. Chương trình gradient dung môi được minh họa như sau: giữ 30% kênh B trong 5 phút đầu tiên, tăng tuyến tính lên 70% kênh B sau 8 phút, tăng nhanh lên 100% kênh B sau 13 phút, sau đó giảm dần xuống chỉ còn 30% kênh B sau 15 phút, duy trì tối đa 20 phút trước khi tiêm mẫu tiếp theo.

Trong máy dò MS/MS, chế độ ion hóa phun điện dương [10] và chế độ giám sát nhiều phản ứng (MRM) đã được sử dụng. Các thông số chính tối ưu bao gồm: điện áp phun ion 5.000 V, áp suất khí va chạm 0,02 MPa, áp suất khí vô bọc 0,18 MPa và áp suất khí phụ 0,22 MPa. Nhiệt độ nguồn được đặt ở 400°C. Phần mềm TraceFinder 4.0 được sử dụng để xử lý tập dữ liệu.

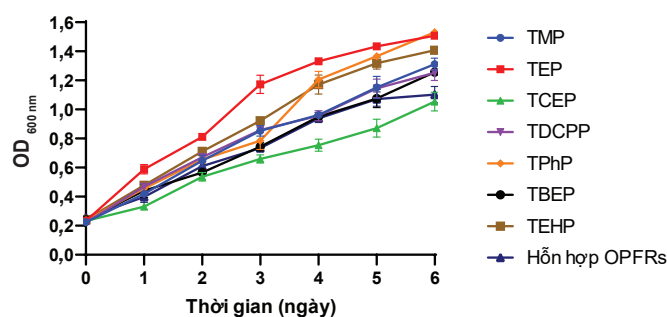
2.2.3. Phân tích thống kê

Dữ liệu và phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism 8.0.2. Tất cả các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần và biểu thị dưới dạng $\pm$ độ lệch chuẩn. Phân tích phương sai 1 chiều (ANOVA) được sử dụng để xác định sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị, sau đó là thử nghiệm so sánh bội số T3 của Dunnett. Xác suất $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đường cong sinh trưởng của hỗn hợp các chủng vi khuẩn trên môi trường có bổ sung OPFRs

Kết quả ở hình 1 cho thấy, khả năng sinh trưởng của các mẫu nuôi cấy có bổ sung các OPFRs khác nhau và OD₆₀₀ đạt 1,05 đến 1,5 sau 6 ngày nuôi cấy. Tuy nhiên, trên môi trường có bổ sung hợp chất TPhP và TEP, hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn sinh trưởng tốt nhất và đạt giá trị mật độ quang ~1,5 sau 6 ngày. Mật độ quang thấp nhất của hỗn hợp các chủng vi khuẩn được quan sát trên môi trường A-Cl có bổ sung thêm hợp chất TCEP đạt giá trị OD₆₀₀=1,054. Hỗn hợp các chủng vi khuẩn nuôi trên các môi trường có bổ sung các OPFRs khác cho mật độ quang nằm trong khoảng từ 1,1 đến 1,4. Trên môi trường A-Cl có bổ sung hỗn hợp các OPFRs, các chủng vi khuẩn phát triển chậm hơn so với mẫu nuôi cấy chỉ bổ sung riêng lẻ từng OPFRs, OD₆₀₀ đạt 1,1 sau 6 ngày nuôi cấy (hình 1).



Hình 1. Đường cong sinh trưởng của tổ hợp các chủng vi khuẩn trên môi trường A-Cl có bổ sung các OPFRs.

Trong quá trình phân hủy của từng OPFRs, R. Hou và cs (2021) [11] cũng nhận thấy sinh khối vi sinh vật tăng mạnh với OD₆₀₀ khi tăng dần từ 0,1 đến 2,5. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu này, khi thấy có sự tăng trưởng và phát triển của các chủng vi khuẩn sau 6 ngày nuôi cấy trên môi trường có bổ sung các OPFRs. Trong quá trình sinh trưởng vi sinh vật dần thích nghi và sử dụng OPFRs làm nguồn carbon và photpho cho sự tồn tại của chúng. Trong hệ thống trao đổi chất, chất nền để phân hủy được ưu tiên sử dụng làm nguồn năng lượng và nguồn carbon cho sự phát triển của vi sinh vật trước khi các OPFRs cung cấp đủ lượng carbon. Theo đó, quá trình đồng chuyển hóa của OPFRs không halogen hóa và các nguồn hữu cơ bên ngoài có thể tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân hủy các chất ô nhiễm này.

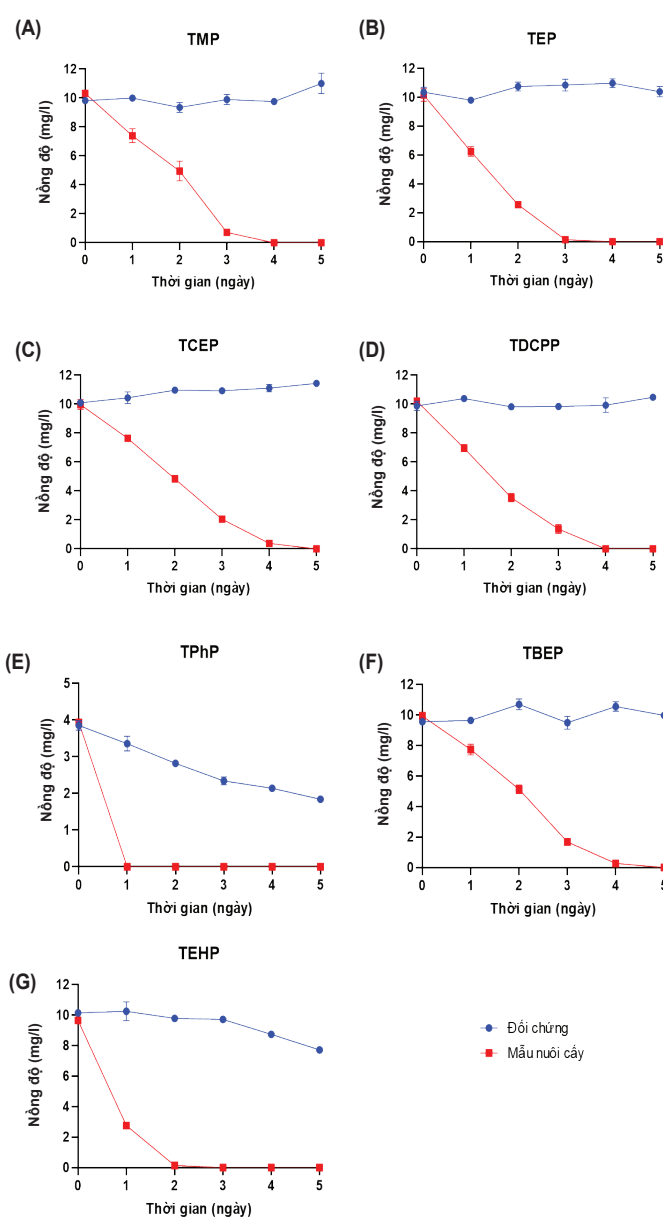
3.2. Khả năng phân hủy riêng lẻ các chất thuộc OPFRs bởi tổ hợp các chủng vi khuẩn (thí nghiệm 1)

Khả năng phân hủy mỗi hợp chất OPFRs trong môi trường A-Cl có bổ sung riêng từng loại hợp chất OPFRs (10 mg/l) bởi hỗn hợp 10 vi khuẩn được khảo sát trong 6 ngày nuôi cấy và kết quả thể hiện ở bảng 1 và hình 2. Sau 1 ngày, hiệu suất phân hủy của các hợp chất TMP, TEP, TCEP, TDCPP, TBEP và TEHP bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn còn thấp, trong khi hỗn hợp các chủng vi khuẩn phân hủy TPhP đạt 100%, khác biệt có ý nghĩa so với các OPFRs còn lại (bảng 1 và hình 2). Tuy nhiên, kết quả phân tích ở hình 2 cho thấy, hợp chất TPhP rất dễ bị phân hủy ngay cả khi không có mặt của vi sinh vật (mẫu đối chứng). Sau 2 ngày, hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy TEHP cao nhất đạt 98,5%, tiếp theo là TEP với hiệu suất phân hủy 76,1%. Ở ngày thứ 3, hiệu suất phân hủy TMP, TCEP, TEP, TDCPP, TBEP và TEHP cũng tăng cao (81,2-100%), trong đó hỗn hợp các chủng vi khuẩn phân hủy TEP và TEHP cao nhất đạt lần lượt 98,7 và 100%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng. Khả năng phân hủy các OPFRs của hỗn hợp các chủng vi khuẩn tiếp tục tăng sau 4 ngày nuôi cấy, trong đó TMP, TEP, TDCPP, TPhP và TEHP có hiệu suất phân hủy cao nhất (100%). Tiếp theo là 2 hợp chất TCEP và TBEP cũng đạt hiệu suất phân hủy lần lượt là 97 và 97,3%. Đến ngày thứ 5, sự phân hủy các OPFRs đạt 100% (bảng 1 và hình 2).

Bảng 1. Hiệu suất phân hủy các hợp chất OPFRs theo thời gian bởi tổ hợp vi khuẩn.

Thời gian (ngày)	Hiệu suất phân hủy (%)						
	TMP	TEP	TCEP	TDCPP	TPhP	TBEP	TEHP
0	0 ^a	2	1,3	0,1 ^b	0,7	0 ^c	4,9 ^{b,c}
1	26 ^{abcd}	36,1 ^{acfg}	26,7 ^{eik}	33 ^{imno}	100 ^{klmpq}	19,8 ^{ceopr}	73 ^{dhloqr}
2	48,9 ^{abcde}	76,1 ^{afghik}	55,8 ^{bfimno}	63,9 ^{eglpqr}	100 ^{klmp}	52 ^{inq}	98,5 ^{ckor}
3	92,7 ^{abcdef}	98,7 ^{aghi}	81,2 ^{bgklm}	86,1 ^{chkn}	100 ^{klmp}	82,2 ^{ceipq}	100 ^{fmnoq}
4	100	100	97	100	100	97,3	100
5	100	100	100	100	100	100	100

Các giá trị trung bình trong cùng một ngày theo sau có các ký tự giống nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.



Hình 2. Khả năng phân hủy các chất thuộc OPFRs theo thời gian bởi tổ hợp 10 chủng vi khuẩn.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tổ hợp chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy hiệu quả cao đối với OPFR clo hóa cũng tương đồng với công bố của S. Takahashi và cs (2010) [9]. Nghiên cứu này đã chứng minh rằng, 2 chủng *Sphingomonas* sp. TDK1 và *Sphingobium* sp. TCM1 có khả năng phân hủy TCEP và TDCPP một cách hiệu quả bằng cách thủy phân các liên kết phosphotriester của chúng, tạo ra 2-chloroethanol (2-CE) và 1,3-dichloro-2-propanol (1,3-DCP) dưới dạng chất chuyển hóa tương ứng từ TCEP và TDCPP. J. He và cs (2023) [12] đã công bố chủng vi khuẩn phân lập *Ochrobactrum tritici* WX3-8 có khả năng phân hủy 75% TEHP sau 104 giờ trong điều kiện tối ưu tại 30°C và

pH 7. Phân tích sâu hơn về con đường trao đổi chất cho thấy, con đường chuyển hóa phân hủy sinh học TEHP có thể là: tri(2-ethylhexyl) phosphate → di(2-ethylhexyl) phosphate → mono(2-ethylhexyl) phosphate → axit photphoric và tạo ra 2-ethylhexanol. Kết quả cho thấy, TEHP được chuyển hóa bởi phản ứng O-dealkyl hóa [12]. 2 mẫu làm giàu từ hỗn hợp các chủng vi khuẩn *Acidovorax* spp., *Sphingomonas* spp. và hỗn hợp của *Acidovorax* spp., *Aquabacterium* spp., *Sphingomonas* spp. có khả năng sử dụng 20 μ M TCEP và TDCPP như là nguồn photpho duy nhất và phân hủy hoàn toàn trong 6 giờ [13].

3.3. Khả năng phân hủy OPFRs bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn (thí nghiệm 2)

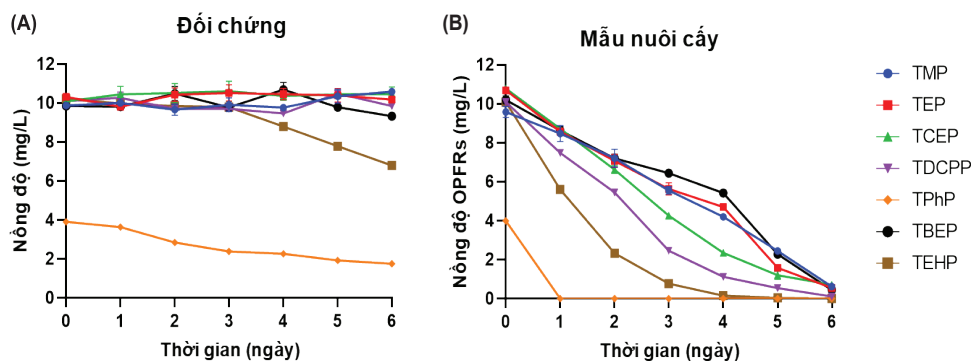
Ở thí nghiệm 2, hỗn hợp cả 7 OPFRs có nồng độ 10 mg/l/mỗi hợp chất được bổ sung cùng lúc vào môi trường nuôi cấy A-Cl để đánh giá sự phân hủy của các OPFRs bởi tổ hợp vi khuẩn. Nhìn chung, hiệu suất phân hủy của tất cả các OPFRs đều tăng sau 6 ngày nuôi cấy (bảng 2 và hình 3). Trong đó, hợp chất TPhP và TEHP cho hiệu suất phân hủy cao nhất sau 1 và 6 ngày nuôi cấy (100%) so với các OPFRs còn lại (bảng 2 và hình 3). Tuy nhiên, kết quả phân tích cho thấy, hợp chất TPhP dễ bị phân hủy ngay cả khi không có mặt của vi sinh vật. Trong môi trường A-Cl có bổ sung hỗn hợp các hợp chất OPFRs, khả năng phân hủy của mỗi hợp chất OPFRs còn thấp sau 1 ngày nuôi cấy, trong đó hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy TEHP cao hơn các OPFRs còn lại (43,8%). Sau 3 ngày, TEHP đạt hiệu suất phân hủy cao nhất (92,1%), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các hợp chất OPFRs còn lại. Đến ngày thứ 5, hiệu suất phân hủy của các OPFRs tăng lên (76,2-99,4%), cao nhất là hợp chất TEHP (99,4%) và TDCPP (94,8%). Hiệu suất phân hủy của các hợp chất OPFRs tăng cao sau 6 ngày nuôi cấy, trong đó hợp chất TEHP bị phân hủy cao nhất (100%), khác biệt có ý nghĩa so với hợp chất TMP, TEP, TCEP và TBEP ở mức ý nghĩa $p < 0,05$. Sau 6 ngày nuôi cấy, sự phân hủy TMP, TEP, TCEP và TBEP bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (hình 3).

Bảng 2. Hiệu suất phân hủy theo thời gian của hỗn hợp các hợp chất OPFRs bởi tổ hợp vi khuẩn.

Thời gian (ngày)	Hiệu suất phân hủy (%)						
	TMP	TEP	TCEP	TDCPP	TPhP	TBEP	TEHP
0	3,2	0	0	1,4	0	0	1,1
1	15,2 ^{abc}	12,6 ^{def}	16,4 ^{ghi}	27 ^{adghlm}	100 ^{behkno}	12 ^{hnp}	43,8 ^{cimop}
2	25,3 ^{abcdef}	32 ^{ghik}	36,9 ^{ghlmop}	43,8 ^{ghlqrs}	100 ^{dimgtu}	31,3 ^{cortv}	76,3 ^{hpsuv}
3	43,9 ^{abacde}	46,5 ^{fghik}	59,7 ^{afimno}	74,6 ^{ghlqrs}	100 ^{chmsr}	34,1 ^{dimpnt}	92,1 ^{ckoqst}
4	56,9 ^{abacde}	55 ^{fghik}	77,3 ^{afimno}	88,2 ^{ghlqrs}	100 ^{chmps}	49,2 ^{dinqst}	98,2 ^{ckort}
5	76,2 ^{abacde}	84,7 ^{afghik}	88,5 ^{bklmno}	94,8 ^{cikopq}	100 ^{dglro}	76,7 ^{hnp}	99,4 ^{cinq}
6	94,1 ^{abc}	94,5 ^{de}	93,2 ^{fgh}	98,8 st	100 ^{bqrs}	95,3 ^{ik}	100 ^{chik}

Các giá trị trung bình trong cùng một ngày theo sau có các ký tự giống nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

Tuy nhiên, khi so sánh với kết quả ở bảng 1 cho thấy, khi được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung hỗn hợp của cả 7 hợp chất OPFRs, hiệu suất phân hủy của mỗi hợp chất OPFRs sau 6 ngày nuôi cấy ở thí nghiệm 2 xảy ra chậm hơn so với thí nghiệm 1 chỉ bổ sung riêng từng hợp chất (bảng 1 và bảng 2). Ví dụ từ kết quả ở bảng 1 và 2 cho thấy, sau 3 ngày nuôi cấy, 2 hợp chất OPFRs là TMP và TEP ở thí nghiệm 1 bị phân hủy đạt hiệu suất lần lượt là 92,7 và 98,7%, cao hơn so với hiệu suất phân hủy của 2 hợp chất này ở thí nghiệm 2 (43,9 và 46,5%). Kết quả này có thể là do khi bổ sung hỗn hợp các OPFRs đã làm tăng nồng độ các hợp chất này nên gây ra ức chế tới sinh trưởng của vi khuẩn, do đó làm giá trị OD₆₀₀ giảm (hình 1). Theo công bố của L. Pang và cs (2018) [14], tổ hợp các chủng vi khuẩn thuộc chi *Flavobacteria*, *Bacillus*, *Alcaligene* và *Pseudomonas* có thể phân hủy các hợp chất OPE như là TCEP, TCPP, TnBP, TPhP, TBEP có trong bùn thải bằng cả con đường đồng trao



Hình 3. Khả năng phân hủy hỗn hợp các hợp chất OPFRs theo thời gian bởi hỗn hợp của 10 chủng vi khuẩn. (A) Mẫu đối chứng không bổ sung vi khuẩn; (B) Mẫu nuôi cấy có bổ sung hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn.

đổi chất và khoáng hóa sinh học. Nghiên cứu của Y. Yang và cs (2020) [15] cũng đã chứng minh rằng, *Pseudarthrobacter* và *Sphingopyxis* là các chi chiếm ưu thế trong tổ hợp vi sinh vật trong quá trình phân hủy sinh học TPhP và có khả năng phân hủy 92,2% TPhP hiệu quả trong vòng 4 giờ trong điều kiện tối ưu (pH 7, sinh khối vi khuẩn 1 g/l trọng lượng ướt, 30°C, nồng độ ban đầu TPhP 3 $\mu\text{mol/l}$). Do đó, khi sử dụng hỗn hợp các chủng vi khuẩn có thể làm tăng tốc độ phân hủy các OPFRs.

4. Kết luận

Tổ hợp 10 chủng vi khuẩn phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội bị ô nhiễm các chất OPFRs có khả năng phân hủy cả 7 chất thuộc OPFRs với hiệu suất phân hủy khác nhau. Các mẫu nuôi cấy trên môi trường có bổ sung riêng lẻ từng chất OPFRs cho thấy, tốc độ phân hủy nhanh hơn so với các mẫu nuôi cấy trên môi trường có bổ sung hỗn hợp các chất OPFRs.

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam đánh giá khả năng phân hủy các chất OPFRs bằng tổ hợp các chủng vi khuẩn. Khi sử dụng tổ hợp các chủng vi khuẩn, các chất OPFRs bị phân hủy hoàn toàn trong thời gian ngắn. Dựa vào các kết quả đạt được trong nghiên cứu này, chúng tôi sẽ hướng đến nghiên cứu ứng dụng xử lý các chất ô nhiễm OPFRs trong nước thải ở Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn đề tài “Nghiên cứu sự phân hủy các hợp chất chống cháy cơ phốt pho từ các chủng vi sinh vật phân lập ở Việt Nam” (mã số VHH.2023.10) do Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam hỗ trợ kinh phí nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] X. Zeng, L. Xu, Q. Hu, et al. (2020), “Occurrence and distribution of organophosphorus flame retardants/plasticizers in coastal sediments from the Taiwan Strait in China”, *Marine Pollution Bulletin*, **151**, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.110843.

[2] S. Lee, H.J. Cho, W. Choi, et al. (2018), “Organophosphate flame retardants (OPFRs) in water and sediment: Occurrence, distribution, and hotspots of contamination of Lake Shihwa, Korea”, *Marine Pollution Bulletin*, **130**, pp.105-112, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2018.03.009.

[3] J. Ding, Z. Xu, W. Huang, et al. (2016), “Organophosphate ester flame retardants and plasticizers in human placenta in Eastern China”, *Sci. Total Environ.*, **554-555**, pp.211-217, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.02.171.

[4] M. Chen, Z. Gan, B. Qu, et al. (2019), “Temporal and seasonal variation and ecological risk evaluation of flame retardants in seawater and sediments from Bohai Bay near Tianjin, China during 2014 to 2017”, *Marine Pollution Bulletin*, **146**, pp.874-883, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.07.049.

[5] S.H. Brandsma, J.D. Boer, M.J.M.V. Velzen, et al. (2014), “Organophosphorus flame retardants (PFRs) and plasticizers in house and car dust and the influence of electronic equipment”, *Chemosphere*, **116**, pp.3-9, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.02.036.

[6] X. Liu, K. Ji, K. Choi (2012), “Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish”, *Aquat. Toxicol.*, **114-115**, pp.173-181, DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.02.019.

[7] J. Wang, I. Khokhar, C. Ren, et al. (2019), “Characterization and 16S metagenomic analysis of organophosphorus flame retardants degrading consortia”, *J. Hazard. Mater.*, **380**, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120881.

[8] K. Wei, H. Yin, H. Peng, et al. (2018), “Bioremediation of triphenyl phosphate by *Brevibacillus brevis*: Degradation characteristics and role of cytochrome P450 monooxygenase”, *Sci. Total Environ.*, **627**, pp.1389-1395, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.028.

[9] S. Takahashi, I. Satake, I. Konuma, et al. (2010), “Isolation and identification of persistent chlorinated organophosphorus flame retardant-degrading bacteria”, *Appl. Environ. Microbiol.*, **76(15)**, DOI: 10.1128/AEM.00506-10.

[10] R. Loos, R. Carvalho, D.C. António, et al. (2013), “EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents”, *Water Research*, **47(17)**, pp.6475-6487, DOI: 10.1016/j.watres.2013.08.024.

[11] R. Hou, Y. Wang, S. Zhou, et al. (2021), “Aerobic degradation of nonhalogenated organophosphate flame esters (OPEs) by enriched cultures from sludge: Kinetics, pathways, bacterial community evolution, and toxicity evaluation”, *Science of The Total Environment*, **760**, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143385.

[12] J. He, Z. Wang, F. Zhen, et al. (2023), “Mechanisms of flame retardant tris(2-ethylhexyl) phosphate biodegradation via novel bacterial strain *Ochrobactrum tritici* WX3-8”, *Chemosphere*, **311**, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.137071.

[13] S. Takahashi, K. Kawashima, M. Kawasaki, et al., (2008), “Enrichment and characterization of chlorinated organophosphate ester-degrading mixed bacterial cultures”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **106(1)**, pp.27-32, DOI: 10.1263/jbb.106.27.

[14] L. Pang, L. Ge, P. Yang, et al. (2018), “Degradation of organophosphate esters in sewage sludge: Effects of aerobic/anaerobic treatments and bacterial community compositions”, *Data in Brief*, **17**, pp.1030-1035, DOI: 10.1016/j.biortech.2018.01.104.

[15] Y. Yang, H. Yin, H. Peng, et al. (2020), “Biodegradation of triphenyl phosphate using an efficient bacterial consortium GYY: Degradation characteristics, metabolic pathway and 16S rRNA genes analysis”, *Science of The Total Environment*, **713**, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.136598.

Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá loài Mộc hương balansae (*Aristolochia balansae* Franch.)

Lưu Đàm Ngọc Anh^{1,2*}, Bùi Văn Hướng^{1,2}, Đỗ Văn Trường¹, Nguyễn Thị Kiều Oanh³

¹Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học KH&CN Hà Nội, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/7/2022; ngày chuyển phản biện 4/7/2022; ngày nhận phản biện 26/7/2022; ngày chấp nhận đăng 29/7/2022

Tóm tắt:

Mộc hương balansae (*Aristolochia balansae* Franch.) thuộc phân chi *Siphisia* họ Mộc hương (*Aristolochiaceae*) là loài đặc hữu hẹp, phân bố ở miền Bắc Việt Nam. Nghiên cứu lần đầu tiên xác định thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá được thu tại huyện Bá Thước, tỉnh Thanh Hóa vào tháng 11/2021. Tinh dầu thu nhận được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước sử dụng thiết bị Clevenger và phân tích bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ (GC-MS). Hàm lượng tinh dầu thu được ở lá là 0,15% trọng lượng tươi, tinh dầu có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Thành phần tinh dầu xác định được 63 hợp chất chiếm 78,58% tổng hàm lượng tinh dầu. Thành phần chủ yếu là các sesquiterpen và sesquiterpen chứa ôxy. Các thành phần chính gồm γ -eudesmol (6,98% tổng hàm lượng tinh dầu), α -humulene (6,22%), β -selinene (4,5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (3,53%), α -trans-bergamotene (3,27%), Limonene (3,02%). Kết quả thử hoạt tính kháng vi sinh vật từ tinh dầu lá có tác dụng thấp đối với các chủng vi sinh vật đối kháng ở nồng độ 10%.

Từ khóa: *Aristolochia balansae* Franch., GC-MS (sắc ký khí - khối phổ), kháng vi sinh vật, sesquiterpen, tinh dầu.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.6

1. Mở đầu

Chi Mộc hương (*Aristolochia*) gồm khoảng hơn 600 loài với 3 phân chi *Aristolochia*, *Siphisia* và *Pararistolochia*. Đây là chi lớn nhất trong họ Mộc hương (*Aristolochiaceae*) thuộc bộ Hồ tiêu (*Piperales*), phân bố rộng chủ yếu ở các vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và một số vùng ôn đới [1-3]. Ở khu vực châu Á, nam Trung Quốc và Việt Nam được coi là những trung tâm đa dạng các loài thuộc chi *Aristolochia* [4-6]. Phần lớn các loài thuộc chi *Aristolochia* là nguồn thức ăn cho sâu non của nhiều loài bướm Phượng thuộc họ *Papilionidae* [7]. Bên cạnh đó, nhiều loài cũng được sử dụng làm thuốc chữa các bệnh như thủy thũng, phong thũng, cước khí thấp thũng [8, 9]. Đồng thời, các loài thuộc chi này cũng được coi như một nguyên liệu trong điều trị chống ung thư, chống viêm, điều trị bệnh tả, các vấn đề về da và các loại vết cắn, đốt khác nhau của động vật và côn trùng... [10].

Từ những giá trị y học cổ truyền đó, một số nghiên cứu về giá trị sử dụng của các loài thuộc chi *Aristolochia* trên thế giới đã sử dụng phương pháp chiết xuất các hoạt tính từ các bộ phận khác nhau của cây để nghiên cứu về các khía cạnh dược lý của các loài thuộc chi này. Kết quả đã chỉ ra nhiều loài có khả năng kháng ung thư, kháng vi khuẩn, chống oxy hóa, kháng nọc độc rắn, kháng viêm như *A. bracteolata*, *A. indica*, *A. longa*, *A. fordiana*, *A. ringens* [11-16].

*Tác giả liên hệ: Email: ngocanh@vnmn.vast.vn

Ở Việt Nam, Mộc hương balansae có tên khoa học là *Aristolochia balansae* Franch. thuộc phân chi *Siphisia*, được Franchet mô tả năm 1898 là loài đặc hữu hẹp, phân bố ở Hà Nội, Ninh Bình, Thanh Hóa, miền Bắc Việt Nam [17-19]. Theo V.V. Chi (2012) [9], vỏ thân của loài Mộc hương balansae được dùng để chữa li, bí tiểu tiện, có khi còn được dùng chữa thấp khớp. Cho đến nay, ngoài công trình của N.Q. Bình và cs (2021) [20], L.H. Truong và cs (2020) [21] nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu từ lá, thân và rễ của loài *A. petelotii* cũng như thành phần độc tế bào từ loài *Isotrema tadungensis*, chúng tôi chưa nhận thấy có nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu loài *A. balansae* và hoạt tính kháng vi sinh vật của chúng. Trong phạm vi bài báo này, chúng tôi nghiên cứu về thành phần hóa học tinh dầu và hoạt tính kháng vi sinh vật của loài *A. balansae* thu tại huyện Bá Thước, tỉnh Thanh Hóa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Lá của loài Mộc hương balansae thu vào ngày 30/11/2021 tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Pù Luông (Thanh Hóa), ký hiệu mẫu là Aristo 6 (hình 1). Mẫu được xác định tên bởi Đỗ Văn Trường - Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam. Tiêu bản được lưu giữ tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam.

Chemical components and antimicrobial activity of essential oil from leaf of *Aristolochia balansae* Franch.

Dam Ngoc Anh Luu^{1,2*}, Van Huong Bui^{1,2},
Van Truong Do¹, Thi Kieu Oanh Nguyen³

¹Vietnam National Museum of Nature, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

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

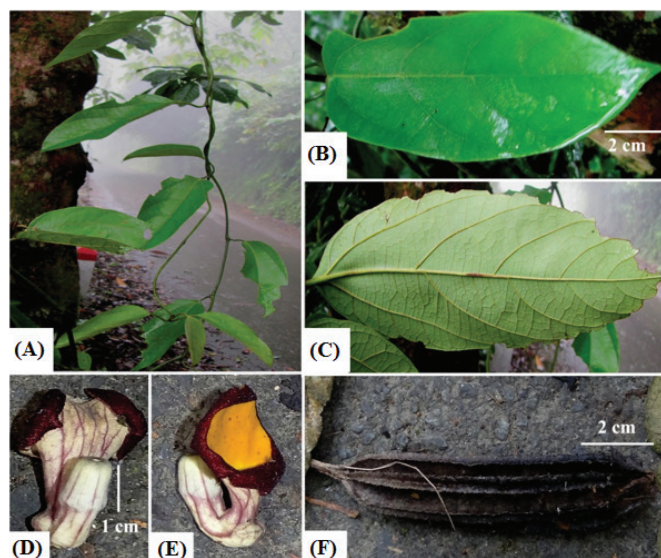
Received 1 July 2022; revised 26 July 2022; accepted 29 July 2022

Abstract:

Aristolochia balansae Franch. belonging to *Aristolochia* subgenus *Siphisia* (*Aristolochiaceae*) is rarely distributed in Northern Vietnam. This study is the first time to determine the chemical composition and antimicrobial activity from essential oils of leaves collected in Ba Thuoc district, Thanh Hoa province in November 2021. The essential oils from the leaves of *A. balansae* were obtained by hydrodistillation using Clevenger-type apparatus and analysed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. The yield of the essential oil was 0.15% of fresh weight, the essential oil is light yellow, lighter than water. Sixty-three components were identified, which present 78.58% of the total composition of the leaf's essential oil. The main components were sesquiterpenes and oxygenated sesquiterpenes. The constituents occurring in higher amounts in the essential oil were γ -Eudesmol (6.98% of the total composition of the leaf's essential oil), α -Humulene (6.22%), β -Selinene (4.5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (3.53%), α -trans-Bergamotene (3.27%), and Limonene (3.02%). This essential oil showed weak antimicrobial activities to most of the tested microbial strains in a concentration of 10%.

Keywords: antimicrobial activity, *Aristolochia balansae* Franch., essential oil, GC-MS (gas chromatography coupled with mass spectrometry), sesquiterpene.

Classification numbers: 1.4, 1.6



Hình 1. Hình thái loài Mộc hương balansae. (A) Nhánh mang lá; (B) Mặt trên lá; (C) Mặt dưới lá; (D) Mặt sau hoa; (E) Mặt bên hoa; (F) Hình thái quả.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tách chiết tinh dầu: Lá Mộc hương balansae (900 g) được băm nhỏ và chưng cất bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước sử dụng bộ chưng cất tinh dầu có hồi lưu Clevenger (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Mỹ) trong thời gian 3 giờ ở áp suất thường theo Dược điển Việt Nam IV [22]. Tinh dầu được làm khan bằng Na_2SO_4 và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4°C.

Phương pháp phân tích thành phần hóa học tinh dầu: Hòa tan tinh dầu đã được làm khan trong 1 ml *n*-hexan tinh khiết với nồng độ 1%.

GC-MS: Định tính thành phần hóa học tinh dầu được thực hiện bằng thiết bị GC-MS Thermo Scientific Trace 1310 ghép nối với Detector ITQ 900 (Thermo, bẫy ion). Cột phân tích TG-5MS, kích thước 30 m x 0,25 mm x 0,25 mm với khí mang là Heli. Nhiệt độ buồng bơm mẫu là 260°C. Nhiệt độ Detector là 240°C. Chương trình nhiệt độ 60°C (2 phút), tăng 4°C/phút đến 220°C, giữ ở nhiệt độ này trong 10 phút.

Việc xác định các thành phần được thực hiện trên cơ sở của các chỉ số RI (Retention indices), xác định với các đồng đẳng *n*-alkan (C8-C20), trong cùng một điều kiện sắc ký. Đồng thời so sánh với phổ khối lượng tìm kiếm trong thư viện NIST 17, Wiley 8, dữ liệu Adam 2017. Tỷ lệ % các thành phần trong tinh dầu được tính toán dựa trên diện tích peak sắc ký và không sử dụng yếu tố điều chỉnh [23]. Mẫu được phân tích tại Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật: Các chủng vi sinh vật được sử dụng để thử hoạt tính kháng khuẩn gồm: vi khuẩn gram dương: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Enterococcus faecalis* (ATCC 51229), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213); vi khuẩn gram âm: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Listeria monocytogenes* (ATCC19115); nấm men *Candida albicans* (ATCC 10231).

Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được thực hiện dựa trên phương pháp pha loãng nồng độ [24]. Hoạt tính của mẫu thử được thể hiện thông qua phần trăm ức chế vi sinh vật kiểm định được của tinh dầu ở nồng độ 10% sau 18 giờ. Chuẩn bị dung dịch vi khuẩn và nấm với nồng độ $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

Tiến hành thử: Hút 180 μ l dịch vi khuẩn/nấm men vào đĩa 96 giếng. Sau đó, 20 ml tinh dầu nguyên chất được nhỏ đều xuống các giếng, mỗi nồng độ lặp lại 3 lần. Với giếng đối chứng dương và âm nhỏ lần lượt 20 μ l hỗn hợp kháng sinh (kanamycin và tetracyclin, nồng độ dung dịch gốc là 2,56 mg/ml) và môi trường nuôi cấy. Đo OD₆₀₀ ở thời điểm ngay sau khi nhỏ mẫu thử (t_0). Ủ đĩa 96 giếng 37°C qua đêm (18 giờ) và đo OD₆₀₀ (t_1).

$$\% = [(t_{1dca} - t_{0dca}) - (t_{1mẫu} - t_{0mẫu})] / (t_{1dca} - t_{0dca})$$

trong đó, dca là đối chứng âm.

Mẫu được tiến hành thử nghiệm tại Khoa Khoa học Sự sống, Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thành phần hóa học tinh dầu

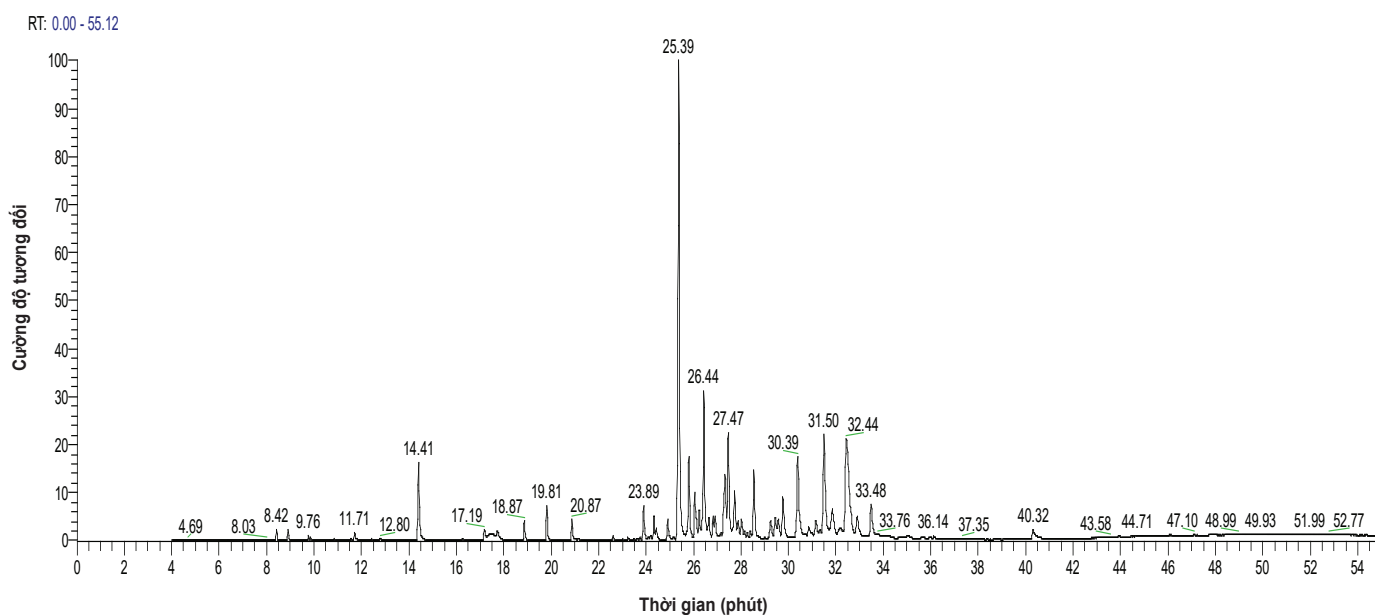
Tinh dầu từ lá loài Mộc hương balansa thu được bằng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước có hàm lượng 0,15% trọng lượng tươi. Tinh dầu thu được có màu vàng nhạt, nhẹ hơn nước. Kết quả phân tích thành phần hóa học được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy, tinh dầu trong lá đã xác định được 63 hợp chất, chiếm 78,58% tổng hàm lượng tinh dầu. Các thành phần chính trong tinh dầu là γ -eudesmol (RT: 31,5, 6,98%), α -humulene (RT: 26,44, 6,22%), β -selinene (RT: 27,47, 4,5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (RT: 27,33, 3,53%), α -trans-bergamotene (RT: 25,39, 3,27%), Limonene

Bảng 1. Thành phần hóa học của tinh dầu từ lá loài Mộc hương balansa.

Thứ tự	Đơn chất	RI ^a	RI ^b	Tỷ lệ %	Thứ tự	Đơn chất	RI ^a	RI ^b	Tỷ lệ %
1	α -pinene	932	937	0,28	36	6,9-guaiadiene	1447	1444	2,28
2	Camphene	946	952	0,53	37	Aristolene	1453	1453	2,16
3	2,4(10)-thujadiene	952	956	0,21	38	α -humulene	1459	1454	6,22
4	β -thujene	972	966	0,13	39	Valerena-4,7(11)-diene	1465	1460	1,10
5	Sabinene	975	974	0,80	40	β -acoradiene	1471	1470	0,76
6	2-carene	991	991	1,02	41	4,5-di-epi-aristolochene	1474	1473	0,88
7	α -phellandrene	1004	1002	0,45	42	Eudesma-4(14),7(11)-diene	1488	1481	3,53
8	α -terpinene	1016	1017	0,97	43	β -selinene	1492	1490	4,50
9	o-cymene	1025	1026	1,55	44	α -selinene	1500	1498	2,28
10	β -phellandrene	1029	1029	0,29	45	β -dihydro agarofuran	1505	1503	0,78
11	trans- β -ocimene	1048	1049	0,40	46	δ -amorphene	1510	1512	0,81
12	γ -terpinene	1059	1059	0,38	47	β -curcumene	1515	1515	0,22
13	Terpinolene	1089	1088	0,92	48	β -cadinene	1519	1518	0,27
14	Benzyl nitrile	1142	1144	0,31	49	7-epi- α -selinene	1523	1522	0,21
15	Camphor	1146	1145	2,82	50	δ -cadinene	1528	1523	2,78
16	Menthone	1156	1152	0,64	51	Europelargone A	1544	1540	1,05
17	Pinocarvone	1164	1164	0,12	52	Cadala-1(10),3,8-triene	1552	1555	0,97
18	p-menthan-3-one	1166	1166	0,22	53	Germacone B	1559	1561	0,98
19	Terpinen-4-ol	1182	1177	0,39	54	Cis-murol-5-en-4- α -ol	1563	1561	0,96
20	γ -terpineol	1196	1199	0,49	55	Guaol	1607	1600	0,79
21	Limonene	1223	1125	3,02	56	β -himachalene oxide	1617	1616	1,01
22	Isobornyl formate	1229	1232	0,67	57	γ -eudesmol	1629	1632	6,98
23	Pulegone	1242	1237	1,13	58	Selina-3,11-dien-6- α -ol	1642	1644	2,18
24	trans-p-menth-2-en-7-ol	1257	1261	1,13	59	Cadale	1679	1676	1,35
25	Isobornyl acetate	1287	1286	0,63	60	Cyperotundone	1700	1695	1,75
26	δ -elemene	1340	1338	1,16	61	Cyclocolorone	1759	1760	0,17
27	α -cubebene	1352	1351	0,55	62	β -eudesmol acetate	1792	1792	0,19
28	Ylangene	1370	1372	1,15	63	n-octadecane	1800	1800	0,19
29	Isodene	1374	1376	1,11		Tổng số			78,58
30	α -copaene	1378	1376	1,28		Monotepcen hydrocarbon			10,47
31	7-epi-sesquithujene	1392	1391	0,81		Monotepcen chứa oxy			6,45
32	α -gurjunene	1410	1409	0,81		Sesquitepcen hydrocarbon			42,65
33	β -funebrene	1418	1414	0,54		Sesquitepcen chứa oxy			17,02
34	(E)-caryophyllene	1425	1419	2,02		Các hợp chất khác			1,99
35	α -trans-bergamotene	1439	1435	3,27					

RI (Retention index): chỉ số lưu giữ; a: chỉ số trên cột TG-5MS; b: theo tài liệu [23].



Hình 2. Sắc ký đồ tinh dầu lá loài Mộc hương balansae.

(RT: 19,81, 3,02%) và các thành phần khác (RT: thời gian lưu, đơn vị: phút).

Trong tinh dầu lá của loài Mộc hương balansae cũng xác định được thành phần sesquiterpen và sesquiterpen chứa oxy chiếm ưu thế với tỷ lệ 42,65 và 17,02%, tương ứng tổng hàm lượng tinh dầu, còn các hợp chất monotecpen và monotecpen chứa oxy chiếm 11,16 và 6,45% tương ứng (hình 2).

3.2. Khả năng kháng vi sinh vật của tinh dầu Mộc hương balansae

Kết quả thử khả năng kháng vi sinh vật của tinh dầu với 7 chủng vi sinh vật kiểm định cho thấy, tinh dầu từ lá của loài Mộc hương balansae có khả năng kháng tương đối với hầu hết các chủng vi sinh vật kiểm định, tuy nhiên hoạt tính ức chế chưa được cao (bảng 2). Từ kết quả nghiên cứu này có thể định hướng quá trình nghiên cứu thử nghiệm tiếp theo đối với các thành phần từ dịch chiết với các loại dung môi khác nhau để có thể ứng dụng trong thực tế.

Bảng 2. Kết quả kháng vi sinh vật kiểm định của tinh dầu Mộc hương balansae.

Mẫu	Gram (+)			Gram (-)			Nấm men
	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecalis</i> ATCC 51229	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
% ức chế sinh trưởng vi sinh vật kiểm định							
Tinh dầu lá (nồng độ 10%)	24,5	10,2	47,2	22,6	37,8	15,2	22,2
Đối chứng dương	91,5	94,2	92,6	91,8	94,5	93,4	89,5

4. Kết luận

Hàm lượng tinh dầu từ lá của loài Mộc hương balansae đạt 0,15% trọng lượng tươi. Thành phần trong tinh dầu chủ yếu là các sesquiterpen và sesquiterpen chứa oxy, các hợp chất khác chiếm tỷ lệ không đáng kể. Các thành phần chính của tinh dầu là γ -eudesmol (6,98%), α -humulene (6,22%), β -selinene (4,5%), Eudesma-4(14),7(11)-diene (3,53%), α -trans-bergamotene (3,27%), Limonene (3,02%). Khác với nghiên cứu của N.Q. Bình và cs (2021) [20] khi nghiên cứu thành phần hóa học tinh dầu từ lá, thân, rễ của loài *A. petelotii* thu tại Lai Châu cho thấy, Safrole (10%), linalool (6,99%), spathulenol (6,61%) và menthol (5,64%) là các thành phần chính trong tinh dầu lá của loài này. Tinh dầu lá loài Mộc hương balansae có khả năng kháng hầu hết các chủng vi sinh vật kiểm định với nồng độ 10%, tuy nhiên hoạt tính ức chế thấp. Nghiên cứu góp phần bổ sung thành phần hóa học từ tinh dầu lá của loài *A. balansae* và có thể định hướng cho quá trình nghiên cứu thử nghiệm tiếp theo đối với các thành phần từ dịch chiết từ các bộ phận khác nhau của loài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Huber (1993), “Aristolochiaceae”, *The Families and Genera of Vascular Plants*, **2**, pp.129-137, DOI: 10.1007/978-3-662-02899-5_10.
- [2] S.M. Hwang, L.M. Kelly, M.G. Gilbert (2003), “*Aristolochia linnaeus*”, *Flora of China*, **5(1)**, pp.258-269, DOI: 10.11646/phytotaxa.364.1.2.
- [3] S. Wanke, F. Gonzalez, C. Neinhuis (2006), “Systematics of pipevines: Combining morphological and fast-evolving molecular characters to investigate the relationships within subfamily *Aristolochioideae* (*Aristolochiaceae*)”, *International Journal of Plant Sciences*, **167(6)**, pp.1215-1227, DOI: 10.1086/508024.
- [4] P. Duchartre (1854), “Tentamen methodicae divisionis generis *Aristolochia*, additis descriptionibus complurium novarum specierum novique generis holostylis”, *Annales des Sciences Naturelles*, **4A(2)**, pp.29-76.
- [5] O.C. Schmidt (1935), “Aristolochiaceae”, *Naturlichen Pflanzenfamilien*, **2(16B)**, pp.204-242.
- [6] T.V. Do, T.H. Luu, S. Wanke, et al. (2015), “Three new species and three new records of *Aristolochia* subgenus *Siphisia* from Vietnam, including a key to the Asian species”, *Systematic Botany*, **40(3)**, pp.671-691, DOI: 10.1600/036364415X689140.
- [7] M.P. Simmons, H. Ochoterena (2000), “Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses”, *Systematic Biology*, **49(2)**, pp.369-381, DOI: 10.1093/sysbio/49.2.369.
- [8] D.T. Loi (1999), *Vietnamese Medicinal Plants and Herbs*, Medical Publishing House, 416pp (in Vietnamese).
- [9] V.V. Chi (2012), *Vietnamese Dictionary of Medicinal Plants*, Medical Publishing House, 1545pp (in Vietnamese).
- [10] A.G. Pacheco, P.M.D. Oliveira, D.P. Veloso, et al. (2009), “¹³C-NMR data of diterpenes isolated from *Aristolochia* species”, *Molecules*, **14(3)**, pp.1245-1262, DOI: 10.3390/molecules14031245.
- [11] L.S. Mathew, A.G. Mtewab, C.O. Ajayib, et al. (2020), “Ethnopharmacology, pharmacology and phytochemistry of *Aristolochia bracteolata* Lam: A review of an antimalarial plant”, *East Africa Science*, **2(1)**, pp.22-28, DOI: 10.24248/EASci-D-19-00011.
- [12] G.K. Padhy (2021), “A review of *Aristolochia indica*: Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological and toxicological effects”, *Current Traditional Medicine*, **7(3)**, pp.372-386, DOI: 10.2174/2215083806666200831173828.
- [13] A.Y. Idrissi, A. Khouchlaa, A. Bouyahya, et al. (2020), “Phytochemical characterization, in vitro antioxidant, cytotoxic, and antibacterial effects of *Aristolochia longa* L.”, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, **11**, pp.8129-8140.
- [14] X.D. Su, Y. Gao, Y.X. Xiang, et al. (2019), “Chemical composition and biological activities of the essential oil from *Aristolochia fordiana* Hemsl”, *Records of Natural Products*, **13(4)**, pp.346-354.
- [15] A.J. Akindele, Z. Wani, G. Mahajan, et al. (2015), “Anticancer activity of *Aristolochia ringens* Vahl. (*Aristolochiaceae*)”, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, **5(1)**, pp.35-41, DOI: 10.1016/j.jtcm.2014.05.001.
- [16] B. Benarba, A. Pandiella, A. Elmallah (2017), “Anticancer activity, phytochemical screening and acute toxicity evaluation of an aqueous extract of *Aristolochia longa* L.”, *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, **6(1)**, pp.20-26.
- [17] A.R. Franchet (1898), “*Plantarum sinensium eclogae secunda*”, *Journal De Botanique*, **12**, pp.311-315.
- [18] P.H. Ho (2000), *Vietnamese Herbs*, Tre Publishing House, 1018pp (in Vietnamese).
- [19] N.T. Ban (2003), *List of Vietnamese Plant Species*, Agricultural Publisher, 422pp (in Vietnamese).
- [20] N.Q. Binh, N.T. Tung, N.P. Hanh, et al. (2021), “Chemical composition of essential oils from the leaves, stems and roots of *Aristolochia petelotii* OC Schmidt growing in Vietnam”, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **24(5)**, pp.983-989.
- [21] L.H. Truong, N.H. Cuong, T.H. Dang, et al. (2020), “Cytotoxic constituents from *Isotrema tadungense*”, *Journal of Asian Natural Products Research*, **23(5)**, pp.491-497, DOI: 10.1080/10286020.2020.1739661.
- [22] Ministry of Health (2009), *Vietnam Pharmacopoeia IV*, Medical Publishing House (in Vietnamese), 1492pp.
- [23] R.P. Adams (2017), *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, Allured Publishing, 804pp.
- [24] F. Hadacek, H. Greger (2000), “Testing of antifungal natural products: Methodologies, comparability of results and assay choice”, *Phytochemical Analysis*, **11(3)**, pp.137-147, DOI: 10.1002/(SICI)1099-1565(200005/06)11:3<137::AID-PCA514>3.0.CO;2-I.

Tuyển trùng ký sinh thực vật ghi nhận trên cây Lan hài đài cuốn *Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe 1896

Lê Thị Mai Linh^{1,2}, Nguyễn Thị Duyên^{1,2}, Nguyễn Hữu Tiền^{1,2},
Bùi Văn Thanh^{1,2}, Nguyễn Văn Sinh^{1,2}, Trần Văn Tiến³, Trịnh Quang Pháp^{1,2*}

¹Viện Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Học viện Hành chính Quốc gia, 77 Nguyễn Chí Thanh, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/10/2023; ngày chuyển phản biện 30/10/2023; ngày nhận phản biện 15/11/2023; ngày chấp nhận đăng 18/11/2023

Tóm tắt:

Chi Lan hài (*Paphiopedilum* Pfitzer) gồm nhiều loài thực vật bị đe dọa tuyệt chủng. Những nhóm tuyển trùng thực vật trên các loài Lan đã được công bố cho thấy, nhóm tuyển trùng thân lá và nhóm hại rễ đều có mặt gây hại trực tiếp đối với các loài chi Lan hài. Bên cạnh đó, tuyển trùng thực vật cũng là một trong những môi giới cho nhóm bệnh hại khác xâm nhập gây thiệt hại về phẩm chất đối với các cây Lan thương mại. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu bước đầu xác định loài tuyển trùng chính ký sinh Lan hài đài cuốn [*Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe 1896] thu được tại rừng tự nhiên Bà Nà (Đà Nẵng) để phục vụ phòng chống bệnh hại thực vật trong công tác bảo tồn loài Lan hài này. Kết quả nghiên cứu lần đầu tiên ghi nhận 12 loài tuyển trùng ký sinh thực vật xung quanh vùng rễ Lan hài đài cuốn ở Việt Nam. Nghiên cứu đã mô tả 2 loài chính gây hại (*Paratrichodorus minor* và *Helicotylenchus dihystra*) có mật độ cao trong đất và xuất hiện trong cả thân, rễ để có thể đưa ra các biện pháp phòng trừ thích hợp trong quá trình bảo tồn loài Lan hài quý hiếm này.

Từ khóa: bảo tồn, Đà Nẵng, Lan hài đài cuốn, tuyển trùng ký sinh thực vật.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Tuyển trùng ký sinh thực vật là một trong những tác nhân gây hại chính trên nhiều loại cây trồng và phân bố ở nhiều vùng sinh thái khác nhau [1]. Tại nhiều vùng sản xuất trên thế giới, tuyển trùng thực vật gây tác hại lớn đối với sản xuất nông nghiệp, mức độ tàn phá của chúng đối với cây trồng là rất lớn [1]. Các cây trồng khác nhau ở các hệ sinh thái khác nhau có thành phần loài tuyển trùng ký sinh khác nhau. Ở Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu về tuyển trùng thực vật. Các nghiên cứu chủ yếu ở các hệ sinh thái nông nghiệp, tập trung vào các loại cây kinh tế như hồ tiêu, cà phê, dược liệu, cây ăn củ, ăn quả... [2-5]. Tuy nhiên, những nghiên cứu tuyển trùng thực vật liên quan đến hệ sinh thái rừng còn hạn chế, đặc biệt những loài thực vật có trong Sách đỏ Việt Nam.

Chi Lan hài gồm nhiều loài thực vật bị đe dọa tuyệt chủng [6]. Những nghiên cứu về tuyển trùng ký sinh trên Lan cũng đã được nghiên cứu ở Mỹ, Ấn Độ và Hàn Quốc thể hiện một số loài gây hại chính như: *Ditylenchus*, *Aphelenchoides* [7-10], *Helicotylenchus* [11]. Những nhóm tuyển trùng đã được công bố trên Lan cho thấy, nhóm tuyển trùng thân lá [8, 12] và nhóm tuyển trùng hại thân, rễ [10] đều có mặt và gây thiệt hại về thương mại đối với Lan [11], cũng như

là một trong những môi giới cho nhóm bệnh hại khác xâm nhập vào Lan [13].

Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu bước đầu xác định loài tuyển trùng chính ký sinh Lan hài đài cuốn (*Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe) thu được tại rừng tự nhiên Bà Nà (Đà Nẵng) để phục vụ phòng chống bệnh hại thực vật trong công tác bảo tồn loài Lan hài quý hiếm này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu thập mẫu vật

Phương pháp khảo sát thu mẫu tuyển trùng thực vật được tiến hành thu mẫu ngẫu nhiên ở các thảm thực vật đại diện, gồm 10 mẫu lá, rễ và đất xung quanh rễ của Lan hài đài cuốn tại Bà Nà (Đà Nẵng) (hình 1). Thu mẫu đất theo phương pháp của N.N. Chau (2003) [14]: ở mỗi gốc cây, gạt lớp thảm mục bên trên bề mặt, tiến hành lấy mẫu ở độ sâu 10-20 cm. Các mẫu đất được bảo quản trong túi nylon có ghi đầy đủ thông tin về thời gian, địa điểm lấy mẫu, đặc điểm sinh cảnh thu mẫu; riêng mẫu rễ và thân lá, dùng để phân tách tuyển trùng được bảo quản trong điều kiện mát cho đến khi được phân tích, tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh nắng mặt trời.

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

Plant-parasitic nematodes associated with *Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe 1896

Thi Mai Linh Le^{1,2}, Thi Duyen Nguyen^{1,2},
Huu Tien Nguyen^{1,2}, Van Thanh Bui^{1,2},
Van Sinh Nguyen^{1,2}, Van Tien Tran³, Quang Phap Trinh^{1,2*}

¹Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³National Academy of Public Administration,
77 Nguyen Chi Thanh Street, Lang Thuong Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 28 October 2023; revised 15 November 2023; accepted 18 November 2023

Abstract:

The genus *Paphiopedilum* Pfitzer includes many plant species that are threatened with extinction. The groups of plant-parasitic nematodes that have been published parasitising orchids show that the stem and leaf nematode group and the root nematode group are all present and cause direct damage to this orchid genus. Besides, plant-parasitic nematodes are also one of the vectors for other pests to invade and cause quality damage to commercial orchids. Therefore, this study was carried out with the goal of initially identifying the main nematode species that parasitises *Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe 1896 collected in Ba Na natural forest (Da Nang) to serve for prevention of plant diseases in the conservation of this orchid species. As a result, for the first time, 12 species of plant-parasitic nematodes associated with *Paphiopedilum appletonianum* in Vietnam have been recorded. The study has described the two main species, *Paratrichodorus minor* and *Helicotylenchus dihystra*, that are present with high density in soil and that are present also in stems and roots, what enables the appropriate preventive measures could be undertaken during the conservation of this rare orchid species.

Keywords: conservation, Da Nang, *Paphiopedilum appletonianum*, plant-parasitic nematodes.

Classification number: 1.6



Hình 1. Thu thập mẫu trên Lan hài đài cuốn *P. appletonianum* (Gower) Rolfe. (A) Cây lấy mẫu; (B) Mẫu lá và rễ.

2.2. Phương pháp tách lọc tuyến trùng từ đất và mô thực vật

Tuyến trùng được tách lọc từ đất theo phương pháp lọc tĩnh được mô tả bởi N.N Chau và cs (1993) [15]. Mẫu rễ được tách lọc trực tiếp trên kính hiển vi soi nổi.

2.3. Phương pháp xử lý, làm trong và làm tiêu bản tuyến trùng

- **Cố định tuyến trùng:** Phương pháp cố định tuyến trùng được thực hiện theo W.D. Courtney và cs (1995) [16]: Tuyến trùng thu được sẽ chia làm 2 phần, một phần bị giết chết bằng nước nóng 50-60°C trong thời gian 1 phút, rồi chuyển sang cố định trong dung dịch TAF (Formalin 40% 7 ml, Triethanolamine 2 ml, nước cất 91 ml).

- **Làm trong tuyến trùng và lên tiêu bản cố định:** Tuyến trùng sau khi cố định bằng dung dịch TAF được chuyển sang làm trong chậm qua các nồng độ cồn và glycerin khác nhau. Tuyến trùng được lên tiêu bản cố định theo mô tả được đề cập bởi N.N. Chau (2003) [14].

2.4. Phương pháp phân loại hình thái

Tuyến trùng sau khi lên tiêu bản được đo và chụp ảnh trên kính hiển vi Carl-Zeiss Axiolab A1. Chỉ số hình thái lượng (morphometrics) của con cái được thực hiện theo M.R. Siddiqi (2000) [17]. Tuyến trùng sẽ được phân loại hình thái dựa trên khóa phân loại của N.N Chau và cs (2000) [18].

3. Kết quả và bàn luận

Tổng số loài ghi nhận trên Lan hài dài cuốn trong khu vực thu mẫu gồm 12 loài xung quanh vùng rễ: *Aphelenchus mirzai* Das, 1960; *Tylenchus elegans* de Man, 1876; *Ditylenchus* sp.; *Criconebella curvata* de Grisse & Loof, 1965; *Helicotylenchus crenacauda* Sher, 1966; *Helicotylenchus dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961; *Helicotylenchus erythrinae* Golden, 1956; *Helicotylenchus falcatus* Eroshenko & Nguyen, 1981; *Paratylenchus aculeatus* Brown, 1959; *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913; *Xiphinema insigne* Loos, 1949; *Paratrachodorus minor* = *Nanidorus minor* (Colbran, 1956) Siddiqi, 1974. Mặc dù vậy, số lượng cá thể của hầu hết các loài rất ít, ngoại trừ loài *Paratrachodorus minor* (215 ± 25 cá thể/250 cm³ đất) và *Helicotylenchus dihystra* (186 ± 22 cá thể/250 cm³ đất). Hơn nữa, *Paratrachodorus minor* và *Helicotylenchus dihystra* còn xuất hiện trong thân của loài Lan hài dài cuốn *Paphiopedilum appletonianum*.

3.1. Mô tả loài phổ biến

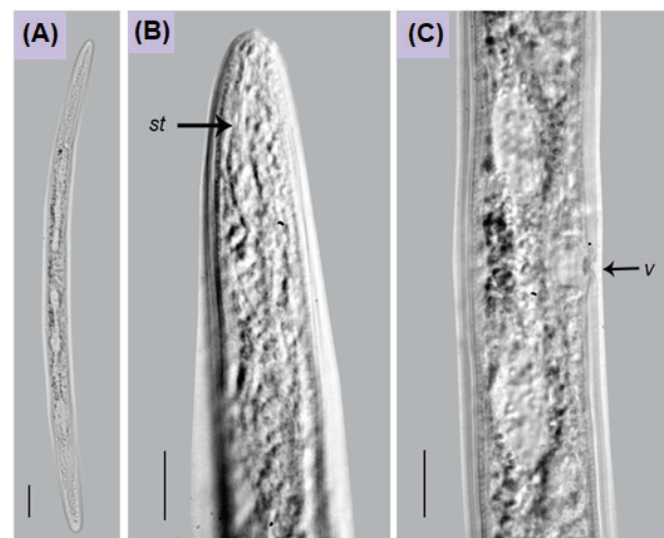
3.1.1. *Paratrachodorus minor* = *Nanidorus minor* (Colbran, 1956) Siddiqi, 1974

Con cái: Cơ thể sau xử lý nhiệt thường cong về phía bụng. Lỗ bài tiết nằm cách đầu khoảng 89,6-102,1 μm về phía sau, ở vị trí van thực quản ruột. Vùng môi tròn, lỗ amphid có thể quan sát rõ với miệng dạng khe hẹp, chiều rộng bằng 1/2 đường kính của vùng môi; fovea có dạng thoi và kéo dài về phía sau. Phần hình chóp - bằng 1/2 chiều dài của stylet, kích thước onchiostylet khoảng 32,5 μm. Vulva dạng lỗ, tròn, thành trước vagina cutin hóa rất mạnh. Túi chứa tinh có hoặc không có, nếu có thì nằm giữa tử cung và ống dẫn trứng. Có 2 buồng trứng, trước và sau cơ thể; noãn bào xếp thành hai dãy. Một cặp lỗ cơ thể bên nằm ngay sau vulva. Ruột sau hơi chặm hoặc không phủ phần đầu của rectum. Đuôi tròn với một đôi lỗ đuôi nằm gần mút đuôi hoặc gần về phía bụng của đuôi.

Nhận xét: Chỉ số hình thái của quần thể loài *Paratrachodorus minor* tương đồng với các nghiên cứu trước đó của M.W. Allen (1957) [19] và N.N. Chau (1997) [20], ngoại trừ kích thước cơ thể và chỉ số “a” lớn hơn so với mô tả trước đó (bảng 1, hình 2). Nghiên cứu này đã bổ sung các chỉ số đo quan trọng khác của loài như chiều dài thực quản, chiều rộng cơ thể, chiều dài từ đỉnh đầu đến lỗ bài tiết, chiều dài buồng trứng trước, chiều dài buồng trứng sau để có thể so sánh với các loài gần gũi.

Bảng 1. So sánh hình thái lượng con cái *Paratrachodorus minor*.

Chỉ số hình thái	Mẫu vật trên Lan hài dài cuốn	M.W. Allen (1957) [19]	N.N. Chau (1997) [20]
Chiều dài cơ thể (μm)	667,2±88,3 (570,1-765,2)	460-710	535 (430-690)
Chiều dài thực quản (μm)	107,5±11,6 (101,2-112,6)		
Chiều rộng cơ thể (μm)	32,5±5,4 (27,8-37,0)		
Chiều dài onchiostylet (μm)	32,5±2,3 (31,1-34,8)	33-47	32 (30,5-33)
Chiều dài từ đỉnh đầu đến lỗ bài tiết (μm)	89,7±4,4 (89,6-102,1)		
Chiều dài buồng trứng trước (μm)	106,3±9,6 (91,2-122,5)	16-24	
Chiều dài buồng trứng sau (μm)	92,8±23,9 (68,6-111,5)	13-26	
a	21,5±4,7 (18,3-28,1)	15-20	20.1 (18-23,5)
b	5,2±1,3 (4,9-6,3)	4,6-6,0	5,3 (4,7-7)
v	52,9±2,6 (48,1-55,4)	50-56	46-53

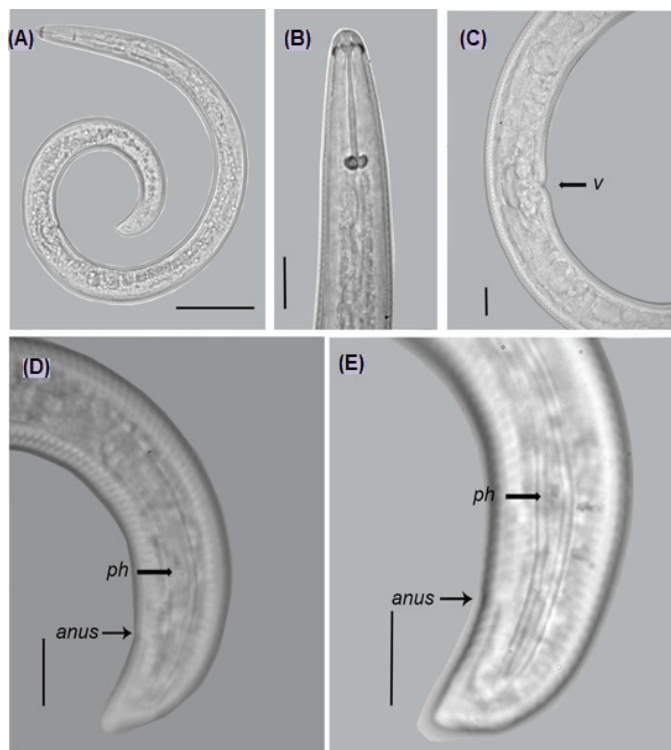


Hình 2. Hình thái hiển vi loài *Paratrachodorus minor*. (A) Toàn bộ cơ thể con cái; (B) Phần trước cơ thể (st: vị trí onchiostylet); (C) Giữa cơ thể (v: vị trí vulva). Thước đo: (A): 50 μm; (B) và (C): 20 μm.

3.1.2. *Helicotylenchus dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961

Con cái: Sau khi cố định cơ thể thường xoắn cong một phần cơ thể. Vùng môi tròn, hình bán cầu và không tách biệt với đường viền cơ thể, có 3-4 vòng đầu. Khung đầu kitin hóa mạnh. Kim hút phát triển, mép ngoài gốc kim hút thường vát lên. Điều trước thon dài, điều giữa khá phát triển có hình ô van và được cơ hoá, van điều giữa cutin hoá rõ

ràng. Thực quản tuyến phủ về phía bụng. Lỗ bài tiết nằm phía trên vị trí của van thực quản - ruột. Hemizonid nằm ở phía trên lỗ bài tiết 1-2 vòng cutin. Vulva ở giữa cơ thể với 2 buồng trứng cân đối về phía trước và phía sau cơ thể. Buồng trứng thường có một hàng tế bào trứng, túi chứa tinh tròn không rõ ranh giới với đường viền tử cung, không chứa tinh trùng. Vùng bên với 4 đường bên và chập lại gần cuối đuôi. Đuôi thường cong về phía lưng, mút đuôi có thể nhô ra hoặc cắt cụt. Số vòng đuôi 6-8 vòng cutin ở phía bụng. Phasmids nằm phía trước lỗ hậu môn 8-10 vòng cutin (hình 3).



Hình 3. Hình thái hiển vi loài *Helicotylenchus dihystra*. (A) Toàn bộ cơ thể con cái; (B) Phần trước cơ thể; (C) Vùng giữa cơ thể (v: vulva); (D) và (E) Vùng sau cơ thể (ph: phasmid; anus: hậu môn). Thước đo: (A): 50 μ m; (B-E): 10 μ m.

Nhận xét: Các chỉ số hình thái quần thể *Helicotylenchus* trong nghiên cứu này được tra theo khóa phân loại giống *Helicotylenchus* ở Việt Nam [18] phù hợp với loài *Helicotylenchus dihystra*. Các chỉ số hình thái tương đồng với các mô tả trước đó của S.A. Sher (1966) [21] và N.N. Chau (1996) [22], ngoại trừ biến động lớn của chiều dài cơ thể, chỉ số “a”, chiều dài kim hút (bảng 2). Nghiên cứu cũng bổ sung các chỉ số hình thái quan trọng khác của loài *Helicotylenchus dihystra* phục vụ cho nghiên cứu sâu hơn của biến động quần thể loài sau này.

Bảng 2. So sánh hình thái con cái loài *Helicotylenchus dihystra* (μ m).

Chỉ số hình thái	Mẫu vật trên Lan hải dài cuốn	S.A. Sher (1966) [21]	N.N. Chau (1996) [22]
Chiều dài cơ thể	678 $\pm$ 62,3 (527-788)	590-790	632 (570-690)
Chiều dài kim hút	25,6 $\pm$ 1,6 (23,7-28)	25-28	25,4 (25-25,5)
Chiều dài phần chóp kim hút	12,4 $\pm$ 1,15 (9,33-15,7)		
Chiều rộng gốc kim hút	4,8 $\pm$ 0,4 (3,2-5,6)		
Chiều cao gốc kim hút	1,91 $\pm$ 0,2 (1,53-2,2)		
Chiều dài từ đầu đến lỗ bài tiết	110 $\pm$ 4,69 (105,4-118,6)		
Chiều dài thực quản tuyến	39,4 $\pm$ 7,3 (24,12-53,72)		
Chiều dài từ đầu đến van thực quản ruột	107,4 $\pm$ 9,97 (85,1-128,2)		
Chiều dài từ đầu đến hết thực quản tuyến	146,8 $\pm$ 11,4 (122,5-168,3)		
Khoảng cách từ đầu đến vulva	436,5 $\pm$ 38,6 (341,6-501,3)		
Chiều rộng cơ thể	25,6 $\pm$ 3,21 (19,6-31,6)		
Chiều rộng cơ thể tại hậu môn	14,5 $\pm$ 1,5 (10,5-16,3)		
Chiều dài đuôi	16,8 $\pm$ 2,3 (11,6-21,5)		
a (chiều dài cơ thể/chiều rộng cơ thể)	26 $\pm$ 3,1 (22,5-32,6)	27-35	25,5 (27,2-30,7)
b (chiều dài cơ thể/chiều dài từ đầu đến van thực quản - ruột)	6,75 $\pm$ 0,8 (5,6-8,2)	5,8-6,9	6,6 (6,2-7)
b' (chiều dài cơ thể/chiều dài từ đỉnh đầu đến hết phần phủ thực quản tuyến)	4,9 $\pm$ 0,5 (4,0-5,9)	4,4-5,9	4,6 (4,3-4,9)
c (chiều dài cơ thể/chiều dài đuôi)	41,2 $\pm$ 5,2 (34,15-49,2)	35-49	44,3 (49,2-50)
c' (chiều dài đuôi/chiều rộng đuôi)	1,2 $\pm$ 0,1 (0,8-1,4)	0,8-1,2	
DGO (khoảng cách từ gốc kim hút đến lỗ đổ của tuyến thực quản lưng)	11,3 $\pm$ 0,9 (10-12,25)		
O (DGO/chiều dài kim hút $\times$ 100)	44 $\pm$ 4,4 (37,8-54)	37-46	
m (chiều dài phần trước của kim hút (conus)/chiều dài kim hút $\times$ 100)	49 $\pm$ 2,8 (45-60)	46-50	50,2 (50-51)
V	63,85 $\pm$ 2 (61,2-69,2)	60-65	57,3-63,1

3.2. Nhóm tuyến trùng gây hại trên cây hoa Lan

Những nghiên cứu về Lan trên thế giới cũng đã được nghiên cứu ở Mỹ, Ấn Độ và Hàn Quốc thể hiện một số loài gây hại chính như: *Ditylenchus*, *Aphelenchoides* [7-10], *Helicotylenchus* [11]. Trong điều tra của nghiên cứu này xuất hiện loài *Ditylenchus* sp. và 4 loài *Helicotylenchus*, không xuất hiện loài thuộc giống *Aphelenchoides*, nhưng xuất hiện loài mang có khả năng truyền virus thực vật *Xiphinema insigne*, *Paratrichodorus minor*. Do vậy, đặc trưng có thể gây hại cho Lan gồm nhóm tuyến trùng thân lá, nhóm mang truyền virus và nhóm ngoại ký sinh. Một số loài của nhóm tuyến trùng này đã ghi nhận nhiều loài mang truyền virus

thực vật, trong đó có loài *Paratrichodorus minor* [23]. Bên cạnh đó, *Helicotylenchus dihystra* cũng là loài đa thực có khả năng gây hại cho nhiều cây trồng [24], trong nghiên cứu này lần đầu tiên ghi nhận xuất hiện trong thân rễ của Lan hài dài cuốn.

4. Kết luận

Lần đầu tiên phát hiện 12 loài tuyến trùng ký sinh thực vật quanh vùng rễ Lan hài dài cuốn tại Bà Nà, Đà Nẵng. 2 loài có khả năng gây hại chính đến Lan hài dài cuốn được mô tả cụ thể và so sánh với các quần thể trước đó gồm *Paratrichodorus minor* và *Helicotylenchus dihystra*. Để bảo tồn loài Lan hài dài cuốn cần kiểm soát và đánh giá mật độ những loài tuyến trùng có khả năng gây hại để đưa ra được biện pháp phòng ngừa thích hợp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ: “Điều tra, đánh giá, đề xuất quy định, quy trình kỹ thuật bảo tồn và xây dựng mô hình bảo tồn, phát triển 2 loài lan nguy cấp, quý, hiếm, có giá trị cao, được ưu tiên bảo vệ: Lan hài chai (*Paphiopedilum callosum* (Rchb.f.) Stein) và Lan hài dài cuốn (*Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe) ở Việt Nam”, mã số: UQSNMT.01/21-23. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M. Luc, R. Sikora, J. Bridge (2005), *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, C.A.B International Institute of Parasitology, 629pp.

[2] P.Q. Trinh, E.D.L. Peña, C.N. Nguyen, et al. (2009), “Plant-parasitic nematodes associated with coffee in Vietnam”, *Russian Journal of Nematology*, **17**(1), pp.73-82.

[3] H.T. Nguyen, Q.P. Trinh, T.D. Nguyen, et al. (2023), “Diversity of plant-parasitic nematodes (PPNs) associated with medicinal plants in Vietnam, Vietnamese PPN checklist and a pictorial key for their identification”, *Plant Pathology*, **72**(6), pp.12-30, DOI: 10.1111/ppa.13796.

[4] T.D. Nguyen, Q.P. Trinh (2021), “First report of an important sheat nematode, *Hemicycliophora poranga*, associated with sugar beet (*Beta vulgaris* L.) in Vietnam”, *Helminthologia*, **58**(3), pp.333-338, DOI: 10.1007/s11756-023-01417-3.

[5] N.N. Chau (2017), “Two new species of plant parasitic nematodes *Hirschmanniella banananae* n.sp. (Nematoda: Pratylenchidae) and *Scutellonema tanlamense* n.sp. (Nematoda: Hoplolaimidae) associated with banana in Vietnam”, *Academia Journal of Biology*, **39**(3), pp.253-263, DOI: 10.15625/0866-7160/v39n3.10665 (in Vietnamese).

[6] Government (2021), *Decree 84/2021/ND-CP Amending Decree 06/2019/ND-CP on Management of Endangered, Precious and Rare Forest Plants and Animals and Implementation of The Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora* (in Vietnamese).

[7] J.Y. Uchida (1994), “Diseases of orchids in Hawaii”, *Plant Disease*, **78**(3), pp.220-224, DOI: 10.1094/PD-78-0220.

[8] J.Y. Uchida, B.S. Sipes (1998), *Foliar Nematodes on Orchids in Hawaii*, Cooperative Extension Service, pp.1-7.

[9] K. Leonhardt, K. Sewake (1999), *Growing Dendrobium Orchids in Hawaii: Production and Pest Management Guide*, University of Hawaii, 96pp.

[10] M.R. Cho, T.J. Kang, H.H. Kim, et al. (2012), “Survey on nematodes in cymbidium and chemical control of *Ditylenchus* sp.”, *Korean Journal of Applied Entomology*, **51**(2), pp.153-156, DOI: 10.5656/KSAE.2012.03.0.14.

[11] R.P. Pant, N.K. Meena, R.P. Medhi (2013), “Important diseases of orchids and their management - National Research Centre for Orchids”, *Technical Bulletin*, **9**, 41pp.

[12] L.M. Kohl (2011), “Foliar nematodes: A summary of biology and control with a compilation of host range”, *Plant Health Prog.*, **12**(1), DOI: 10.1094/PHP-2011-1129-01-RV.

[13] G.B. Bergeson (1972), “Concepts of nematode-fungus associations in plant disease complexes: A review”, *Experimental Parasitology*, **32**(2), pp.301-314, DOI: 10.1016/0014-4894(72)90037-9.

[14] N.N. Chau (2003), *Plant Nematodes and Prevention Fundament*, Science and Technology Publishing House, 302pp (in Vietnamese).

[15] N.N. Chau, N.V. Thanh (1993), *New Method to Separate Nematodes from Soil and Plant Tissue*, Scientific and Technical Achievements Applied to Production, pp.41-45 (in Vietnamese).

[16] W.D. Courtney, D. Polley, V.L. Miller (1995), “TAF, an improved fixative in nematode technique”, *Plant Disease Reporter*, **39**(7), pp.570-571.

[17] M.R. Siddiqi (2000), *Tylenchida: Parasites of Plants and Insects*, CABI, 864pp, DOI: 10.1079/9780851992020.0000.

[18] N.N. Chau, N.V. Thanh (2000), *Vietnamese Plant Parasitic Nematodes*, Science and Technics Publishing House, 401pp (in Vietnamese).

[19] M.W. Allen (1957), “A review of the nematodes genus *Trichodorus* with descriptions of ten new species”, *Nematologica*, **2**, pp.32-62, DOI: 10.1163/187529257x00635.

[20] N.N. Chau (1997), “On some trichodorids (Nematoda: Trichodoridae) from Vietnam”, *Inter. J. Nematology*, **7**, pp.80-84.

[21] S.A. Sher (1966), “Revision of the *Hoplolaiminae* (Nematoda). VI. *Helicotylenchus* Steiner 1945”, *Nematologica*, **12**(1), pp.1-56, DOI: 10.1163/187529266X00013.

[22] N.N. Chau (1996), *Plant Parasitic Nematodes Associated with Banana in Vietnam*, Thesis for Master of Science in Nematology, University of Gent, Belgium, Gent, 69pp.

[23] B. Weischer (1993), *Nematode-Virus Interactions*, Springer Netherlands, pp.217-231.

[24] P. Baujard, B. Martiny (1995), “Ecology and pathogenicity of the *Hoplolaimidae* (Nemata) from the Sahelian zone of West Africa: 7. *Helicotylenchus dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961 and comparison with *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956”, *Fundamental and Applied Nematology*, **18**, pp.503-511.

Ứng dụng chỉ thị mã vạch DNA-ITS2 để định danh một số mẫu dược liệu

Nguyễn Tiến Dũng^{1*}, Trần Thị Thu Hà¹, Nguyễn Đức Huy¹, Trịnh Ngọc Ái², Nguyễn Phi Hùng³

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

²Trường Đại học Trà Vinh, 126 Nguyễn Thiện Thành, phường 5, TP Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh, Việt Nam

³Viện Hóa học các Hợp chất Thiên nhiên, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/4/2023; ngày chuyển phản biện 20/4/2023; ngày nhận phản biện 2/5/2023; ngày chấp nhận đăng 8/5/2023

Tóm tắt:

Ngày nay nhu cầu sử dụng thảo dược làm thuốc hỗ trợ điều trị và bảo vệ sức khỏe con người ngày càng tăng. Cùng với sự phát triển của thị trường thảo dược, tình trạng gian lận và làm giả các loại thảo dược ngày càng phổ biến ở nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Việc xác định chính xác nguồn gốc loài thảo dược bằng phương pháp hình thái hay hóa học thường gặp nhiều khó khăn khi các nguyên liệu này bị trộn lẫn hoặc qua sơ chế. Do đó, cần phải sử dụng phương pháp phân tử dựa trên chỉ thị DNA. ITS là chỉ thị vùng gen nhân có tính bảo thủ cao đã được ứng dụng rộng rãi trong định danh và đánh giá đa dạng di truyền ở nhiều loài thực vật. Trong nghiên cứu này, chỉ thị vùng gen ITS2 đã được sử dụng để định danh 8 mẫu dược liệu, gồm 2 mẫu đinh lăng (DLTN, DLBG), 2 mẫu ba kích (BKTN, BKQN), 2 mẫu gừng đen (GDTN, GDYB) và 2 mẫu nghệ đen (NDTN, NDYB). Kết quả phân tích và giải trình tự vùng gen ITS2 ở các mẫu cho thấy, 2 mẫu DLTN và DLBG là loài đinh lăng lá nhỏ *Polyscias fruticosa*; mẫu ba kích thuộc 2 loài khác nhau là *Gynochthodes officinalis* (BKTN) và *Morinda officinalis* (BKQN); 2 mẫu gừng đen GDTN và GDYB là loài ngải đen *Kaempferia parviflora*; mẫu nghệ đen NDTN và NDYB thuộc loài nghệ xanh (*Curcuma caesia*). Từ các kết quả nghiên cứu cho thấy, chỉ thị ITS2 có thể sử dụng để định danh các loài dược liệu.

Từ khóa: ba kích, đinh lăng, gừng, ITS, mã vạch DNA, nghệ.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Sử dụng thực vật như một loại thuốc thảo dược trong điều trị bệnh và bảo vệ sức khỏe đã được con người thực hiện từ hàng nghìn năm nay ở nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là các nước châu Á như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Việt Nam... [1-4]. Ngày nay, do nhu cầu về thảo dược ngày càng tăng nên thị trường nguyên liệu thảo dược và sản phẩm của chúng cũng ngày càng phát triển mạnh. Sự phát triển của thị trường và lợi nhuận mang lại từ việc buôn bán nguyên liệu thảo dược đã dẫn đến xu hướng làm giả các nguyên liệu ngày càng phổ biến và đang trở thành vấn đề phức tạp ở nhiều nước trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Bằng nhiều cách khác nhau, nguyên liệu thảo dược có thể bị làm giả, thay thế hoặc trộn lẫn với các loại khác [5]. Do đó, việc kiểm soát chất lượng nguyên liệu thông qua xác định đúng loài là một việc quan trọng để đảm bảo về chất lượng nguồn nguyên liệu cũng như sản phẩm có nguồn gốc thảo dược. Thông thường, việc xác định các nguyên liệu thảo dược được thực hiện theo phương pháp truyền thống như dựa trên hình thái, cảm quan và phương pháp hóa học. Tuy nhiên, các phương pháp đánh giá này còn nhiều hạn chế và gặp khó khăn khi nguyên liệu bị lẫn tạp, làm giả hoặc qua sơ chế [5]. Để giải quyết vấn đề này, cần phải sử dụng phương pháp dựa trên chỉ thị DNA mới đảm bảo độ chính xác, qua đó sẽ góp phần hạn chế tình trạng gian lận và bảo vệ người tiêu dùng [6].

Hiện nay, một số mã vạch DNA đã được nghiên cứu và ứng dụng ở các cây dược liệu như vùng gen nhân ITS, gen lục lạp *rcbL*, *psbA-trnH* và *matK* [7-9]. Ở Việt Nam, P.K Long và cs (2014) [10] đã phân tích trình tự vùng gen *matK* và ITS để xác định mối quan hệ di truyền của các mẫu sâm thu ở Lai Châu. Nhóm tác giả đã chỉ ra vùng gen *matK* ở sâm Lai Châu có sự sai khác 2 nucleotid so với sâm Ngọc Linh. Gen ITS có 4 nucleotid khác biệt giữa 2 loại sâm trên. L.T. Huong và cs (2017) [11] sử dụng 5 mã vạch gồm: 18S, ITS, *matK*, *rcbL* và *psbA-trnH* để định loại một số loài thuộc chi nhân sâm (*Panax* L.) và kết luận rằng, chỉ thị ITS có khả năng định danh hiệu quả ở sâm Ngọc Linh và Tam thất hoang. Tương tự, N.T. Giang và cs (2020) [12] đã sử dụng chỉ thị gen ITS, *matK*, *rcbL* để định danh một số mẫu gừng và nghệ thu thập ở các khu vực khác nhau. Chỉ thị ITS cũng cho thấy khả năng phân loại tốt ở mẫu cây thuộc chi đinh lăng (*Polyscias*) [13, 14]. Trong nghiên cứu này, chỉ thị ITS được sử dụng để định danh một số mẫu dược liệu, bao gồm đinh lăng, ba kích, gừng đen và nghệ đen thu thập ở Bắc Giang, Thái Nguyên, Yên Bái và Quảng Ninh. Kết quả nghiên cứu góp phần bổ sung cơ sở khoa học cho việc ứng dụng chỉ thị DNA vào việc giám định loài cây dược liệu ở Việt Nam.

*Tác giả liên hệ: Email: dungnt@tuaf.edu.vn

Application of DNA barcode ITS2 to identify herbal medicinal materials

Tien Dung Nguyen^{1*}, Thi Thu Ha Tran¹,
Duc Huy Nguyen¹, Ngoc Ai Trinh², Phi Hung Nguyen³

¹Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University,
Quyet Thang Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

²Tra Vinh University, 126 Nguyen Thien Thanh Street,
Ward 5, Tra Vinh City, Tra Vinh Province, Vietnam

³Institute of Natural Products Chemistry,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 17 April 2023; revised 2 May 2023; accepted 8 May 2023

Abstract:

Nowadays, the demand for using herb plants to treat and protect human health is increasing. Along with the growing herbal market, the adulteration of herbal medicinal materials is increasing in many countries, including Vietnam. It is difficult to determine the origin of herbal medicinal materials by morphological or chemical methods when they are substituted by herbs from closely related species or adulterated intentionally by materials from unrelated plants or processed materials. Therefore, it is necessary to use molecular methods based on DNA markers. ITS is a highly conservative nuclear ribosomal marker that has been widely used in the identification of plant species. In this study, the ITS2 marker was used to identify 8 herbal medicinal materials, including 2 samples of *polyscias* (DLTN, DLBG), 2 samples of *morinda* (BKTN, BKQN), 2 samples of black zingiber (GDTN, GDYB) and 2 samples of black curcuma (NDTN, NDYB). Gene analysis and sequencing results showed that the DLTN and DLBG were *Polyscias fruticosa*; BKTN and BKQN were different species, *Gynochthodes officinalis* (BKTN) and *Morinda officinalis* (BKQN); GDTN and GDYB were *Kaempferia parviflora*; NDTN and NDYB were *Curcuma caesia*. The research results show that the ITS2 indicator can be used to identify medicinal species.

Keywords: curcuma, DNA barcode, ITS, morinda, *polyscias*, zingiber.

Classification number: 1.6

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

8 mẫu nghiên cứu, bao gồm đinh lăng, ba kích, gừng đen, nghệ đen thu ở các địa điểm khác nhau trong khoảng thời gian từ tháng 8-10/2021. Danh sách mẫu được thống kê chi tiết ở bảng 1.

Bảng 1. Các mẫu được liệu sử dụng trong nghiên cứu.

Thứ tự	Tên mẫu	Ký hiệu	Nơi thu thập	Trạng thái
1	Đinh lăng	DLBG	Đào Mỹ, Lạng Giang, Bắc Giang	Rễ khô
2	Đinh lăng	DLTN	Văn Lăng, Đồng Hỷ, Thái Nguyên	Rễ khô
3	Ba kích	BKTN	Văn Lăng, Đồng Hỷ, Thái Nguyên	Rễ tươi
4	Ba kích	BKQN	Thanh Sơn, Ba Chẽ, Quảng Ninh	Rễ tươi
5	Gừng đen	GDTN	Văn Lăng, Đồng Hỷ, Thái Nguyên	Củ tươi
6	Gừng đen	GDYB	Nghĩa Sơn, Văn Chấn, Yên Bái	Củ tươi
7	Nghệ đen	NDYB	An Lương, Văn Chấn, Yên Bái	Củ tươi
8	Nghệ đen	NDTN	Thái Sơn, Quyết Thắng, Thái Nguyên	Củ tươi

2.2. Tách chiết DNA tổng số và khuếch đại vùng gen ITS2

DNA tổng số được tách chiết từ các mẫu nghiên cứu theo phương pháp CTAB của J.J. Doyle và cs (1990) [15].

Phản ứng PCR khuếch đại vùng gen ITS2 được thực hiện trên máy PCR (Mastercycler Nexus, Đức), sử dụng cặp mồi ITS2-F (5'-ATGCGATACTTGGTGTGAAT-3') và ITS4-R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [16]. Phản ứng được thực hiện ở thể tích 50 µl, gồm các thành phần: 20,5 µl Master Mix 2X (Phusa Biochem, Việt Nam), 1 µl mồi ITS2-F (10 pmol), 1 µl mồi ITS4-R (10 pmol), 1 µl DNA khuôn và 26,5 µl H₂O. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR gồm: biến tính ở 94°C trong 4 phút, tiếp sau là 30 chu kỳ: 94°C/40 giây, 56°C/40 giây, 72°C/45 giây và kết thúc phản ứng ở 72°C trong 5 phút. Sau khi kết thúc phản ứng, sản phẩm PCR sẽ được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8% và được tinh sạch bằng bộ kit PCR purification của Hãng Solgen, Hàn Quốc.

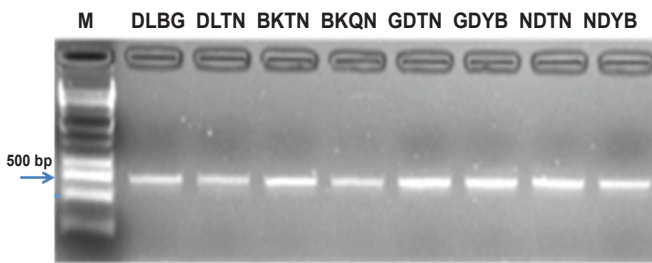
2.3. Xác định loài

Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được gửi đi giải trình tự tại Công ty Apical Scientific (<https://apicalscientific.com>, Malaysia). Kết quả giải trình tự được xử lý bằng phần mềm BioEdit và so sánh với trình tự loài trên Ngân hàng gen NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>). Loài được xác định dựa trên mức độ tương đồng cao nhất với các loài được công bố. Cây phân loại được xây dựng dựa trên phần mềm MEGA11 theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000 [17]. Giá trị Bootstrap được phân loại theo W.J. Kress và cs (2002) [18]: hệ số cao (>85%), trung bình (70-85%), thấp (50-69%), yếu (<50%).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả khuếch đại vùng gen ITS2

DNA tổng số được sử dụng làm khuôn để khuếch đại vùng gen ITS2 từ các mẫu nghiên cứu. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose cho thấy, tất cả các mẫu đều cho một băng duy nhất có kích thước tương ứng khoảng 652 bp phù hợp với kích thước lý thuyết (hình 1). Kết quả này chứng tỏ vùng gen ITS2 đã được khuếch đại thành công từ các mẫu nghiên cứu.



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại vùng gen ITS2 từ mẫu nghiên cứu trên gel agarose 0,8%. M: 1 kb DNA marker.

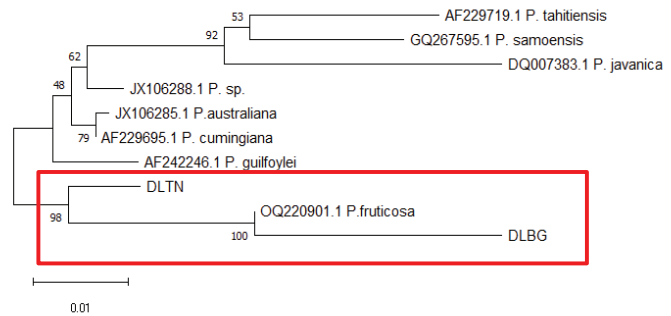
3.2. Kết quả xác định loài bằng chỉ thị ITS2

3.2.1. Xác định loài đinh lăng

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS2 từ 2 mẫu đinh lăng thu thập tại Bắc Giang (DLBG) và Thái Nguyên (DLTN) cho thấy, 2 mẫu này có tỷ lệ tương đồng cao (>98,8%) so với trình tự vùng gen ITS2 có mã số OQ220901.1 đã công bố trên Ngân hàng gen (bảng 2). So sánh với các loài khác thuộc chi *Polyscias* gồm: *P. tahitiensis*, *P. samoensis*, *P. javanica*, *Polyscias* sp., *P. australiana*, *P. cumingiana*, *P. quiffoylei* và *P. fruticosa* cho thấy, 2 mẫu DLTN và DLBG có độ tương đồng cao với loài *P. fruticosa* (hình 2). Điều này chứng tỏ 2 mẫu DLTN và DLBG là loài *P. fruticosa* - đinh lăng lá nhỏ [13].

Bảng 2. Kết quả so sánh trình tự gen ITS2 với các tham chiếu trên ngân hàng gen (NCBI)

Thứ tự	Ký hiệu	Kết quả tham chiếu NCBI	Mức độ tương đồng (%)	Tên khoa học	Tên Việt Nam
1	DLBG	OQ220901.1	98,86	<i>P. fruticosa</i>	Đinh lăng lá nhỏ
2	DLTN	OQ220901.1	98,82	<i>P. fruticosa</i>	Đinh lăng lá nhỏ
3	BKTN	KX709850.1	98,88	<i>G. officinalis</i>	Ba kích
4	BKQN	KC441036.1	99,44	<i>M. officinalis</i>	Ba kích tím
5	GDTN	DQ064592.1	98,65	<i>K. parviflora</i>	Ngải đen
6	GDYB	DQ064592.1	99,32	<i>K. parviflora</i>	Ngải đen
7	NDYB	KF304499.1	99,04	<i>C. caesia</i>	Nghệ xanh
8	NDTN	KF304499.1	98,69	<i>C. caesia</i>	Nghệ xanh



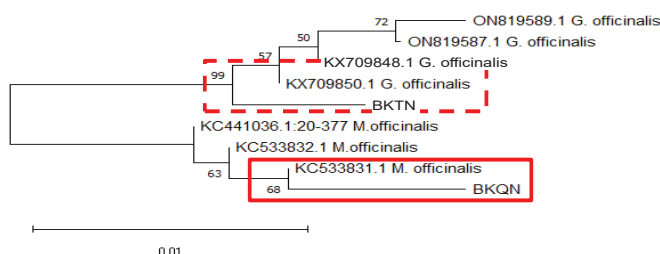
Hình 2. Cây phân loại di truyền của DLTN và DLBG với một số loài chi *Polyscias* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

Đinh lăng là loại cây thảo dược thuộc chi *Polyscias* được trồng phổ biến ở Việt Nam. Thành phần hóa học chính trong đinh lăng là saponin đã được khẳng định vai trò trong tăng cường và bảo vệ sức khỏe của con người như chống viêm, giải độc, giảm đau, hỗ trợ tiêu hóa... [19, 20].

H.T.T Hue và cs (2022) [13] đã ứng dụng chỉ thị ITS và *matK* trong nhận dạng một số loài đinh lăng của Việt Nam. Kết quả cho thấy, chỉ thị ITS giúp phân biệt tốt 5 loài đinh lăng, gồm đinh lăng lá nhỏ (*P. fruticosa*), đinh lăng lá đĩa (*P. scutellaria*), đinh lăng lá răng (*P. serrata*), đinh lăng lá to (*P. filicifolia*), đinh lăng lá tròn (*P. balfouriana*). Tương tự, N.V. Ay và cs (2022) [14] ứng dụng chỉ thị ITS trong phân tích đa dạng di truyền của 9 mẫu đinh lăng thu thập tại Cà Mau, Cần Thơ, Hậu Giang và An Giang thuộc các loài *Polyscias* sp., *P. fruticosa*, *P. quiffoylei* và *P. scutellaria*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng chỉ thị ITS2 để nhận dạng 2 mẫu đinh lăng thu thập tại Bắc Giang và Thái Nguyên, kết quả cho thấy cả 2 mẫu này đều là đinh lăng lá nhỏ *P. fruticosa*.

3.2.2. Xác định loài ba kích

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS2 và so sánh với Ngân hàng gen NCBI cho thấy, mẫu ba kích thu thập tại Thái Nguyên (BKTN) và Quảng Ninh (BKQN) có độ tương đồng cao (>98,6%) với trình tự vùng gen ITS2 của 2 loài *G. officinalis* và *M. officinalis*. Kết quả phân tích trình tự gen và xây dựng cây phân loại di truyền thông qua hệ số tương đồng cho thấy, mẫu BKTN nằm cùng nhóm với loài *G. officinalis*, gần với trình tự công bố có mã số KX709850.1, giá trị Bootstrap cao (99%) (hình 3). Mẫu ba kích thu thập ở Quảng Ninh (BKQN) nằm cùng nhóm với loài *M. officinalis*, có độ tương đồng với các loài công bố gồm KC441036.1, KC533832.1 và KC533831.1. Mặc dù giá trị Bootstrap của BKQN so với các loài cùng nhóm ở mức thấp (68%), nhưng kết quả này chứng tỏ 2 mẫu ba kích thu thập thuộc 2 loài khác nhau, BKTN thuộc loài *G. officinalis* và BKQN có thể thuộc loài *M. officinalis* (hình 3).

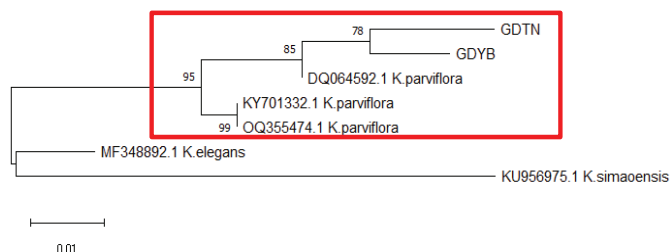


Hình 3. Cây phân loại di truyền của BKTN và BKQN với một số loài ba kích nhóm *Gynochthodes* và *Morinda* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

Nghiên cứu của P.V. Kien và cs (2018) [21] chỉ ra rằng, ITS là chỉ thị có khả năng ứng dụng tốt hơn so với các chỉ thị *rbcL*, *psbA-trnH* và *matK* đối với loài ba kích *M. officinalis*. Kết quả định danh 6 mẫu ba kích thu thập ở các tỉnh Bắc Giang, Quảng Ninh, Quảng Nam và Hà Giang cho thấy, có 2 mẫu thuộc họ Viền Chi (*Polygalaceae*), chi *Polygala* không phải loài ba kích *M. officinalis*. Trong nghiên cứu này, vùng ITS2 được sử dụng để nhận dạng 2 mẫu BKTN và BKQN. Kết quả phân tích cho thấy, 2 mẫu BKTN và BKQN không cùng loài. Dựa trên hệ số Bootstrap có thể khẳng định, mẫu BKTN là loài *G. officinalis*, mẫu BKQN có thể thuộc loài *M. officinalis*. Để định danh chính xác mẫu BKQN cần sử dụng kết hợp thêm chỉ thị *rbcL*, *psbA-trnH* hoặc *matK*.

3.2.3. Xác định loài gừng đen và nghệ đen

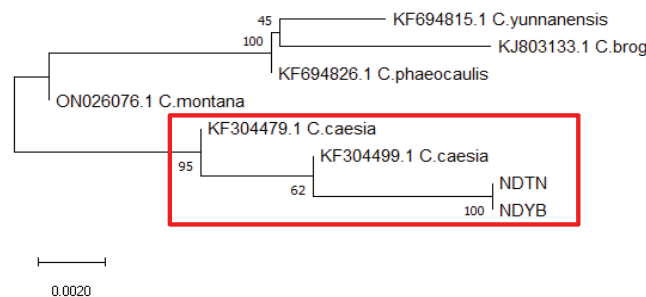
Kết quả so sánh trình tự gen vùng gen ITS2 của mẫu gừng đen Thái Nguyên (GDTN) và Yên Bái (GDYB) với một số loài công bố gồm *K. parviflora*, *K. elegans* và *K. simaoensis* chỉ ra rằng, mẫu GDTN và GDYB có độ tương đồng cao (95,92-99,32%) với loài *K. parviflora*. 2 mẫu GDTN và GDYB nằm cùng nhánh với loài *K. parviflora*, bao gồm DQ064592.1 (85%), KY701332.1 (95%) và OQ355474.1 (95%) (hình 4). Kết quả này cho thấy, 2 mẫu GDTN và GDYB không phải gừng đen mà thuộc nhóm ngải đen có tên khoa học là *K. parviflora*.



Hình 4. Cây phân loại di truyền của GDTN và GDYB với một số loài chi *Kaempferia* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

Kết quả giải trình tự vùng gen ITS2 và so sánh với một số trình tự gen thuộc các loài *C. caesia*, *C. montana*, *C. phaeocaulis*, *C. yunnanensis* và *C. brog* đã công bố trên Ngân hàng gen NCBI cho thấy, mẫu nghệ đen thu thập tại

Yên Bái (NDYB) và Thái Nguyên (NDTN) có độ tương đồng cao và cùng nhánh phân loại với loài *C. caesia* - nghệ xanh (hình 5). Kết quả này chứng tỏ 2 mẫu NDYB và NDTN không phải nghệ đen mà là nghệ xanh.



Hình 5. Cây phân loại di truyền của NDTN và NDYB với một số loài chi *Curcuma* theo phương pháp Maximum-Likelihood với giá trị Bootstrap 1000.

N.T. Giang và cs (2020) [12] sử dụng chỉ thị ITS để phân biệt 6 mẫu gừng và 2 mẫu nghệ thu thập tại các tỉnh Long An, Đồng Nai, Lâm Đồng, Hà Giang và TP Hồ Chí Minh đã chỉ ra 5 mẫu gừng thuộc loài *Z. officianate*, 1 mẫu thuộc loài *Z. zerumbet*. Trong 2 mẫu nghệ thu thập tại Hà Giang có 1 mẫu là loài *C. longa*, mẫu còn lại là *C. roscoeana*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi định danh 2 mẫu được cho là gừng đen thu thập ở Yên Bái (GDYB) và Thái Nguyên (GDTN). Về hình thái, 2 mẫu củ này có kích thước nhỏ như gừng núi đá Lạng Sơn, tuy nhiên phần thịt củ màu đen hoàn toàn nên đa phần người dân gọi là gừng đen. Tuy nhiên, kết quả định danh bằng chỉ thị ITS2 cho thấy, 2 mẫu này thuộc họ gừng (*Zingiberaceae*), chi Địa liên (*Kaempferia*), loài *K. Parviflora* - ngải đen. 2 mẫu nghệ đen NDTN và NDYB có độ tương đồng di truyền cao và đều thuộc loài *C. caesia* - nghệ xanh

ITS là vùng gen nhân, bao gồm ITS1, 5,8 rDNA và ITS2 với kích thước từ 400 đến trên 1000 bp [9]. Đây là trình tự thường xuyên được sử dụng trong phân loại di truyền ở thực vật do tính phân loại cao và dễ khuếch đại. Đồng thời là trình tự sử dụng làm mã vạch DNA và định danh loài cây thuốc rất hiệu quả, tần suất sử dụng vùng ITS (26%) lớn hơn so với *trn-psA* (9%), *rbcL* (8%) và *matK* (8%) [22, 23]. J. Karehed và cs (2008) [24] đã báo cáo vùng ITS1 cho đầy đủ thông tin của 6 locus để phân biệt được 14 loài *Hedyotis* L. trong chi *Rubiaceae*. M. Li và cs (2010) [25] sử dụng vùng ITS để phân biệt thuốc chống ung thư “Baihuasheshicao” chính hãng có thành phần loài *H. diffusa* và thuốc giả bị pha trộn loài *H. cordylobosa*. Vùng ITS2 có tính phân định cao ở trên 55 loài cây thuốc đã qua chế biến thuộc 48 họ khác nhau [26]. S. Chen và cs (2010) [16] đã báo cáo rằng, ITS2 giúp phân định thành công 24 loài cây thuốc và 66 loài liên quan ở cấp độ chi. Đã có 4800 loài trong số 750 chi đã được định danh bằng chỉ thị ITS2. Từ các kết quả nghiên cứu trên cho thấy, vùng ITS2 là chỉ thị có tính phân định cao, phổ quát có thể ứng dụng làm chỉ thị DNA cho việc xác định đúng loài ở cây dược liệu.

4. Kết luận

Bằng chỉ thị vùng gen ITS2 đã bước đầu phân loại được 8 mẫu được liệu thu tại Thái Nguyên, Bắc Giang, Quảng Ninh và Yên Bái. Trong đó, 2 mẫu đỉnh lăng (DLTN và DLBG) thuộc loài đỉnh lăng lá nhỏ *P. fruticosa*; 2 mẫu ba kích (BKTN và BKQN) thuộc 2 loài khác nhau là *G. officinalis* (BKTN) và *M. officinalis* (BKQN); 2 mẫu gừng đen (GDTN và GDYB) thuộc loài gừng đen *K. parviflora*; 2 mẫu nghệ đen (NDTN và NDYB) thuộc loài nghệ xanh *C. caesia*. Đây là kết quả định danh sơ bộ dựa trên trình tự vùng gen ITS2, để có thêm cơ sở khẳng định tên loài cho các mẫu nghiên cứu trên cần tiến hành thêm một số chỉ thị vùng gen khác như *rbcL*, *psbA-trnH* hoặc *matK*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Singh, S. Singh, S. Prasad (2016), "Role of medicinal plants for health perspective: Special reference to antioxidant potential", *J. Chem. Biol. Ther.*, **1**(2), DOI: 10.4172/2572-0406.1000106.
- [2] K. Hostettmann, A. Marston, K. Ndjoko, et al. (2005), "The potential of African plants as a source of drugs", *Curr. Org. Chem.*, **4**(10), pp.973-1010, DOI: 10.2174/1385272003375923.
- [3] S. Sohani (2021), "Role of medicinal plant in human health perspective", *Acta Scientific Agriculture*, **5**(6), pp.65-68.
- [4] Y.Z. Shu (1998), "Recent natural products based drug development: A pharmaceutical industry perspective", *J. Nat. Product.*, **61**(8), pp.1053-1071, DOI: 10.1021/np9800102.
- [5] P.P. But (1994), "Herbal poisoning caused by adulterants or erroneous substitutes", *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **97**(6), pp.371-374.
- [6] B. Tomlinson, T.Y. Chan, J.C. Chan, et al. (2000), "Toxicity of complementary therapies: An eastern perspective", *Journal of Clinical Pharmacology*, **40**(5), pp.451-456, DOI: 10.1177/00912700022009206.
- [7] J. Yu, X. Wu, C. Liu, et al. (2021), "Progress in the use of DNA barcodes in the identification and classification of medicinal plants", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **208**, DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111691.
- [8] R. Jamdade, K.A. Mosa, A.E. Keblawy, et al. (2022), "DNA barcodes for accurate identification of selected medicinal plants (*Caryophyllales*): Toward barcoding flowering plants of the United Arab Emirates", *Diversity*, **14**(4), DOI: 10.3390/d14040262.
- [9] M. Li, H. Cao, P.P.H. But, et al. (2011), "Identification of herbal medicinal materials using DNA barcodes", *Journal of Systematics and Evolution*, **49**(3), pp.271-283, DOI: 10.1111/j.1759-6831.2011.00132.x.
- [10] P.K. Long, V.D. Huy, P.K. Loc, et al. (2014), "Phylogenetic relationships of the *Panax* samples collected in Lai Chau province based on *MatK* an ITS-rDNA sequences", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **12**(2), pp.327-337.
- [11] L.T. Huong, N.N. Linh, B.M. Minh, et al. (2017), "Application of DNA barcodes in identification of ginseng samples in the genus *Panax* L.", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **15**(1), pp.63-72.
- [12] N.T. Giang, M.T.K. Ngoc, P.Q. Huong, et al. (2020), "Assessment of genetic relationship of gingers (*Zingiber* spp.) in Vietnam based on DNA barcode markers", *Proceeding of The National Conference on Biotechnology*, pp.137-142.
- [13] H.T.T. Hue, N.T.B. Ngoc, D.Q. Ha, et al. (2022), "Analysis of DNA barcode region *ITS* and *MatK* in some *Polyscias* plants of Vietnam", *TNU Journal of Science and Technology*, **227**(5), pp.318-325.
- [14] N.V. Ay, T.T.T. Nghia, T.N.P. Lam, et al. (2022), "Comparative study on biosubstances content and genetic diversity of *Polyscias* species", *CTU Journal of Science*, **58**(2), pp.9-17, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2022.115.
- [15] J.J. Doyle, J.L. Doyle (1990), "Isolation of plant DNA from fresh tissue", *Focus*, **12**, pp.13-15.
- [16] S. Chen, H. Yao, J. Han, et al. (2010), "Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species", *PLOS ONE*, **5**(1), DOI: 10.1371/journal.pone.0008613.
- [17] K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar (2021), "MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11", *Mol. Biol. Evol.*, **38**(7), pp.3022-3027, DOI: 10.1093/molbev/msab120.
- [18] W.J. Kress, L.M. Prince, K.J. Williams (2002), "The phylogeny and a new classification of the gingers (*Zingiberaceae*): Evidence from molecular data", *Am. J. Bot.*, **89**(10), pp.1682-1696, DOI: 10.3732/ajb.89.10.1682.
- [19] T.T.H. Nguyen, T.M. Huynh (2003), "In vitro antioxidant effects of *Polyscias fruticosa* Harms. *Araliaceae*", *Journal of Medicinal Materials*, **8**(5), pp.142-146.
- [20] T.T.H. Nguyen, T.A.N. Nguyen (2004), "The hepatoprotective effects of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms capsules on ethanol-induced chronic liver damage", *Journal of Medicinal Materials*, **9**(3), pp.85-89 (in Vietnamese).
- [21] P.V. Kien, D.C. Son, P.T.M. Tam, et al. (2018), "Application of DNA barcodes in identification of *Radix morinda officinalis* How. in Viet Nam", *Journal of Pharmacy*, **58**(11), pp.18-23 (in Vietnamese).
- [22] I. Alvarez, J.F. Wendel (2003), "Ribosomal ITS sequences and plant phylogenetic inference", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **29**(3), pp.417-434, DOI: 10.1016/s1055-7903(03)00208-2.
- [23] W.J. Kress, K.J. Wurdack, E.A. Zimmer, et al. (2005), "Use of DNA barcodes to identify flowering plants", *PNAS*, **102**(23), pp.8369-8374, DOI: 10.1073/pnas.050312310.
- [24] J. Karched, I. Groeninckx, S. Dessein, et al. (2008), "The phylogenetic utility of chloroplast and nuclear DNA markers and the phylogeny of the *Rubiaceae* tribe *Spermacoceae*", *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**(3), pp.843-866, DOI: 10.1016/j.ympev.2008.09.025.
- [25] M. Li, R.W. Jiang, P.M. Hon, et al. (2010), "Authentication of the anti-tumor herb *Baihuasheshecao* with bioactive marker compounds and molecular sequences", *Food Chemistry*, **119**(3), pp.1239-1245, DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.09.013.
- [26] S.J. Chiou, J.H. Yen, C.L. Fang, et al. (2007), "Authentication of medicinal herbs using PCR-amplified ITS2 with specific primers", *Planta Medica*, **73**(13), pp.1421-1426, DOI: 10.1055/s-2007-990227.

Phân tích vai trò của gen *HSC70* đến sinh trưởng và phát triển của cây cà chua

Vũ Tuấn Nam^{1,2*}, Đào Quang Hà², Nguyễn Nhật Linh², Lưu Hàn Ly²,
Hà Hồng Hạnh², Huỳnh Thị Thu Huệ^{1,2}, Lê Thị Thu Hiền^{1,2}

¹Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, TP Hà Nội, Việt Nam

²Viện Nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, TP Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 11/7/2022; ngày chuyển phản biện 13/7/2022; ngày nhận phản biện 28/7/2022; ngày chấp nhận đăng 1/8/2022

Tóm tắt:

Cà chua là một trong những cây nông nghiệp có giá trị kinh tế cao. Họ gen *HSP70* được cho là có vai trò quan trọng đối với khả năng chống chịu của cây trồng đáp ứng với các yếu tố môi trường khác nhau. *HSC70* là một gen trong họ gen *HSP70*, được dự đoán có vai trò đối với sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng, tuy nhiên các chức năng sinh học của gen *HSC70* vẫn chưa được chứng minh cụ thể. Nghiên cứu này mô tả đặc điểm của gen *HSC70* ở cây cà chua, đồng thời đánh giá vai trò của gen *HSC70* đối với sự sinh trưởng của cà chua thông qua phân tích kiểu hình của thể đột biến. Kết quả cho thấy, đột biến vô nghĩa ở gen *HSC70* gây thấp cây, làm giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ đậu quả của cà chua, tuy nhiên các đột biến sai nghĩa không làm thay đổi đáng kể về kiểu hình. Hình dạng và cấu trúc lá, thời gian ra hoa của cây cà chua không bị ảnh hưởng bởi tác động của các đột biến gen *HSC70*. Kết quả nghiên cứu đã cung cấp những hiểu biết ban đầu để tìm hiểu sâu hơn về cơ chế ảnh hưởng của gen *HSC70* đối với sự nảy mầm, sinh trưởng và quá trình tạo quả cà chua.

Từ khóa: cà chua, đột biến, *HSC70*, tỷ lệ đậu quả, tỷ lệ nảy mầm.

Chỉ số phân loại: 1.6

1. Đặt vấn đề

Cà chua (*Solanum lycopersicum*) là một trong những loại cây trồng có giá trị cao, được trồng phổ biến trên thế giới [1]. Mặc dù vậy, sự sinh trưởng cũng như năng suất của cà chua bị ảnh hưởng rất lớn bởi các yếu tố ngoại sinh, chủ yếu là các yếu tố vô sinh như nhiệt độ, độ ẩm, độ mặn, bên cạnh một số yếu tố hữu sinh như vi khuẩn, virus gây bệnh [2, 3]. Điều kiện nắng nóng làm suy thoái hầu hết các đặc điểm sinh sản, làm giảm khả năng ra hoa, đậu quả của cà chua [4]. Các điều kiện khác như hạn hán làm cho cây thấp hơn, ít lá hơn, trong khi độ mặn cao làm chậm thời gian nảy mầm của hạt, ức chế phát triển rễ và chồi cũng như sự ổn định của màng tế bào, từ đó làm giảm hoàn toàn khả năng sinh trưởng và phát triển của cây [5, 6].

Trong quá trình sinh trưởng, thực vật đã phát triển các cơ chế thích nghi với điều kiện sống nhờ sự phản ứng linh hoạt của các gen trong hệ gen [7]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, có nhiều gen tham gia phản ứng với các điều kiện môi trường không thuận lợi, chẳng hạn như gen *HSP101*,

GATA17, *HSP70* hoặc kích thích hoặc ức chế quá trình sinh tổng hợp các chất điều hòa sinh trưởng, thông qua các yếu tố phiên mã sinh trưởng như gen *YACCA6* (*YUC6*), auxin/ indole-3-acetic acid 9 (*IAA9*), hoặc *DELLA* [8-13]. Trong đó, *HSP70* là một trong những gen được phát hiện gần như sớm nhất, được cho là có liên quan đến quá trình chống chịu điều kiện nhiệt độ bất lợi, được phát hiện lần đầu tiên ở ruồi giấm (*Drosophila*) những năm 1960, sau đó được biết đến ở hầu hết các sinh vật khác [14]. Ở cà chua, các gen *HSP70* cũng được chứng minh là liên quan đến tính chống chịu nhiệt, trong mối quan hệ tương tác gen *HSP90* và các yếu tố phiên mã liên quan [13]. Bên cạnh đó, người ta còn phát hiện ra một trong những thành viên của họ gen không chỉ biểu hiện cao ở điều kiện bất lợi, mà còn biểu hiện ngay cả điều kiện sinh lý bình thường, được gọi là *HSC70* [15]. Sự biểu hiện của gen này được xác nhận trong hệ thống mạch dẫn, các tế bào phân chia của các chóp rễ bên và phần bên trong của hạt non, trong bao phấn chưa trưởng thành và trong phôi [15, 16]. Mặc dù vậy, vai trò cụ thể của nó trong quá trình sinh trưởng của cà chua vẫn chưa được biết đến.

*Tác giả liên hệ: Email: vtnam@igr.ac.vn

Evaluation of the involvement of *HSC70* gene in the growth and development of tomato

Tuan Nam Vu^{1,2*}, Quang Ha Dao², Nhat Linh Nguyen²,
Han Ly Luu², Hong Hanh Ha²,
Thi Thu Hue Huynh^{1,2}, Thi Thu Hien Le^{1,2}

¹Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Institute for Genomic Research, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 11 July 2022; revised 28 July 2022; accepted 1 August 2022

Abstract:

Tomato is one of the high-value agricultural crops. The *HSP70* gene family is thought to play an important role in plant tolerance to various environmental factors. A family member known as *HSC70* is predicted to be involved in plant growth and development, however, its biological functions have not been demonstrated clearly. This study was conducted with the aim to characterise the *HSC70* gene in tomato plants and evaluate its contribution to tomato growth through phenotypic analysis of plant mutants with defects in the *HSC70* gene. The research results showed that nonsense mutation in the *HSC70* gene caused short plant and reduced the seed germination rate and fruit set rate of tomato. However, these missense mutations did not change these phenotypes significantly. The leaf shape, leaf structure, and flowering time of tomato were not affected by the *HSC70* mutations. These findings provided preliminary insights for further study on the role of the *HSC70* gene in the germination, elongation, and fruit setting of tomato plants.

Keywords: fruit set rate, germination rate, *HSC70*, mutations, tomato.

Classification number: 1.6

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành mô tả đặc điểm của gen *HSC70* ở cây cà chua, đồng thời phân tích kiểu hình của đột biến ngẫu nhiên trên gen, từ đó bước đầu đánh giá vai trò và chức năng sinh học của gen này đối với sinh trưởng và phát triển của cây cà chua.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Trình tự của gen *HSC70* (bao gồm trình tự phiên mã, mã hóa) và trình tự amino acid của protein tương ứng được trích xuất từ ngân hàng dữ liệu Phytozome [17]. Cấu trúc intron, exon, vị trí các vùng không dịch mã được hiển thị bằng công cụ Gene Structure Display Server (GSDS) [18]. Khối lượng phân tử và điểm đẳng điện của protein được phân tích bằng công cụ Compute pI/Mw trên cơ sở dữ liệu ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>).

Hạt cà chua (*S. lycopersicum* cv. Micro-Tom) mang đột biến ngẫu nhiên trong gen *HSC70* và hạt đối chứng (cây đại, tiếng Anh là wild type - WT) được cung cấp bởi Ngân hàng đột biến TOMATOMA, Nhật Bản. Hạt cà chua được gieo và trồng trong nhà kính có nhiệt độ 24°C được chiếu sáng với cường độ 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, chu kỳ chiếu sáng 16/8 giờ (sáng/tối).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết RNA, tổng hợp cDNA và realtime RT-PCR

RNA được tách chiết bằng kit tách chiết RNA IQeasyTM plus Plant RNA Extraction Kit (Introns, Hàn Quốc) từ thân dưới lá mầm (5 ngày tuổi), mô lá, thân, rễ, chồi ngọn (30 ngày tuổi), hoa, quả non (5 ngày tuổi), quả trưởng thành (25 ngày tuổi) và quả chín (35 ngày tuổi) của cây cà chua. cDNA được tổng hợp bằng kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit của Thermo Scientific (Hoa Kỳ). Quy trình thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

0,2 μl cDNA được thêm vào 10 μl hỗn hợp phản ứng real-time PCR chứa 5,0 μl Fast SYBRTM Green Master Mix (Thermo ScientificTM, Hoa Kỳ) và 10 pmol mỗi mỗi đặc hiệu cho gen *HSC70*. Gen *UBQ* được sử dụng làm tham chiếu. Các môi được thiết kế bằng phần mềm Primer3web ver. 4.1.0 (<https://primer3.ut.ee/>) có trình tự được trình bày như ở bảng 1. Quá trình khuếch đại được thực hiện trên máy real-time PCR StepOnePlusTM (Applied Biosystem, Hoa Kỳ), bao gồm quá trình biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 40 chu kỳ biến tính ở 95°C trong 20 giây, gắn mồi ở 58°C trong 20 giây và kéo dài ở 72°C trong 20 giây. Mức độ biểu hiện của gen mục tiêu được phân tích bằng phương pháp Delta-Delta Ct [19].

Bảng 1. Trình tự các đoạn mồi cho phản ứng PCR và real-time PCR.

Thứ tự	Tên mồi	Trình tự	%GC	T _m (°C)	Độ dài sản phẩm (bp)
<i>Trình tự mồi cho phản ứng real-time PCR</i>					
1	HSC70-F	CAAAATGCCTAACCCGAAGCC	52,4	59,8	200
2	HSC70-R	CGTAGTCCCCAAATCAATCCGA	47,8	60,6	
3	UBQ-F	CACCAAGCCAAAGAAGATCA	45,0	56,3	179
4	UBQ-R	TCAGCATTAGGGCACTCCTT	50,0	57,3	
<i>Trình tự mồi cho phản ứng PCR</i>					
1	FR1_F	AAATGCCTAACCCGAAGCCA	50,0	59,96	859
2	FR1_R	GCAGATCGGTCGTAGCCTTT	50,0	60,18	
3	FR2_F	AAAGGCTACGACCGATCTGC	55,0	60,18	1027
4	FR2_R	CTCGAATCTGGCACGGGTAA	55,0	59,83	
5	FR3_F	ATGGACAAGAGCACCGTTCA	50,0	59,6	893
6	FR3_R	TCCATAGGAACACTGCGTC	50,0	59,46	

2.2.2. Tách chiết DNA

DNA tổng số được tách từ lá cây cà chua 10 ngày tuổi theo phương pháp sử dụng cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) [20]. DNA sau đó được đo nồng độ bằng máy NanoDrop 2000c (Thermo Scientific™, Hoa Kỳ) và điện di kiểm tra trên gel Agarose 1%.

2.2.3. Sàng lọc đột biến gen HSC70

Các phân đoạn của gen *HSC70* được khuếch đại bằng PCR, sử dụng 3 cặp mồi đặc hiệu được thiết kế bằng phần mềm Primer3web ver. 4.1.0 và có trình tự như ở bảng 1. Phản ứng PCR có tổng thể tích 20 µl, bao gồm 2 µl DNA khuôn, 1 µl mỗi loại mồi đặc hiệu được trộn đều với 10 µl DreamTaq PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific™, Hoa Kỳ). Quá trình PCR được tiến hành với giai đoạn biến tính khởi đầu ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ nhiệt (bao gồm 95°C trong 30 giây, 58°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút) và bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng kit MEGA quick-spin™ Plus Fragment DNA Purification Kit (Intron, Hàn Quốc) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các đột biến điểm trên gen *HSC70* được xác định thông qua giải trình tự Sanger, sử dụng BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, Hoa Kỳ) và được tiến hành trên máy giải trình tự tự động 3500xL Genetic Analyzers (Applied Biosystem, Hoa Kỳ). Các cây mang đột biến *HSC70* được lai ngược với cây WT 3 lần liên tiếp, sau đó sàng lọc lại để thu được đột biến duy nhất trên gen *HSC70*.

2.2.4. Phân tích kiểu hình của thể đột biến HSC70

Để phân tích kiểu hình, cây mang đột biến *HSC70* được gieo trên đất dinh dưỡng với các điều kiện được mô tả như trên. Tỷ lệ hạt nảy mầm, chiều dài thân cây ở ngày thứ 30 sau khi gieo được phân tích và so sánh giữa các thể đột biến với WT. Cấu trúc lá được đánh giá và so sánh đối với 30 cây riêng lẻ ở cùng độ tuổi. Thời gian ra hoa đầu tiên và tỷ lệ đậu quả được phân tích và so sánh giữa các dòng đột biến và WT.

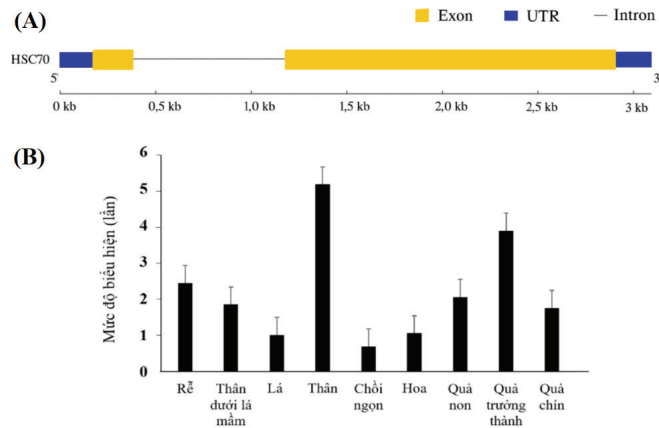
2.3. Phân tích thống kê

Sự khác biệt kiểu hình giữa các thể đột biến và WT được kiểm tra thông qua việc so sánh giá trị trung bình của các yếu tố được phân tích, sử dụng phép kiểm định ANOVA một yếu tố bằng phần mềm Graphpad Prism 9.00 (GraphPad, Hoa Kỳ). Dữ liệu được biểu diễn bằng đồ thị dưới dạng giá trị trung bình (Mean) ± độ lệch chuẩn (SD) của 30 giá trị độc lập cho mỗi yếu tố được phân tích, với độ lặp lại 3 lần cho mỗi phân tích.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mô tả gen HSC70 ở cây cà chua

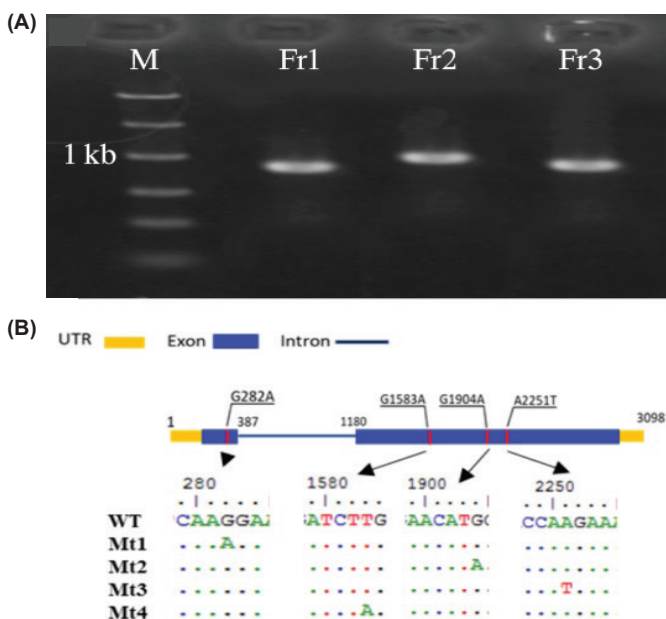
Gen *HSC70* ở cây cà chua có mã định danh là Solyc06g076020.2 trên cơ sở dữ liệu hệ gen *S. lycopersicum* ITAG2.4. Gen có độ dài 3147 bp, bao gồm 189 bp ở đầu 5' không dịch mã (5'-UTR), 219 bp ở đầu 3'-UTR và 2739 bp nằm trong vùng mã hóa của gen, trong đó có 1 intron dài 792 bp nằm xen giữa 2 exon có độ dài lần lượt là 214 và 1733 bp. Trình tự phiên mã (mRNA) của gen dài 2355 bp, trong khi trình tự mã hóa (coding sequence - CDS) dài 1947 bp mã hóa cho 1 protein dài 648 amino acid. Cấu trúc intron-exon của gen *HSC70* được biểu thị như ở hình 1A. Protein HSC70 ở cây cà chua vẫn chưa được mô tả chi tiết. Dựa vào trình tự amino acid, protein này được dự đoán có kích thước khoảng 71 kDa và có điểm đẳng điện (pI) khoảng 5,04 cho thấy đây là một protein trung tính. Phân tích biểu hiện của gen *HSC70* ở cây cà chua trong điều kiện bình thường cho thấy gen này biểu hiện tương đối cao ở thân và quả trưởng thành, trong khi biểu hiện thấp ở hoa, lá và chồi ngọn (hình 1B). Sự tồn tại của gen *HSC70* cũng được phát hiện ở hầu hết các mô sinh trưởng của cây cà chua như ở rễ, thân, lá, hoa và quả đang phát triển, trong bao phấn chưa trưởng thành và trong phôi, mặc dù vai trò của gen này vẫn chưa được làm sáng tỏ trong các công bố trước đây [15].



Hình 1. Mô tả đặc điểm của gen *HSC70* ở cây cà chua. (A) Cấu trúc intron-exon của gen *HSC70*; **(B)** Biểu hiện gen *HSC70* ở các mô khác nhau trên cây cà chua. Biểu đồ cột thể hiện giá trị Mean $\pm$ SD của mức độ biểu hiện tương đối của gen *HSC70* được so sánh với gen tham chiếu *UQB*, với mức độ lặp lại 3 lần.

3.2. Sàng lọc đột biến *HSC70* của cây cà chua bằng giải trình tự Sanger

Các đoạn trình tự gen *HSC70* ở cây cà chua đột biến được khuếch đại bằng PCR được thể hiện trên gel agarose như ở hình 2A. Sau khi tinh sạch, các phân đoạn này được giải trình tự Sanger, thu được 4 dòng mang đột biến, được đặt tên lần lượt là Mt1, Mt2, Mt3, Mt4 (hình 2B). Vị trí của các đột biến điểm được trình bày như ở bảng 2.



Hình 2. Sàng lọc đột biến gen *HSC70* ở cây cà chua. (A) Điện di sản phẩm PCR các phân đoạn của gen *HSC70*. M, Fr1, Fr2, Fr3 tương ứng là vị trí thang DNA chuẩn và các phân đoạn của gen *HSC70* được nhân bản từ các cặp primer (FR1_F/R), (FR2_F/R), (FR3_F/R); **(B)** Vị trí và đặc điểm các đột biến điểm trên gen *HSC70*. Mt1, Mt2, Mt3 và Mt4 tương ứng là tên các thể đột biến như ở bảng 2.

Bảng 2. Vị trí các đột biến gen *HSC70* ở cây cà chua.

Thứ tự	Tên đột biến	Kiểu đột biến	Vị trí đột biến trên gen	Hậu quả
1	Mt1	Sai nghĩa	G282>A	G37>R
2	Mt2	Vô nghĩa	T1583>A	G207>Stop
3	Mt3	Sai nghĩa	G1904>A	Q285>H
4	Mt4	Sai nghĩa	A2251>T	M313>I

Dấu ">" chỉ sự thay thế nucleotide hoặc amino acid ở vị trí đột biến.

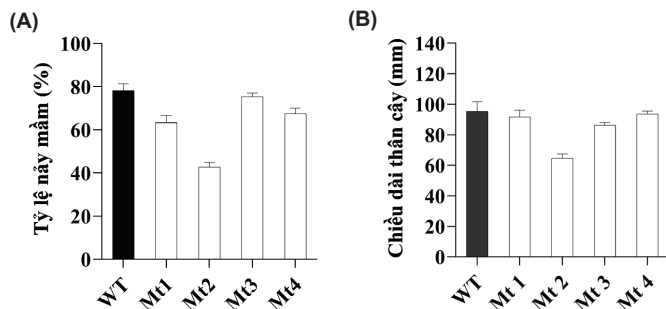
Giải trình tự gen cho thấy, các đột biến thu được là đột biến thay thế nucleotide, trong đó có một đột biến thay thế từ nucleotide A sang T (Mt4), một đột biến thay thế nucleotide T sang A (Mt2) và 2 đột biến thay thế nucleotide từ G sang A (Mt1 và Mt3). Điều này cho thấy, sự thay thế nucleotide một cách ngẫu nhiên trong quá trình xử lý với EMS như đã được khảo sát trong một số nghiên cứu trước đây [21]. Có 3 đột biến sai nghĩa thu được sau khi sàng lọc, dẫn đến việc thay thế một amino acid bằng amino acid khác trong cấu trúc cơ bản của protein. Có 1 đột biến vô nghĩa, dẫn đến chuỗi amino acid bị rút ngắn từ 648 xuống còn 207 amino acid (bảng 2).

3.3. Đột biến *HSC70* ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây cà chua

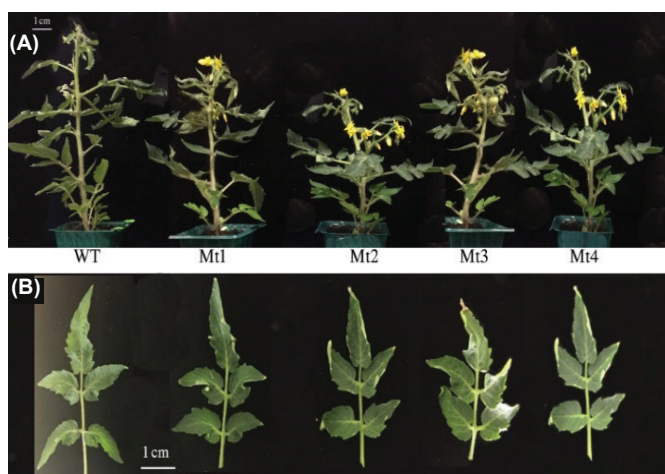
Khả năng nảy mầm của hạt cà chua đột biến được đánh giá và so sánh với WT. Tỷ lệ nảy mầm của dòng WT khoảng $79,75 \pm 6,85\%$, trong khi tỷ lệ nảy mầm của các dòng đột biến từ $43,19 \pm 5,8\%$ (ở Mt2) đến $75,31 \pm 5,35\%$ (ở Mt3) (hình 3A). Phân tích thống kê chỉ ra rằng, tỷ lệ nảy mầm của dòng WT khác biệt đáng kể so với từng dòng Mt1 (p ở 0,0148), Mt2 (p ở 0,0001) và Mt4 (p ở 0,0096) cho thấy ảnh hưởng của đột biến gen *HSC70* đối với tỷ lệ nảy mầm. Bên cạnh đó, so sánh tỷ lệ nảy mầm giữa các dòng đột biến với nhau cho thấy, dòng đột biến Mt2 mang đột biến vô nghĩa có tỷ lệ nảy mầm của hạt thấp hơn hẳn so với các dòng đột biến sai nghĩa khác (p<0,05). Kết quả này cho thấy, vị trí đột biến đóng vai trò quan trọng đối với sự thay đổi kiểu hình, trong đó đột biến vô nghĩa để lại hậu quả rõ rệt hơn các đột biến sai nghĩa (hình 3A).

Chiều cao của cây đột biến và WT được đo ở ngày thứ 30 sau khi gieo, thể hiện trong hình 3B. Chiều cao trung bình của cây Mt2 khoảng $65,4 \pm 11,07$ mm, thấp hơn đáng kể so với cây WT (p ở 0,0001) cũng như các dòng đột biến khác. Các dòng Mt1, Mt3 và Mt4 có chiều cao cây trung bình từ $80,26 \pm 4,67$ mm đến $89,45 \pm 5,15$ mm, thấp hơn chiều cao trung bình của cây WT (khoảng $95,37 \pm 16,81$ mm), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê (p>0,05).

Kết quả này cho thấy, đột biến gen *HSC70* có tác động tiêu cực đến sự tăng trưởng chiều cao của cây cà chua, với mức độ ảnh hưởng khác nhau phụ thuộc vào vị trí của đột biến (hình 4A).



Hình 3. So sánh tỷ lệ nảy mầm (A) và chiều cao cây (B) giữa thể đột biến *HSC70* so với cây đối chứng kiểu dại. Biểu đồ cột thể hiện giá trị Mean $\pm$ SD của tỷ lệ nảy mầm được tính bằng tỷ lệ số cây non mọc lên từ 30 hạt ban đầu (A) và chiều cao trung bình của 30 cây ngẫu nhiên từ mỗi thể đột biến, so sánh với WT (B).

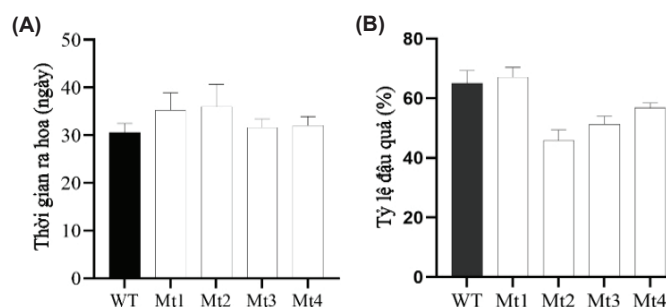


Hình 4. Chiều cao cây (A) và cấu trúc lá (B) của cây cà chua mang đột biến gen *HSC70*.

Phân tích cấu trúc lá cho thấy, không có sự khác biệt rõ ràng về hình dạng và độ phức tạp của lá giữa cây đột biến so với cây WT, điều này chứng tỏ đột biến *HSC70* không ảnh hưởng đến hình thái và cấu trúc của lá cây cà chua (hình 4B).

3.4. Đột biến gen *HSC70* có thể làm giảm tỷ lệ đậu quả cà chua

Cây WT cần trung bình khoảng $30,59 \pm 1,86$ ngày kể từ khi gieo hạt để bắt đầu ra hoa, trong khi cây đột biến cần $31,63 \pm 1,7$ đến $35,31 \pm 3,59$ ngày để đạt được trạng thái tương tự (hình 5A). Kết quả trên chỉ ra rằng, đột biến gen *HSC70* không có ảnh hưởng rõ ràng đến thời gian ra hoa của cây cà chua ($p > 0,05$).



Hình 5. So sánh thời gian ra hoa (A) và tỷ lệ đậu quả (B) của cây cà chua mang đột biến gen *HSC70* với WT.

Tỷ lệ đậu quả được đánh giá trên tổng số hoa nở sau 1 tháng kể từ khi bắt đầu ra hoa. Tỷ lệ đậu quả của WT là 66%, trong khi cây đột biến có tỷ lệ đậu quả khoảng 45% (dòng Mt2) đến 67% (dòng Mt1) (hình 5B). Phân tích thống kê cho thấy, tỷ lệ đậu quả của dòng đột biến Mt2 đã giảm rõ rệt so với dòng WT ($p < 0,0001$). Ngược lại, tỷ lệ đậu quả của các dòng đột biến Mt1, Mt3 và Mt4 không thể hiện sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với WT ($p > 0,05$). Điều này khẳng định rằng, đột biến vô nghĩa ở gen *HSC70* có ảnh hưởng tiêu cực đến khả năng đậu quả của cà chua, trong khi đột biến sai nghĩa chưa có tác động rõ ràng đến khả năng đậu quả. Do đó, cần phải nghiên cứu sâu hơn về mối liên hệ giữa đột biến gen *HSC70* đến tỷ lệ đậu quả của cà chua.

HSC70 là một gen thành viên trong họ gen *HSP70*, một họ gen đa thành viên, có tính bảo thủ cao trong trình tự và cấu trúc protein [22]. Cấu trúc các protein HSP70 đã được mô tả bao gồm vùng đầu N liên kết với nucleotide, hay N-terminal nucleotide binding domain (NBD), có kích thước 44 kDa, có hoạt tính ATPase và 1 vùng đầu C có kích thước khoảng 30 kDa, còn gọi là vùng liên kết peptide (peptide-binding domain) hoặc vùng liên kết cơ chất (substrate-binding domain, SBD) [23-25]. Vùng NBD có chức năng phân giải ATP thành ADP và cung cấp năng lượng cho các hoạt động của tế bào, trong khi vùng SBD liên kết với các đồng yếu tố khác như *HSP90*, *HSP40* nhằm điều hòa tốc độ trao đổi cơ chất, đồng thời kích thích hoạt động phân giải ATP [26]. Nghiên cứu cấu trúc phân tử protein *HSC70* ở nấm men và động vật có vú cho thấy, protein này có kích thước khoảng 646 amino acid, trong đó vùng NBD có trình tự amino acid từ 1 đến 383. Các vị trí quan trọng trong vùng này bao gồm các amino acid Serine (S), Threonine (T), các trình tự tạo nên cấu trúc alpha helix (G230-H249 và K257-S275), cấu trúc β -sheet (Q279-I284 và F293-T298) trực tiếp tham gia vào hoạt động phân giải ATP [27].

Protein HSC70 ở cây cà chua có độ dài 648 amino acid, tương đương với độ dài của protein HSC70 ở nấm men. Do đó, 4 đột biến của gen *HSC70* trong nghiên cứu này nhiều khả năng đều nằm trong vùng NBD của protein HSC70. 3 đột biến sai nghĩa (Mt1, Mt3 và Mt4) chỉ làm thay đổi 1 amino acid tương ứng ở vị trí G37, Q285 và M313 trong trình tự protein HSC70. Sự thay thế amino acid ở những vị trí kể trên đều không nằm trong khu vực tạo nên cấu trúc alpha helix, β -sheet, do đó chúng không ảnh hưởng quá nghiêm trọng đến chức năng của protein, dẫn đến kiểu hình của thể đột biến không có thay đổi đáng kể. Trong khi đó, đột biến Mt2 làm cho protein HSC70 bị cắt ngắn 68% (441/648 amino acid) so với đối chứng, bao gồm toàn bộ vùng SBD và một phần của vùng NBD. Protein HSC70 sau khi cắt ngắn bị mất chức năng liên kết với cơ chất và có thể bị mất hoạt tính phân giải ATP do thiếu các cấu trúc alpha helix và β -sheet, do đó ảnh hưởng trực tiếp đến kiểu hình của thể đột biến, bao gồm làm thấp cây, giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt và giảm khả năng đậu quả. Những ảnh hưởng tiêu cực của đột biến vô nghĩa trong gen *HSC70* đối với chiều cao cây, tỷ lệ nảy mầm và khả năng đậu quả của cà chua chưa từng được công bố trước đây. Do đó, những phát hiện này có thể cung cấp những hiểu biết ban đầu để nghiên cứu tiếp theo tìm hiểu sâu hơn về cơ chế ảnh hưởng của gen *HSC70* đối với sự nảy mầm, sinh trưởng và quá trình tạo quả cà chua.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã đánh giá vai trò của gen *HSC70* đối với sự phát triển và khả năng đậu quả của cây cà chua. Sự biểu hiện của gen *HSC70* được tìm thấy ở hầu hết các mô, cơ quan và trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển khác nhau của cây cà chua. Vai trò của gen *HSC70* đối với sự sinh trưởng của cây cà chua được đánh giá thông qua phân tích kiểu hình của các thể đột biến. Đột biến vô nghĩa làm xuất hiện bộ ba kết thúc sớm, do đó làm trình tự protein HSC70 bị ngắn lại, gây ảnh hưởng đến chức năng của protein, dẫn đến kiểu hình thay đổi, bao gồm gây thấp cây, giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ đậu quả. Đột biến sai nghĩa không làm thay đổi kiểu hình của cây cà chua do những đột biến này không nằm ở những vị trí quan trọng liên quan đến cấu trúc và chức năng của protein HSC70. Hình dạng và cấu trúc lá, cũng như thời gian ra hoa của cây cà chua không bị ảnh hưởng bởi đột biến gen *HSC70*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.K. Willcox, G.L. Catignani, S. Lazarus (2003), "Tomatoes and cardiovascular health", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **43**(1), pp.1-18, DOI: 10.1080/10408690390826437.
- [2] A. Gerszberg, K.H. Konka (2017), "Tomato tolerance to abiotic stress: A review of most often engineered target sequences", *Plant Growth Regulation*, **83**(2), pp.175-198, DOI:10.1007/s10725-017-0251-x.
- [3] M.D. Campos, M. Patanita, M.D.R. Felix, et al. (2021), "High throughput sequencing unravels tomato-pathogen interactions towards a sustainable plant breeding", *Horticulture Research*, **8**(1), DOI: 10.1038/s41438-021-00607-x.
- [4] J.M. Xu, M.W. Arts, C. Mariani, et al. (2017), "Heat stress affects vegetative and reproductive performance and trait correlations in tomato (*Solanum lycopersicum*)", *Euphytica*, **213**(7), DOI:10.1007/s10681-017-1949-6.
- [5] Z. Wu, X. Yu, C.O. Ottosen, et al. (2017), "Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress", *BMC Plant Biology*, **17**(1), DOI: 10.1186/s12870-017-0974-x.
- [6] K. Tanveer, S. Gilani, Z. Hussain, et al. (2020), "Effect of salt stress on tomato plant and the role of calcium", *Journal of Plant Nutrition*, **43**(1), pp.28-35, DOI: 10.1080/01904167.2019.1659324.
- [7] C.E. Bitá, T. Gerats (2013), "Plant tolerance to high temperature in a changing environment: Scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops", *Frontiers in Plant Science*, **4**, DOI: 10.3389/fpls.2013.00273.
- [8] G.W. Bassel, R.T. Mullen, J.D. Bewley (2008), "Procerá is a putative DELLA mutant in tomato (*Solanum lycopersicum*): Effects on the seed and vegetative plant", *J. Exp. Bot.*, **59**(3), pp.585-593, DOI: 10.1093/jxb/erm354.
- [9] F. McLoughlin, M. Kim, R.S. Marshall, et al. (2019), "HSP101 interacts with the proteasome and promotes the clearance of ubiquitinated protein aggregates", *Plant Physiol*, **180**(4), pp.1829-1847, DOI: 10.1104/pp.19.00263.
- [10] J. Cheng, H. Yang, C. Shang, et al. (2019), "The roles of auxin biosynthesis YUCCA gene family in plants", *International Journal of Molecular Sciences*, **20**(24), DOI: 10.3390/ijms20246343.
- [11] H. Wang, B. Jones, Z. Li, et al. (2005), "The tomato Aux/IAA transcription factor IAA9 is involved in fruit development and leaf morphogenesis", *The Plant Cell*, **17**(10), pp.2676-2692, DOI: 10.1105/tpc.105.033415.
- [12] T. Zhao, T. Wu, T. Pei, et al. (2021), "Overexpression of SIGATA17 promotes drought tolerance in transgenic tomato plants by enhancing activation of the phenylpropanoid biosynthetic pathway", *Frontiers in Plant Science*, **12**, DOI: 10.3389/fpls.2021.634888.

- [13] A. Hahn, D. Bublak, E. Schleiff, et al. (2011), "Crosstalk between *HSP90* and *HSP70* chaperones and heat stress transcription factors in tomato", *Plant Cell*, **23**(2), pp.741-755, DOI: 10.1105/tpc.110.076018.
- [14] F. Ritossa (1962), "A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*", *Experientia*, **18**(12), pp.571-573, DOI: 10.1007/BF02172188.
- [15] N. Duck, S. McCormick, J. Winter (1989), "Heat shock protein *HSP70* cognate gene expression in vegetative and reproductive organs of *Lycopersicon esculentum*", *Proceedings of The National Academy of Sciences*, **86**(10), pp.3674-3678, DOI: 10.1073/pnas.86.10.3674.
- [16] N.B. Duck, W.R. Folk (1994), "*HSP70* heat shock protein cognate is expressed and stored in developing tomato pollen", *Plant Molecular Biology*, **26**(4), pp.1031-1039, DOI: 10.1007/BF00040686.
- [17] D.M. Goodstein, S. Shu, R. Howson, et al. (2012), "Phytozome: A comparative platform for green plant genomics", *Nucleic Acids Research*, **40**(D1), pp.1178-1186, DOI: 10.1093/nar/gkr944.
- [18] B. Hu, J. Jin, A.Y. Guo, et al. (2015), "GSDS 2.0: An upgraded gene feature visualization server", *Bioinformatics*, **31**(8), pp.1296-1297, DOI: 10.1093/bioinformatics/btu817.
- [19] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method", *Methods*, **25**(4), pp.402-408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- [20] J. Doyle (1991), "DNA protocols for plants", *Molecular Techniques in Taxonomy*, Springer, Berlin, Heidelberg, **57**, pp.283-293, DOI: 10.1007/978-3-642-83962-7_18.
- [21] K. Shirasawa, H. Hirakawa, T. Nunome, et al. (2016), "Genome-wide survey of artificial mutations induced by ethyl methanesulfonate and gamma rays in tomato", *Plant Biotechnol Journal*, **14**(1), pp.51-60, DOI: 10.1111/pbi.12348.
- [22] E. Yu, T. Yoshinaga, F.L. Jalufka, et al. (2021), "The complex evolution of the metazoan *HSP70* gene family", *Scientific Reports*, **11**(1), DOI: 10.1038/s41598-021-97192-9.
- [23] D.Y. Sung, F. Kaplan, C.L. Guy (2001), "Plant *HSP70* molecular chaperones: Protein structure, gene family, expression and function", *Physiologia Plantarum*, **113**(4), pp.443-451, DOI: 10.1034/j.1399-3054.2001.1130402.x.
- [24] F.U. Hartl (2006), "Molecular chaperones of the *HSP110* family act as nucleotide exchange factors of *HSP70S*", *Embo J.*, **25**(11), pp.2519-2528, DOI: 10.1038/sj.emboj.7601138.
- [25] D. Sharma, D.C. Masison (2009), "*HSP70* structure, function, regulation and influence on yeast prions", *Protein & Peptide Letter*, **16**(6), pp.571-581, DOI: 10.2174/092986609788490230.
- [26] T. Liu, C.K. Daniels, S. Cao (2012), "Comprehensive review on the *HSC70* functions, interactions with related molecules and involvement in clinical diseases and therapeutic potential", *Pharmacology & Therapeutics*, **136**(3), pp.354-374, DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.014.
- [27] Y. Liu, L.M. Gierasch, I. Bahar (2010), "Role of *HSP70* ATPase domain intrinsic dynamics and sequence evolution in enabling its functional interactions with NEFs", *PLOS Computational Biology*, **6**(9), DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000931.

Sự tích lũy thủy ngân trong cơ cá Dìa nâu (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) theo tuổi và mùa ở vùng ven biển tỉnh Quảng Bình

Võ Văn Thiệp*, Lê Thị Thu Phương, Nguyễn Thị Hương Bình

Trường Đại học Quảng Bình, 312 Lý Thường Kiệt, phường Đồng Phú, TP Đồng Hới, tỉnh Quảng Bình, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/7/2022; ngày chuyển phản biện 21/7/2022; ngày nhận phản biện 12/8/2022; ngày chấp nhận đăng 16/8/2022

Tóm tắt:

Cá Dìa nâu (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) là loài cá có giá trị kinh tế cao, giàu hàm lượng dinh dưỡng, được người tiêu dùng ưa thích. Nghiên cứu này được thực hiện từ tháng 11/2021 đến tháng 5/2022 tại vùng ven biển, cửa sông tỉnh Quảng Bình. Tổng cộng 60 mẫu cá Dìa nâu đã được thu thập theo nhóm tuổi, mùa mưa và mùa khô để phân tích sự tích lũy thủy ngân (Hg) trong cơ của chúng. Nồng độ Hg được phân tích bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử hóa hơi lạnh. Kết quả nghiên cứu cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa chiều dài và trọng lượng của cá cả trong mùa mưa và mùa khô. Nhóm tuổi có ảnh hưởng đáng kể đến sự tích lũy Hg trong cơ của cá, nhóm cá có độ tuổi lớn tích lũy Hg cao hơn nhóm cá có độ tuổi nhỏ. Mặc dù giá trị trung bình nồng độ Hg trong cơ cá Dìa nâu vào mùa khô lớn hơn mùa mưa, nhưng kết quả phân tích “Tukey’s HSD test” cho thấy không có sự khác biệt đáng kể.

Từ khoá: cá Dìa nâu, ô nhiễm môi trường, thủy ngân, tích lũy theo tuổi và theo mùa.

Chỉ số phân loại: 1.9

1. Đặt vấn đề

Độc tính của Hg đã được thể hiện trong thảm họa xảy ra tại vịnh Minamata, tỉnh Kumamoto, Nhật Bản [1]. R. Dixon và cs (1994) [2] đã chứng minh, tác động chính của Hg khi xâm nhập vào cơ thể người là ảnh hưởng trực tiếp đến hệ thần kinh trung ương, việc tiếp xúc với Hg có thể gây tổn thương não, bao gồm rối loạn tâm lý, suy giảm thính lực, mất thị lực, mất kiểm soát vận động và suy nhược cơ thể, trong trường hợp nặng hơn có thể dẫn đến tử vong.

Hg có thể phát thải ra môi trường thông qua nguồn tự nhiên (hoạt động núi lửa, xói mòn, quá trình phong hóa đá...), tuy nhiên phần lớn chúng được tạo ra từ các hoạt động của con người, như quá trình hoạt động của các nhà máy nhiệt điện, luyện kim, khai thác than, chất thải công nghiệp, nông nghiệp và chất thải sinh hoạt [3, 4]. Theo nghiên cứu của C.R. Hammerschmidt và cs (2004) [5], vùng cửa sông, ven biển là nơi có hàm lượng Hg cao (cả do tự nhiên và hoạt động của con người tạo ra), chúng có xu hướng tích tụ và khuếch đại sinh học trong các chuỗi thức ăn, do đó dễ dàng xâm nhập vào cơ thể sinh vật dưới nước, nhất là các loài cá [6]. Trong hệ sinh thái dưới nước, cá là đối tượng được các nhà khoa học quan tâm hàng đầu vì chúng đóng một vai trò quan trọng trong khẩu phần ăn của con người, không chỉ cung cấp protein, các yếu tố vi lượng thiết yếu mà còn cung cấp vitamin D, canxi và đặc biệt các axit béo omega-3

[7, 8]. Tuy nhiên, ăn cá cũng có thể ảnh hưởng xấu đến sức khỏe, vì cá có xu hướng tích lũy cao các chất ô nhiễm từ môi trường nước và trong chuỗi thức ăn [9, 10].

Trên thực tế, vấn đề nghiên cứu mối tương quan giữa kim loại nặng với tuổi của cá hoặc so với mùa đã được các nhà khoa học quan tâm. Mặc dù trong những năm trở lại đây, vấn đề ô nhiễm Hg trong cá ở vùng ven biển Quảng Bình đã được các nhà khoa học chú ý [11-14], tuy nhiên các nghiên cứu hiện có chưa thể hiện được mối tương quan giữa sự tích lũy Hg trong cơ cá với tuổi cá cũng như với các mùa khác nhau. Đáng chú ý, đối tượng cá Dìa nâu ở vùng ven biển Quảng Bình - là loài cá có giá trị kinh tế cao, giàu hàm lượng dinh dưỡng, được người dân ưa chuộng và tiêu thụ nhiều nhưng chưa có số liệu công bố. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá sự tích lũy Hg (dạng Hg tổng) trong cơ cá Dìa nâu tại vùng ven biển Quảng Bình, từ đó xác định được mối tương quan giữa nồng độ Hg với tuổi của cá, các mùa trong năm.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Tổng số 60 mẫu cá Dìa nâu tự nhiên (hình 1) được thu mua trực tiếp từ các hộ ngư dân dọc vùng ven biển, cửa sông của tỉnh Quảng Bình (từ TP Đồng Hới đến xã Cảnh

*Tác giả liên hệ: Email: thiiepvovan@qbu.edu.vn

Accumulation of mercury in muscle of orange-spotted spinefoot (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) by age and season in the coastal Quang Binh

Van Thiep Vo*, Thi Thu Phuong Le, Thi Huong Binh Nguyen

Quang Binh University, 312 Ly Thuong Kiet Street, Dong Phu Ward, Dong Hoi City, Quang Binh Province, Vietnam

Received 18 July 2022; revised 12 August 2022; accepted 16 August 2022

Abstract:

Orange-spotted spinefoot (*Siganus guttatus*) is not only a fish with high economic value, rich in nutrients, but also popular with people for consumption. This research was carried out from November 2021 to May 2022, in the coastal and estuaries of Quang Binh province. A total of 60 samples of orange-spotted spinefoot were collected by age group, wet season, and dry season to analyse the accumulation of mercury (Hg) in their muscles. The Hg concentration was analysed by cold vapour atomic absorption spectroscopy. Research results showed a strong correlation between the length and weight of fish both in the wet and dry seasons. The age group has a strong influence on the accumulation of Hg in their muscles, the older fish group has a higher aggregation of Hg than the younger fish group. Although the average value of Hg concentration in the muscle of orange-spotted spinefoot in the dry season is higher than in the wet season, analysis results of “Tukey’s HSD test” showed that there was no significant difference.

Keywords: accumulated by age and season, environmental pollution, mercury, orange-spotted spinefoot.

Classification number: 1.9

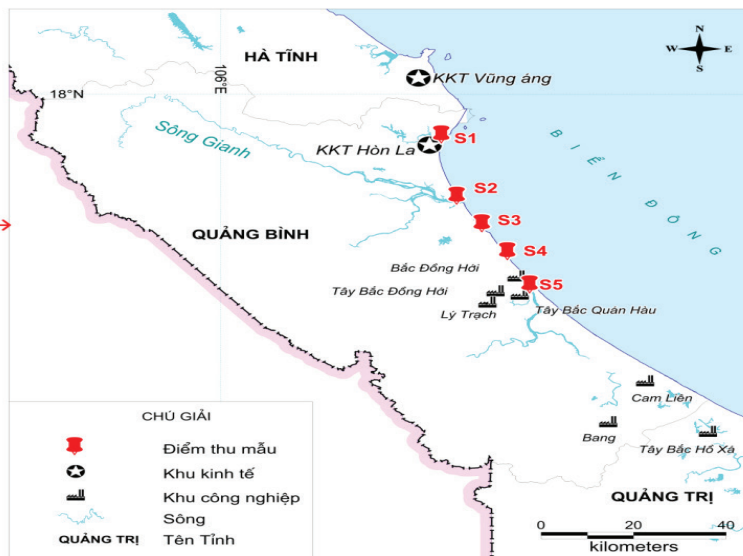


Hình 1. Cá Dia nâu tại vùng ven biển tỉnh Quảng Bình.

Dương, huyện Quảng Trạch) (hình 2). Thời gian thu mẫu được chia làm 2 đợt, đợt 1: từ tháng 10/2021 đến tháng 12/2021 (lượng mưa trung bình 716,5 mm/tháng) (30 mẫu - mùa mưa), đợt 2: từ tháng 3/2022 đến tháng 5/2022 (lượng mưa trung bình 57,66 mm/tháng) (30 mẫu - mùa khô). Các mẫu cá được cân, đo, lấy vảy theo thứ tự. Phần cơ ở lưng được thu thập, bỏ trong túi nilon có dán nhãn và được bảo quản ở nhiệt độ -22 đến -18°C tại Phòng Thực hành, Viện Nông nghiệp và Môi trường, Trường Đại học Quảng Bình cho đến khi phân tích.



Hình 2. Vị trí thu mẫu.



2.2. Mối tương quan giữa chiều dài và trọng lượng

Để phân tích mối quan hệ giữa chiều dài và trọng lượng của cá, chúng tôi áp dụng công thức của E.D.L. Cren (1951) [15]:

$$W = a \times L^b \quad (1)$$

trong đó W là trọng lượng (g); L là chiều dài (cm); hệ số a mô tả tốc độ thay đổi của trọng lượng theo chiều dài (điểm chặn); hệ số b thể hiện trọng lượng ở đơn vị chiều dài (hệ số góc của đường hồi quy).

2.3. Phân tích Hg

Nồng độ Hg được đo bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử hoá hơi lạnh (VGA-77AA) sau khi thủy phân áp lực bằng máy phân tích AAS - Agilen 240FS. Dung dịch thử là HNO_3 (1:9); chất chuẩn gốc Hg 1000 mg/l; nước cất sử dụng cho pha chế dung dịch đáp ứng yêu cầu của TCVN 4851:1989. Để kiểm soát chất lượng, đường chuẩn được xây dựng có hệ số tuyến tính $R \geq 0,995$, sai lệch của các điểm nồng độ dùng xây dựng đường chuẩn khi tính từ đường chuẩn không vượt quá 20% với nồng độ $\leq 0,1$ mg/l và 5% ứng với mức nồng độ $> 0,1$ mg/l, kết quả mẫu trắng kiểm soát (QC Blank) $\leq \text{LOD}$, sai lệch chuẩn của kiểm soát (QC Standard) $\leq \pm 10\%$. Tất cả các phân tích đều được lặp lại 2 lần, giá trị trung bình của 2 lần được xem là kết quả cuối cùng, giá trị được hiển thị với đơn vị $\mu\text{g/g}$ trọng lượng ướt (w.w). Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) là 2,6%, bước sóng là 253,7 nm, khe đo là 0,5 nm.

2.4. Phân tích thống kê

Các số liệu được thu thập trên phần mềm Excel, sau đó xử lý phân tích thống kê được thực hiện với phần mềm Statistica 13.3 (StatSoft, Ba Lan). Thử nghiệm “Shapiro-Wilk test” được dùng để kiểm tra sự phân bố của nồng độ Hg trong các mẫu. Do các mẫu có sự phân bố chuẩn và số mẫu không bằng nhau ở các nhóm tuổi nên chúng tôi tiếp tục sử dụng “Tukey Unequal N HSD test” để xác định khác biệt đáng kể về các chỉ số sinh trắc cũng như nồng độ Hg trong cơ giữa các nhóm tuổi, trong khi đó “Tukey N HSD test” được sử dụng để kiểm tra sự khác nhau về nồng độ Hg giữa mùa mưa và mùa khô (số lượng mẫu bằng nhau). Kết quả thống kê có ý nghĩa khi giá trị $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mối tương quan giữa chiều dài, trọng lượng và tuổi

Qua quá trình phân tích, kết quả sinh trắc học của cá Địa nâu được thể hiện ở bảng 1. Trong đợt thu mẫu mùa mưa, có 2 nhóm tuổi đã được thu thập, cụ thể: 21 cá thể có độ tuổi 0^+

(nhóm cá chưa đến 1 năm tuổi), 9 cá thể có độ tuổi 1^+ (nhóm cá từ 1 năm đến gần 2 năm tuổi). Trong khi đó, có 3 nhóm tuổi đã được ghi nhận khi thu mẫu vào mùa khô, cụ thể: 16 cá thể có nhóm tuổi 0^+ , 9 cá thể ở độ tuổi 1^+ và 5 cá thể ở độ tuổi 2^+ (nhóm cá từ 2 năm đến gần 3 năm tuổi). Kết quả phép kiểm tra “Tukey Unequal N HSD test” cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể về chiều dài cũng như trọng lượng giữa nhóm 0^+ , 1^+ giữa mùa mưa và mùa khô ($p > 0,05$), nhưng lại cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm 0^+ và 1^+ trong cùng một mùa ($p < 0,05$).

Bảng 1. Giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, nhỏ nhất và lớn nhất của cá Địa nâu.

Tuổi	Chỉ số	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất	Độ lệch chuẩn
0^+ (n=21)	L	15,27	8,00	20,30	3,67
	P	97,72	33,20	158,30	38,66
Mùa mưa 1^+ (n=9)	L	22,30	21,40	23,90	0,82
	P	209,54	167,30	255,20	27,16
Tổng (n=30)	L	17,38	8,00	23,90	4,49
	P	131,26	33,20	255,20	62,86
0^+ (n=16)	L	15,37	8,06	20,33	3,95
	P	99,48	33,20	158,39	43,18
1^+ (n=9)	L	22,59	21,40	24,20	0,87
	P	215,54	188,57	242,33	15,58
Mùa khô 2^+ (n=5)	L	20,62	17,90	25,30	2,88
	P	203,06	165,70	271,40	40,10
Tổng (n=30)	L	18,41	8,06	25,30	4,56
	P	151,56	33,20	271,40	66,91

L: chiều dài (cm); P: trọng lượng (g).

Mối tương quan giữa tuổi cá, chiều dài, trọng lượng được thể hiện ở bảng 2. Kết quả cho thấy, cả mùa mưa và mùa khô, hệ số tương quan giữa tuổi với chiều dài, trọng lượng đều lớn hơn 0, điều này giải thích rằng giữa nhóm tuổi với chiều dài, trọng lượng có mối tương quan dương nhưng không quá mạnh (cụ thể ở mùa khô, hệ số tương quan giữa tuổi và chiều dài chỉ ở mức 0,59). Điều đáng chú ý ở hệ số tương quan giữa chiều dài và trọng lượng khi tiệm cận đến 1 (lần lượt 0,953 và 0,965 ở mùa mưa và mùa khô) cho thấy mối quan hệ rất mạnh giữa 2 biến này.

Bảng 2. Mối tương quan giữa tuổi, chiều dài, trọng lượng.

Mùa mưa			Mùa khô		
Tuổi	Chiều dài	Trọng lượng	Tuổi	Chiều dài	Trọng lượng
Tuổi	1		1		
Chiều dài	0,729	1	0,590	1	
Trọng lượng	0,829	0,953	0,735	0,965	1

Mối quan hệ giữa chiều dài và trọng lượng của cá Dìa nâu được thể hiện ở công thức 2 (mùa mưa) và công thức 3 (mùa khô). Mối quan hệ này khác nhau giữa các loài cá, chúng cũng có thể thay đổi theo mùa, theo các giai đoạn phát triển khác nhau trong đời sống cá thể [16, 17].

Mối tương quan giữa chiều dài và trọng lượng cá Dìa nâu trong mùa mưa:

$$W = 0,0237 \times L^{2,935} \quad (2)$$

Mối tương quan giữa chiều dài và trọng lượng cá Dìa nâu trong mùa khô:

$$W = 0,0167 \times L^{3,074} \quad (3)$$

Ở công thức (2), mối tương quan giữa chiều dài và trọng lượng cá Dìa nâu trong mùa mưa có giá trị $b=2,935$ (<3 , hằng số 3 là giá trị được xem như có sự tăng trưởng đẳng áp) cho thấy rằng, cá Dìa nâu có tốc độ tăng trưởng tương đối chậm và có xu hướng gầy hơn trong mùa mưa, điều này trùng với một số nghiên cứu trước đó ở một số loài cá khác [18-20]. Khi vào mùa mưa, nhiệt độ môi trường thấp hơn đã ảnh hưởng đến sự phát triển của cơ thể cá cũng như nguồn thức ăn khan hiếm hơn. Trong khi đó, ở công thức (3), mối tương quan giữa chiều dài và trọng lượng cá Dìa nâu trong mùa khô có giá trị $b=3,074$ (>3), điều này cho thấy trong điều kiện môi trường có nhiệt độ ấm hơn (thời gian từ tháng 3 đến tháng 5) đã có những tác động dương tính đến sự sinh trưởng của các loài cá nói chung và cá Dìa nâu nói riêng [21].

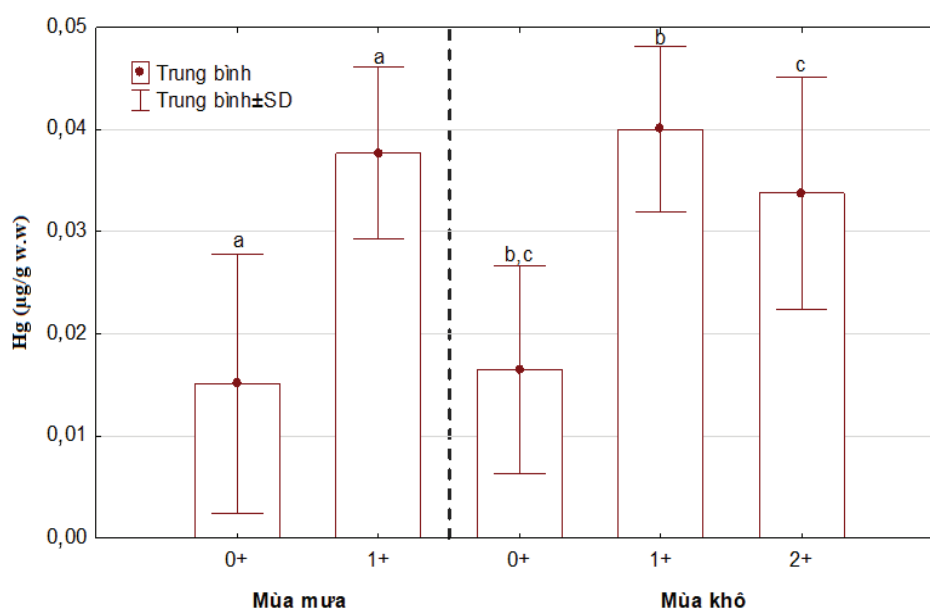
3.2. Mối tương quan giữa nồng độ Hg với tuổi cá và mùa

Nồng độ Hg trong cơ cá Dìa nâu theo nhóm tuổi và mùa tại vùng ven biển Quảng Bình được thể hiện ở bảng 3 và hình 3. Ở cả mùa mưa và mùa khô, sự tích lũy Hg trong cơ cá Dìa nâu ở nhóm tuổi 0⁺ đều thấp hơn đáng kể so với nhóm 1⁺ và 2⁺ ($p<0,05$).

Bảng 3. Giá trị nồng độ Hg trong cơ cá Dìa nâu (µg/g w.w).

Tuổi	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất	Độ lệch chuẩn
Mùa mưa	0 ⁺ (n=21)	0,015	0,004	0,045
	1 ⁺ (n=9)	0,038	0,031	0,056
	Tổng (n=30)	0,022	0,004	0,056
Mùa khô	0 ⁺ (n=16)	0,017	0,004	0,034
	1 ⁺ (n=9)	0,040	0,031	0,056
	2 ⁺ (n=5)	0,034	0,021	0,045
	Tổng (n=30)	0,026	0,004	0,056

Nghiên cứu của M. Ptashynski và cs (2002) [22] đã cho thấy, sự tích lũy Hg trong các cơ quan của cá phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, như: nồng độ Hg trong môi trường nước, thời gian tiếp xúc, con đường Hg xâm nhập vào cơ thể cá, điều kiện môi trường (nhiệt độ nước, pH, độ cứng, độ mặn), ngoài ra còn yếu tố rất quan trọng khác như tập tính săn mồi và nhóm tuổi của chúng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả phân tích cho thấy ảnh hưởng của nhóm tuổi đến sự tích lũy Hg là rất đáng kể, nhóm cá một năm tuổi trở lại có sự tích lũy Hg thấp hơn so với nhóm cá từ một năm trở lên, hay nói cách khác sự tích lũy Hg tỷ lệ thuận với tuổi của cá Dìa nâu. Vấn đề này cũng đã được nhiều nhà khoa học khẳng định trước đó trên các loài cá khác nhau. Cụ thể, trong nghiên cứu trên đối tượng cá chub châu Âu (*Leuciscus cephalus*) tại sông Sava (Croatia), Z. Dragun và cs (2007) [23] đã chỉ ra rằng, các yếu tố sinh học (tuổi và khối lượng của mang) có tỷ lệ thuận với nồng độ Hg trong các cơ quan của cá. Một nghiên cứu khác trên đối tượng



Hình 3. Nồng độ Hg trong cơ cá Dìa nâu theo nhóm tuổi, mùa mưa và mùa khô. a, b, c: các chữ cái giống nhau thể hiện có sự sai khác về mặt thống kê ($p<0,05$). Cụ thể: $p(a)=0,004$, $p(b)=0,002$, $p(c)=0,025$.

cá chép (*Cyprinus carpio*) và cá da trơn châu Âu (*Silurus glanis*) ở hồ chứa Buško Blato (Croatia) của E.H. Schön và cs (2015) [24] cũng đã đưa ra các bằng chứng cho thấy nồng độ Hg trong cơ thể cá tăng dần lên theo thời gian sinh sống của chúng. Điều này được giải thích rằng, một khi Hg xâm nhập vào cơ thể cá, chúng không tự đào thải ra được, mà có xu hướng tích lũy sinh học ở trong các mô của cơ thể cá, trải qua thời gian dài, nồng độ Hg trong các mô càng tăng lên.

Tuy nhiên, có một số nhà khoa học lại chỉ ra rằng, mối quan hệ giữa sự tích lũy Hg và tuổi của cá không phải lúc nào cũng tỷ lệ thuận. Các dẫn chứng đã cho thấy, sự tích lũy kim loại nặng nói chung trong cá sẽ đạt đến một trạng thái ổn định sau một độ tuổi nhất định, tùy vào mỗi loài cá khác nhau mà có trạng thái ổn định nồng độ kim loại khác nhau [25]. Một dẫn chứng khác được đưa ra bởi nghiên cứu của Y. Yi và cs (2012) [26] cho thấy, nồng độ kim loại nặng sẽ giảm dần khi cá càng lớn, các kim loại này sẽ được pha loãng bởi lipid (chất béo). Trong khi đó, Y. Jia và cs (2017) [27] cho rằng, ở nhóm cá có tuổi nhỏ thường có tốc độ chuyển hóa và tiêu hóa cao hơn nhóm cá có tuổi lớn, nên tốc độ tiếp xúc với chất ô nhiễm ở nhóm cá có độ tuổi nhỏ nhiều hơn.

Giá trị trung bình nồng độ Hg trong cơ cá Dìa nâu vào mùa mưa (0,22 µg/g w.w) thấp hơn mùa khô (0,26 µg/g w.w), cả 2 giá trị này đều thấp hơn QCVN 8-2:2011/BYT (Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm, đối với cá, hàm lượng Hg không được vượt quá 0,5 mg/kg). Tuy nhiên, qua phép phân tích “Tukey N HSD test” cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể nồng độ Hg giữa 2 mùa này. Mặc dù giả thuyết chúng tôi đặt ra ban đầu là nồng độ Hg trong cơ cá Dìa nâu dự kiến sẽ thấp vào mùa mưa, bởi vì Hg sẽ bị pha loãng trong môi trường nước lớn hơn và chúng được hấp thụ bởi các chất rắn lơ lửng trong nước nhiều hơn, đồng thời nhanh chóng bị dòng nước đẩy ra biển mà không có thời gian lắng đọng lâu ở vùng cửa sông, ven biển.

Trước đó, cũng có một số nghiên cứu chú trọng vào việc so sánh sự tích lũy Hg trong cá giữa mùa mưa và mùa khô. S.S.S. Dehkordi và cs (2010 và 2011) [28, 29] trong các nghiên cứu của mình đã cho thấy, sự tích lũy Hg trong cá ở mùa mưa cao hơn mùa khô, điều này được giải thích là do lượng Hg từ các nguồn thải khác nhau ở trên đất liền theo nước mưa đổ ra vùng cửa sông, ven biển, xâm nhập vào các chuỗi thức ăn của cá. Tuy nhiên, trong một số nghiên cứu khác lại cho thấy, nồng độ Hg tích lũy trong cá cao hơn vào mùa khô quan đến sự phát triển của cá, vào mùa khô chúng phát triển nhanh hơn, quá trình trao đổi chất diễn ra mạnh hơn [30].

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cá Dìa nâu ở vùng ven biển Quảng Bình có tốc độ tăng trưởng trong mùa mưa chậm hơn trong mùa khô. Sự tích lũy Hg trong cơ cá Dìa nâu bị ảnh hưởng bởi tuổi, nhóm có độ tuổi nhỏ có xu hướng tích lũy Hg thấp hơn những nhóm có độ tuổi lớn. Nghiên cứu cũng thể hiện không có sự khác biệt đáng kể về nồng độ Hg giữa mùa mưa và mùa khô trong cơ cá Dìa nâu. Dựa trên việc phát hiện dấu vết Hg trong cơ cá Dìa nâu, việc theo dõi, giám sát nồng độ Hg trong các loài cá nói chung và cá Dìa nâu nói riêng tại vùng ven biển Quảng Bình là cần thiết.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ bởi đề tài CS.08.2022, Trường Đại học Quảng Bình. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F.M. D'Itri (1991), “Mercury contamination - What we have learned since Minamata”, *Fourth Symposium on Our Environment*, **19**, pp.165-182, DOI: 10.1007/BF00401309.
- [2] R. Dixon, B. Jones (1994), “Mercury concentrations in stomach contents and muscle of five fish species from the north east coast of England”, *Marine Pollution Bulletin*, **28(12)**, pp.741-745, DOI: 10.1016/0025-326X(94)90333-6.
- [3] F. Costa, J.P. Coelho, J. Baptista, et al. (2020), “Mercury accumulation in fish species along the Portuguese coast: Are there potential risks to human health?”, *Marine Pollution Bulletin*, **150**, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.110740.
- [4] J. Burger, M. Gochfeld (2009), “Perceptions of the risks and benefits of fish consumption: Individual choices to reduce risk and increase health benefits”, *Environmental Research*, **109(3)**, pp.343-349, DOI: 10.1016/j.envres.2008.12.002.
- [5] C.R. Hammerschmidt, W.F. Fitzgerald (2004), “Geochemical controls on the production and distribution of methylmercury in near-shore marine sediments”, *Environmental Science and Technology*, **38(5)**, pp.1487-1495, DOI: 10.1021/es034528q.
- [6] M.S. Rahman, N. Saha, A.H. Molla, et al. (2014), “Assessment of anthropogenic influence on heavy metals contamination in the aquatic ecosystem components: Water, sediment, and fish”, *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, **23(4)**, pp.353-373, DOI: 10.1080/15320383.2014.829025.
- [7] J.R. Inzunza, C.K.K. Sandoval, M.A.R. Osuna, et al. (2017), “Total mercury concentrations in white and striped mullet (*Mugil curema* and *M. cephalus*) from a coastal lagoon in the SE Gulf of California”, *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.*, **52(5)**, pp.459-465, DOI: 10.1080/10934529.2016.1271670.
- [8] P.M.K. Etherton, W.S. Harris, L.J. Appel (2002), “Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease”, *Circulation*, **106(21)**, pp.2747-2757, DOI: 10.1161/01.cir.0000038493.65177.94.

- [9] M. Türkmen, A. Türkmen, Y. Tepe, et al. (2009), "Determination of metals in fish species from Aegean and Mediterranean seas", *Food Chemistry*, **113**(1), pp.233-237, DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.06.071.
- [10] M. Tüzen (2003), "Determination of heavy metals in fish samples of the middle Black Sea (Turkey) by graphite furnace atomic absorption spectrometry", *Food Chemistry*, **80**(1), pp.119-123, DOI: 10.1016/S0308-8146(02)00264-9.
- [11] V.V. Thiep, T.T. Yen, H.A. Vu (2020a), "Assessment of heavy metals content and consumer health risk to *Siganus fuscus* (Houttuyn, 1782) from Quang Binh province", *Journal of Agriculture and Development*, **19**(5), pp.46-55, DOI: 10.52997/jad.6.05.2020.
- [12] V.V. Thiep, N.T.Q. Phuong (2021), "Mercury content in Mottled spinefoot (*Siganus fuscus* houttuyn, 1782) in Quang Binh coastal and initially estimated risks to consumers' health", *Journal of Agriculture and Rural Development*, **13**, pp.69-74 (in Vietnamese).
- [13] V.V. Thiep, H.N. Tam (2019), "Elimination of target hazard quotient (THQ) for heavy metal by consumption of some fish species in Quang Binh", *Quang Binh University Journal of Science and Technology*, **19**(3), pp.22-30 (in Vietnamese).
- [14] V.V. Thiep, N.H. Binh, N.T.Q. Phuong (2020b), "Risk assessment of mercury intake via Dotted gizzard shad (*Konosirus punctatus* schlegel, 1846) consumption in Quang Binh", *TNU Journal of Science and Technology*, **225**(11), pp.114-120 (in Vietnamese).
- [15] E.D.L. Cren (1951), "The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*)", *The Journal of Animal Ecology*, **20**(2), pp.201-219, DOI: 10.2307/1540.
- [16] J.C. Schneider, P.W. Laarman, H. Gowing (2000), *Manual of Fisheries Survey Methods II: With Periodic Updates*, Michigan Department of Natural Resources, Fisheries Division, 12pp.
- [17] M.D. Giosa, P. Czerniejewski, A. Rybczyk (2014), "Seasonal changes in condition factor and weight-length relationship of invasive *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) from Leszczynskie Lakeland, Poland", *Advances in Zoology*, **2014**, DOI: 10.1155/2014/678763.
- [18] N. Jisr, G. Younes, C. Sukhn, et al. (2018), "Length-weight relationships and relative condition factor of fish inhabiting the marine area of the Eastern Mediterranean city, Tripoli-Lebanon", *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, **44**(4), pp.299-305, DOI: 10.1016/j.ejar.2018.11.004.
- [19] G. Morey, J. Moranta, E. Massutí, et al. (2003), "Weight-length relationships of littoral to lower slope fishes from the western Mediterranean", *Fisheries Research*, **62**(1), pp.89-96, DOI: 10.1016/S0165-7836(02)00250-3.
- [20] O.S. Ogunola, O.A. Onada (2017), "Preliminary investigation of length-weight relationships and condition factors of two commercially important fish species (Mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) and Sardine, *Sardinella maderensis* (Lowe 1838)) in Okrika creeks (Niger-Delta) of Nigeria", *Regional Studies in Marine Science*, **13**, pp.54-58, DOI: 10.1016/j.rsma.2017.03.009.
- [21] M. Kraljevic, S.M. Skoko, D. Jakov, et al. (2007), "Age and growth of sharpsnout seabream *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777) in the eastern Adriatic Sea", *Cahiers de Biologie Marine*, **48**(2), pp.145-151.
- [22] M. Ptashynski, R. Pedlar, R. Evans, et al. (2002), "Toxicology of dietary nickel in lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*)", *Aquatic Toxicology*, **58**(3-4), pp.229-247, DOI: 10.1016/S0166-445X(01)00239-9.
- [23] Z. Dragun, B. Raspor, M. Podrug (2007), "The influence of the season and the biotic factors on the cytosolic metal concentrations in the gills of the European chub (*Leuciscus cephalus* L.)", *Chemosphere*, **69**(6), pp.911-919, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.05.069.
- [24] E.H. Schön, I. Bogut, R. Vuković, et al. (2015), "Distribution and age-related bioaccumulation of lead (Pb), mercury (Hg), cadmium (Cd), and arsenic (As) in tissues of common carp (*Cyprinus carpio*) and European catfish (*Solurus glanis*) from the Buško Blato reservoir (Bosnia and Herzegovina)", *Chemosphere*, **135**, pp.289-296, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.015.
- [25] P.E. Douben (1989), "Lead and cadmium in stone loach (*Noemacheilus barbatulus* L.) from three rivers in Derbyshire", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **18**(1), pp.35-58, DOI: 10.1016/0147-6513(89)90090-0.
- [26] Y. Yi, S. Zhang (2012), "The relationships between fish heavy metal concentrations and fish size in the upper and middle reach of Yangtze River", *Procedia Environmental Sciences*, **13**, pp.1699-1707, DOI: 10.1016/j.proenv.2012.01.163.
- [27] Y. Jia, L. Wang, Z. Qu, et al. (2017), "Effects on heavy metal accumulation in freshwater fishes: Species, tissues, and sizes", *Environmental Science and Pollution Research*, **24**(10), pp.9379-9386, DOI: 10.1007/s11356-017-8606-4.
- [28] S.S.S. Dehkordi, A.A. Fallah, A. Nematollahi (2010), "Arsenic and mercury in commercially valuable fish species from the Persian Gulf: Influence of season and habitat", *Food and Chemical Toxicology*, **48**(10), pp.2945-2950, DOI: 10.1016/j.fct.2010.07.031.
- [29] S.S.S. Dehkordi, A.A. Fallah (2011), "Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis", *Microchemical Journal*, **98**(1), pp.156-162, DOI: 10.1016/j.microc.2011.01.001.
- [30] J.O. Verbel, K.C. Gallardo, J.N. Marrugo (2011), "Relationship between localization of gold mining areas and hair mercury levels in people from Bolivar, north of Colombia", *Biological Trace Element Research*, **144**(1), pp.118-132, DOI: 10.1007/s12011-011-9046-5.

Nghiên cứu sản xuất và thử hoạt tính kháng nấm *Phytophthora* spp. gây thối quả và *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư của chế phẩm sinh học nhựa dầu nghệ kết hợp với nano bạc và chitosan

Cao Đức Danh^{1,2*}, Lê Thế Tâm^{3*}, Thái Văn Bình³, Trần Thị Ngân³, Lê Đăng Quang⁴, Hồ Đình Quang³, Nguyễn Cao Cường², Nguyễn Thị Hà², Lê Thị Thu Hiệp³, Trần Phương Chi³, Dương Thị Ngân²

¹Sở Khoa học và Công nghệ Hà Tĩnh, 142 Trần Phú, phường Trần Phú, TP Hà Tĩnh, tỉnh Hà Tĩnh, Việt Nam

²Trung tâm Ứng dụng Tiến bộ Khoa học và Công nghệ Hà Tĩnh, 81 Ngô Quyền, xã Thạch Hạ, TP Hà Tĩnh, tỉnh Hà Tĩnh, Việt Nam

³Trường Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, phường Trường Thi, TP Vinh, tỉnh Nghệ An, Việt Nam

⁴Viện Kỹ thuật Nhiệt đới, 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 13/10/2022; ngày chuyển phản biện 17/10/2022; ngày nhận phản biện 4/11/2022; ngày chấp nhận đăng 9/11/2022

Tóm tắt:

Trong bài báo này, các tác giả đã chế tạo các mẫu chế phẩm sinh học (BN) từ nhựa dầu nghệ kết hợp với nano bạc và chitosan, đồng thời khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sản xuất BN. Kết quả nghiên cứu quá trình sản xuất BN gồm thành phần, phụ gia, tỷ lệ phối trộn, các thông số công nghệ đã được tính toán và thử nghiệm để có được chế phẩm nano có độ bền và phân tán cao nhất. Xác định được bộ thông số tối ưu cho sản xuất ở quy mô pilot 5 l/mẻ là tỷ lệ hoạt chất/phụ gia là 3/1, nhiệt độ tối ưu cho quá trình phối trộn là 40-45°C, tốc độ khuấy 500 vòng/phút (rpm), thời gian 60 phút. Nghiên cứu đã chế tạo thành công 18 mẫu BN (BN1-BN18) có màu sắc từ vàng nhạt đến vàng đậm. Thử hoạt tính kháng nấm đối với *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư và bệnh thối quả do nấm *Phytophthora* spp. cho thấy, các BN1-BN18 đều có hoạt tính kháng nấm tốt và hoạt tính này đều tăng dần khi hàm lượng nhựa dầu nghệ tăng.

Từ khóa: chitosan, *Colletotrichum* spp., nano bạc, nhựa dầu nghệ, *Phytophthora* spp..

Chỉ số phân loại: 2.4

1. Đặt vấn đề

Thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) đóng vai trò quan trọng trong việc ngăn chặn, khống chế sự phát sinh, phát triển của các đối tượng gây hại, góp phần tăng năng suất và chất lượng nông sản. Tuy nhiên, lượng thuốc BVTV hóa học dư thừa trong quá trình sản xuất nông nghiệp là nguyên nhân gây ra nhiều tác hại nghiêm trọng cho môi trường đất, đặc biệt là môi trường nước do sự rửa trôi. Dư lượng của thuốc BVTV còn gây độc cho người và gia súc, ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe người tiêu dùng. Điều này không chỉ làm suy giảm tính đa dạng sinh học, gây tổn hại đến quần thể thiên địch mà còn làm phát sinh tính kháng thuốc của sinh vật hại, tăng chi phí phòng trừ, gây ảnh hưởng lớn đến con người và môi trường [1].

Ở nước ta cũng như trên thế giới, thuốc trừ bệnh thuộc nhóm nano đang được sử dụng rộng rãi trong sản xuất nông nghiệp, với phổ tác dụng rộng, có thể phòng trừ bệnh cho nhiều loại cây trồng khác nhau. Các nguyên tố kẽm, đồng, bạc là những nguyên tố có tính kháng nấm, kháng khuẩn và diệt virus cao [2]. Các hạt nano kim loại có kích thước vài

nm thì hiệu quả kháng khuẩn, kháng nấm, tiêu diệt virus tăng lên hàng nghìn lần so với nguyên tố ở dạng ion. Ngoài ra, độc tính của chúng có tính chọn lọc cao với vi khuẩn, vi nấm, virus. Đặc biệt, nano bạc thể hiện độc tính rất mạnh đối với vi khuẩn, virus, tảo và nấm nên được ứng dụng rộng rãi để trị bệnh cháy lá lúa, khô cổ gie lúa, lép hạt lúa; vàng lá, rụng lá, nấm hồng, loét sọc mặt cạo trên cây cao su; rỉ sắt, khô cành, khô quả, nấm rữa trên cà phê; chết nhanh, chết chậm trên cây tiêu; nấm trái, thối đầu cành, đốm nâu và nấm cành trên cây thanh long [2]. V.K. Sharma và cs (2009) [3] cho biết, tế bào vi khuẩn bị vô hiệu hóa được cho là do kết quả của quá trình tương tác tĩnh điện giữa bề mặt mang điện tích âm (-) của tế bào vi khuẩn và cation Ag⁺ được hấp phụ trên bề mặt tế bào, các ion này sau đó xâm nhập vào bên trong tế bào vi khuẩn và vô hiệu hóa chúng. Nano bạc kết hợp với chitosan làm chất ổn định cho thấy hiệu quả kháng bệnh đốm nâu (*Alternaria passiflorae*) ở cây chanh dây, bệnh vàng lá (*Fusarium* spp., *Phytophthora* spp.) ở cây tiêu; kháng khuẩn khá tốt đối với cả vi khuẩn gram âm và gram dương [1]. Nano bạc có tác dụng phòng chống sự xâm nhiễm của nấm và vi khuẩn gây bệnh xâm nhập qua các tế bào lá và

*Tác giả liên hệ: Email: saola43@gmail.com, tamlt@vinhuni.edu.vn

Research on production and testing of antifungal activity *Phytophthora* spp. causing fruit rot and *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of silver nanoparticles, chitosan and turmeric resin bioproducts

Duc Danh Cao^{1,2*}, The Tam Le^{3*}, Van Binh Thai³, Thi Ngan Tran³, Dang Quang Le⁴, Dinh Quang Ho³, Cao Cuong Nguyen², Thi Ha Nguyen², Thi Thu Hiep Le³, Phuong Chi Tran³, Thi Ngan Duong²

¹Ha Tinh Department of Science and Technology,

142 Tran Phu Street, Tran Phu Ward, Ha Tinh City, Ha Tinh Province, Vietnam

²Center for Advanced Application of Science and Technology Ha Tinh,

81 Ngo Quyen Street, Thach Ha Commune, Ha Tinh City, Ha Tinh Province, Vietnam

³Vinh University, 182 Le Duan Street, Truong Thi Ward,

Vinh City, Nghe An Province, Vietnam

⁴Institute of Tropical Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,

18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 13 October 2022; revised 4 November 2022; accepted 9 November 2022

Abstract:

In this paper, the research team made samples of bio-products (BN) of turmeric resin combined with silver nanoparticles and chitosan and investigated the factors affecting the production of BN preparations. Specifically, the results of research on the production of BN preparations including ingredients, additives, mixing ratios, and technological parameters have been calculated and tested to obtain nano-preparations with the highest durability and dispersion. The experimental results obtained the optimal set of parameters for production at a pilot scale of 5 litres/batch are the ratio of active ingredients/additives = 3/1, the optimal temperature for the mixing process is 40–45°C, the stirring speed is 500 rpm, and the time is 60 minutes. From here, we have successfully fabricated 18 samples of BN1-BN18 preparations with colours ranging from light yellow to dark yellow. Antifungal activity was tested against *Colletotrichum* spp. causing anthracnose disease and fruit rot disease caused by *Phytophthora* spp., the results showed that BN1-BN18 products exhibited good antifungal activity, and antifungal activity increased gradually when the content of turmeric oil resin increased.

Keywords: chitosan, *Colletotrichum* spp., *Phytophthora* spp., silver nanoparticles, turmeric oil resin.

Classification number: 2.4

Ễ. Phòng và trị rất tốt các nhóm bệnh do nấm, vi khuẩn gây ra như: bệnh lở cổ rễ, vàng lá thối rễ, các bệnh đốm lá, loét cam quýt, bưởi, thối nhũn. Hiệu quả kháng nấm bệnh cây trồng của nano bạc đã được thử nghiệm tại Hàn Quốc trên 18 loại nấm bệnh. Kết quả thử nghiệm cho thấy, AgNPs có hiệu quả mạnh với các chủng nấm mốc như *Alternaria alternata*, *A. brassicicola*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Pythium aphanidermatum*, *P. spinosum* và hiệu quả tối ưu đạt được là 100 ppm khi thử nghiệm trên đĩa thạch PDA [4].

Các chế phẩm nano bạc-chitosan chế tạo bằng phương pháp chiếu xạ có hiệu lực ức chế nấm *Phytophthora capsici* lên đến 100% tại nồng độ 40 ppm với kích thước hạt 5 nm [5]. Vật liệu nano Ag/CTS/bentonite ở nồng độ bạc 400 ppm có hiệu quả ức chế nấm *Rhizoctonia solani* đạt 92,82% và *F. oxysporum* đạt 66,70% [6]. Nano bạc dạng keo kích thước trung bình 52 nm ở nồng độ 180 ppm đã ức chế trên 90% sự phát triển của nấm *Phomopsis* spp. trên hạt đậu tương [6, 7].

Chitosan là polysaccharide có đậm, không độc hại, có khối lượng phân tử lớn. Chitosan có màu trắng hay vàng nhạt, không mùi vị. Chitosan ngoài tác dụng kích thích hoạt động của hệ thống kháng bệnh trong cây, còn có tác dụng như một chất kích thích sinh trưởng của cây và trực tiếp tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh do hủy hoại màng tế bào vi sinh vật. Với các tác dụng nêu trên, Chitosan phòng trừ được các bệnh cây do các nhóm vi sinh vật như nấm, vi khuẩn, tuyến trùng và cả virus. Có thể coi Chitosan như một loại vắc-xin thực vật. Khi đề cập đến Chitosan thì người ta chỉ nghĩ đến hoạt chất dùng trong bảo quản nông sản, nhưng trên thực tế Chitosan có rất nhiều ứng dụng trong nông nghiệp [8]. Chitosan đóng vai trò như là thành phần kích thích hoạt tính sinh học, làm tăng năng suất, sản lượng cây trồng. Kết quả cho thấy, năng suất cây lúa tăng lên, lượng phân bón cần bón giảm đi đáng kể [8].

Nhựa dầu nghệ là một hỗn hợp lỏng sánh có màu cánh gián đến vàng nhạt, có chứa phần nhỏ tinh dầu nghệ và hỗn hợp nhiều chất khác nhau. Hỗn hợp này có mùi thơm và hăng cay đặc trưng của nghệ. Nhựa dầu nghệ tan tốt trong ethanol, hàm lượng ethanol càng giảm thì khả năng hòa tan của tinh dầu càng giảm. Nhiều nghiên cứu về nghệ đã cho thấy, nghệ có hoạt tính kháng viêm, củ nghệ có tính khử trùng [9]. Nghệ ngày càng được quan tâm hơn, đặc

biệt là khi phát hiện ra đặc tính chống oxy hóa của các hợp chất phenol tự nhiên có trong nghệ. Tinh dầu nghệ chứa nhiều hợp chất sesquiterpen ketones và alcohols khác nhau như α -turmerone, ar-turmerone, 1,8-cineole, curlone, α -zingiberene, beren, borneol, sabinen, phelandren [10, 11]. Những năm gần đây, P.T. Hieu và cs (2021) [9] cũng đã triển khai thử nghiệm chế phẩm từ củ nghệ trừ bệnh nấm gây ra trên cây vừng và cà chua do nấm *Colletotrichum gloeosporioides* và *Phytophthora infestans* gây ra. Chế phẩm có chứa các hoạt chất là hỗn hợp các Turmerone (α -turmerone, β -turmerone và γ -turmerone) và curcuminoids từ bã thải của quá trình sản xuất curcumin, hiệu lực tác dụng trên 65% đối với bệnh trên cây vừng trên diện rộng, ngoài ra còn có tác dụng đối với rầy nâu tuổi 2-3 và sâu tơ. Bên cạnh đó curcumin, demethoxycurcumin và bisdemethoxycurcumin có khả năng kháng bệnh thán thư trong khoảng 0,4-100 $\mu\text{g/ml}$. Curcumin có hiệu quả kháng nấm *P.infestans*, *Puccinis recondite* và *R.solani* lần lượt là 100, 100 và 63% với nồng độ tập trung trong khoảng 500 $\mu\text{g/ml}$.

Trong khi đó, ở Việt Nam, trong xu thế hướng tới nền nông nghiệp hữu cơ, nông nghiệp bền vững, các chế phẩm BVTV sinh học nhựa dầu nghệ kết hợp với nano bạc và chitosan để phòng trừ một số bệnh trên cây trồng hầu như chưa có và chưa được đề cập tới. Trong nghiên cứu này, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sản xuất các BN được thực hiện để tìm ra điều kiện tối ưu nhằm mục đích đạt hiệu quả sản xuất tối ưu nhất. Đồng thời tiến hành thử hoạt tính kháng nấm *Phytophthora* spp. gây thối quả trên cam và *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên cam, bưởi để đánh giá hoạt lực của các BN.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

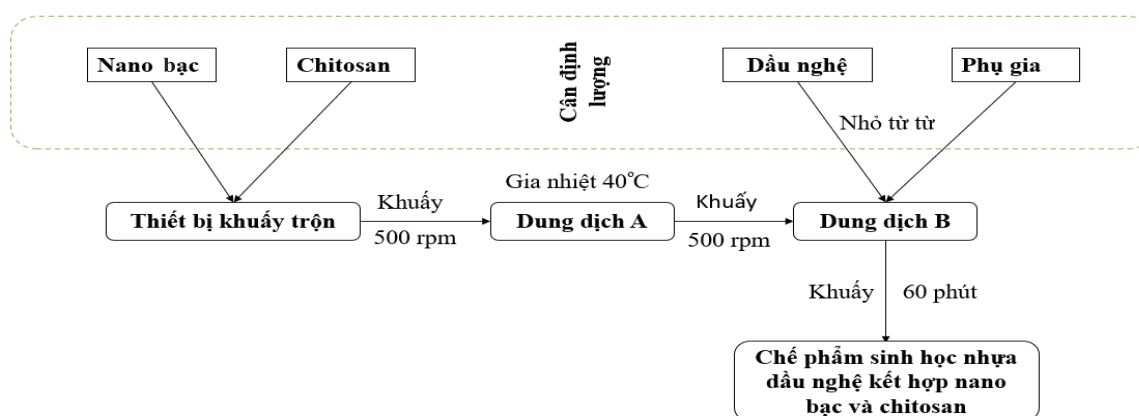
Nguyên liệu để gia công BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan dạng huyền phù đậm đặc bao gồm hoạt chất chiếm 75% (nano bạc 45%, chitosan 5%, dầu nghệ 25%), chất phụ gia 25% (tween 60, acetone, propanol, ethanol, PEG 4000 công nghiệp, EG (etylen glycol), nước), đảm bảo tỷ lệ hoạt chất/phụ gia là 3/1. Trong đó, tween 60 chiếm khoảng 12,5% và acetone 9,5% tổng khối lượng chế phẩm, 3% là nước và một số phụ gia khác. Các mẫu được ký hiệu từ BN1 đến BN18, thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Công thức các BN1-BN18.

Thứ tự	Nano bạc (%)	Chitosan (%)	Nhựa dầu nghệ (%)	Thành phần phụ gia (%)	Công thức chế phẩm
1	69	5	1	25	BN1
2	68	5	2	25	BN2
3	67	5	3	25	BN3
4	66	5	4	25	BN4
5	65	5	5	25	BN5
6	64	5	6	25	BN6
7	63	5	7	25	BN7
8	62	5	8	25	BN8
9	61	5	9	25	BN9
10	60	5	10	25	BN10
11	59	5	11	25	BN11
12	58	5	12	25	BN12
13	57	5	13	25	BN13
14	56	5	14	25	BN14
15	55	5	15	25	BN15
16	54	5	16	25	BN16
17	53	5	17	25	BN17
18	52	5	18	25	BN18

2.2. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm

Quy trình công nghệ sản xuất BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan quy mô pilot (5 l/mẻ) được tiến hành như sau: dung dịch nano bạc, chitosan, nhựa dầu nghệ (đồng hóa trong dung dịch ethanol). Các thành phần phụ gia bao gồm tween 60, acetone, propanol, ethanol, PEG 4000 công nghiệp, EG, nước (thành phần như ở bảng 1). Hỗn hợp được phối trộn ở nhiệt độ 40-45°C, tốc độ khuấy 500 rpm, thời gian khuấy 60 phút trong thiết bị. Tất cả các thành phần sử dụng sản xuất chế phẩm được cân định lượng, đem vào các thiết bị khuấy trộn chuyên dụng để tạo dung dịch đồng nhất, tiếp theo là các quá trình gia nhiệt, điều chỉnh tốc độ khuấy, thời gian khuấy được thiết lập thích hợp theo các thông số đã tối ưu bằng quá trình thực nghiệm và bằng mô hình tương quan. Trong quy trình sản xuất, dung dịch nano bạc được thêm định lượng dung dịch chitosan, khuấy ở tốc độ 500 rpm trong 15 phút. Hỗn hợp thu được (dung dịch A)



Hình 1. Sơ đồ quy trình công nghệ chế tạo BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan.

tiếp tục khuấy và gia nhiệt lên 40-45°C và thêm từ từ dung dịch nhựa dầu nghệ vào, rồi chất phụ gia (dung dịch B). Dung dịch B được khuấy liên tục trong 60 phút để thu được BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan (hình 1).

2.3. Phương pháp đánh giá hoạt tính sinh học

Hoạt tính kháng nấm: Phương pháp kiểm tra khả năng ức chế mycelia được sử dụng trong nghiên cứu với các chủng nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư và *Phytophthora* spp. gây bệnh thối quả. Nấm *Colletotrichum* spp. và *Phytophthora* spp. sử dụng trong nghiên cứu này được phân lập từ quả cam, bưởi bị bệnh thán thư trồng ở huyện Hương Khê, tỉnh Hà Tĩnh. Hoạt tính kháng nấm được thử trên các đĩa thạch petri với môi trường PDA tại pH 6,8-7,0.

Nấm được phân lập và làm thuần, dùng dụng cụ đục lỗ có đường kính 4 mm tiến hành đục vành ngoài đường kính tán nấm, sau đó đặt lên môi trường PDA đã trộn với mẫu thử. Mẫu thử BN hòa tan bằng tween 80 với nồng độ 0,05% và dimethyl sulfoxide (DMSO) 2% ở các nồng độ khác nhau (1000 và 500 ppm), sau đó trộn vào môi trường PDA nóng chảy ở 50°C đã khử trùng và để nguội. Mỗi nồng độ khác nhau được thử lặp lại 3 lần. Các đĩa được ủ ở 37°C trong

vòng 24-36 giờ. Theo dõi sự phát triển của nấm và xác định tính hiệu lực của từng loại dựa vào việc đo đường kính tán nấm sau các thời gian khác nhau tùy theo từng loại nấm. Hiệu quả ức chế được tính như sau [9]:

$$\text{Hiệu quả ức chế (\%)} = \frac{\text{ĐK}_{\text{đối chứng}} - \text{ĐK}_{\text{mẫu}}}{(\text{ĐK}_{\text{đối chứng}} - 4)} \times 100\%$$

trong đó $\text{ĐK}_{\text{đối chứng}}$ là đường kính của tán nấm trong đĩa đối chứng; $\text{ĐK}_{\text{mẫu}}$ là đường kính của tán nấm mẫu.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tạo chế phẩm sinh học

Áp dụng phương pháp phối trộn có gia nhiệt phù hợp, đã chế tạo thành công 18 mẫu BN (ký hiệu từ BN1 đến BN18) có màu sắc từ vàng nhạt đến đậm dần, khả năng tan trong nước giảm dần (hình 2).

3.2. Màu sắc, trạng thái chế phẩm

Các BN nhựa dầu nghệ kết hợp với nano bạc và chitosan thu được dạng huyền phù đậm đặc có màu vàng nhạt đến vàng đậm (chuyển sang màu đỏ của nhựa dầu nghệ) khi hàm lượng dầu nghệ tăng dần từ công thức BN1 đến BN18 (hình 2). Đặc biệt, các nhóm công thức từ BN1 đến BN6, màu



Hình 2. Các mẫu BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan.

không thay đổi nhiều, trong khi nhóm BN7 đến BN12 màu thay đổi rõ rệt nhất và nhóm BN13 đến BN18 có màu đậm đặc, tương đương nhau.

3.3. Khả năng hòa tan và độ bền của BN

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi tăng hàm lượng hoạt chất lên, giảm hàm lượng chất phụ gia và nước (tween 60, acetone và nước) sẽ làm giảm độ hoà tan của BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan. Đặc biệt, chế phẩm có acetone giúp hòa tan hoạt chất tinh dầu nghệ, đóng vai trò rất quan trọng đối với hoạt chất dạng dầu nghệ. Tuy nhiên, acetone giá thành cao, dễ cháy nổ và khi hàm lượng trên 10% có khả năng gây tổn hại bao bì sử dụng, không thích hợp để đóng chai hoặc gói khi gia nhiệt. Do vậy, hàm lượng acetone thích hợp được lựa chọn nhỏ hơn 10% trong công thức chế phẩm là 6%, trong khi đó tween 60 chiếm 10%, còn lại là nước và các chất phụ gia khác là thích hợp. Trong các công thức, BN10 có độ bền và phân tán đều tốt nhất.

3.4. Tốc độ khuấy trong chế tạo BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan

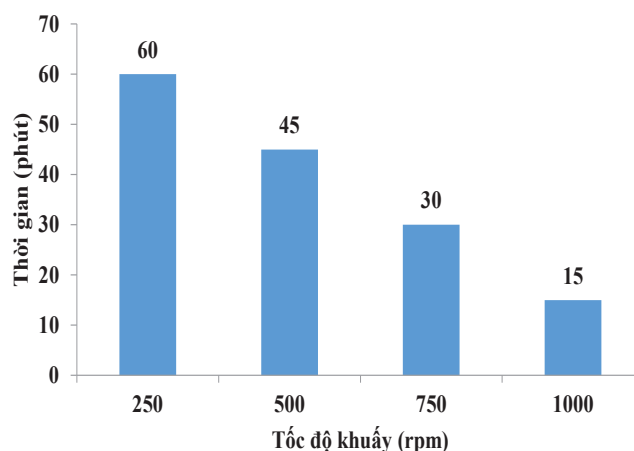
Để nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ khuấy lên thời gian hình thành, độ đồng nhất, độ tan và độ bền của BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan, kết quả tổng hợp chế phẩm được thực hiện theo công thức BN10 với các tốc độ biến đổi 250, 500, 1000 và 2000 rpm, tương ứng với RP1, RP2, RP3 và RP4 (bảng 2).

Bảng 2. Tốc độ pha trộn chế phẩm dạng huyền phù đậm đặc.

Thí nghiệm	RP1	RP2	RP3	RP4
Nano bạc, chitosan, nhựa dầu nghệ	75%	75%	75%	75%
Chất phụ gia và nước	25%	25%	25%	25%
Tổng thành phần	100%	100%	100%	100%
Tốc độ khuấy (rpm)	250	500	750	1000
Giá trị thế zeta (mV)	25	37	30	27

Các BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan đều được khuấy trong 60 phút, quan sát sự thay đổi độ trong, đồng thời thử độ tan trong nước theo tỷ lệ chế phẩm/nước tương ứng là 1/100 và 2/100 ml, độ bền của chế phẩm sau khi hòa tan 1 giờ. Kết quả cho thấy, khi khuấy với tốc độ tăng dần, thời gian hình thành chế phẩm đồng nhất và độ trong giảm dần khi tốc độ khuấy tăng. Cụ thể, khi khuấy với tốc độ 250 rpm, thời gian thu được chế phẩm là 60 phút, chế

phẩm còn vẩn đục, tan kém. Khi khuấy với tốc độ 500 rpm, thời gian đạt được độ trong của chế phẩm là 45 phút, chế phẩm đồng nhất, tan tốt, bền, không lắng sau khi hòa tan 1 giờ. Khi tốc độ khuấy tăng lên 750 rpm, thời gian hình thành chế phẩm nhanh, trong vòng 30 phút đã đạt được chế phẩm trong, đồng nhất nhưng khi hòa tan chế phẩm bị lắng, chứa cặn. Đặc biệt, khi tốc độ khuấy đạt 1000 rpm, chế phẩm đạt độ trong khi khuấy được 15 phút, nhưng khi đem hòa tan vào nước, tan kém và phân tách lớp ngay, lắng cặn (hình 3). Nguyên nhân dự đoán là khi khuấy với tốc độ cao, các hạt tinh dầu bị đánh tan và pha trộn vào các chất phụ gia, chất hoạt động bề mặt, nhưng độ hoàn thiện của chế phẩm chưa đạt, chế phẩm bị phân hủy nhanh, điều này sẽ làm giảm hiệu quả của chế phẩm khi sử dụng trong thực tế. Do vậy, chúng tôi lựa chọn tốc độ khuấy tối ưu cho quy trình sản xuất chế phẩm là 500 rpm để thu được BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan đạt yêu cầu, có độ tan tốt.



Hình 3. Ảnh hưởng của tốc độ khuấy đến thời gian hình thành BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan.

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng tạo BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan

Khi nhiệt độ tăng, thông thường khả năng hòa tan của các chế phẩm tốt hơn, tuy nhiên do sử dụng các dung môi hữu cơ làm chất phụ gia, kèm theo các hoạt chất nhựa dầu nghệ, khi nhiệt độ quá cao, các hoạt chất sẽ bay hơi cùng với dung môi. Để biết được ảnh hưởng của nhiệt độ, chúng tôi tiến hành các thí nghiệm tổng hợp chế phẩm theo công thức BN10 ở các nhiệt độ 25, 30, 45 và 60°C, tương ứng với các mẫu NĐ1, NĐ2, NĐ3 và NĐ4 (bảng 3).

Bảng 3. Nhiệt độ pha trộn BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan dạng huyền phù đậm đặc.

Thí nghiệm	NĐ1	NĐ2	NĐ3	NĐ4
Nano bạc, chitosan, nhựa dầu nghệ	75%	75%	75%	75%
Chất phụ gia và nước	25%	25%	25%	25%
Tổng thành phần	100%	100%	100%	100%
Tốc độ khuấy (rpm)	500	500	500	500
Thời gian khuấy (phút)	45	45	45	45
Nhiệt độ khuấy (°C)	25	30	45	60
Giá trị thế zeta (mV)	27	29	38	32

Kết quả cho thấy, khi nhiệt độ của BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan ở 25°C (nhiệt độ phòng), tốc độ hòa tan của chế phẩm chậm, khi kết thúc thời gian khuấy 45 phút, chế phẩm vẫn còn vẩn đục. Khi tăng nhiệt độ của hệ phản ứng lên 30°C, chế phẩm bắt đầu đồng nhất khi mới khuấy trộn được 25 phút, tuy nhiên khi hòa tan vào nước chế phẩm còn cặn lắng. Ở nhiệt độ 45°C, khi khuấy trong 45 phút thu được chế phẩm đồng nhất, trong và tan tốt trong nước, không bị vẩn đục khi hòa tan vào nước sau 1 giờ. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nhiệt độ lên 60°C, hỗn hợp chế phẩm đã bắt đầu tan khi khuấy được 15 phút nhưng hỗn hợp có hiện tượng bốc hơi nhanh và hao hụt lượng lớn khi kết thúc 45 phút khuấy. Nguyên nhân được xác định là acetone đạt nhiệt độ sôi và bay hơi ở khoảng 56-57°C, vì vậy khi sản xuất chế phẩm cần khống chế nhiệt độ hỗn hợp dưới 57°C. Từ đó, chọn nhiệt độ của quá trình tạo chế phẩm ở 40-45°C là phù hợp cho quy trình sản xuất ở quy mô phòng thí nghiệm.

3.6. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng tạo BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan

Để nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian khuấy lên quá trình tổng hợp chế phẩm, các yếu tố được cố định như tỷ lệ hoạt chất/chất phụ gia, tốc độ khuấy, thay đổi thời gian khuấy sản phẩm 15, 30, 45, 60 phút, tương ứng với các mẫu TG1, TG2, TG3 và TG4. Các thí nghiệm chế tạo BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan được bố trí theo bảng 4. Kiểm tra độ đồng nhất của dung dịch, độ tan và độ bền của dung dịch sau khi hòa tan nhận thấy, khi dung dịch khuấy trong 15 phút, các chất hòa tan chưa hoàn toàn, vẫn còn vẩn đục, hòa tan kém. Khi đạt đến 30 phút, thu được dung dịch trong và đồng nhất, không phân lớp, nhưng khi

hòa tan lại có ít cặn. Khi tăng thời gian khuấy lên 45 phút, dung dịch BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan đồng nhất hoàn toàn, bền và tan tốt trong nước. Khi tăng thời gian lên 60 phút, chế phẩm không có thay đổi nhiều và khi kéo dài thêm thời gian, không có sự khác biệt. Do đó, thời gian khuấy 45 phút được chọn làm thời gian tối ưu cho sản xuất, giúp giảm rất nhiều thời gian và chi phí cho việc chế tạo các sản phẩm quy mô lớn (bảng 4).

Bảng 4. Thời gian khuấy trộn BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan.

Thí nghiệm	TG1	TG2	TG3	TG4
Nano bạc chitosan, nhựa dầu nghệ	75%	75%	75%	75%
Chất phụ gia và nước	25%	25%	25%	25%
Tổng thành phần	100%	100%	100%	100%
Tốc độ khuấy (rpm)	500	500	500	500
Nhiệt độ phản ứng (°C)	45	45	45	45
Thời gian khuấy (phút)	15	30	45	60
Giá trị thế zeta (mV)	20	29	38	33

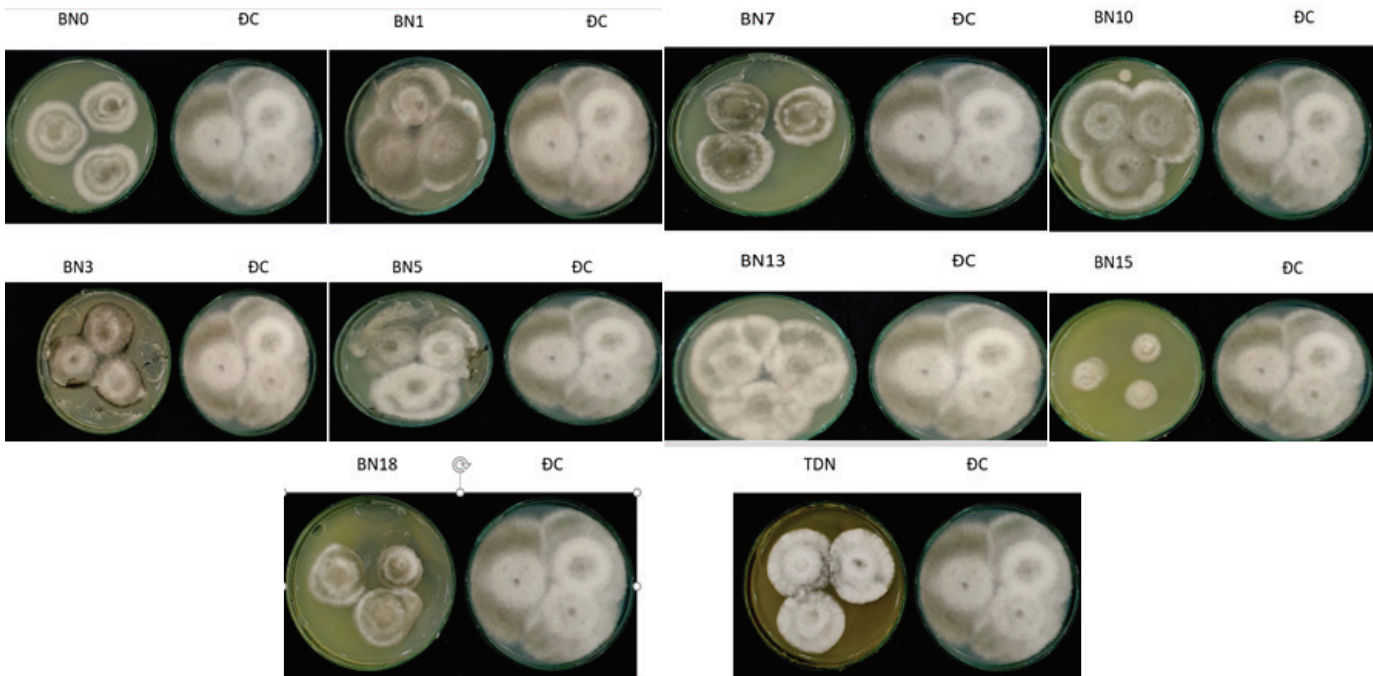
Độ bền của chế phẩm được kiểm tra lại bằng phép đo thế zeta. Thế zeta thể hiện mức độ đẩy giữa các hạt tích điện cùng dấu gần nhau trong hệ phân tán. Đối với các phân tử và các hạt đủ nhỏ, thế zeta cao (âm hoặc dương) sẽ cho độ ổn định cao, hệ phân tán sẽ chống lại sự keo tụ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ bền thế zeta của mẫu NĐ3, NĐ4, TG3 và TG4 đều cho giá trị trên 30 mV, điều đó cho thấy chế phẩm có độ bền cao. Đặc biệt mẫu NĐ3, TG3 có giá trị thế zeta đạt 38 mV.

3.7. Hoạt tính kháng nấm *Colletotrichum spp.* gây bệnh thán thư và bệnh thối quả do nấm *Phytophthora spp.*

Tiến hành thử hoạt tính kháng nấm đối với chủng nấm *Colletotrichum spp.* gây bệnh thán thư và bệnh thối quả do nấm *Phytophthora spp.* cho kết quả các BN1-BN18 đều có hoạt tính kháng nấm tốt; hoạt tính kháng nấm đều tăng dần khi hàm lượng nhựa dầu nghệ tăng cho thấy, các hoạt chất chứa trong dầu nghệ có khả năng ức chế cao; đối với nano bạc và chitosan khả năng kháng khuẩn tốt hơn kháng nấm. Các BN4-BN18 có khả năng kháng *Phytophthora spp.* cao hơn nấm *Colletotrichum spp.* trong cùng điều kiện, điều này có lẽ là cấu tạo của các chủng nấm khác nhau (bảng 5 và hình 4).

Bảng 5. Kết quả thử hoạt tính đối với chủng nấm *Phytophthora* spp. và *Colletotrichum* spp..

Thứ tự	Tên mẫu	Nồng độ (mg/l)	<i>Phytophthora</i> spp.	<i>Colletotrichum</i> spp.	
			Hiệu lực ức chế sau 3 ngày thử (%)	Hiệu lực ức chế sau 3 ngày thử (%)	Hiệu lực ức chế sau 5 ngày thử (%)
1	BN1	10	13,78±0,34	15,55±0,54	18,31±0,53
2	BN2	10	21,57±0,58	24,41±0,85	29,11±0,84
3	BN3	10	22,40±0,61	30,51±1,06	33,59±0,97
4	BN4	10	36,54±1,09	29,46±1,03	34,78±1,00
5	BN5	10	47,32±1,41	31,44±1,1	36,95±1,07
6	BN6	10	52,63±1,57	30,61±1,07	36,79±1,06
7	BN7	10	52,06±1,56	31,60±1,10	44,57±1,29
8	BN8	10	54,89±1,64	36,18±1,26	45,71±1,32
9	BN9	10	55,06±1,65	39,89±1,39	47,82±1,38
10	BN10	10	56,04±1,68	40,52±1,41	49,81±1,44
11	BN11	10	58,62±1,75	42,36±1,48	51,37±1,48
12	BN12	10	58,71±1,45	42,98±1,50	52,60±1,52
13	BN13	10	60,72±1,32	43,87±1,53	53,27±1,54
14	BN14	10	60,62±1,81	44,26±1,54	56,45±1,63
15	BN15	10	61,35±1,84	46,72±1,63	60,81±1,76
16	BN16	10	62,34±1,79	39,16±1,37	46,65±1,35
17	BN17	10	62,52±1,81	38,24±1,33	44,86±1,31
18	BN18	10	65,98±1,87	37,52±1,31	43,68±1,26
19	Dầu nghệ (TDN)	10	90,11±2,3	45,74±1,61	43,95±1,27



Hình 4. Khả năng ức chế của một số mẫu chế phẩm trong 3 ngày thử nghiệm.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã chế tạo được 18 mẫu BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan, ký hiệu từ BN1 đến BN18. Kết quả cho thấy, một số yếu tố công nghệ ảnh hưởng đến quá trình sản xuất BN nhựa dầu nghệ kết hợp nano bạc và chitosan; xác định được tỷ lệ hoạt chất/phụ gia là 3/1; điều kiện sản xuất chế phẩm phù hợp là tốc độ khuấy 500 rpm, thời gian 45 phút, nhiệt độ 45°C. Kết quả kháng nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên cam, bưởi và bệnh thối quả trên cam do nấm *Phytophthora* spp. của các mẫu tốt. Kết quả thử nghiệm là cơ sở để lựa chọn các mẫu chế phẩm có các đặc tính dễ tan trong nước, độ bền cao, hoạt tính tốt để tiến hành các nghiên cứu trên diện hẹp, diện rộng và mô hình thử nghiệm trước khi sản xuất lượng lớn dùng làm chế phẩm BVTV cho cây trồng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh Hà Tĩnh năm 2021-2023. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L.T. Tam, N.H. Du, H.D. Quang, et al. (2022), “Synthesis of copper (II) citrate and evaluation of its *in vitro* antifungal and antibacterial activities, and the suitability of using this chemical as a plant protection agent”, *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **64(11)**, pp.38-43, DOI: 10.31276/VJST.64(11).38-43 (in Vietnamese).
- [2] N.D. Hang, N.T. Man, N.M. Hiep, et al. (2018), “Application of nanotechnology in agriculture”, *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **60(7)**, pp.43-45 (in Vietnamese).
- [3] V.K. Sharma, R.A. Yngard, Y. Lin (2009), “Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities”, *Advances in Colloid and Interface Science*, **145(1-2)**, pp.83-96, DOI: 10.1016/j.cis.2008.09.002.
- [4] J.E. Mendes, L. Abrunhosa, J.A. Teixeira, et al. (2014), “Antifungal activity of silver colloidal nanoparticles against phytopathogenic fungus (*Phomopsis* sp.) in soybean seeds”, *International Journal of Biological, Veterinary, Agriculture and Food Engineering*, **8(9)**, pp.928-933.
- [5] L.Q. Luan, N.H.P. Uyen, P.H. Giang (2014), “Study on the antifungal effect of silver nano particle-chitosan prepared by irradiation method on *Phytophthora capsici* causing the blight disease on pepper plant”, *Journal of Biology*, **36(1se)**, pp.152-157 (in Vietnamese).
- [6] N.H. Chau, D.T. Hien, H.T. Mai, et al. (2017), “Research on the ability of Ag/bentonite nanomaterials to inhibit pathogenic fungi on soybean plants”, *Journal of Biotechnology*, **15(2)**, pp.349-357 (in Vietnamese).
- [7] D.Q. Hoang, M.X. Nguyen, N.N. Ngan, et al. (2021), “The effect of the nanosilica/oligochitosan hybrid material on the growth of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. longifolia)”, *Science and Technology Development Journal - Natural Sciences*, **5(3)**, pp.1531-1538, DOI: 10.32508/stdjns.v5i3.1047.
- [8] Ho Chi Minh City Department of Science and Technology (2017), *Trends in Herb Production and Application in Organic Agriculture. Wood Vinegar - A New Product of Vietnam*, Technology Trend Analysis Report, 25pp (in Vietnamese).
- [9] P.T. Hieu, L.D. Quang, T.D. Lam, et al. (2021), “Chemical composition and *in vitro* antifungal activity of turmeric oil from *Curcuma longa* L. rhizome against *Colletotrichum* spp.”, *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **63(6)**, pp.6-10, DOI: 10.31276/VJST.63(6).06-10 (in Vietnamese).
- [10] H.H. Cong, H.N. Nguyen, T.H. Tran, et al. (2020), “Antifungal activity of silver nanoparticles against phytopathogenic fungi *in vitro*”, *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **62(9)**, pp.42-47 (in Vietnamese).
- [11] L.T. Danh, T.T.N. Nu, D.M. Vien, et al. (2019), “Study of the complex of curcumin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin with high bioavailability”, *CTU Journal of Science*, **55(3B)**, pp.1-7, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2019.070 (in Vietnamese).

Ảnh hưởng của polysiloxane tới tính chất chống thấm và cơ tính của vải cotton

Nguyễn Vũ Việt Linh¹, Phạm Thị Hằng^{2,3}, Huỳnh Đại Phú^{2,3*}

¹Khoa Khoa học Ứng dụng, Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật TP Hồ Chí Minh, 1 Võ Văn Ngân, phường Linh Chiểu, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Công nghệ Vật liệu, Trường Đại học Bách khoa TP Hồ Chí Minh, 268 đường Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/8/2022; ngày chuyển phản biện 15/8/2022; ngày nhận phản biện 29/8/2022; ngày chấp nhận đăng 5/9/2022

Tóm tắt:

Vải cotton được sử dụng phổ biến trong ngành dệt may do khả năng thông thoáng và thấm hút tốt. Tuy nhiên, khả năng kháng bẩn và kháng nước của vải cotton không cao. Vì vậy, phủ lên vải cotton chất chống thấm polysiloxane là một yêu cầu đặc biệt cần thiết trong các ứng dụng cho những sản phẩm quần áo ngoài trời và quần áo bảo vệ. Ảnh hưởng của hàm lượng polysiloxane lên khả năng chống thấm nước và tính chất cơ lý của vật liệu được tiến hành nghiên cứu. Hình thái của vải cotton đã phủ nhựa được xác định bởi SEM (Scanning electron microscope) và EDX (Energy dispersive X-ray) dùng để xác định sự hiện diện của lớp phủ polysiloxane trên bề mặt vải. So với vải cotton thô, độ bền kéo đứt của vải cotton tẩm dung dịch 20% polysiloxane tăng, tuy nhiên độ giãn dài khi đứt giảm. Kết quả đo áp lực thủy tĩnh (AATCC 127) và thử nghiệm phun nước (AATCC 22) cho thấy khả năng chống thấm nước của vải cotton phủ polysiloxane tăng đáng kể so với vải cotton thô. Ngoài ra, hàm lượng polysiloxane hầu như không ảnh hưởng đến khả năng chống thấm nước của vật liệu. Vì vậy, sử dụng hợp lý polysiloxane sẽ góp phần giảm thiểu chi phí cho sản phẩm.

Từ khóa: chống thấm nước, cơ tính, polysiloxane, vải cotton.

Chỉ số phân loại: 2.4

1. Đặt vấn đề

Trong ngành công nghiệp dệt may, cotton là chất liệu được ứng dụng phổ biến và rộng rãi nhất hiện nay bởi nhiều tính chất ưu việt như khả năng thấm hút nước tốt, thông thoáng, nhẹ, bền, khả năng chịu kiềm và axit yếu tốt. Vải cotton có thể hấp thu 27% nước mà vẫn cho cảm giác thông thoáng đối với người sử dụng nhờ đặc tính ưa nước của các nhóm hydroxyl có trong cấu trúc của cotton [1, 2]. Khả năng thấm hút tốt của vải cotton vừa là ưu điểm cũng là nhược điểm khi ứng dụng trong các lĩnh vực cần có sự chống thấm. Bên cạnh đó, khả năng kháng bẩn của vải cotton không cao nên dễ gây bám bẩn và mùi hôi khi sử dụng. Do vậy, việc phủ lên vải cotton chất chống thấm là một yêu cầu đặc biệt cần thiết trong các ứng dụng cho các sản phẩm quần áo ngoài trời và quần áo bảo vệ [3-7]. Đặc tính chống thấm của vải phụ thuộc vào bề mặt hóa học vải và địa hình bề mặt của vải. Vì vậy, có thể tiến hành sửa đổi bề mặt, làm thay đổi năng lượng bề mặt hoặc tăng độ nhám bề mặt. Các nghiên cứu đã đưa ra một số phương pháp để tạo bề mặt chống thấm cho vải như: phủ hóa học hợp chất không phân cực; phủ vật lý lớp màng mỏng không phân cực; tạo bề mặt gồ ghề ở cấu trúc vi mô [8-10].

Phủ hóa học hợp chất không phân cực là một trong những phương pháp chống thấm áp dụng hiệu quả cho loại vải cotton. Trong phương pháp này, fluorocarbon được sử dụng như là một chất kỵ nước trong quy trình ướt, như nhúng vải vào trong dung dịch sau đó ổn định nhiệt. Các sản phẩm này cho tính chống thấm tốt, tuy nhiên phương pháp này lại dẫn đến vấn đề về xử lý nước thải ra môi trường. Để thay thế cho fluorocarbon, một số nghiên cứu đã sử dụng polysiloxane để phủ lên bề mặt sợi vải [9, 11, 12]. Sự lựa chọn polydimethylsiloxane (PDMS) thay vì các chất phủ hữu cơ khác là do đặc tính ưu việt như chống thấm tốt, mềm dẻo ở nhiệt độ thấp, chống nhiệt và lạnh tốt. Nhóm methyl -CH₃ có tính kỵ nước sắp xếp dọc theo hai bên mạch chính siloxane (-Si-O-) nên làm cho polysiloxane có tính chống thấm nước cao. Ngoài ra, PDMS có cấu trúc phân tử mở, hơi nước nằm kẹt trong chất nền có thể dễ dàng thoát đi [4, 13-17]. Ngoài phương pháp quay phủ và phun phủ PDMS, phương pháp đơn giản và chi phí thấp là nhúng vải vào dung dịch PDMS, sau đó cho vải qua hai trục vắt [11, 17].

Hiện nay, việc sử dụng PDMS làm chất chống thấm cho vải cotton chưa được chú trọng nghiên cứu tại Việt Nam để tạo ra các sản phẩm cotton chống thấm. Vì vậy, mục tiêu

*Tác giả liên hệ: Email: hdpfu@hcmut.edu.vn

The influence of polysiloxane on the mechanical properties and water repellency of cotton fabrics

Vu Viet Linh Nguyen¹, Thi Hang Pham^{2,3},
Dai Phu Huynh^{2,3*}

¹Faculty of Applied Sciences, Ho Chi Minh City University of Technology and Education,
1 Vo Van Ngan Street, Linh Chieu Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Materials Technology, Ho Chi Minh City University of Technology,
Block C4, 268 Ly Thuong Kiet Street, Ward 14, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Vietnam National University - Ho Chi Minh City,
Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 12 August 2022; revised 29 August 2022; accepted 5 September 2022

Abstract:

Cotton fabric is commonly used in the textile industry owing to good ventilation and absorption capacity. However, dirt resistance and water resistance of cotton fabrics are low. Therefore, coating cotton fabrics with water-repellent polysiloxane is a special requirement for outdoor and protective clothing products. The effects of polysiloxane content on the water resistance and mechanical properties of materials were studied. The morphology of coated cotton fabric was characterised by SEM (Scanning electron microscope), and EDX (Energy dispersive X-ray) was used to determine the presence of polysiloxane on the surface of cotton fabric. The effects of polysiloxane content on the water resistance and mechanical properties of materials were studied. Compared with raw cotton fabrics, the tensile strength of the cotton fabrics impregnated with 20%wt polysiloxane solution increased, but the elongation at break was reduced. The hydrostatic pressure (AATCC 127) and water spray test (AATCC 22) results showed that the water repellence of polysiloxane-coated cotton fabrics increased significantly compared to pure cotton fabrics. In addition, the polysiloxane content has no almost effect on the water repellency of the material. Therefore, the appropriate use of polysiloxane can contribute to minimising the cost of the product.

Keywords: cotton fabric, mechanical properties, polysiloxane, water repellency.

Classification number: 2.4

của nghiên cứu này là hướng đến ảnh hưởng của nồng độ polysiloxane tới tính chất chống thấm và tính chất cơ lý của vải cotton.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Hydroxyl terminated polydimethylsiloxane (khối lượng phân tử 4200 g/mol, thành phần siloxane và polysiloxane, dimethyl, hydroxy-terminated), trimethylsilyl chloride (độ tinh khiết 98%) và methyl triacetoxysilane (độ tinh khiết ≥95%) được phân phối bởi Hãng Thermo Fisher Scientific, Mỹ. Dung môi xylene, độ tinh khiết 85%, được cung cấp bởi Hãng Xilong, Trung Quốc. Vải cotton kiểu dệt thoi, mật độ dệt: dọc $P_d=66$ sợi/inch, ngang $P_n=42$ sợi/inch, khối lượng 101 g/m² được cung cấp bởi Công ty Cổ phần dệt Thái Tuấn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phủ polysiloxane lên vải cotton: Công thức phối chế ban đầu của hỗn hợp polysiloxane bao gồm: 100 phần khối lượng PDMS + 3 phần khối lượng trimethylsilyl chloride + 3 phần khối lượng methyl triacetoxysilane, được giữ cố định trong toàn bộ khảo sát. Hỗn hợp polysiloxane được hoà tan với dung môi xylene để tạo thành dung dịch polysiloxane với các tỷ lệ % khối lượng là 10 (PoSi10), 15 (PoSi15) và 20% (PoSi20). Sau khi tiến hành tẩm vải cotton thô với dung dịch polysiloxane trong 2 giờ, vải tẩm được cho qua 2 trục vắt, sau đó mẫu được đóng rắn ở 100°C trong 1 giờ. Tên mẫu vải cotton phủ dung dịch polysiloxane được ký hiệu tương ứng với dung dịch phủ, bao gồm các mẫu vải PoSi10, PoSi15 và PoSi20.

Hàm lượng polysiloxane (%kl PoSi) phủ lên vải cotton được tính toán dựa trên khối lượng vải phủ sau đóng rắn và vải cotton thô (không phủ) theo công thức sau:

$$\%kl \text{ PoSi} = \frac{(m_{\text{vải sau phủ polysiloxane}} - m_{\text{vải cotton thô}})}{m_{\text{vải cotton thô}}} \times 100$$

Hình thái và thành phần nguyên tố: Vải cotton phủ và không phủ polysiloxane được quan sát trên thiết bị kính hiển vi điện tử quét SEM (Jeol JSM-5200, Bazil) và tích hợp EDX. Điện thế sử dụng 15 kV, mẫu được phủ 1 lớp vàng mỏng trước khi phân tích hình thái.

Góc tiếp xúc: Góc tiếp xúc của mẫu vải với nước được xác định bằng thiết bị SEO-Phoenix 300 (Mỹ). Điều kiện môi trường có độ ẩm 55±2%, nhiệt độ 25±2°C.

Bề dày mẫu vải: Vải cotton thô và vải đã phủ polysiloxane được xác định bề dày bằng máy đo Mitutoyo 547-301 (Nhật Bản) với độ chính xác 0,01 mm.

Áp lực thủy tĩnh: Máy kiểm tra áp lực thủy tĩnh được áp dụng để xác định khả năng chống thấm nước của các mẫu vải với sự xâm nhập của nước dưới áp lực. Thí nghiệm được tiến hành theo tiêu chuẩn AATCC 127 trên thiết bị Hydrostatic Head Tester FX 3000 IV của Hãng TEXTTEST (Thụy Sĩ). Kích thước mẫu đo 15x15 cm. Ổn định mẫu thử, tiến hành thí nghiệm ở điều kiện môi trường có độ ẩm $65\pm 2\%$, nhiệt độ $27\pm 2^\circ\text{C}$.

Phun nước: Phương pháp phun nước được dùng để đánh giá độ chống thấm nước của vải và được thực hiện trên máy phun nước Spray rating Tester TF160-TESTEX (Trung Quốc) theo tiêu chuẩn AATCC 22. Mẫu vải có kích thước 17,8x17,8 cm. Nước cất (250 ml) được phun qua vòi phun lên mẫu thử nghiệm, lúc này mẫu vải được đặt cách vòi phun 150 mm với góc nghiêng 45° [14, 16]. Thí nghiệm được thực hiện ở điều kiện độ ẩm $65\pm 2\%$, nhiệt độ $27\pm 2^\circ\text{C}$.

Độ bền kéo đứt của các mẫu vải: Tính chất kéo của vật liệu được đánh giá theo tiêu chuẩn ISO 5081-1977 trên máy Instron 6800 (Mỹ). Tốc độ kéo 20 cm/phút.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đánh giá hình thái và thành phần nguyên tố của các mẫu vải

Kết quả ảnh SEM cho thấy, mẫu vải không phủ có bề mặt sợi vải láng mịn, tuy nhiên các bó sợi vải không được dẹt chặt với nhau tạo nên các lỗ hổng giữa các bó sợi (hình 1A). Sau khi phủ polysiloxane, mẫu PoSi10 có các sợi vải được bao bọc xung quanh một lớp nhựa mỏng, bề mặt vẫn còn láng mịn (hình 1B). Khi tăng nồng độ dung dịch polysiloxane lên 15 và 20% thì lớp nhựa phủ trên bề mặt sợi dày hơn và bề mặt sợi có độ gồ ghề (hình 1C và 1D).

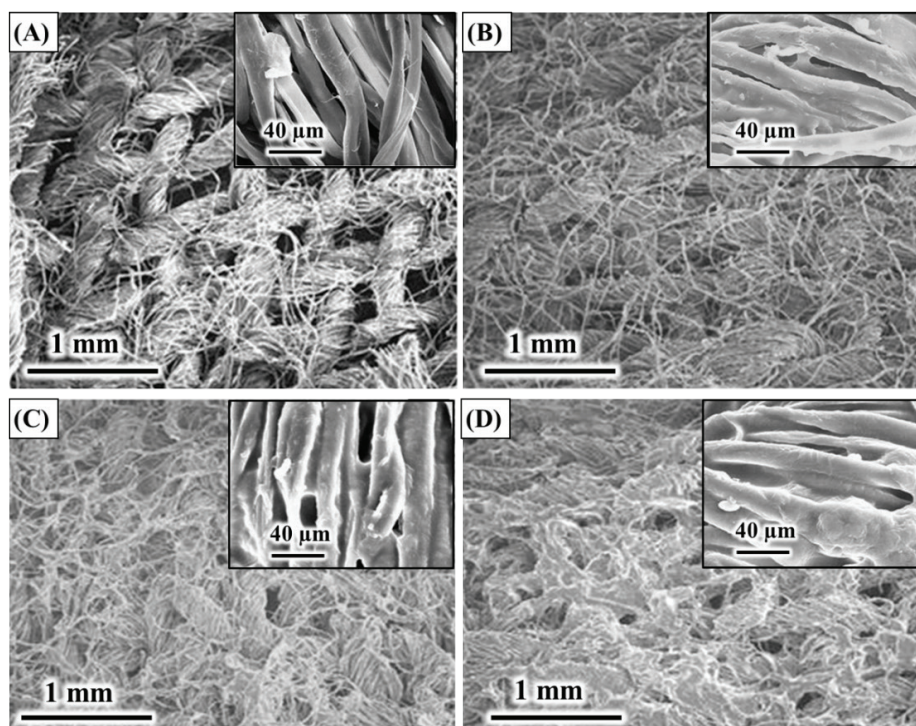
Ngoài ra, khi tăng dần nồng độ phủ polysiloxane thì bề mặt các bó sợi được che phủ càng nhiều, các lỗ trống giữa các bó sợi dần được lấp đầy (hình 1). Vải cotton phủ polysiloxane làm tăng khả năng chống thấm là do các lỗ trống giữa

các bó sợi được phủ bởi lớp polyme, đồng thời từng sợi cotton và bó sợi cũng được bao phủ bởi polysiloxane, nhờ vậy sẽ ngăn cản được sự xâm nhập của nước vào bên trong bó sợi.

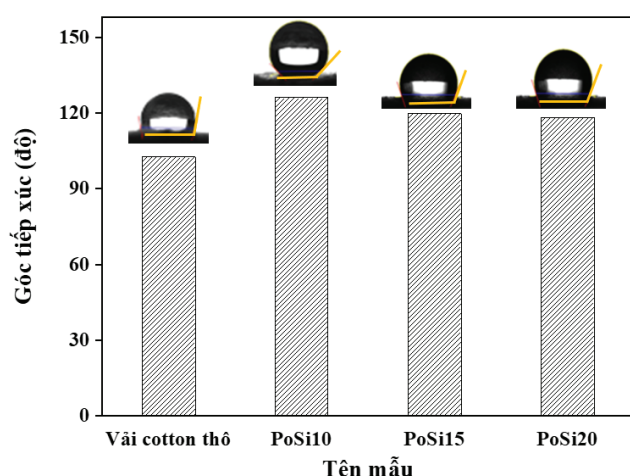
Kết quả phân tích EDX cũng cho thấy có sự hiện diện của nguyên tố Si trên bề mặt sợi vải cotton khi phủ polysiloxane. Nồng độ polysiloxane phủ lên bề mặt vải cotton càng tăng tương ứng với mẫu PoSi10, PoSi15 và PoSi20 thì tỷ lệ Si/C trên bề mặt vải tăng lần lượt là 40/8, 47/8 và 60/8. Như vậy, kết quả SEM và EDX chứng tỏ hiệu quả của việc phủ polysiloxane lên sợi và vải cotton thô bằng phương pháp tẩm.

3.2. Kết quả đo góc tiếp xúc

Hình 2 cho thấy, vải cotton thô có góc tiếp xúc với nước là $101,6^\circ$, khi phủ polysiloxane lên vải thì góc tiếp xúc tăng với mẫu PoSi10 là $126,1^\circ$, PoSi15 là $119,9^\circ$ và PoSi20 là $118,4^\circ$. Phủ polysiloxane làm giảm bớt đặc tính thô ráp của bề mặt vải, đồng thời lấp đầy các khoảng trống giữa các bó sợi, vì vậy mà góc tiếp xúc của mẫu vải phủ PoSi cao hơn vải chưa phủ. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ polysiloxane phủ lên sợi thì góc tiếp xúc của mẫu vải giảm khoảng 5-6%, nguyên nhân là do lớp phủ polysiloxane dày làm bề mặt của sợi cotton và cả tấm vải trở nên gồ ghề hơn (hình 1).



Hình 1. Ảnh SEM của vải cotton thô (A) và các mẫu vải phủ polysiloxane với nồng độ khác nhau: PoSi10 (B), PoSi15 (C) và PoSi20 (D).

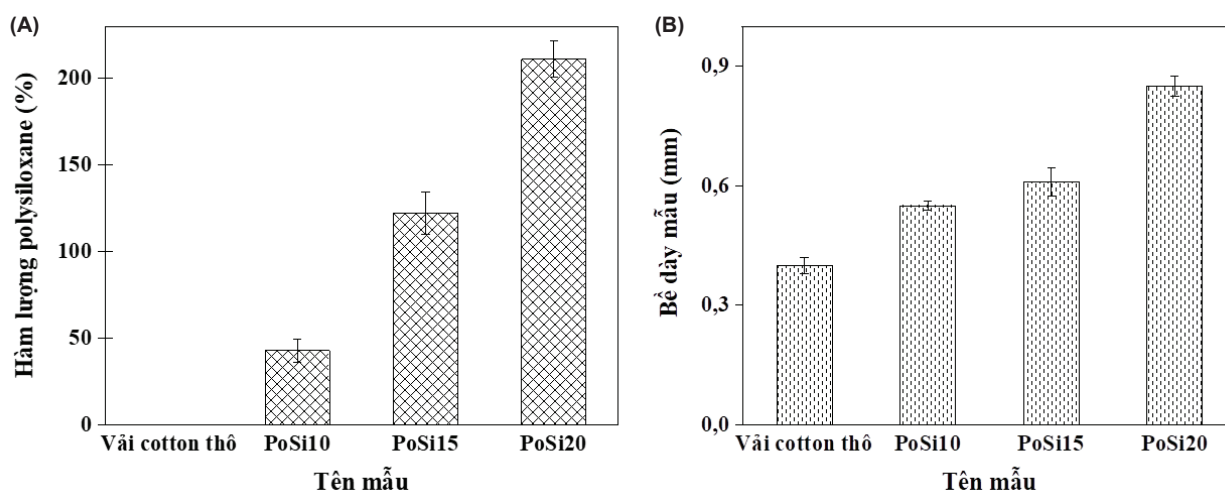


Hình 2. Góc tiếp xúc của vải cotton thô và các mẫu vải phủ polysiloxane.

lượng polysiloxane trên mẫu vải cũng tăng tương ứng 2 lần. Như vậy, vải cotton phủ hàm lượng nhựa càng cao thì lớp phủ càng dày. Chứng tỏ, khi tẩm dung dịch polysiloxane lên vải cotton, nhựa được vải hấp phụ và tạo thành lớp phủ bao bọc quanh sợi và các bó sợi, đồng thời tạo thành lớp phủ mỏng trên bề mặt vải.

3.4. Đánh giá khả năng chống thấm nước

Kết quả thử nghiệm phun nước được thể hiện qua chỉ số đánh giá phun nước (WSR - Water spray test rating) như sau: 0 là mẫu vải bị thấm nước hoàn toàn (cả mặt trên và mặt dưới, thấm ướt toàn bộ mẫu); 50 là mẫu bị thấm ướt hoàn toàn bề mặt trên; 70 là thấm ướt một phần bề mặt trên mẫu; 100: thể hiện mẫu không dính hoặc ướt [14]. Đồ thị áp lực



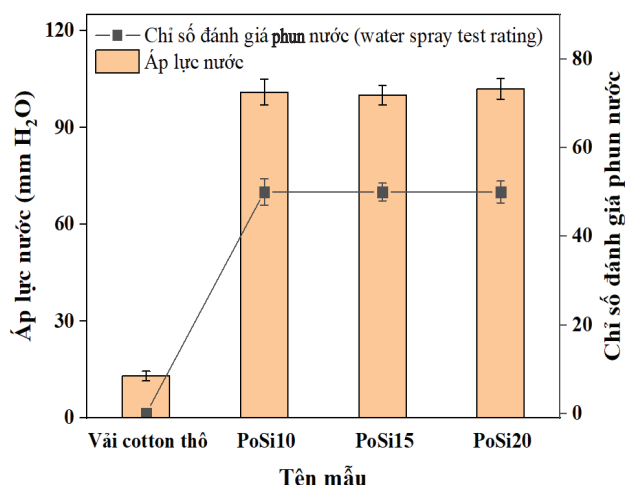
Hình 3. Hàm lượng polysiloxane phủ lên vải cotton (theo % khối lượng) (A) và bề dày (B) của vải cotton thô và các mẫu vải phủ polysiloxane.

3.3. Hàm lượng polysiloxane phủ lên vải cotton

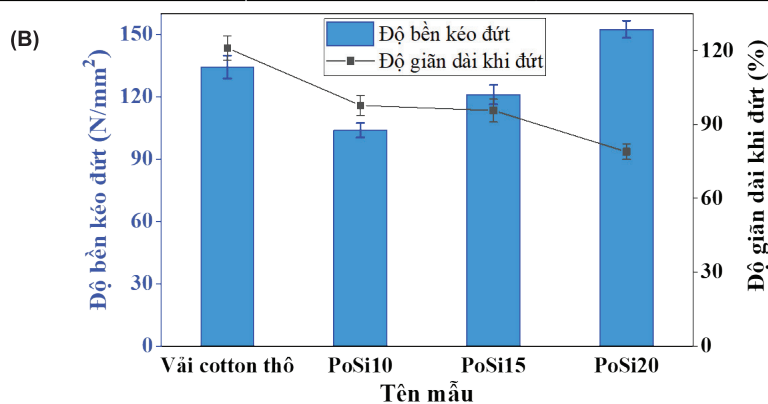
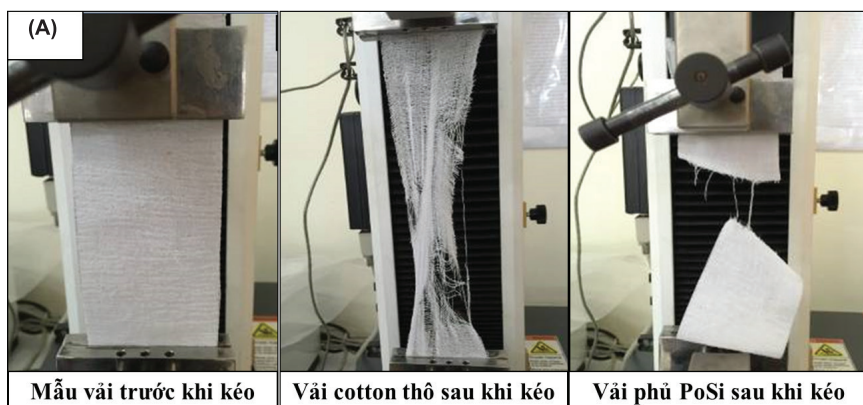
Hàm lượng polysiloxane phủ lên vải cotton tỷ lệ thuận với nồng độ của dung dịch polyme. Nồng độ dung dịch polysiloxane tăng dần từ 10-20% thì hàm lượng nhựa trên sợi càng cao, tương ứng mẫu PoSi10, PoSi15 và PoSi20 lần lượt là 42,86, 122,22 và 211,11 %kl (hình 3A).

Vải cotton không phủ có bề dày là 0,4 mm, vải được tẩm dung dịch polysiloxane 10% thì bề dày mẫu là 0,55 mm, tương ứng lớp phủ chỉ tăng 0,15 mm. Khi tăng nồng độ dung dịch polysiloxane lên 15 và 20% thì bề dày lớp phủ tăng lần lượt là 0,21 và 0,45 mm (hình 3B). Mẫu vải PoSi20 có bề dày tăng xấp xỉ 2 lần so với mẫu vải cotton thô, hàm

nước (áp lực thủy tĩnh) và WSR của vải không phủ (cotton thô) và vải phủ với nồng độ polysiloxane khác nhau cho thấy, vải cotton thô có áp lực thủy tĩnh rất nhỏ (13 mm H₂O) và chỉ số WSR bằng 0, thể hiện khả năng chống thấm nước rất kém, nước có thể thấm từ bề mặt vào trong mẫu hoàn toàn. Khi phủ polysiloxane, khả năng chống thấm nước của vải tăng lên đáng kể thể hiện qua áp lực thủy tĩnh tăng 7,8 lần và chỉ số WSR tăng từ 0 lên 50. Kết quả cũng cho thấy, nồng độ polysiloxane không ảnh hưởng nhiều đến áp lực thủy tĩnh của vải và chỉ số WSR (hình 4). Kết quả này chỉ cho thấy sự gia tăng khả năng chống thấm nước của vải phủ polysiloxane so với vải cotton thô, tuy nhiên vẫn chưa đạt hiệu quả siêu chống thấm.



Hình 4. Đồ thị áp lực nước và chỉ số đánh giá phun nước của vải cotton thô (không phủ) và các mẫu vải phủ polysiloxane.



Hình 5. Hình ảnh thí nghiệm kéo đứt mẫu vải thực tế (A) và đồ thị biểu diễn độ bền kéo đứt, độ giãn dài khi đứt (B) của vải cotton thô và các mẫu vải phủ polysiloxane.

3.5. Đánh giá độ bền kéo

Hình 5 cho thấy, độ bền kéo đứt của vải cotton không phủ là 134,3 N/mm². Khi phủ dung dịch polysiloxane nồng độ 10-15% thì độ bền kéo đứt của mẫu vải giảm, tuy nhiên mẫu PoSi20 thì cơ tính tăng, đạt 152,4 N/mm². Vải cotton

với cấu trúc xốp, bó sợi không được xếp chặt chẽ, khi phủ với nồng độ polysiloxane thấp (10-15%), lớp nhựa mỏng làm xốp sợi vải hơn nên độ bền kéo đứt giảm. Khi nồng độ dung dịch polysiloxane tăng lên 20%, nhựa đóng rắn trên vải nhiều hơn, tạo liên kết giữa các sợi vải với nhau, giúp vải có kết cấu chặt chẽ hơn nên độ bền kéo đứt tăng lên.

Độ giãn dài khi đứt của mẫu vải giảm dần từ 121,1 xuống 78,9% khi tăng nồng độ dung dịch phủ polysiloxane từ 0 lên 20% (hình 5B). Ban đầu vải cotton thô với các lỗ trống phân bố trong cấu trúc tấm vải sẽ giúp các bó sợi sắp xếp và định hướng theo phương của lực kéo, nhờ vậy mà độ giãn dài khi đứt của mẫu cao. Khi phủ polysiloxane, bề mặt vải cứng hơn do nhựa làm đầy các lỗ hổng giữa các bó sợi và liên kết các sợi dọc, ngang với nhau nên độ giãn dài khi đứt càng giảm.

4. Kết luận

Khi vải cotton được phủ một lớp polysiloxane, khả năng chống thấm ướt sẽ tăng đáng kể, thể hiện qua chỉ số đánh giá phun nước (AATCC 22) tăng từ 0 lên 50 và áp lực thủy tĩnh tăng 7,8 lần so với khi chưa phủ. Góc tiếp xúc với nước cũng tăng lên trên 118,4° so với mẫu cotton thô là 101,6°. Độ bền kéo đứt và độ giãn dài khi đứt của vải cotton tẩm dung dịch polysiloxane ở nồng độ thấp (10-15%) kém hơn vải cotton thô. Khi tăng nồng độ dung dịch polysiloxane phủ lên vải cotton 20% (Mẫu PoSi20) thì độ bền cơ lý tăng.

Kết quả nghiên cứu này làm tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo để hoàn thiện quá trình phủ polysiloxane lên vải cotton để chế tạo một loại vải chống thấm có năng suất cao và tính chất tốt đáp ứng nhu cầu của thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K.O. Jang, K. Yeh (1993), "Effects of silicone softeners and silane coupling agents on the performance properties of cotton fabrics", *Textile Research Journal*, **63**(10), pp.557-565, DOI: 10.1177/004051759306301001.
- [2] D.T. Liles (2012), "The fascinating world of silicones", *CoatingsTech*, **9**(4), pp.58-66.
- [3] Q. Gao, Q. Zhu, Y. Guo, et al. (2009), "Formation of highly hydrophobic surfaces on cotton and polyester fabrics using silica sol nanoparticles and nonfluorinated alkylsilane", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **48**(22), pp.9797-9803, DOI: 10.1021/ie9005518.
- [4] A. Hassabo, A. Mohamed (2019), "Review of silicon-based materials for cellulosic fabrics with functional applications", *Journal of Textiles, Coloration and Polymer Science*, **16**(2), pp.139-157, DOI: 10.21608/jtcps.2019.18580.1030.
- [5] J. Wu, Z. Hu, W. Lu, et al. (2020), "Fabricating self-stratifying coating for superhydrophobic cotton textile", *Journal of Applied Polymer Science*, **139**(17), DOI: 10.1002/app.52008.
- [6] T. Makowski (2020), "Hydrophobization of cotton fabric with silanes with different substituents", *Cellulose*, **27**(1), pp.1-9, DOI: 10.1007/s10570-019-02776-4.
- [7] X. Jin, W. Li, S. Wang, et al. (2023), "Developing flame-retardant, antibacterial cotton fabric by incorporating a linear polysiloxane-based coating", *Industrial Crops and Products*, **191**(A), DOI: 10.1016/j.indcrop.2022.115934.
- [8] M.J. Owen, P.R. Dvornic (2012), "Silicone surface science", *Advances in Silicon Science*, **4**, DOI: 10.1007/978-94-007-3876-8_14.
- [9] M. Zahid, G. Mazzon, A. Athanassiou, et al. (2019), "Environmentally benign non-wettable textile treatments: A review of recent state-of-the-art", *Advances in Colloid and Interface Science*, **270**, pp.216-250, DOI: 10.1016/J.CIS.2019.06.001.
- [10] T. Suzuki, A. Kasuya (1989), "Adhesion of addition-reaction type silicone elastomers", *Journal of Adhesion Science and Technology*, **3**(1), pp.463-473, DOI: 10.1163/156856189X00344.
- [11] H. Enawgaw (2023), "A compressive review on different surface finishing of cotton fabrics", *Research Journal of Textile and Apparel*, DOI: 10.1108/RJTA-06-2022-0068.
- [12] M. Yang, Y. Yang, J. Shi, et al. (2023), "Fabrication of eco-friendly flame-retardant and hydrophobic coating for cotton fabric", *Cellulose*, **30**(5), pp.3267-3280, DOI: 10.1007/s10570-023-05051-9.
- [13] C. Dong, Z. Lu, F. Zhang, et al. (2015), "Preparation and properties of cotton fabrics treated with a novel polysiloxane water repellent and flame retardant", *Materials Letters*, **152**, pp.276-279, DOI: 10.1016/j.matlet.2015.03.132.
- [14] H. Liu, Z. Wang, C. Sun (2018), "Robust water-repellent treatment of cotton fabrics with polysiloxane modified via thiol-ene click reaction", *Fibers and Polymers*, **19**(3), pp.580-586, DOI: 10.1007/s12221-018-7948-y.
- [15] Lipika, A.K. Singh (2022), "Polydimethylsiloxane based sustainable hydrophobic/oleophilic coatings for oil/water separation: A review", *Cleaner Materials*, **6**, DOI: 10.1016/J.CLEMA.2022.100136.
- [16] A.M.E. Naggar, M.H. Zohdy, S.S. Mohammed, et al. (2003), "Water resistance and surface morphology of synthetic fabrics covered by polysiloxane/acrylate followed by electron beam irradiation", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, **201**(4), pp.595-603, DOI: 10.1016/S0168-583X(02)02069-4.
- [17] Q. Wang, G. Sun, Q. Tong, et al. (2021), "Fluorine-free superhydrophobic coatings from polydimethylsiloxane for sustainable chemical engineering: Preparation methods and applications", *Chemical Engineering Journal*, **426**, DOI: 10.1016/j.cej.2021.130829.

Nghiên cứu tổng hợp nano kẽm borate và đánh giá khả năng chống cháy của tổ hợp nano kẽm borate/phosphor đỏ/graphite giãn nở trên nền nhựa HDPE

Nguyễn Thị Hạnh^{1,2}, Hắc Thị Nhung^{1,2}, Hoàng Văn Toàn¹, Lê Nhật Thủy Giang^{1,2},
Hoàng Mai Hà^{1,2*}, Nguyễn Văn Tuyền^{1,2*}

¹Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 29/5/2023; ngày chuyển phản biện 31/5/2023; ngày nhận phản biện 22/6/2023; ngày chấp nhận đăng 26/6/2023

Tóm tắt:

Nano kẽm borate (nZB) đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp kết tủa từ muối kẽm sulfate, axit boric và natri hydroxide. Sự ảnh hưởng của pH, nhiệt độ và chất hoạt động bề mặt đến đặc trưng của nZB đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, vật liệu nZB tổng hợp ở pH 7 và 8 là $Zn[B_3O_4(OH)_3]$ đơn pha, kết tinh tốt. Hình dạng hạt nZB chịu ảnh hưởng lớn của nhiệt độ phản ứng và các chất hoạt động bề mặt. Trong khoảng nhiệt độ 70-80°C, nZB có dạng tấm nano với chiều dày khoảng 40-50 nm. Vật liệu nZB phát triển thành các hình que nano ở 90°C và dạng sợi nano ở 100°C. Biện tính nZB với các chất hoạt động bề mặt có xu hướng tạo thành các tấm nano rộng hơn và mỏng hơn. Đặc biệt, khi có mặt Tween 80, sản phẩm thu được là các tấm mỏng hình tròn như những cánh hoa nano. Các hạt nZB hình dạng cánh hoa này thể hiện khả năng tương hỗ chống cháy tốt với phosphor đỏ (RP) và graphite giãn nở nhiệt (EG) trên nền polyethylene tỷ trọng cao (HDPE) đồng thời cải thiện tính chất cơ lý của composite RP/EG/HDPE.

Từ khóa: cánh hoa nano, chất chống cháy, kẽm borate, polyethylene tỷ trọng cao, tấm nano.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.9

1. Đặt vấn đề

Kẽm borate (ZB) là một loại chất độn chống cháy phổ biến trong các vật liệu polyme, cao su và lớp phủ ngoài. Trong số các sản phẩm ZB đã được thương mại hóa, Firebrake®ZB, $2ZnO.3B_2O_3.3H_2O$ hay $Zn[B_3O_4(OH)_3]$ là một trong những vật liệu quan trọng nhất [1]. Ưu điểm của ZB là không sinh ra các chất độc trong quá trình cháy. Tuy nhiên, tương tự các chất chống cháy vô cơ khác, ZB cũng có một số nhược điểm đó là phải sử dụng lượng lớn và tương hợp kém trong nền polymer [2]. Khi thay thế chất độn micro bằng chất độn nano, tỷ lệ diện tích bề mặt/thể tích sẽ tăng lên, tương tác giữa polyme và chất độn được cải thiện, khối lượng chất độn cần sử dụng sẽ giảm đi, từ đó đảm bảo duy trì được các tính chất ban đầu của polymer [3]. So với các vật liệu nano không chiều và một chiều, vật liệu nano hai chiều dạng tấm và dạng cánh hoa thể hiện khả năng chống cháy vượt trội nhờ cấu trúc lớp mỏng, có thể tạo thành một rào cản vật lý ngăn quá trình truyền nhiệt từ ngọn lửa vào nền polyme và quá trình di chuyển của các khí phân hủy dễ cháy từ nền polyme vào ngọn lửa, qua đó bảo vệ nền polyme [4, 5]. Ngoài ra, sự phân tán đồng nhất của vật liệu nano hai chiều trong nền polyme còn giúp cải thiện tính chất cơ học, độ bền nhiệt của composite [6, 7].

Phương pháp phổ biến nhất trong công nghiệp sản xuất ZB là phản ứng giữa kẽm oxit và axit boric [8]. Tuy nhiên, kết tủa từ kẽm oxit thường tạo ra sản phẩm có cỡ hạt to hơn so với kết tủa ZB từ các tiền chất hòa tan. Gần đây, một số nhóm nghiên cứu đã báo cáo các kết quả tổng hợp ZB kích

thước nano với các hình dạng khác nhau. Sợi nano $4ZnO.B_2O_3.H_2O$ được tổng hợp bằng phương pháp kết tủa một giai đoạn trong dung môi nước đi từ borax và kẽm nitrate, với chất biến tính bề mặt là phosphate este [9]. Vật liệu $4ZnO.B_2O_3.H_2O$ cấu trúc nano hoặc micro được tổng hợp bằng phương pháp thủy nhiệt [10]. Nano $2ZnO.3B_2O_3.3.5H_2O$ được điều chế bằng phản ứng giữa natri borate với kẽm clorua và được thử nghiệm chống cháy trong hệ polyolefin/APP/PER [11]. ZB tổng hợp từ kẽm oxit và axit boric đã được thử nghiệm làm chất chống cháy cho polyethylene terephthalate [12].

Hiện nay, HDPE là một trong các loại nhựa nhiệt dẻo được sản xuất và tiêu thụ nhiều nhất trên thế giới do giá thành rẻ, khả năng định dạng và độ bền va đập tốt. Tuy nhiên, HDPE có nhược điểm là dễ bắt cháy nên người ta thường phải độn HDPE với các chất chống cháy để đảm bảo độ an toàn [13, 14]. Trong nghiên cứu này, vật liệu nZB được nghiên cứu tổng hợp nhằm làm chất độn chống cháy cho nanocomposite HDPE. Ảnh hưởng của các điều kiện phản ứng gồm pH, nhiệt độ và chất hoạt động bề mặt đến thành phần cấu trúc và hình thái hạt nZB cũng đã được khảo sát.

2. Nguyên vật liệu và phương pháp thực nghiệm

2.1. Nguyên vật liệu

Axit boric - H_3BO_3 (≥99,5%), kẽm sulfate - $ZnSO_4.7H_2O$ (≥99%), natri hydroxit - NaOH (≥98%), phosphor đỏ - Red phosphorus (RP) (≥97%) có xuất xứ Sigma-Aldrich. Tween 80 - Tw80 (≥99%), sodium lauryl sulfate - SLS (≥96%),

*Tác giả liên hệ: Email: hoangmaiha@ich.vast.vn, ngvntuyen@hotmail.com

Preparation of nano zinc borate and investigation of flame-retardancy of ternary combination nano zinc borate/red phosphorus/expandable graphite on HDPE

Thi Hanh Nguyen^{1,2}, Thi Nhung Hac^{1,2},
Van Toan Hoang¹, Nhat Thuy Giang Le^{1,2},
Mai Ha Hoang^{1,2*}, Van Tuyen Nguyen^{1,2*}

¹Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam
²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 29 May 2023; revised 22 June 2023; accepted 26 June 2023

Abstract:

Nano zinc borates were successfully synthesised from aqueous solutions of zinc sulfate, boric acid, and sodium hydroxide via the precipitation method. The effects of pH, temperature, and surfactants on the structure and morphologies of nano zinc borates were investigated. The nano zinc borates obtained at the pH of 7 to 8 were well-crystallised monophase $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$. The morphologies of nano zinc borates were highly impacted by the reaction temperature and the surfactants. At the range of temperatures from 70 to 80°C, the nano zinc borates were nanoplates of 40-50 nm in thickness. The nano zinc borates grew out of the surface to form nanorods at 90°C and nanowhiskers at 100°C. The nano zinc borates modified with surfactants tended to form larger and thinner plate-like nanoparticles. In the presence of Tween 80, petal-like nano zinc borates were achieved. The petal-like nano zinc borates showed good flame retardant synergistic effects with red phosphorus and expandable graphite on high-density polyethylene matrix. Additionally, the nano zinc borates nanopetals significantly improved the mechanical properties of red phosphorus/expandable graphite/high-density polyethylene composites.

Keywords: flame retardant, high-density polyethylene, nanopetals, nanoplates, zinc borate.

Classification numbers: 2.4, 2.9

polyetylen glycol - PEG ($\geq 99\%$) và axit oleic - OA ($\geq 99\%$) xuất xứ Xilong. EG kích thước 100 mesh, tỷ lệ giãn nở 280 ml/g là hàng thương phẩm Trung Quốc. Hạt nhựa nguyên sinh HDPE 6100 (Hàn Quốc) có tỷ trọng 0,952 g/cm³, chỉ số nóng chảy 0,052 g/10 phút.

2.2. Tổng hợp nZB

Hòa tan riêng rẽ muối $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, axit H_3BO_3 và NaOH trong nước cất để tạo thành các dung dịch gốc tương ứng có nồng độ là ZnSO_4 2,0 M, H_3BO_3 1,0 M và NaOH 1,0 M. Cho 60 ml dung dịch axit H_3BO_3 1,0 M vào bình cầu ba cổ dung tích 250 ml. Thêm từ từ NaOH 1,0 M để điều chỉnh pH của dung dịch H_3BO_3 đến các giá trị cần khảo sát. Gia nhiệt, nhỏ giọt từ từ 5,0 ml dung dịch ZnSO_4 2,0 M vào hỗn hợp $\text{H}_3\text{BO}_3/\text{NaOH}$, khuấy hỗn hợp phản ứng với tốc độ 500 vòng/phút. Sau khi kết thúc nhỏ giọt ZnSO_4 , tiếp tục duy trì gia nhiệt và khuấy thêm khoảng 3 giờ. Sau đó, ly tâm lấy kết tủa và rửa kết tủa nhiều lần bằng nước cất để loại bỏ các chất phản ứng dư. Sản phẩm sau khi sấy khô ở nhiệt độ 105°C được nghiền mịn để xác định các đặc trưng và dùng để phối trộn các composite chống cháy.

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp nZB như sau: i) Ảnh hưởng của pH: Phản ứng tổng hợp nZB được khảo sát tại các giá trị pH 6, 7, 8 và 9 tại nhiệt độ 80°C, không có chất hoạt động bề mặt; ii) Ảnh hưởng của nhiệt độ: Các thí nghiệm được tiến hành ở pH 7 tại các nhiệt độ 70, 80, 90 và 100°C; iii) Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt gồm OA, PEG, SLS và Tw80 được khảo sát tại nhiệt độ 80°C và pH 7. Các chất hoạt động bề mặt được thêm vào dung dịch axit H_3BO_3 với tỷ lệ 3% khối lượng.

2.3. Chế tạo nanocomposite chống cháy nZB/RP/EG/HDPE

Các mẫu HDPE chống cháy với tỷ lệ chất độn khác nhau được chế tạo bằng phương pháp trộn hỗn hợp nóng chảy trên hệ thiết bị trộn Haake (Mỹ). Hạt nhựa HDPE và các nguyên liệu được sấy khô trước khi sử dụng. Tổng hàm lượng chất độn được cố định ở 22%, trong đó EG chiếm 6%, tỷ lệ nZB/RP được thay đổi để xác định hàm lượng nZB tối ưu. Thời gian trộn là 8 phút ở nhiệt độ 175°C với tốc độ quay 50 vòng/phút. Sau đó, hỗn hợp nhựa được ép nóng ở 200°C trong 4 phút với lực ép khoảng 10-12 MPa để tạo thành các tấm composite có độ dày 3 mm. Mẫu được để ổn định ít nhất 24 giờ trước khi đánh giá đặc tính của vật liệu.

2.4. Đặc trưng vật liệu nZB và đánh giá đặc tính của composite nZB/RP/EG/HDPE

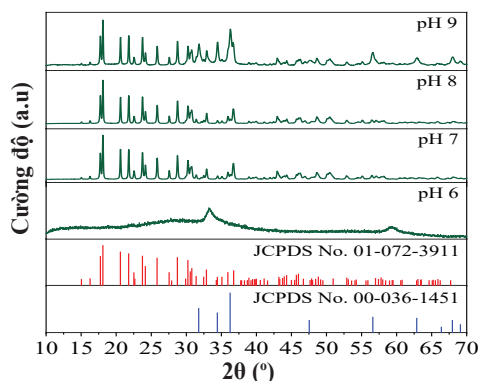
Vật liệu nZB được đặc trưng bằng các phương pháp hiển vi điện tử quét (FE-SEM, S-4800 - Hitachi), nhiễu xạ tia X (XRD, D8 ADVANCE - Brucker), phổ hấp thụ hồng ngoại (FT-IR, Spectrum Two - Perkin Elmer), phân tích nhiệt trọng lượng và nhiệt vi sai (TGA và DTA, Labsys Evo 1600 - Setaram).

Thử nghiệm cháy đứng UL94-V được thực hiện theo ASTM D 3801-96 trên thiết bị GT-MC35F-2 (Gester, Trung Quốc). Chỉ số ôxy tới hạn (LOI) được xác định theo ASTM D2863 trên máy Yasuda No.214 (Nhật Bản). Tính chất bền kéo của các composite được xác định theo ISO 527 với tốc độ kéo 50 mm/phút trên máy Gotech Testing Machine (Đài Loan, Trung Quốc). Độ bền va đập Izod không khía được thực hiện trên thiết bị TestResources (Mỹ) theo ASTM D4812.

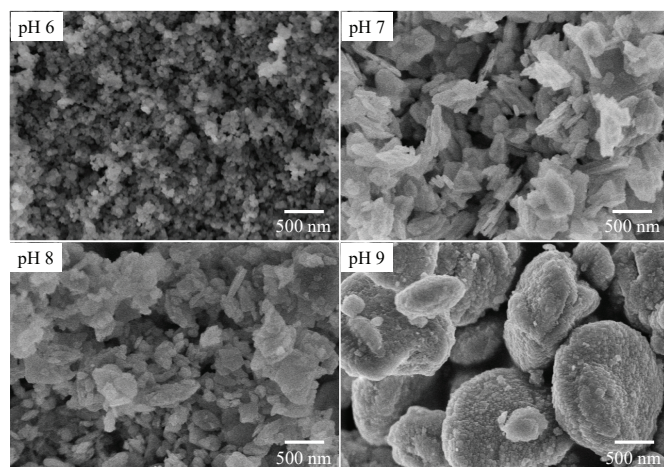
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của pH đến vật liệu nZB

Kết quả đo XRD của các mẫu nZB tổng hợp ở nhiệt độ 80°C tại các pH khác nhau được trình bày ở hình 1. Tại pH 6, vật liệu có cấu trúc hầu như vô định hình, không xác định được thành phần pha hóa học. Giản đồ XRD của các mẫu thu được ở pH 7 và 8 phù hợp với thẻ JCPDS 01-072-3911 của $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ hay $2\text{ZnO} \cdot 3\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Các vạch nhiễu xạ hẹp và có cường độ mạnh chứng tỏ sản phẩm có độ tinh thể cao. Trên giản đồ XRD của mẫu tổng hợp ở pH 9, ngoài thành phần pha chủ yếu là $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ còn xuất hiện các vạch nhiễu xạ đặc trưng cho tinh thể ZnO (JCPDS 00-036-1451).



Hình 1. Giản đồ XRD của vật liệu nZB tại các pH khác nhau.

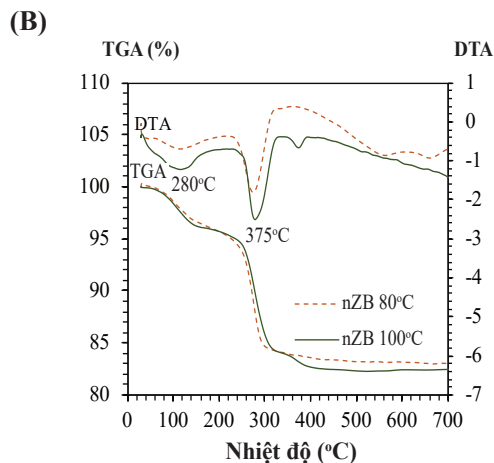
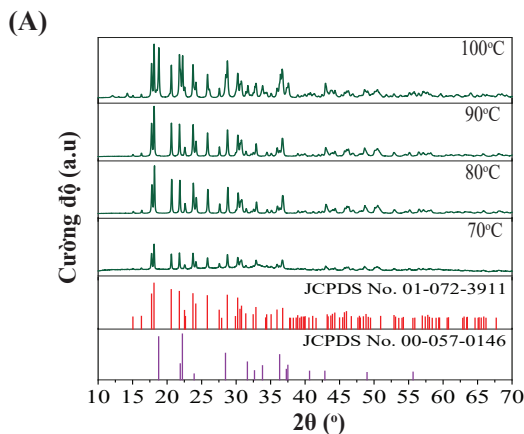


Hình 2. Ảnh SEM của nZB tại các pH khác nhau.

Kết quả đo SEM trên hình 2 cho thấy, ảnh hưởng của pH đến hình dạng hạt. Ở pH 6, sản phẩm là các hạt gần giống hình cầu kích thước khá đồng đều, đường kính trung bình khoảng 40-70 nm. Các hạt cầu kết tụ với nhau thành các khối bông có kích thước khoảng 200-400 nm tạo thành cấu trúc xốp. Ở pH 7 và 8, hạt nZB có dạng tấm mỏng, độ dày khoảng 40-50 nm, độ rộng khoảng 200-500 nm. Tại pH 9, các hạt nZB là các khối chắc đặc giống hình cầu dẹt, bề mặt gồ ghề. Các hạt nano có xu hướng kết tụ lại với nhau ở cả 4 giá trị pH và sự kết tụ diễn ra mạnh nhất tại pH 9. Giá trị pH 7 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến vật liệu nZB

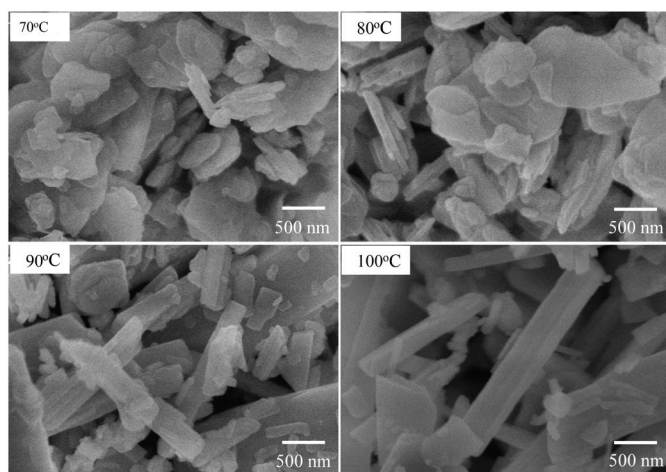
Hình 3A là kết quả đo XRD của các mẫu nZB kết tủa tại các nhiệt độ khác nhau. Ở các nhiệt độ 70-90°C, các mẫu vật liệu thu được đều có thành phần pha là $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$. Mẫu tổng hợp ở 70°C có độ tinh thể kém hơn các mẫu ở 80 và 90°C. Với mẫu nZB tổng hợp ở nhiệt độ 100°C, ngoài thành phần pha chủ yếu là $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ còn xuất hiện một pha ZB khác là $4\text{ZnO} \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ứng với thẻ JCPDS 00-057-0146. Nói cách khác, mẫu nZB tổng hợp ở 100°C không đơn pha.



Hình 3. Giản đồ XRD (A) và giản đồ TGA-DTA (B) của nZB tại nhiệt độ khác nhau.

Giản đồ TG của nZB tổng hợp tại các nhiệt độ 80 và 100°C trên hình 3B cho thấy, từ 80-180°C, cả 2 mẫu đều có sự giảm khoảng 4% khối lượng ứng với sự bay hơi ẩm. Từ 180-500°C, mẫu tổng hợp tại 80°C có một bước giảm khối lượng khoảng 12,9% trên đường TG, tương ứng với một đỉnh thu nhiệt tại 280°C trên đường DTA. Sự giảm khối lượng này được gán cho sự phân hủy nhiệt của $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$. Với mẫu nZB điều chế tại 100°C, tổng phần trăm giảm khối lượng trong khoảng 180-500°C là 13,7% và chia thành 2 bước. Một bước giảm 11,9% trong khoảng 180-330°C và một bước giảm 1,8% trong khoảng 330-500°C. Tương ứng, trên đường DTA có 2 đỉnh thu nhiệt tại 280 và 375°C lần lượt được gán cho sự phân hủy nhiệt của $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ và $4\text{ZnO} \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Ảnh SEM nghiên cứu sự ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đến hình dạng hạt được trình bày ở hình 4. Ở nhiệt độ 70-80°C, vật liệu nZB thu được là các tấm nano có bề mặt là những hình đa giác rộng từ vài chục đến vài trăm nanomet và độ dày khá đồng đều, trung bình 40-50 nm. Khi thực hiện phản ứng ở 90°C, các tinh thể có xu hướng phát triển thành hình que, rộng khoảng 50-70 nm, chiều dài khoảng 300-500 nm và có thể đạt tới 1-1,2 μm , tỷ lệ dài/rộng dao động 6-20 lần. Khi phản ứng ở 100°C, tinh thể hình que phát triển càng rõ rệt, chiều rộng khoảng 70-170 nm, chiều dài cực đại đạt xấp xỉ 6,8 μm , tỷ lệ dài/rộng cực đại đo được xấp xỉ 40 lần. Điều này có thể giải thích là do khi tăng nhiệt độ phản ứng, sự phát triển tinh thể theo trục c thuận lợi hơn trong khi kích thước theo trục a và b tăng không đáng kể. Kết quả thực nghiệm cho thấy, nhiệt độ 80°C phù hợp để tạo ra $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ đơn pha, cấu trúc tấm nano và có độ tinh thể cao.



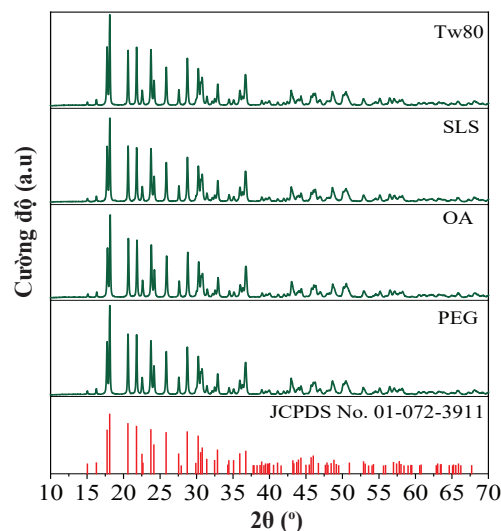
Hình 4. Ảnh SEM của các mẫu nZB tổng hợp tại các nhiệt độ khác nhau.

3.3. Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt đến vật liệu nZB

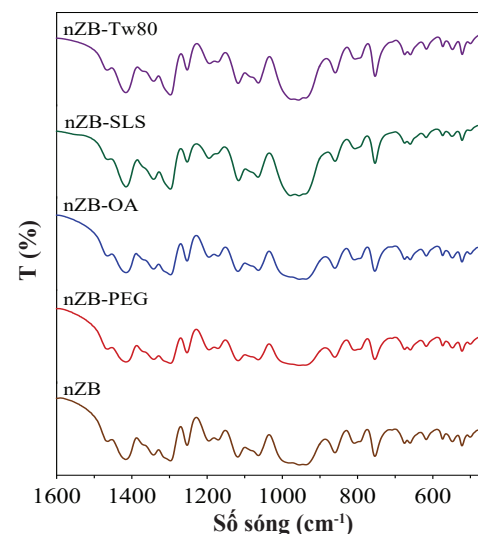
Các giản đồ XRD của các mẫu nZB biến tính với các chất hoạt động bề mặt khác nhau (hình 5A) đều phù hợp với thẻ JCPDS 01-072-3911 của $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$. Độ sắc

nhon của các đỉnh nhiễu xạ không thay đổi đáng kể so với mẫu nZB không sử dụng chất hoạt động bề mặt. Như vậy, OA, PEG, SLS và Tw80 không làm thay đổi thành phần pha cũng như độ kết tinh của nZB.

(A)



(B)

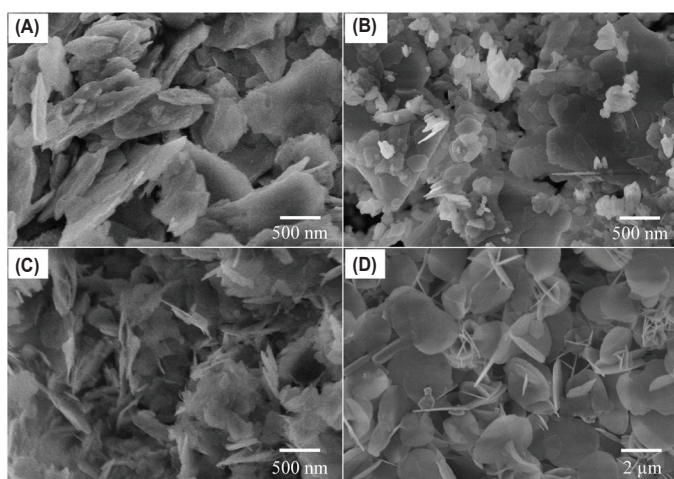


Hình 5. Giản đồ XRD (A) và phổ FT-IR (B) của các mẫu nZB với các chất hoạt động bề mặt khác nhau.

Phổ FT-IR của các mẫu nZB tổng hợp với các chất hoạt động bề mặt khác nhau (hình 5B) đều cho thấy các đỉnh hấp thụ đặc trưng cho các dao động của borate. Cụ thể, dao động $\gamma(\text{B}_{(3)}-\text{O})$ tại số sóng khoảng 660 cm^{-1} , $\nu_s(\text{B}_{(4)}-\text{O})$ tại 860 và 808 cm^{-1} , $\nu_{as}(\text{B}_{(4)}-\text{O})$ tại 1064 cm^{-1} , $\nu_s(\text{B}_{(3)}-\text{O})$ tại 938 cm^{-1} , $\nu_{as}(\text{B}_{(3)}-\text{O})$ tại 1416 và 1253 cm^{-1} , $\delta(\text{B}-\text{O}-\text{H})$ tại 1195 và 1064 cm^{-1} và $\nu_p(\text{B}(\text{OH})_4)^-$ tại 754 cm^{-1} .

Kết quả SEM đánh giá ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt đến hình thái hạt nZB được trình bày trong hình 6. Khi có OA, PEG hoặc SLS, các tấm nZB thu được có chiều hướng mỏng và rộng hơn. Cụ thể là với OA, các tấm nano

có độ dày khoảng 40 nm, rộng 400 nm - 1 μ m. Các tấm nZB biến tính với PEG hoặc SLS có độ dày giảm hơn một chút, trung bình 25-40 nm. Với Tw80, sự tăng độ rộng và giảm độ dày càng rõ rệt. Mẫu nZB-Tw80 có hình dạng như các “cánh hoa” hình tròn khá đồng nhất, đường kính 1,5-2,5 μ m, bề mặt và rìa “cánh hoa” khá mịn, độ dày khoảng 20 nm. Như vậy, các chất hoạt động bề mặt sử dụng trong nghiên cứu này không ảnh hưởng nhiều đến cấu trúc, thành phần hóa học nhưng có dẫn đến sự thay đổi rõ rệt về hình dạng hạt nZB. Do có cấu trúc tấm nano mỏng và rộng, có thể tạo hiệu ứng không gian, hạn chế sự tiếp xúc của polyme với không khí trong quá trình cháy, mẫu nZB-Tw80 được dùng để thử nghiệm khả năng phối hợp chống cháy trên nhựa HDPE.



Hình 6. Ảnh SEM của các mẫu nZB biến tính với các chất hoạt động bề mặt: (A) nZB-OA, (B) nZB-PEG, (C) nZB-SLS, (D) nZB-Tw80.

3.4. Khả năng chống cháy của tổ hợp vật liệu nZB/RP/EG/HDPE

Tỷ lệ phối trộn HDPE với các phụ gia và đặc tính chống cháy của các composite được trình bày ở bảng 1. Với sự có mặt của tổ hợp RP/EG theo tỷ lệ 16/6 (HDPE1), khả năng chống cháy của nhựa HDPE được cải thiện đáng kể. Chỉ số LOI tăng từ 17,2% trên mẫu HDPE lên đến 25,9% trên mẫu HDPE1. Kết quả kiểm tra UL94-V cho thấy, mẫu HDPE1 đạt mức chống cháy V-0 với thời gian cháy sau đốt lần 1 (t_1) và 2 (t_2) lần lượt là 0,9 và 2,3 s, hiện tượng nhỏ giọt không còn. Khi thay thế RP bằng nZB 2-6% đồng thời cố định tổng hàm lượng phụ gia là 22% và tỷ lệ EG là 6%, các composite thể hiện khả năng chống cháy tăng dần. Tuy nhiên, khi tăng nZB lên 10% (mẫu HDPE5), khả năng chống cháy của composite giảm đáng kể, LOI còn 24,1% và mẫu không đạt chuẩn UL94-V. Như vậy, để composite HDPE đạt mức chống cháy tối ưu, hàm lượng nZB thích hợp là không quá 6%.

Bảng 1. Kết quả chống cháy của các tổ hợp nZB/RP/EG trên nền nhựa HDPE.

Mẫu	Tỷ lệ khối lượng nZB/RP/EG/HDPE	Đánh giá theo UL94-V	Thời gian cháy (s)	Nhỏ giọt	LOI (%)
HDPE	0/0/0/100	Không đạt	Mẫu cháy tới kẹp	Có	17,2
HDPE1	0/16/6/78	V-0	$t_1=0,9$, $t_2=2,3$	Không	25,9
HDPE2	2/14/6/78	V-0	$t_1=0,8$, $t_2=1,9$	Không	26,0
HDPE3	4/12/6/78	V-0	$t_1=1,0$, $t_2=1,5$	Không	26,3
HDPE4	6/10/6/78	V-0	$t_1=0,7$, $t_2=1,3$	Không	26,8
HDPE5	10/6/6/78	Không đạt	$t_1=1,2$, $t_2=32,3$	Không	24,1

Sự gia tăng hiệu quả chống cháy khi kết hợp nZB, RP và EG trong nền HDPE có thể giải thích do tác dụng hiệp đồng giữa các phụ gia này. Hiệu quả chống cháy của RP chủ yếu đạt được trong pha ngưng tụ. Oxit P_2O_5 sinh ra từ phản ứng oxy hóa RP có thể hấp thụ hơi nước để tạo thành axit phosphoric hoặc polyphosphoric lỏng nhớt, đóng vai trò như một lớp màng bảo vệ, bao phủ bề mặt vật cháy, ngăn cản sự tiếp tục cháy của vật liệu. Ngoài ra, RP cũng làm giảm lượng nhiệt giải phóng ở pha khí theo cơ chế bẫy gốc tự do [15]. Trong khi đó, cơ chế chống cháy của $Zn[B_3O_4(OH)_3]$ gồm sự pha loãng nồng độ oxy tại pha khí do hơi nước được giải phóng và sự tạo thành lớp màng B_2O_3 giống thủy tinh bao phủ lớp muội than tại pha ngưng tụ [2]. Khi hỗn hợp chống cháy có đồng thời EG, nZB và RP, hơi nước giải phóng từ borate thúc đẩy quá trình chuyển hóa oxit P_2O_5 thành lớp màng axit. Hơn nữa, các sản phẩm phân hủy của nZB và RP có thể kết hợp với nhau, hình thành hợp chất kẽm phosphate bền nhiệt, giúp gia cường lớp muội than trương phồng sinh ra từ EG [16], từ đó giảm hiện tượng nhỏ giọt và làm chậm quá trình phân hủy của polyme. Tuy nhiên, khi tăng hàm lượng nZB đồng thời giảm hàm lượng RP đến một mức nhất định, lượng oxit P_2O_5 sẽ bị thiếu hụt, làm giảm sự hình thành màng axit phosphoric và kẽm phosphate trong pha ngưng tụ, và làm suy yếu phản ứng bẫy gốc tự do trong pha khí. Khi đó, khả năng chống cháy của hỗn hợp nZB và RP bắt đầu giảm sút như quan sát được trên mẫu HDPE5.

3.5. Cơ tính của composite HDPE

Kết quả phân tích cơ tính của các composite nZB/RP/6EG/78HDPE được trình bày ở bảng 2. Có thể thấy rằng, cơ tính của composite được cải thiện khi thay 2% khối lượng RP bằng nZB. Các thông số độ bền kéo, độ giãn dài khi đứt và độ bền va đập của composite HDPE2 chứa 2% nZB tăng tương ứng là 11,5, 9,2 và 3,6% so với mẫu HDPE1 không chứa nZB. Cơ tính của các composite tăng dần khi hàm lượng nZB thay thế cho RP tăng 2-10%. Khi tỷ lệ nZB là 10%, độ bền kéo, độ giãn dài và độ bền va đập tăng lần lượt là 15,2, 22,1 và 24,3% so với không có nZB.

Bảng 2. Kết quả đo cơ tính của composite HDPE.

Mẫu	Hàm lượng nZB (%)	Độ bền kéo (MPa)	Độ giãn dài khi đứt (%)	Độ bền va đập (kJ/m ²)
HDPE1	0	19,15	154,78	21,82
HDPE2	2	21,35	168,95	22,61
HDPE3	4	21,38	177,71	22,89
HDPE4	6	21,46	180,14	23,94
HDPE5	10	22,06	188,94	27,12

Xu hướng tăng cơ tính của composite HDPE khi hàm lượng nZB thay thế cho RP tăng có thể giải thích do hạt nZB có kích thước nhỏ, ít gây ra khiếm khuyết cho mạng polyme hơn so với RP. Ngoài ra, với diện tích bề mặt riêng và năng lượng bề mặt lớn, lực tương tác giữa các hạt chất độn với phân tử polyme trong composite mạnh lên, làm tăng độ bền cơ học của vật liệu [17]. Tuy nhiên, kết quả thử nghiệm chống cháy cho thấy, hiệu quả chống cháy của mẫu nanocomposite HDPE giảm đi khi hàm lượng nZB thay thế cho RP đạt 10% khối lượng. Do đó, xét một cách tổng thể, composite 6nZB/10RP/6EG/78HDPE đạt hiệu quả chống cháy và tính chất cơ lý tốt nhất.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, vật liệu nZB đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp kết tủa từ muối ZnSO_4 và axit H_3BO_3 , chất điều chỉnh pH là NaOH. Có thể thay đổi thành phần pha và hình dạng hạt nZB bằng cách kiểm soát các thông số phản ứng gồm pH, nhiệt độ và chất hoạt động bề mặt. Các chất hoạt động bề mặt có xu hướng tạo thuận lợi cho sự mở rộng của các tấm nZB, làm tăng tỷ lệ độ rộng/độ dày của các tấm nano. Vật liệu $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ đơn pha, hình “cánh hoa” nano được tạo thành tại pH 7, nhiệt độ 80°C với sự có mặt của Tw80 tỷ lệ 3%.

Vật liệu $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ dạng “cánh hoa” nano thể hiện hiệu quả chống cháy hiệp đồng với RP và EG trên nền nhựa HDPE. Nanocomposite nZB/RP/6EG/78HDPE đạt hiệu quả chống cháy tốt nhất với giá trị LOI đạt 26,8% và mức chống cháy UL94 V-0 ở tỷ lệ khối lượng nZB là 6%. Bên cạnh đó, “cánh hoa” nano $\text{Zn}[\text{B}_3\text{O}_4(\text{OH})_3]$ còn cải thiện hiệu quả các tính chất cơ học của hệ composite RP/6EG/78HDPE. Các giá trị độ bền kéo, độ giãn dài khi đứt và độ bền va đập của 6nZB/10RP/6EG/78HDPE đạt lần lượt là 21,46 MPa, 180,14% và 23,94 kJ/m², tăng đáng kể so với composite RP/6EG/78HDPE không chứa nZB.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam theo đề tài mã số TĐPCCC.03/21-23. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] D.M. Schubert, F. Alam, M.Z. Visi, et al. (2003), “Structural characterization and chemistry of the industrially important zinc borate”, *Chem. Mater.*, **15**, pp.866-871, DOI: 10.1021/cm020791z.

[2] K.K. Shen (2014), “Review of recent advances on the use of boron-based flame retardants”, *Polymer Green Flame Retardants*, **11**, pp.367-388, DOI: 10.1016/B978-0-444-53808-6.00011-1.

[3] W. He, P. Song, B. Yu, et al. (2020), “Flame retardant polymeric nanocomposites through the combination of nanomaterials and conventional flame retardants”, *Prog. Mater. Sci.*, **114**, DOI: 10.1016/j.pmatsci.2020.100687.

[4] K. Zhou, S. Jiang, Y. Shi, et al. (2014), “Multigram-scale fabrication of organic modified MoS_2 nanosheets dispersed in polystyrene with improved thermal stability, fire resistance, and smoke suppression properties”, *RCS Adv.*, **4(76)**, pp.40170-40180, DOI: 10.1039/C4RA02347A.

[5] W. Wang, H. Pan, Y. Shi, et al. (2016), “Fabrication of LDH nanosheets on β -FeOOH rods and applications for improving the fire safety of epoxy resin”, *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, **80**, pp.259-269, DOI: 10.1016/j.compositesa.2015.10.031.

[6] W. Cai, D. Zhang, B. Wang, et al. (2018), “Scalable one-step synthesis of hydroxylated boron nitride nanosheets for obtaining multifunctional polyvinyl alcohol nanocomposite films: Multi-azimuth properties improvement”, *Compos. Sci. Technol.*, **168**, pp.74-80, DOI: 10.1016/j.compscitech.2018.09.004.

[7] P.K. Kaul, A.J. Samson, G.T. Selvan, et al. (2017), “Synergistic effect of LDH in the presence of organophosphate on thermal and flammable properties of an epoxy nanocomposite”, *Appl. Clay Sci.*, **135**, pp.234-243, DOI: 10.1016/j.clay.2016.09.031.

[8] D.M. Schubert (2019), “Hydrated zinc borates and their industrial use”, *Molecules*, **24(13)**, DOI: 10.3390/molecules24132419.

[9] Y. Zheng, Y. Tian, H. Ma, et al. (2009), “Synthesis and performance study of zinc borate nanowhiskers”, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, **339(1-3)**, pp.178-184, DOI: 10.1016/j.colsurfa.2009.02.018.

[10] X. Shi, L. Yuan, X. Sun, et al. (2008), “Controllable synthesis of $4\text{ZnO} \cdot \text{B}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ nano-/microstructures with different morphologies: Influence of hydrothermal reaction parameters and formation mechanism”, *J. Phys. Chem. C*, **112(10)**, pp.3558-3567, DOI: 10.1021/jp7103962.

[11] Z. Wu, Y. Hu, W. Shu (2009), “Influence of ultrafine zinc borate on the thermal degradation behavior of a (low-density polyethylene)/ (intumescent flame retardant) system”, *J. Vinyl Addit. Technol.*, **15(4)**, pp.260-265, DOI: 10.1002/vnl.20215.

[12] B. Baltaci, G.Ö. Çakal, G. Bayram, et al. (2013), “Surfactant modified zinc borate synthesis and its effect on the properties of PET”, *Powder Technol.*, **244**, pp.38-44, DOI: 10.1016/j.powtec.2013.04.006.

[13] Y. Song, L. Xu, F. Ye, et al. (2022), “Preparation of flame-retardant HDPE composites with synergistic strategy by the combination of phosphorus-containing modifier and magnesium oxychloride cement”, *Polym. Degrad. Stab.*, **203**, DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2022.110058.

[14] G. Sanchez-Olivares, A. Sanchez-Solis, F. Calderas, et al. (2013), “Flame retardant high density polyethylene optimized by on-line ultrasound extrusion”, *Polym. Degrad. Stab.*, **98(11)**, pp.2153-2160, DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2013.09.001.

[15] U. Braun, B. Schartel (2004), “Flame retardant mechanisms of red phosphorus and magnesium hydroxide in high impact polystyrene”, *Macromol. Chem. Phys.*, **205(16)**, pp.2185-2196, DOI: 10.1002/macp.200400255.

[16] M. Thirumal, D. Khastgir, N.K. Singha, et al. (2008), “Effect of expandable graphite on the properties of intumescent flame-retardant polyurethane foam”, *J. Appl. Polym. Sci.*, **110(5)**, pp.2586-2594, DOI: 10.1002/app.28763.

[17] J. Gao, Y. Wu, J. Li, et al. (2022), “A review of the recent developments in flame-retardant nylon composites”, *Compos. Part C Open Access*, **9**, DOI: 10.1016/j.jcomc.2022.100297.

Tính chất quang của vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} chế tạo bằng phương pháp phản ứng pha rắn

Chu Việt Hà¹, Chu Thị Anh Xuân², Lô Thị Huệ², Bùi Minh Quý², Khiếu Thị Tâm²,
Nguyễn Phương Thảo³, Hồ Kim Dân^{4,5}, Lê Tiến Hà^{2*}

¹Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên, 20 Lương Ngọc Quyến, phường Quang Trung, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên, phường Tân Thịnh, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

³Khoa Hoá học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, đường Nguyễn Văn Linh, phường Xuân Hòa, TP Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc, Việt Nam

⁴Viện Tiên tiến Khoa học và Công nghệ, Trường Đại học Văn Lang, 69/68 Đặng Thùy Trâm, phường 13, quận Bình Thạnh, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁵Khoa Công nghệ Ứng dụng, Trường Đại học Văn Lang, 69/68 Đặng Thùy Trâm, phường 13, quận Bình Thạnh, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/10/2023; ngày chuyển phản biện 13/10/2023; ngày nhận phản biện 6/11/2023; ngày chấp nhận đăng 9/11/2023

Tóm tắt

Bột huỳnh quang Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} đã được tổng hợp bằng phương pháp phản ứng xảy ra ở pha rắn với nhiệt độ nung thiêu kết ở 1200°C trong không khí với nồng độ pha tạp 1-6%. Vật liệu thu được có cấu trúc perovskite thuộc nhóm không gian I4/mmm và nồng độ pha tạp ion Eu^{3+} không làm thay đổi cấu trúc của vật liệu. Nhóm không gian đặc trưng này của vật liệu cũng được khảo sát thông qua phổ tán xạ Raman với các đỉnh đặc trưng ở các vị trí 145, 240, 448 và 699 cm^{-1} , tương ứng các mode dao động với các trạng thái $2A_{1g} + 2E_g$ đặc trưng của vật liệu Sr_2TiO_4 . Kết quả cho thấy, vật liệu hấp thụ mạnh trong vùng tử ngoại và ánh sáng xanh với các đỉnh đặc trưng của mạng nền Sr_2TiO_4 và ion Eu^{3+} , cho phát xạ mạnh trong vùng ánh sáng đỏ với các đỉnh phát xạ đặc trưng của ion Eu^{3+} trong mạng nền khi dịch chuyển từ trạng thái kích thích 5D_0 về trạng thái 7F_j ($j = 0, 1, 2, 3, \dots$). Hiện tượng dập tắt huỳnh quang cũng được quan sát thấy ở nồng độ pha tạp 4% ion Eu^{3+} . Vật liệu chế tạo được phù hợp cho các ứng dụng phủ trên chip LED nUV-LED.

Từ khoá: perovskite, Sr_2TiO_4 pha tạp Eu, vật liệu huỳnh quang pha tạp Eu.

Chỉ số phân loại: 2.5

1. Mở đầu

Diode phát xạ ánh sáng trắng được coi là thiết bị chiếu sáng thế hệ mới dần thay thế các thiết bị chiếu sáng truyền thống như: đèn sợi đốt và huỳnh quang. Bởi những thiết bị chiếu sáng này có những ưu điểm nổi trội so với các thiết bị huỳnh quang truyền thống như độ bền cao, tiết kiệm năng lượng, kích thước nhỏ và không ô nhiễm môi trường vì không phát thải thủy ngân ra môi trường [1-3]. Hiện nay có 3 phương pháp chủ yếu để chế tạo đèn LED phát xạ ánh sáng trắng (WLED) gồm: phủ bột huỳnh quang phát xạ ánh sáng màu vàng như YAG lên diode phát xạ màu xanh lam InGaN [4-6]; phủ các bột huỳnh quang phát xạ ánh sáng xanh lam và ánh sáng màu vàng lên nUV-LED; trộn 3 bột huỳnh quang phát xạ 3 màu cơ bản lên các chip LED. Với phương pháp dùng diode phát xạ màu xanh lam InGaN kết hợp với bột huỳnh quang phát xạ vàng $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}:\text{Ce}^{3+}$ thường cho WLED với chỉ số hoàn màu thấp (thường <80%) vì sự thiếu hụt vùng phát xạ đỏ so với ánh sáng mặt trời ở vùng trên 600 nm [7-10]. Vì vậy, các WLED chế tạo theo công nghệ này thường

có độ chói cao gây hại cho mắt nếu dùng trong các thiết bị chiếu sáng. Do đó, để phát huy những tính ưu việt của loại LED này cần bổ sung một loại bột huỳnh quang phát xạ mạnh trong vùng ánh sáng đỏ dưới sự kích thích của ánh bức xạ của chip blue. Các nghiên cứu chỉ ra rằng, nhóm vật liệu huỳnh quang có cấu trúc perovskite khi pha tạp ion kim loại chuyển tiếp và ion đất hiếm có thể đáp ứng tốt các yêu cầu này [11].

Trong số các vật liệu huỳnh quang có cấu trúc perovskite và perovskite kép thì chúng tôi nhận thấy, nhóm vật liệu Sr_2TiO_4 khi pha tạp ion Eu^{3+} có thể cho phát xạ mạnh trong vùng ánh sáng đỏ với hiệu suất huỳnh quang cao [12-20].

2. Thực nghiệm

Hệ vật liệu $\text{Sr}_{2-x}\text{Eu}_x\text{TiO}_4$ pha tạp ion Eu^{3+} với $x=0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5$ và $0,6$ được tổng hợp theo phương pháp phản ứng pha rắn truyền thống sử dụng các tiền chất ban đầu, gồm các oxit hoặc muối carbonate của các kim loại tương ứng như: SrCO_3 , TiO_2 và Eu_2O_3 của Hãng Merck với độ sạch 99,9%. Các bột oxit hoặc muối kim loại này được sấy khô ở nhiệt độ

*Tác giả liên hệ: Email: letienha@tnu.edu.vn

Optical properties of Eu^{3+} - doped Sr_2TiO_4 phosphor powder synthesised by solid-phase reaction method

Viet Ha Chu¹, Thi Anh Xuan Chu², Thi Hue Lo², Minh Quy Bui², Thi Tam Khieu²,
Phuong Thao Nguyen³, Kim Dan Ho^{4,5}, Tien Ha Le^{2*}

¹University of Education, Thai Nguyen University, 20 Luong Ngoc Quyen Street, Quang Trung Ward, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

²University of Sciences, Thai Nguyen University, Tan Thinh Ward, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

³Department of Chemistry, Hanoi Pedagogical University 2, Nguyen Van Linh Street, Xuan Hoa Ward, Phuc Yen City, Vinh Phuc Province, Vietnam

⁴Science and Technology Advanced Institute, Van Lang University, 69/68 Dang Thuy Tram Street, Ward 13, Binh Thanh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁵Faculty of Applied Technology, Van Lang University, 69/68 Dang Thuy Tram Street, Ward 13, Binh Thanh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 October 2023; revised 6 November 2023; accepted 9 November 2023

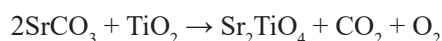
Abstract:

Fluorescent powder Sr_2TiO_4 doped with Eu^{3+} ions was synthesised by the solid-phase reaction method with a sintering temperature of 1200°C in the air with a 1-6% doping concentration. The resulting material has a perovskite structure of I4/mmm space group, and the Eu^{3+} ion doping concentration does not change the material's structure. This characteristic space group of the material was also investigated through the Raman scattering spectrum with characteristic peaks at positions 145, 240, 448, and 699 cm^{-1} corresponding to vibrational modes with $2A_{1g} + 2E_g$ characteristic states of Sr_2TiO_4 material. The results showed that the material absorbs strongly in the ultraviolet and blue light regions with characteristic peaks of the Sr_2TiO_4 matrix and Eu^{3+} ions to emit strongly in the red light region with characteristic emission peaks of Eu^{3+} ions in the background network when moving from the excited state 5D_0 to state 7F_j (j is a positive integer number). Fluorescence quenching was also observed at a doping concentration of 4% Eu^{3+} ions. The fabricated material is suitable for coating applications on nUV-LED LED chips.

Keywords: Eu-doped fluorescent materials, Eu-doped Sr_2TiO_4 , perovskite.

Classification number: 2.5

200°C trong 4 giờ, sau đó được cân theo tỷ lệ hợp thức bằng cân điện tử với độ chính xác $\pm 0,1\text{ mg}$. Các mẫu được chế tạo bằng phương pháp phản ứng pha rắn theo phương trình sau:

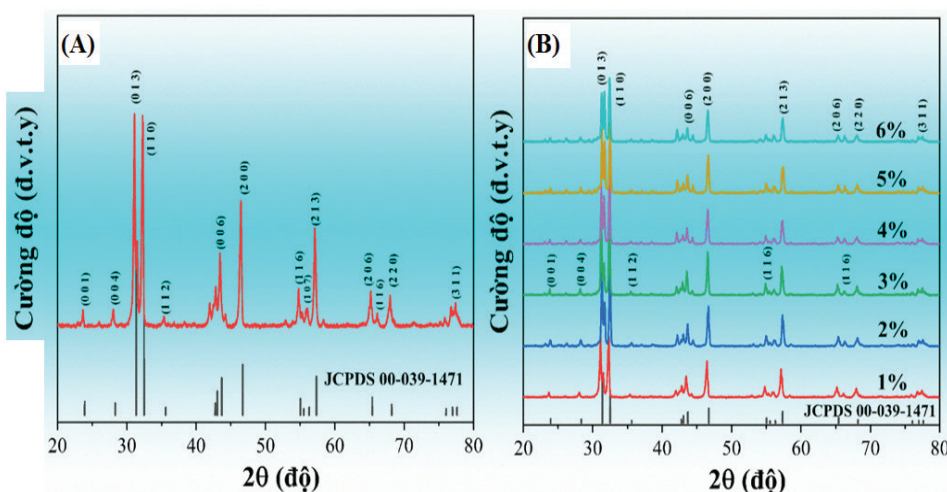


3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát cấu trúc

Trên hình 1 là giản đồ nhiễu xạ tia X của các mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 1% ion Eu^{3+} cùng với thẻ chuẩn JCPDS 00-039-1471. Kết quả phân tích cho thấy, vật liệu thu được có cấu trúc tứ giác (Tetragonal) thuộc nhóm không gian I4/mmm. Đây là nhóm không gian đặc trưng của vật liệu có cấu trúc perovskite được kéo dài về phía trục tung khác với cấu trúc perovskite nguyên thủy. Đối chiếu với thẻ chuẩn JCPDS 00-039-1471 thì cấu trúc của vật liệu Sr_2TiO_4 với nhóm không gian I4/mmm tương ứng với các mặt

phẳng mạng đặc trưng (001), (010), (103), (110), (105), (006), (200), (116), (107), (213), (206), (116), (220) và (311) [21]. Kết quả thu được cho thấy, vị trí các đỉnh nhiễu xạ của vật liệu tổng hợp được trùng với thẻ chuẩn. Điều đó chứng tỏ rằng, vật liệu thu được có độ kết tinh cao và chất lượng tinh thể tốt.



Hình 1. Giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 1% (A) và 1-6% Eu (B) nung ở 1200°C .

Để khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ pha tạp ion Eu^{3+} đến cấu trúc của vật liệu, chúng tôi đã tiến hành khảo sát giản đồ nhiễu xạ tia X của các mẫu vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} với tỷ lệ 1-6%, kết quả thu được ở hình 1B. Kết quả cho thấy, vị trí các đỉnh nhiễu xạ tia X gần như không thay đổi khi thay đổi nồng độ pha tạp 1-6%. Vị trí các đỉnh nhiễu xạ này với các mặt phẳng mạng (001), (010), (103), (110), (105), (006), (200), (116), (107), (213), (206), (116), (220) và (311) ở vị trí các góc nhiễu xạ $2\theta=23,67, 28,07, 31,16, 32,26, 35,46, 43,39, 46,48, 54,67, 55,96, 57,07, 65,12, 66,22, 67,99$ và $77,25^\circ$ gần như không thay đổi khi thay đổi nồng độ pha tạp 1-6%. Kết quả này chứng tỏ rằng, khi pha tạp ion Eu^{3+} vào mạng nền của vật liệu Sr_2TiO_4 không làm thay đổi cấu trúc tinh thể của vật liệu. Điều này có thể được giải thích là do các ion Eu^{3+} chỉ thay thế các ion Sr^{2+} ở trên bề mặt vật liệu hoặc lượng ion Sr^{2+} bị thay thế chưa đủ lớn để có thể làm thay đổi cấu trúc tinh thể của vật liệu.

Như vậy, chúng tôi đã chế tạo thành công vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} với tỷ lệ 1-6% có chất lượng tinh thể tốt. Trên cơ sở những mẫu vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} với tỷ lệ 1-6% này, chúng tôi tiến hành đo phổ tán xạ Raman, phổ kích thích huỳnh quang và phổ huỳnh quang của chúng để khảo sát tính chất quang của vật liệu.

3.2. Tán xạ Raman

Để khảo sát các mode dao động đáng trung của vật liệu cũng như ảnh hưởng của sự pha tạp Eu vào mạng nền đến sự liên kết, chúng tôi đã tiến hành đo phổ tán xạ Raman của các mẫu vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} với tỷ lệ 1-6% nung thiêu kết ở nhiệt độ 1200°C . Kết quả thu được ở hình 2A cho thấy, vật liệu có các đỉnh phổ đặc trưng cho các mode dao động của vật liệu Sr_2TiO_4 ở các số sóng: 145, 240, 448 và

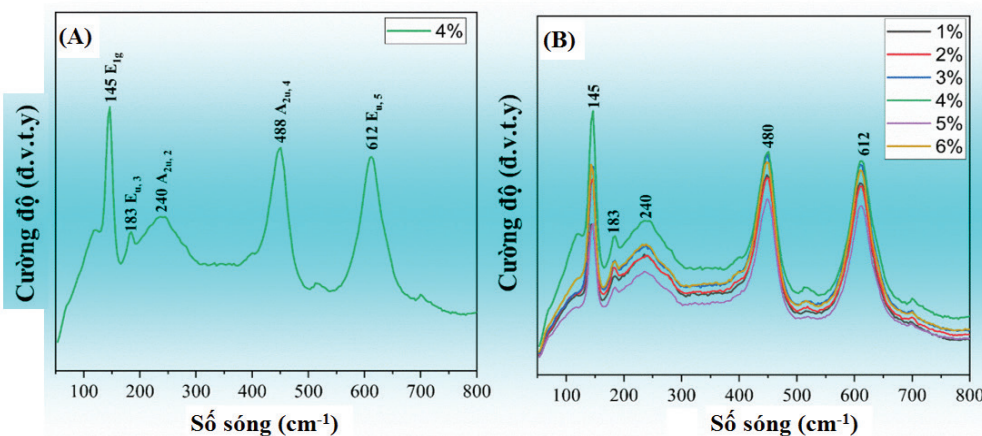
699 cm^{-1} . Các đỉnh này tương ứng với các mode dao động với các trạng thái $2A_{1g} + 2E_g$. Đỉnh 145 cm^{-1} được gán cho trạng thái E_{1g} tương ứng với liên kết $\text{O}_2\text{-Ti-Sr}$; đỉnh 240 cm^{-1} tương ứng mode dao động A_{2u} , $2(\text{Sr-O}_2)$ và các bội của chúng (448 và 699 cm^{-1}) [22].

Khi khảo sát phổ tán xạ Raman của các mẫu vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} với tỷ lệ 1-6% trên hình 2B thì thấy rằng, vị trí các đỉnh phổ gần như không thay đổi. Điều đó chứng tỏ rằng, quá trình pha tạp ion Eu^{3+} vào mạng nền vật liệu không làm thay đổi cấu trúc của vật liệu nền. Kết quả thu được này phù hợp với kết quả khảo sát sự phụ thuộc cấu trúc tinh thể của vật liệu vào nồng độ pha tạp khi khảo sát XRD của vật liệu.

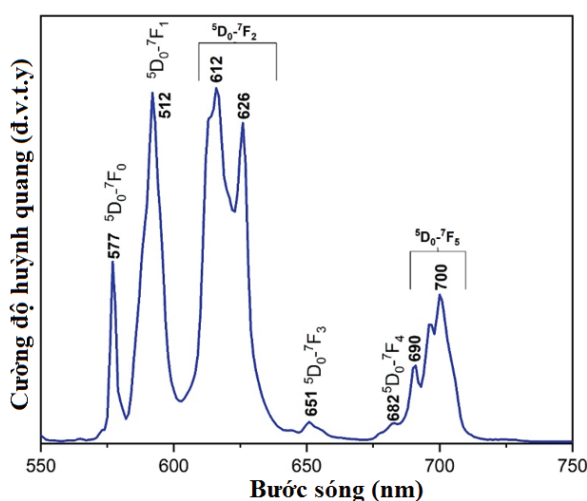
3.3. Tính chất quang của vật liệu

Với các mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} tổng hợp được, chúng tôi tiến hành đo phổ huỳnh quang của chúng ở nhiệt độ phòng. Hình 3 là phổ huỳnh quang của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 5% ion Eu^{3+} . Kết quả cho thấy, vật liệu phát xạ mạnh trong vùng ánh sáng đỏ từ khoảng 575 đến 710 nm với các đỉnh phát xạ 577, 592, 612, 626, 650 và 700 nm. Các đỉnh phát xạ này được quy cho quá trình chuyển dời của ion Eu^{3+} trong mạng nền tinh thể của vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} . Các quá trình chuyển dời này là 577 nm với quá trình dịch chuyển của điện tử từ trạng thái kích thích 5D_0 về trạng thái 7F_0 . Đỉnh 592 nm là quá trình dịch chuyển của điện tử từ trạng thái kích thích $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$; đỉnh vùng phát xạ từ 610-630 nm với hai đỉnh 612 và 626 nm là quá trình dịch chuyển của điện tử từ trạng thái kích thích $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$; đỉnh 650 nm là quá trình dịch chuyển của điện tử từ trạng thái kích thích $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ và đỉnh 700 nm là quá trình dịch chuyển của điện tử từ trạng thái kích thích $^5D_0 \rightarrow ^7F_5$. Dải phát xạ 614 và 700 nm tương ứng với các chuyển dời

lượng cực điện $^5D_0 - ^7F_2$ và $^5D_0 - ^7F_4$ của ion Eu^{3+} . Về nguyên tắc, các chuyển dời lượng cực điện này bị cấm bởi quy tắc lọc lựa Laporte, tuy nhiên khi ion Eu^{3+} nằm trong mạng nền chất rắn, thế trường tinh thể (V_{CF}) tác động tới Hamiltonian của ion Eu^{3+} , những số hạng lẻ của trường tinh thể có thể tăng cường liên kết giữa các trạng thái chẵn và lẻ, sinh ra trạng thái có độ chẵn lẻ hỗn hợp và điều này sẽ nói lỏng quy tắc Laporte.

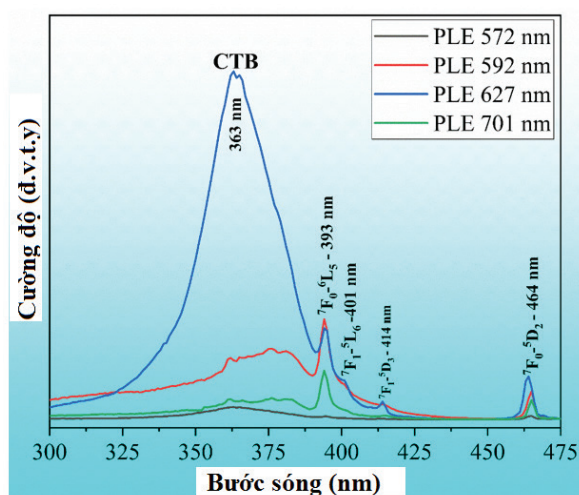


Hình 2. Phổ tán xạ Raman của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 4% ion Eu^{3+} (A) và các mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 1-6% ion Eu^{3+} (B), nung 1200°C , đo ở nhiệt độ phòng với bước sóng quét 532 nm.



Hình 3. Phổ huỳnh quang của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 5% ion Eu^{3+} , nung ở 1200°C , đo ở nhiệt độ phòng với bước sóng kích thích 363 nm.

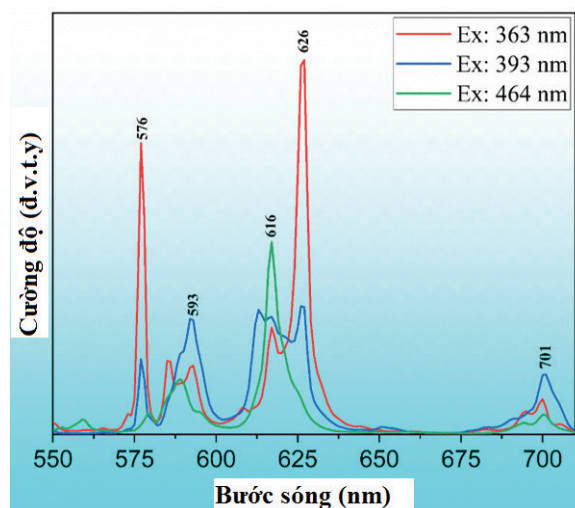
Để khảo sát nguồn gốc của các đỉnh phát xạ này, chúng tôi tiến hành khảo sát phổ kích thích huỳnh quang của chúng, kết quả được thể hiện ở hình 4. Phổ kích thích bao gồm một dải kích thích rộng 325-450 nm và một số đỉnh vạch sắc nét của sự chuyển tiếp đặc trưng của Eu^{3+} . Dải rộng này chính là dải truyền điện tích (CTB - Charge transfer band) được gây ra bởi một số quá trình chuyển đổi điện tích. Kết quả thu được cho thấy, vật liệu hấp thụ mạnh trong vùng tử ngoại và tử ngoại gần với dải sóng 300 đến 475 nm. Các đỉnh kích thích quan sát được chủ yếu do sự đóng góp bởi các chuyển dời điện tử từ mức ${}^7\text{F}_0$ và ${}^7\text{F}_1$ lên các mức năng lượng cao hơn của ion Eu^{3+} , tương ứng là ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{L}_6$ (393 nm), ${}^7\text{F}_1 - {}^5\text{L}_6$ (396 nm), ${}^7\text{F}_1 - {}^5\text{D}_3$ (414 nm) và ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_2$ (464 nm).



Hình 4. Phổ kích thích huỳnh quang của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 5% ion Eu^{3+} , nung ở 1200°C , đo ở nhiệt độ phòng với các đỉnh phát xạ 572, 592, 627 và 701 nm.

Ngoài ra, sự bất đối xứng của vùng hấp thụ CTB của mạng nền trong vùng bước sóng từ 325 đến 390 nm cho thấy, trong vùng kích thích huỳnh quang này có sự chồng chập hàm sóng của mạng nền tinh thể với quá trình hấp thụ của ion Eu^{3+} ở các trạng thái hấp thụ từ ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{H}_3$ (296 nm), ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{H}_6$, ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_4$, ${}^7\text{F}_1 - {}^5\text{D}_4$, ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{G}_4$ và ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{G}_2$. Có thể thấy, cường độ các vạch kích thích tương ứng với các chuyển dời ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{L}_6$, ${}^7\text{F}_1 - {}^5\text{D}_3$ và ${}^7\text{F}_0 - {}^5\text{D}_2$ khá mạnh và phổ hẹp, trong khi các chuyển dời còn lại có cường độ yếu hơn [2, 7].

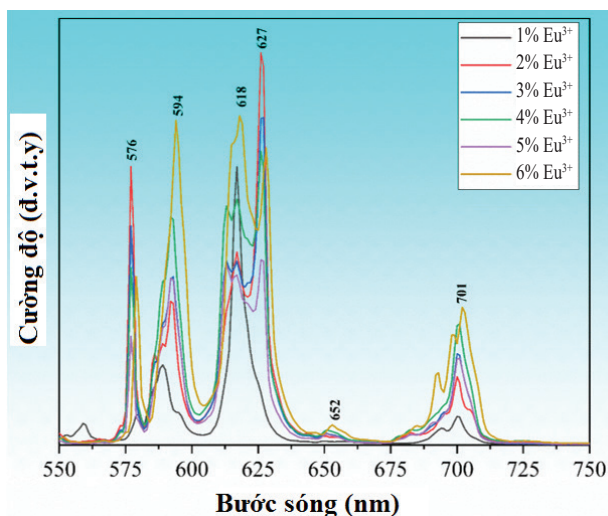
Trên cơ sở vật liệu hấp thụ mạnh trong vùng tử ngoại với các bước sóng phân tích nêu trên. Chúng tôi đã đo phổ huỳnh quang của vật liệu với các bước sóng kích thích khác nhau ở các giá trị 363, 393 và 464 nm để tìm ra bức xạ mà vật liệu có khả năng phát quang tốt nhất. Kết quả thu được ở hình 5 cho thấy, vật liệu phát xạ mạnh trong vùng ánh sáng đỏ. Tuy nhiên, với các bước sóng kích thích khác nhau thì cường độ huỳnh quang của vật liệu là khác nhau nhưng vị trí các đỉnh phát xạ gần như không đổi.



Hình 5. Phổ huỳnh quang của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 2% ion Eu^{3+} , nung ở 1200°C , đo ở nhiệt độ phòng với bước sóng kích thích 363, 393 và 464 nm.

Với bước sóng kích thích 363 nm (đây là bước sóng hấp thụ mạnh của mạng nền ứng với giải CTB của vật liệu nền Sr_2TiO_4) thì vật liệu cho phát xạ mạnh ở 2 đỉnh phát xạ 576 và 626 nm. Hai đỉnh phát xạ này hẹp hơn nhiều so với khi kích thích vật liệu ở bước sóng 393 và 464 nm. Kết quả này cho thấy, khi kích thích ở bước sóng 363 nm với bước sóng hấp thụ mạnh của mạng nền và kích thích tâm sâu của các tâm phát xạ từ ion Eu^{3+} và quá trình này không ảnh hưởng đến nhiễu loạn do trường tinh thể gây ra. Nhưng khi kích thích ở

bước sóng 393 và 464 nm thì do ảnh hưởng của trường tinh thể và chồng chập hàm sóng của ion Eu^{3+} cũng như mạng nền nên các chuyển dời bị cấm do quy tắc lọc lựa được phép, quá trình này làm tăng độ bán rộng của các vạch phổ.



Hình 6. Phổ huỳnh quang của mẫu Sr_2TiO_4 pha tạp 1-6% ion Eu^{3+} , nung ở 1200°C , đo ở nhiệt độ phòng với bước sóng kích thích 363 nm.

Trên cơ sở vật liệu cho phát xạ tốt nhất khi kích thích ở bước sóng 363 nm. Chúng tôi đã tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của nồng độ pha tạp Eu^{3+} lên tính chất quang của hệ vật liệu này. Hình 6 là phổ huỳnh quang của hệ vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp Eu^{3+} với nồng độ 1-6%, bước sóng kích thích ở 363 nm, đo ở nhiệt độ phòng. Kết quả khảo sát cho thấy, vật liệu phát xạ mạnh trong vùng ánh sáng đỏ với các phát xạ đặc trưng của ion Eu^{3+} trong mạng nền của Sr_2TiO_4 . Kết quả cho thấy, khi nồng độ pha tạp Eu^{3+} tăng lên thì cường độ của các đỉnh huỳnh quang có xu hướng tăng. Kết quả này được giải thích là khi nồng độ pha tạp Eu^{3+} tăng lên thì mật độ tâm phát xạ tăng lên làm cho cường độ huỳnh quang của các đỉnh có xu hướng tăng. Tuy nhiên, chúng tôi quan sát thấy ở các vị trí đỉnh phát xạ khác nhau thì cường độ huỳnh quang cực đại ứng với nồng độ pha tạp là khác nhau. Với đỉnh phát xạ 576 và 627 nm thì cường độ đỉnh này đạt giá trị cực đại là 2% Eu; với đỉnh phát xạ 394, 618 và 701 nm thì cường độ cực đại tương ứng với mẫu pha tạp 6% Eu. Kết quả này cho thấy, với đỉnh 576 và 627 nm đã xảy ra hiện tượng dập tắt huỳnh quang do nồng độ ứng với 2%.

4. Kết luận

Trong bài báo này, bột huỳnh quang Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} với nồng 1-6% được tổng hợp bằng phương pháp phân ứng xảy ra ở pha rắn. Phổ kích thích huỳnh quang của vật liệu là một dải rộng, là quá trình chồng chập của quá trình

hấp thụ mạng nền Sr_2TiO_4 và ion Eu^{3+} . Cường độ đỉnh kích thích lớn nhất ở vị trí 363 nm, đây là dải hấp thụ CTB của mạng nền. Khi vật liệu được kích thích ở bước sóng 363 nm sẽ cho phát xạ với cường độ lớn nhất. Các đỉnh phát xạ của vật liệu là quá trình chuyển mức năng lượng của ion Eu^{3+} trong mạng nền với quá trình dịch chuyển mức năng lượng từ trạng thái kích thích $^5\text{D}_0$ về $^7\text{F}_j$. Hiện tượng dập tắt huỳnh quang của vật liệu trong mạng nền Sr_2TiO_4 khi pha tạp ion Eu^{3+} cũng được tìm thấy ở nồng độ pha tạp 2% Eu. Kết quả cho thấy, vật liệu phù hợp cho các ứng dụng trong chiếu sáng trắng khi sử dụng các chip nUV-LED (395 nm) cũng như chip Blue-LED (460 nm).

LỜI CẢM ƠN

Bài báo này được hỗ trợ kinh phí bởi đề tài Quỹ Phát triển Khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED), mã số 103.03-2020.30. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. Isobe (2012), "Glycothermally synthesized YAG:Ce³⁺ nanophosphors for blue LEDs", *ECS Journal of Solid State Science and Technology*, **2**(2), pp.3012-3017, DOI: 10.1149/2.003302jss.
- [2] B. Viana, S.K. Sharma, D. Gourier, et al. (2016), "Long term *in vivo* imaging with Cr³⁺ doped spinel nanoparticles exhibiting persistent luminescence", *Journal of Luminescence*, **170**(3), pp.879-887, DOI: 10.1016/j.jlumin.2015.09.014.
- [3] K. Li, C. Shen (2012), "White LED based on nano-YAG:Ce³⁺/YAG:Ce³⁺,Gd³⁺ hybrid phosphors", *Optik*, **123**(7), pp.621-623, DOI: 10.1016/j.ijleo.2011.06.005.
- [4] K. Park, G. Deressa, D. Kim, et al. (2016), "A stability test of white led with bilayer structure of red InP quantum dots and yellow YAG:Ce³⁺ phosphor", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **16**(2), pp.1612-1615, DOI: 10.1166/jnn.2016.11981.
- [5] Y. Liu, M. Zhang, Y. Nie, et al. (2017), "Growth of YAG:Ce³⁺ Al₂O₃ eutectic ceramic by HDS method and its application for white LEDs", *Journal of The European Ceramic Society*, **37**(15), pp.4931-4937, DOI: 10.1016/j.jeurceramsoc.2017.06.014.
- [6] X. Di, X. He, J. Jiang, et al. (2017), "Facile fabrication of Eu³⁺ activated YAG:Ce³⁺ glass ceramics exhibiting high thermal stability and tunable luminescence for warm white LEDs", *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, **28**, pp.8611-8620, DOI: 10.1007/s10854-017-6585-3.
- [7] K. Li, C. Shen (2010), "White light LED based on YAG:Ce³⁺ and YAG:Ce³⁺, Gd³⁺ phosphor", *5th Int. Symp. Adv. Opt. Manuf. Test. Technol: Optoelectron. Mater. Devices Detect. Imager, Display, Energy Convers. Technol.*, **7658**, DOI: 10.1117/12.865938.

- [8] M. Liu, B. Shen, K. Wang, et al. (2019), “Highly efficient red-emitting $\text{Ca}_2\text{YSbO}_6:\text{Eu}^{3+}$ double perovskite phosphors for warm WLEDs”, *RSC Adv.*, **36**, pp.20742-20748, DOI: 10.1039/c9ra03410b.
- [9] K. Kumari, R.N. Aljawfi, A.K. Chawla, et al. (2020), “Engineering the optical properties of Cu doped CeO_2 NCs for application in white LED”, *Ceram. Int.*, **46(6)**, pp.7482-7488, DOI: 10.1016/j.ceramint.2019.11.246.
- [10] J. Huang, M. Qin, J. Yu, et al. (2019), “ $\text{La}_2\text{MgTiO}_6:\text{Eu}^{2+}/\text{TiO}_2$ -based composite for methyl orange (MO) decomposition”, *Appl. Phys. A Mater. Sci. Process.*, **125**, DOI: 10.1007/s00339-019-3147-y.
- [11] J.Y. Park, H. Yang (2022), “Development of red-emitting $\text{La}_2\text{ZnTiO}_6:\text{Eu}^{3+}$ phosphors for WLED and visualisation of latent fingerprint applications”, *Mater. Today Commun.*, **31**, DOI: 10.1016/j.mtcomm.2022.103391.
- [12] Y. Jia, S. Shen, D. Wang (2013), “Composite $\text{Sr}_2\text{TiO}_4/\text{SrTiO}_3(\text{La,Cr})$ heterojunction based photocatalyst for hydrogen production under visible light irradiation”, *J. Mater. Chem. A*, **27**, pp.7905-7912, DOI: 10.1039/c3ta11326d.
- [13] A.M. Srivastava, M. Brik, W.W. Beers, et al. (2020), “On the Mn^{4+} R-line Intensity and energy in the perovskite layer of SrLaAlO_4 and Sr_2TiO_4 : A comparative study with LaAlO_3 and SrTiO_3 ”, *Opt. Mater.*, **109**, DOI: 10.1016/j.optmat.2020.110372.
- [14] L. Dong, J. Zhao, Q. Li, et al. (2015), “ $\text{Sr}_{2-x}\text{Ba}_x\text{TiO}_4:\text{Eu}^{3+}, \text{Gd}^{3+}$: A novel blue converting yellow-emitting phosphor for white light-emitting diodes”, *J. Nanomater.*, **16(1)**, DOI: 10.1155/2015/103689.
- [15] B.S. Kwak, J.Y. Do, N.K. Park, et al. (2017), “Surface modification of layered perovskite Sr_2TiO_4 for improved CO_2 photoreduction with H_2O to CH_4 ”, *Sci. Rep.*, **7**, pp.1-15, DOI: 10.1038/s41598-017-16605-w.
- [16] Z. Li, X. Zhang, J. Hou (2007), “Molten salt synthesis of anisometric $\text{Sr}_3\text{Ti}_2\text{O}_7$ particles”, *J. Cryst. Growth.*, **305(1)**, pp.265-270, DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2007.04.017.
- [17] Z. Lu, L. Zhang, L. Wang, et al. (2012), “Concentration dependence of luminescent properties for $\text{Sr}_2\text{TiO}_4:\text{Eu}^{3+}$ red phosphor and its charge compensation”, *J. Nanomater.*, **2012**, DOI: 10.1155/2012/698434.
- [18] X. Wu, Y. Jiao, Q. Ren, et al. (2018), “Photoluminescence and energy transfer in $\text{Sr}_3\text{La}(\text{BO}_3)_3:\text{Ce}$, Sm and $\text{Sr}_2\text{TiO}_4:\text{Sm}$, Eu phosphors”, *Opt. Laser Technol.*, **108**, pp.456-465, DOI: 10.1016/j.optlastec.2018.07.043.
- [19] V. Siruguri, R. Ganguly, P.S.R. Krishna, et al. (2001), “Stability of $\text{Sr}_3\text{Ti}_2\text{O}_7$ structure in $\text{La}_{1.2}(\text{Sr}_{1-x}\text{Ca}_x)1.8\text{Mn}_2\text{O}_7$ and $\text{Ca}_{3-y}\text{La}_y\text{Mn}_2\text{O}_7$ ”, *J. Mater. Chem.*, **11(4)**, pp.1158-1161, DOI: 10.1039/b008304f.
- [20] Z. Mu, Y. Hu, G. Ju (2012), “Luminescence properties of Eu^{3+} and Ho^{3+} in Sr_2TiO_4 ”, *J. Rare Earths.*, **30(8)**, pp.744-747, DOI: 10.1016/S1002-0721(12)60122-7.
- [21] X. Sun, X. Xu (2017), “Efficient photocatalytic hydrogen production over La/Rh co-doped Ruddlesden-Popper compound Sr_2TiO_4 ”, *Applied Catalysis B: Environmental*, **210**, pp.149-159, DOI: 10.1016/j.apcatb.2017.03.063.
- [22] N. Saini, A. Tripathi, R. Jindal (2021), “A lattice dynamical investigation of the Raman and the infrared wave numbers of Ruddlesden-Popper compound Sr_2TiO_4 ”, *AIP Conf. Proc.*, **2352(1)**, pp.2-7, DOI:10.1063/5.0052397.

Xác nhận phương pháp xét nghiệm glucose máu trên máy đường huyết tại chỗ (POCT) Accu-chek Inform II

Nguyễn Thị Ngọc Lan*, Lê Hoàng Bích Nga, Trần Thanh Huyền, Trần Thị Thúy Quỳnh

Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/8/2023; ngày chuyển phản biện 21/8/2023; ngày nhận phản biện 11/9/2023; ngày chấp nhận đăng 14/9/2023

Tóm tắt:

Xét nghiệm glucose máu, trong đó có glucose máu mao mạch là xét nghiệm được khuyến cáo sử dụng để chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh đái tháo đường. Hiện nay, xét nghiệm glucose máu mao mạch được thực hiện tại các khoa lâm sàng, trên máy đường huyết tại chỗ (POCT - Point of care testing) với chi phí hợp lý, thời gian nhanh, thuận tiện, hỗ trợ chẩn đoán và điều trị kịp thời. Tuy nhiên, để lựa chọn các thiết bị POCT đạt các tiêu chuẩn chất lượng thì cần sự kiểm soát chặt chẽ của phòng xét nghiệm. Mục tiêu và phương pháp nghiên cứu: Xác nhận phương pháp xét nghiệm đường máu mao mạch trên máy Accu-chek Inform II (Acc-II) gồm các chỉ số: độ đúng, độ chụm, khoảng tuyến tính, so sánh tương đồng kết quả xét nghiệm theo các khuyến cáo của Viện Tiêu chuẩn lâm sàng và xét nghiệm Hoa Kỳ (CLSI) (EP15A3, EP06A, EP09A3). So sánh tương đồng kết quả xét nghiệm glucose máu trên máy xét POCT với các kết quả trên máy xét nghiệm ở phòng xét nghiệm trung tâm (Cobas 8000), bao gồm máu mao mạch toàn phần, máu tĩnh mạch toàn phần, máu tĩnh mạch huyết tương. Kết quả: Độ chụm, độ đúng, khoảng tuyến tính được xác nhận theo công bố. Khoảng tuyến tính của phương pháp là 1,6-31 mmol/l. Sự khác biệt khi đánh giá glucose máu mao mạch với glucose mẫu tĩnh mạch huyết tương, tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II và với glucose mẫu tĩnh mạch huyết tương trên máy Cobas 8000 lần lượt là 6,89, -8,62 và -10,97%.

Từ khóa: Accu-chek Inform II, EP15A3, glucose máu mao mạch, glucose tĩnh mạch, hiệu năng phương pháp, so sánh tương đồng.

Chỉ số phân loại: 2.6

1. Đặt vấn đề

Đái tháo đường là bệnh mạn tính có nguy cơ dẫn đến nhiều biến chứng trầm trọng, vì vậy cần phải được phát hiện nhanh chóng và điều trị kịp thời. Hiệp hội đái tháo đường Hoa Kỳ (ADA) đưa ra khuyến cáo xét nghiệm chẩn đoán đái tháo đường gồm có: xét nghiệm định lượng glucose máu (lúc đói và ngẫu nhiên), xét nghiệm định lượng HbA1C, thử nghiệm dung nạp glucose. Xét nghiệm được sử dụng phổ biến nhất là định lượng glucose máu. Hiện nay, có 4 loại mẫu được sử dụng thường xuyên trong xét nghiệm định lượng glucose máu là mẫu máu toàn phần (tĩnh mạch, mao mạch) và mẫu huyết thanh hoặc huyết tương thu được từ máu tĩnh mạch. Trong khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), kết quả glucose máu mao mạch thuộc hệ thống xét nghiệm nhanh tại chỗ POCT hoặc mẫu tĩnh mạch tại phòng xét nghiệm trung tâm $>7,0$ mmol/l đều được sử dụng để chẩn đoán đái tháo đường [1].

Chất lượng của một kết quả xét nghiệm phụ thuộc vào độ chính xác của kết quả xét nghiệm. Để thực hành chất lượng xét nghiệm tốt, giảm thiểu các nguyên nhân sai số, phòng xét nghiệm cần phải tiến hành thẩm định hoặc xác

nhận các công bố của nhà sản xuất phù hợp với điều kiện thực tế của phòng xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm đưa ra được đảm bảo tính chính xác và đáng tin cậy là bằng chứng khách quan giúp cho việc chẩn đoán, điều trị bệnh chính xác và hiệu quả.

Xét nghiệm glucose máu mao mạch đang được triển khai ở nhiều khoa lâm sàng bởi khả năng thực hiện kỹ thuật đơn giản cũng như thời gian cho ra kết quả nhanh chóng kịp thời. Máy Acc-II là thiết bị xét nghiệm glucose máu nhanh tại chỗ nhỏ gọn, kết nối, cung cấp nhiều công cụ quản lý chất lượng, phù hợp hỗ trợ bác sỹ lâm sàng trong chẩn đoán và điều trị kịp thời cho bệnh nhân. Máy xét nghiệm này cho phép thực hiện trên nhiều loại mẫu máu mao mạch, tĩnh mạch, mẫu huyết tương, huyết thanh, toàn phần.

Nhằm nâng cao và quản lý chất lượng xét nghiệm, nghiên cứu này tiến hành đánh giá hiệu năng phương pháp xét nghiệm glucose máu trên máy Acc-II gồm các thông số: khoảng tuyến tính, độ chụm, độ đúng, đặc biệt là thực nghiệm so sánh tương đồng giữa kết quả xét nghiệm glucose máu toàn phần mao mạch, máu tĩnh mạch huyết tương, máu tĩnh mạch toàn phần thực hiện trên máy đo đường huyết tại

*Tác giả liên hệ: Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Validation of the blood glucose testing method on the Accu-chek Inform II

Thi Ngoc Lan Nguyen*, Hoang Bich Nga Le,
Thanh Huyen Tran, Thi Thuy Quynh Tran

Hanoi Medical University,

1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 18 August 2023; revised 11 September 2023; accepted 14 September 2023

Abstract:

Blood glucose testing, including capillary blood glucose, is the recommended test for the diagnosis and monitoring of diabetes treatment. Currently, capillary blood glucose testing is performed on point-of-care testing (POCT) with reasonable cost, fast time, convenience, supporting timely diagnosis and treatment. However, in order to select POCT devices that meet quality standards, it is necessary to strictly control the laboratory. Object and method: Confirmation of the capillary blood sugar testing method on the Accu-chek Inform II (Acc-II) machine including the following indicators: accuracy, precision, linear range, comparison of test results according to the recommendations of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (EP15A3, EP06A, EP09A3). The authors compared results on the testing machine in the central laboratory (Cobas 8000) of blood glucose testing on the POCT machine with the results of whole capillary blood, whole venous blood, and plasma venous samples. Results: Precision, accuracy, and linearity were confirmed as published. The linear range of the method is from 1.6 to 31 mmol/l. The difference between capillary blood glucose pairs and plasma venous glucose, whole blood venous glucose on Accu-chek Inform II and plasma venous blood glucose on Cobas 8000 machine are 6.89, -8.62, and -10.97%, respectively.

Keywords: Accu-chek Inform II, capillary blood glucose, EP15A3, method comparison, method performance, venous blood glucose.

Classification number: 2.6

chỗ Acc-II với máu tĩnh mạch huyết tương được thực hiện trên Cobas 8000 tại Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Phương pháp xét nghiệm đường máu mao mạch trên máy Acc-II.

2.2. Vật liệu

Độ đúng, độ chụm: Mẫu chứng dung dịch thương mại QC với 2 mức nồng độ:

- L1(Lo): 30-60 mg/dl (1,67-3,33 mmol/l).

- L2(Hi): 261-353 mg/dl (14,5-19,6 mmol/l).

Tuyến tính: bộ kit mẫu tuyến tính (Linearity test kit) gồm 6 mức nồng độ với thể tích 2,5 ml mỗi mức do Hãng Roche cung cấp như sau.

	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 4	Mẫu 5	Mẫu 6
Nồng độ (mg/dl)	28	45	118	307	511	559
Nồng độ (mmol/l)	1,6	2,5	6,5	17,0	28,4	31,0

So sánh tương đồng: Mẫu máu tĩnh mạch và mao mạch được thu thập từ 41 tình nguyện viên tham gia nghiên cứu. Thực hiện định lượng glucose mao mạch, tĩnh mạch toàn phần và glucose huyết tương tĩnh mạch trên máy Acc-II và mẫu glucose huyết tương tĩnh mạch trên máy Cobas 8000.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng xét nghiệm.

Nguyên lý xét nghiệm glucose máu mao mạch trên máy: Nguyên lý điện hoá enzyme Mut-QGH có trên que thử sẽ chuyển glucose trong mẫu máu thành gluconolactone. Phản ứng tạo ra dòng điện một chiều, máy đo sẽ định lượng được nồng độ glucose.

2.4. Quy trình thực hiện

Thực nghiệm đánh giá độ chụm, độ đúng: Nghiên cứu sử dụng cùng một thực nghiệm để đánh giá đồng thời độ chụm và độ đúng của phương pháp xét nghiệm theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI. Phân tích lặp lại 5 lần mỗi ngày, tối thiểu 2 mức nồng độ QC trong 5 ngày liên tiếp. So sánh độ chụm và độ đúng với tiêu chuẩn của nhà sản xuất và tiêu chuẩn chấp nhận theo ISO 15197:2013: $\pm 0,83$ mmol/l (Blood glucose $< 5,55$ mmol/l); $\pm 15\%$ (Blood glucose $\geq 5,55$ mmol/l) [2].

Thực nghiệm đánh giá độ tuyến tính: Thực nghiệm chạy lặp lại 2 lần mỗi mức với 6 mức nồng độ của bộ kit nhà sản xuất cung cấp theo khuyến cáo về số mức nồng độ và số lần lặp của hướng dẫn CLSI EP06A (2 lần) [3]. Thực nghiệm sử dụng phương pháp hồi quy tuyến tính đơn giản, đánh giá chỉ số R-square phù hợp với tiêu chuẩn.

So sánh tương đồng với kết quả glucose huyết tương trên máy tại phòng xét nghiệm trung tâm Cobas 8000: Thực nghiệm so sánh tương đồng theo hướng dẫn CLSI EP09A3 [4]. Tiến hành trên thiết bị đo đường huyết Acc-II và trên hệ thống Cobas 8000 với việc sử dụng mẫu máu của 41 tình nguyện viên, bao gồm máu mao mạch, máu tĩnh mạch toàn phần và máu tĩnh mạch huyết tương. So sánh độ lệch kết quả xét nghiệm glucose giữa máu mao mạch với máu tĩnh mạch huyết tương đo trên máy Acc-II và với máu tĩnh mạch đo trên máy Cobas 8000, giữa máu tĩnh mạch huyết tương với máu tĩnh mạch toàn phần đo trên máy Accu-II. Tính toán độ lệch tại các nồng độ quyết định y khoa là 2,5, 6,66, 9,99 mmol/l và so sánh với tiêu chuẩn độ lệch theo ISO 15197:2013. Đánh giá sự khác biệt theo các trường hợp A-E khuyến cáo của CLSI.

Trường hợp	Kết quả	Kết luận
A	95% CI của khác biệt trung bình có chứa giá trị 0	Không có sự khác biệt đáng kể giữa 2 phương pháp đo
B	Khác biệt cho phép có chứa 95% CI của khác biệt trung bình	Sự khác biệt giữa 2 phương pháp đạt tiêu chuẩn chấp nhận độ lệch với 95% CI
C	Khoảng khác biệt cho phép có chứa khác biệt trung bình nhưng không chứa 95%CI	Có thể chấp nhận độ khác biệt trung bình nhưng không đảm bảo độ tin cậy 95% và sẽ có một số kết quả khác biệt đáng kể giữa 2 phương pháp
D	Khác biệt trung bình nằm ngoài giới hạn tiêu chí khác biệt cho phép nhưng 95% CI của khác biệt trung bình chứa khác biệt cho phép	Khác biệt nằm ngoài tiêu chí chấp nhận nhưng vì 95% CI có bao gồm khác biệt cho phép nên vẫn có thể kết luận sự khác biệt giữa 2 phương pháp là chấp nhận được nhưng mức độ tin cậy sẽ nhỏ hơn tình huống C
E	Khác biệt trung bình và 95% CI khác biệt trung bình nằm ngoài khoảng chấp nhận của khác biệt cho phép	Khác biệt không được chấp nhận phương pháp đo mới không thể thay thế phương pháp cũ. Nếu áp dụng, phương pháp mới cần xây dựng lại khoảng tham chiếu và xem xét nồng độ quyết định lâm sàng

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý theo hướng dẫn của CLSI trên phần mềm Excel.

3. Kết quả

3.1. Xác nhận giá trị sử dụng của xét nghiệm glucose máu trên Accu-II

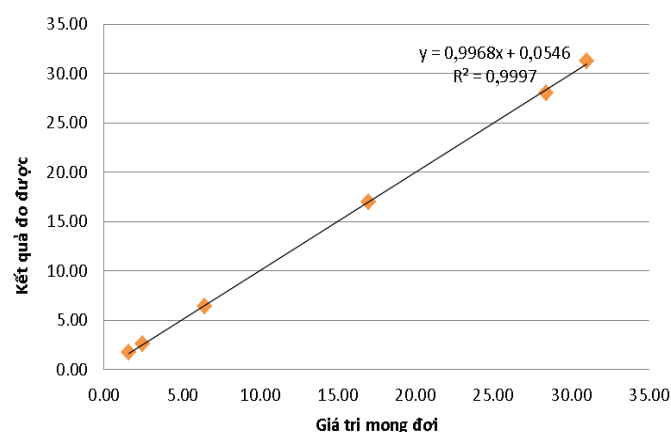
Kết quả bảng 1 cho thấy, phương pháp xét nghiệm đường máu mao mạch có độ chụm và độ đúng được xác nhận.

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ chụm và độ đúng.

	QC1	QC2
Độ chụm	Sr (mmol/l)	0,04
	Swl (mmol/l)	0,04
	σ_R (mmol/l)	0,1
	Σ_{wl} (mmol/l)	0,1
	Đánh giá độ chụm ($S_R < \sigma_R$, $S_{wl} < \sigma_{wl}$)	Xác nhận độ chụm
Độ đúng	Độ lệch Bias (mmol/l)	0,11
	Độ lệch Bias (%)	4,5
	Độ lệch tiêu chuẩn (B^*)	0,83 mmol/l
	Đánh giá ($Bias < B^*$)	Xác nhận độ đúng
		Xác nhận độ đúng

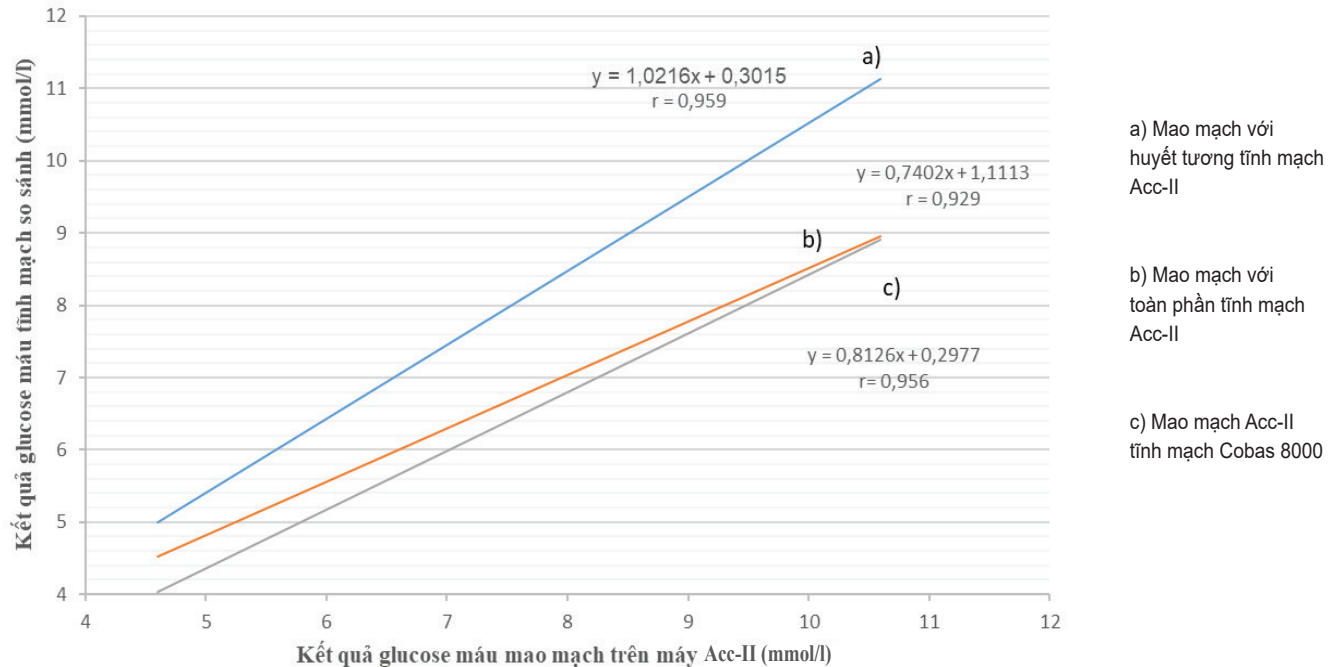
Độ lệch chuẩn ước tính ở cả 2 mức QC nhỏ hơn công bố của nhà sản xuất (QC1: $S_R=0,04 < 0,1=\sigma_R$, $S_{wl}=0,04 < 0,1=\sigma_{wl}$; QC2: $S_R=0,22 < 0,6=\sigma_R$, $S_{wl}=0,25 < 0,3=\sigma_{wl}$). Độ chụm được xác nhận.

Giá trị Bias nhỏ hơn với giá trị bias được chấp nhận ($0,11 < 0,83$ mmol/l, $2,1 < 15\%$) theo tiêu chuẩn ISO 15197:2013 nên độ đúng của xét nghiệm được xác nhận.



Hình 1. Phương trình tuyến tính của phương pháp định lượng glucose máu mao mạch trên máy Acc-II.

Kết quả hình 1 cho thấy, phương trình tuyến tính của phương pháp định lượng glucose máu mao mạch trên máy Acc-II là $y = 0,9968x + 0,0546$, với $R^2=0,9997$ ($0,99 < R^2 < 1$) trong khoảng 1,6 đến 31 mmol/l.



Hình 2. Mối tương quan kết quả xét nghiệm glucose máu giữa mẫu mao mạch trên máy Acc-II với mẫu tĩnh mạch toàn phần, tĩnh mạch huyết tương trên máy Acc-II và tĩnh mạch huyết tương trên máy Cobas 8000.

3.2. Sự tương đồng kết quả xét nghiệm glucose máu mao mạch, tĩnh mạch trên máy Acc-II và Cobas 8000

Kết quả hình 2 cho thấy, phương trình tương quan và hệ số tương quan r của xét nghiệm glucose máu giữa: máu mao mạch và tĩnh mạch huyết tương trên máy Acc-II là

Bảng 2. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn trung bình glucose máu ở máu mao mạch, máu tĩnh mạch huyết tương, máu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II, máu tĩnh mạch huyết tương trên máy Cobas 8000.

Máy thực hiện xét nghiệm		Máy Accu-II			Máy Cobas 8000
Mẫu phân tích		Máu mao mạch	Máu tĩnh mạch huyết tương	Máu tĩnh mạch toàn phần	Máu tĩnh mạch huyết tương
Nồng độ glucose	Mean $\pm$ SD (mmol/l)	6,38 $\pm$ 1,38	6,82 $\pm$ 1,46	5,83 $\pm$ 1,10	5,48 $\pm$ 1,15

$y = 1,0216x + 0,3015$ ($r=0,959$). Máu mao mạch và máu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II là $y = 0,7402x + 1,1113$ ($r=0,929$). Máu mao mạch đo trên thiết bị Acc-II và máu tĩnh mạch đo trên máy Cobas 8000 là $y = 0,8126x + 0,2977$ ($r=0,956$). Hệ số $r > 0,9$ cho thấy mối tương quan chặt chẽ giữa các kết quả xét nghiệm được so sánh.

Kết quả đánh giá phần trăm sự khác biệt giữa các cặp kết quả đo glucose máu được thể hiện ở bảng 3. Kết quả cho thấy, sự khác biệt giữa máu tĩnh mạch huyết tương với máu tĩnh mạch toàn phần đo trên máy Acc-II là lớn nhất (14,51%) và sự khác biệt giữa máu mao mạch với máu tĩnh mạch huyết tương đo trên máy Acc-II nhỏ nhất (6,89%).

Bảng 3. Độ chênh lệch nồng độ glucose máu và % sự khác biệt giữa mẫu mao mạch trên máy Acc-II với mẫu tĩnh mạch toàn phần, tĩnh mạch huyết tương trên máy Acc-II và tĩnh mạch huyết tương trên máy Cobas 8000.

Độ chênh lệch nồng độ glucose máu	Mẫu mao mạch với mẫu tĩnh mạch huyết tương trên máy Acc-II	Mẫu mao mạch với mẫu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II	Mẫu tĩnh mạch huyết tương với mẫu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II	Mẫu mao mạch máy Acc-II với mẫu tĩnh mạch huyết tương máy C8000
Ký hiệu quy ước	X	Y	Z	T
Trung bình (mmol/l)	0,44	-0,55	0,99	-0,7
Phần trăm sự khác biệt (%)	6,89	-8,62	14,51	-10,97

X: khác biệt giữa mẫu mao mạch với mẫu tĩnh mạch huyết tương trên máy Acc-II; Y: khác biệt giữa mẫu mao mạch với mẫu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II; Z: khác biệt giữa mẫu tĩnh mạch huyết tương với mẫu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II; T: khác biệt giữa mẫu mao mạch trên máy Acc-II với mẫu tĩnh mạch huyết tương trên máy C8000.

Bảng 4. Đánh giá độ lệch tại nồng độ quyết định y khoa theo hướng dẫn CLSI EP09A3.

Khác biệt nồng độ glucose máu	Nồng độ quyết định y khoa (mmol/l) [5]	Độ lệch tại nồng độ quyết định y khoa (mmol/l)	95%CI độ lệch tại nồng độ quyết định y khoa (mmol/l)	Độ lệch cho phép (mmol/l)	Đánh giá trường hợp [3]
X	2,5	0,3555	-0,04935 đến 0,76035	0,375	A
	6,66	0,4453	0,3087 đến 0,5819	0,999	B
	9,99	0,5173	0,1375 đến 0,8971	1,4985	B
Y	2,5	0,4618	-0,6087 đến 1,5323	0,375	A
	6,66	-0,619	-0,9802 đến -0,2578	0,999	B
	9,99	-1,4841	-2,4885 đến -0,4797	1,4985	C
Z	2,5	0,2213	0,1031 đến 0,3395	0,375	B
	6,66	-0,9406	-0,9449 đến -0,9362	0,999	B
	9,99	-1,8707	-1,9574 đến -1,7939	1,4985	D
T	2,5	-0,1708	-0,6610 đến 0,3915	0,375	A
	6,66	-0,9504	-1,1158 đến -0,7850	0,999	C
	9,99	-1,5744	-2,0344 đến -1,1144	1,4985	D

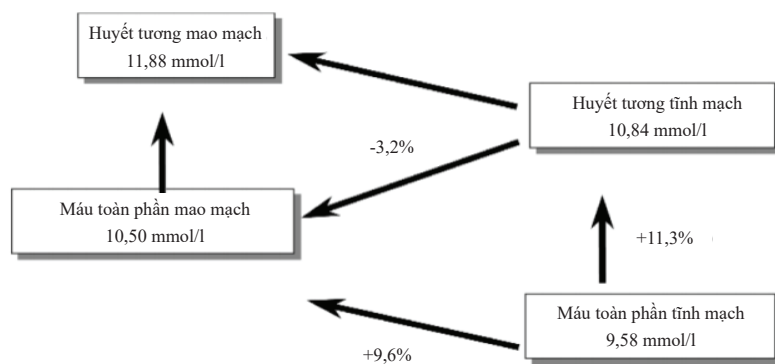
Kết quả bảng 4 cho thấy, với X: mẫu mao mạch và mẫu tĩnh mạch huyết tương trên máy Acc-II có sự khác biệt không đáng kể; Y: mẫu mao mạch với mẫu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II có sự khác biệt tăng dần theo 3 mức nồng độ. Sự khác biệt vẫn chấp nhận được ở nồng độ 9,99 mmol/l; Z: mẫu tĩnh mạch huyết tương với mẫu tĩnh mạch toàn phần trên máy Acc-II có sự khác biệt tăng dần theo 3 mức nồng độ. Sự khác biệt vẫn chấp nhận được ở nồng độ 9,99 mmol/l; T: mẫu mao mạch máy Acc-II và mẫu tĩnh mạch huyết tương máy Cobas 8000 không có sự khác biệt ở nồng độ 2,5 mmol/l, nhưng sự khác biệt là đáng kể ở nồng độ 6,66 và 9,99 mmol/ nhưng chấp nhận được.

4. Bàn luận

Xét nghiệm glucose máu mao mạch thực hiện tại khoa lâm sàng là xét nghiệm quan trọng và cần thiết, đặc biệt trong quản lý và điều trị các bệnh lý cần theo dõi liên tục như đái tháo đường. Xét nghiệm glucose máu trên máy POCT nhanh chóng, hỗ trợ kịp thời các bác sỹ đưa ra các can thiệp cho bệnh nhân, tối đa hóa hiệu quả điều trị trong khi giảm thiểu thời gian và căng thẳng của bệnh nhân. WHO khuyến cáo bệnh nhân có kết quả xét nghiệm glucose mao mạch trên máy POCT khi đối >7,0 mmol/l cũng được sử dụng thay thế để chẩn đoán đái tháo đường khi không có glucose máu tĩnh mạch tại phòng xét nghiệm trung tâm [1]. Do vậy, các xét nghiệm POCT cần được quản lý chất lượng chặt chẽ và đánh giá tương đồng với các kết quả tại phòng xét nghiệm trung tâm, nhằm cung cấp thông tin chính xác nhất

cho bác sỹ lâm sàng. Nhóm nghiên cứu tiến hành đánh giá hiệu năng của phương pháp định lượng glucose máu mao mạch trên máy Acc-II tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, so sánh với kết quả glucose máu ở phòng xét nghiệm trung tâm để đưa ra các khuyến cáo cho bác sỹ trước khi xét nghiệm được triển khai tại các khoa lâm sàng.

Thực nghiệm đánh giá độ chụm và độ đúng được thực hiện bằng việc phân tích 2 mức nồng độ QC, chạy lặp lại 5 lần mỗi ngày và chạy trong vòng 5 ngày [6]. Kết quả thực nghiệm cho thấy, độ lệch chuẩn trong một lần chạy và độ lệch chuẩn giữa các lần chạy của phòng xét nghiệm nhỏ hơn độ lệch chuẩn của nhà sản xuất (QC1: $S_R=0,04<0,1=\sigma_R$, $S_{WL}=0,04<0,1=\sigma_{WL}$; QC2: $S_R=0,22<0,6=\sigma_R$, $S_{WL}=0,25<0,3=\sigma_{WL}$). Độ lệch Bias nhỏ hơn độ lệch tiêu chuẩn tối đa cho phép theo ISO 15197:2013 (QC1: 0,11<0,83 mmol/l, QC2: 2,1<15%). Như vậy, độ chụm và độ đúng của phương pháp được xác nhận. Thực nghiệm đánh giá độ tuyến tính được thực hiện trên 6 mức nồng độ của bộ kit do nhà sản xuất cung cấp với 2 lần chạy lặp lại. Khoảng tuyến tính của xét nghiệm glucose máu trên máy Acc-II được xác nhận là 1,6-31 mmol/l với phương trình tuyến tính là $y = 0,0546 + 0,9968x$. Kết quả đánh giá 3 thông số này tương đồng với nghiên cứu của T.D. Jeong và cs (2016) [7] khi tiến hành đánh giá quy mô lớn hiệu năng phương pháp các máy glucose máu mao mạch POCT, trong đó có máy Acc-II cho thấy 12/12 thiết bị đạt chuẩn độ chụm; 97,1-100% thiết bị đạt tiêu chuẩn độ đúng theo ISO 15179:2013,



Hình 3. Sự khác biệt về nồng độ glucose ở các mẫu máu khác nhau.

49 thiết bị tuyến tính trong khoảng 1,55-31,02 mmol/l. Thực hiện glucose máu mao mạch trên máy Acc-II cho kết quả chính xác, đảm bảo chất lượng trong chẩn đoán, theo dõi điều trị cho bệnh nhân.

Nghiên cứu so sánh tương đồng cho thấy, kết quả xét nghiệm giữa mẫu glucose máu mao mạch trên máy POCT và glucose máu tĩnh mạch trên máy Cobas 8000 có sự khác biệt -10,97% (trường hợp A, C, D lần lượt theo các mức nồng độ). Sự chênh lệch nhỏ hơn tiêu chuẩn độ lệch chấp nhận của xét nghiệm glucose máu mao mạch POCT (ISO 15197:2013) là 15%, nhưng kết quả xét nghiệm trên máy POCT và phòng xét nghiệm trung tâm 10%. Chênh lệch nồng độ lớn có thể ảnh hưởng đến nhận định của bác sĩ lâm sàng trong chẩn đoán và điều trị.

Theo khuyến cáo của nhà sản xuất, máy Acc-II cho phép thực hiện xét nghiệm glucose trên mẫu máu mao mạch, tĩnh mạch toàn phần và tĩnh mạch huyết tương. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy kết quả so sánh tương đồng của các mẫu có sự khác biệt tương đối lớn. Độ lệch giữa mẫu máu mao mạch và tĩnh mạch toàn phần, giữa máu mao mạch và tĩnh mạch huyết tương, giữa tĩnh mạch huyết tương và tĩnh mạch toàn phần lần lượt là -8,62, 6,89 và 14,51%. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của K. Kuwa và cs (2001) [8] khi nghiên cứu trên 31 bệnh nhân (hình 3). Nguyên nhân của sự khác biệt này là do nồng độ glucose trong mẫu tĩnh mạch mao mạch khác nhau, hoặc do khác biệt hàm lượng nước và thể tích khối hồng cầu (Hct). Do đó, bác sĩ lâm sàng cần thận trọng trong việc sử dụng kết quả xét nghiệm glucose trên máy POCT, thực hiện trên các bản chất mẫu khác nhau. Phòng xét nghiệm khuyến cáo chỉ sử dụng mẫu máu mao mạch để thực hiện xét nghiệm và

lưu ý sự khác biệt 10% với kết quả glucose thực hiện tại phòng xét nghiệm trung tâm.

Trong nghiên cứu của T.D. Jeong và cs (2016) [7] cũng tiến hành so sánh kết quả giữa 24 thiết bị máy Acc-II với Cobas 8000 và đưa ra được phương trình tương quan là $y = 0,953x + 0,115$ với hệ số tương quan $r=0,998$ ($r>0,9$). Sự khác biệt nồng độ của phương pháp là -0,333, -0,827 mmol/l với các mẫu có nồng độ glucose >15 mmol/l. Kết quả này cũng khá tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi. Sự chênh lệch kết

quả glucose máu mao mạch trên máy Acc-II và glucose máu tĩnh mạch trên máy Cobas 8000 còn có thể do nguyên lý kỹ thuật xét nghiệm. Hệ thống máy Cobas 8000 tại phòng xét nghiệm trung tâm sử dụng nguyên lý đo quang Hexokinase để phân tích nồng độ glucose máu, trong khi đó máy Acc-II sử dụng nguyên lý đo điện cực. Sự cộng gộp khác biệt về bản chất mẫu và bản chất phương pháp xét nghiệm tạo ra chênh lệch kết quả xét nghiệm trên máy tại phòng xét nghiệm trung tâm và trên máy đo đường máu mao mạch.

Xét nghiệm glucose máu trên máy Acc-II có độ đúng và độ chụm tốt, có khoảng tuyến tính dài và phù hợp để hỗ trợ các bác sĩ trong chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh nhân. Tuy nhiên kết quả xét nghiệm glucose máu mao mạch và tĩnh mạch trên máy POCT và phòng xét nghiệm trung tâm có sự khác biệt, do đó, cần thận trọng trong sử dụng để chẩn đoán đái tháo đường và tiền đái tháo đường cho bệnh nhân.

5. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, độ đúng và độ chụm của xét nghiệm glucose máu thực hiện trên máy Acc-II được xác nhận phù hợp theo tiêu chuẩn ISO 15197:2013. Khoảng tuyến tính của phương pháp là 1,6-31 mmol/l với phương trình tuyến tính $y = 0,0546 + 0,9968x$.

So sánh kết quả xét nghiệm glucose máu trên 2 hệ thống Cobas 8000 và Acc-II thu được kết quả như sau: sự khác biệt khi đánh giá các cặp glucose máu mao mạch với glucose tĩnh mạch huyết tương, toàn phần trên máy Acc-II và mẫu máu mao mạch trên máy Acc-II và glucose máu tĩnh mạch huyết tương trên máy Cobas 8000 lần lượt là 6,89, -8,62 và -10,97%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization (2020), *Hearts D: Diagnosis and Management of Type 2 Diabetes*, <https://www.who.int/publications/i/item/who-ucn-ncd-20.1>, accessed 15 June 2022.
- [2] N. Jendrike, A. Baumstark, U. Kamecke, et al. (2016), “ISO 15197:2013 evaluation of a blood glucose monitoring system’s measurement accuracy”, *J. Diabetes Sci. Technol.*, **11**(6), pp.1275-1276, DOI: 10.1177/1932296817727550.
- [3] Clinical & Laboratory Standards Institute (2003), *EP06-A Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures*, 2nd Edition, 15pp, https://clsi.org/media/1437/ep06a_sample.pdf, accessed 15 June 2022.
- [4] Clinical & Laboratory Standards Institute (2013), *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline*, 3rd Edition, https://clsi.org/media/1435/ep09a3_sample.pdf, accessed 15 June 2022.
- [5] Westgard QC (2010), *Medical Decision Levels*, <https://www.westgard.com/decision.htm>, accessed 20 October 2021.
- [6] Clinical & Laboratory Standards Institute (2019), *CLSI EP15A3 User Verification of Precision & Bias Estimation*, 3rd Edition, <https://clsi.org/standards/products/method-evaluation/documents/ep15/>, accessed 15 June 2022.
- [7] T.D. Jeong, E.J. Cho, D.H. Ko, et al. (2016), “Large-scale performance evaluation of Accu-Chek Inform II point-of-care glucose meters”, *Scand J. Clin. Lab. Invest.*, **76**(8), pp.657-663, DOI: 10.1080/00365513.2016.1233575.
- [8] K. Kuwa, T. Nakayama, T. Hoshino, et al. (2001), “Relationships of glucose concentrations in capillary whole blood, venous whole blood and venous plasma”, *Clin. Chim. Acta.*, **307**(1), pp.187-192, DOI: 10.1016/s0009-8981(01)00426-0.

Phát triển vector biểu hiện mang promoter *Pgrac100* được cảm ứng bởi IPTG và sáp nhập gen *gfp+* vào bộ gen vi khuẩn *Bacillus subtilis* tại locus *lacA*

Chu Thị Bích Phượng^{1, 2, 3}, Nguyễn Đức Hoàng^{1, 2}, Phan Thị Phượng Trang^{1, 2, 4*}

¹Trung tâm Khoa học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 4, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Khoa Dược, Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh, 475A Điện Biên Phủ, phường 25, quận Bình Thạnh, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học Phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/6/2023; ngày chuyển phản biện 3/6/2023; ngày nhận phản biện 24/6/2023; ngày chấp nhận đăng 30/6/2023

Tóm tắt:

Bacillus subtilis là một loại vi khuẩn gram dương có nhiều đặc điểm thuận lợi trong sản xuất protein tái tổ hợp ở các lĩnh vực công nghiệp, nông nghiệp, y dược và thực phẩm. Nghiên cứu được thực hiện nhằm phát triển hệ thống biểu hiện cảm ứng chứa promoter *Pgrac100* được sáp nhập tại vị trí *lacA* trong bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis*. Kết quả cho thấy, promoter *Pgrac100* có thể kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein mục tiêu trong hệ thống sáp nhập với tỷ lệ cảm ứng lần lượt đạt 3,3, 7,6 và 10,8 sau 4 giờ nuôi cấy với chất cảm ứng biểu hiện protein (Isopropyl-β-D-1-thiogalactopyranoside - IPTG) ở các nồng độ 0,01, 0,1 và 1,0 mM. Thời gian cảm ứng và nồng độ IPTG có ảnh hưởng quan trọng đến hiệu quả biểu hiện protein mục tiêu. Sau 4 giờ nuôi cấy cảm ứng với 0,1 mM IPTG, chủng *B. subtilis* sáp nhập mang promoter *Pgrac100* cho hiệu quả biểu hiện protein cao nhất với lượng GFP chiếm 13% protein tổng số tế bào. Hệ thống vector sáp nhập chứa promoter *Pgrac100* có tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu cơ bản và sản xuất công nghiệp.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, *lacA*, *Pgrac100*, sáp nhập, vector cảm ứng IPTG.

Chỉ số phân loại: 2.8

1. Mở đầu

B. subtilis là loài vi khuẩn tiềm năng được sử dụng làm tế bào chủ trong sản xuất protein tái tổ hợp ở các lĩnh vực công nghiệp, nông nghiệp, y dược và thực phẩm [1]. Với tiềm năng ứng dụng lớn, hệ thống biểu hiện cho *B. subtilis* với các loại promoter dùng các chất cảm ứng khác nhau đã được nghiên cứu. Trong đó, chiến lược phát triển vector sáp nhập ra đời nhằm giải quyết vấn đề của vector sao chép độc lập như sự bất ổn trong cấu trúc vector hay sự lan truyền của các gen kháng kháng sinh [2, 3]. Tuy nhiên, chiến lược này còn gặp khó khăn do số lượng bản sao của gen mục tiêu trong tế bào giảm sau khi sáp nhập vào bộ gen của chủng chủ làm mức độ biểu hiện protein giảm [3, 4]. Do vậy, các promoter mạnh được định hướng sử dụng trong các hệ thống vector sáp nhập nhằm tăng cường biểu hiện protein mục tiêu. *Pgrac100* là một promoter mạnh được cải tiến từ promoter *Pgrac01* cho phép biểu hiện vượt mức protein ứng dụng trong sản xuất công nghiệp. Nghiên cứu trước đây đã

chứng minh *Pgrac100* trong hệ thống plasmid độc lập có thể biểu hiện protein BgaB trong tế bào *B. subtilis* lên đến 30% protein tổng số của tế bào [5]. Locus *lacA* là locus tiềm năng được sử dụng phổ biến để sáp nhập gen ngoại lai vào DNA bộ gen do mã hóa protein không thiết yếu cho tế bào vi khuẩn [2].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi thiết kế vector cảm ứng mang promoter *Pgrac100* có khả năng sáp nhập vào vị trí *lacA* của vi khuẩn *B. subtilis* và đánh giá khả năng điều hòa biểu hiện protein của chủng sáp nhập thông qua protein chỉ thị GFP.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Chủng vi sinh vật, plasmid và điều kiện nuôi cấy

Các chủng vi sinh vật, plasmid và các trình tự oligonucleotide sử dụng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

*Tác giả liên hệ: Email: ptptrang@hcmus.edu.vn

Development of expression vector with the *Pgrac100* promoter induced by IPTG and integrated *gfp⁺* gene into *Bacillus subtilis* genome at *lacA* locus

Thi Bích Phương Chu^{1,2,3}, Dục Hoàng Nguyễn^{1,2},
Thi Phương Trang Phan^{1,2,4*}

¹Center for Bioscience and Biotechnology,

University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City,
227 Nguyen Van Cu Street, Ward 4, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Vietnam National University - Ho Chi Minh City,

Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Faculty of Pharmacy, Ho Chi Minh City University of Technology,

475A Dien Bien Phu Street, Ward 25, Binh Thanh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Laboratory of Molecular Biotechnology,

University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City,

Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 1 June 2023; revised 24 June 2023; accepted 30 June 2023

Abstracts:

Bacillus subtilis is a prospective gram - positive bacterium that offers an opportunity for the production of recombinant proteins in the pharmaceutical, agricultural, industrial, and food industries. The goal of this study was to develop an integrative inducible expression system by incorporating the *Pgrac100* promoter into the *lacA* locus of the *B. subtilis* genome. The results showed that the *Pgrac100* promoter was able to strictly control the expression of the target protein, with induction factors of 3.3, 7.6, and 10.8 after 4 hours under induction with 0.01, 0.1, and 1 mM Isopropyl-β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG), respectively. The duration of induction and the concentration of IPTG had significant effects on the efficacy of target protein expression. Specifically, when induced with 0.1 mM IPTG after 4 hours, there was a significant rise in GFP expression, accounting for 13% of the total cellular protein. Our new vector system provided more options for the production of recombinant proteins in basic research and industrial applications.

Keywords: *Bacillus subtilis*, integrative, Isopropyl-β-D-1-thiogalactopyranoside-inducible vector, *lacA* locus, *Pgrac100*.

Classification number: 2.8

Bảng 1. Danh sách các chủng vi khuẩn, plasmid và oligonucleotide được sử dụng.

Chủng vi khuẩn	Nguồn/tài liệu tham khảo	Ghi chú
<i>E. coli</i> OmniMAX	Invitrogen	Dòng hoá plasmid
<i>B. subtilis</i> 1012	[6]	Tạo chủng sáp nhập
pHT01	[7]	Chủng đối chứng âm
pHT10- <i>gfp⁺</i>	[7]	Chủng đối chứng dương
HT2095	Tạo ra trong nghiên cứu này	Chủng <i>B. subtilis</i> sáp nhập tại vị trí <i>lacA</i>
Tên plasmid	Nguồn/tài liệu tham khảo	Ghi chú
pHT01	[7]	Đối chứng âm
pHT10- <i>gfp⁺</i>	[7]	Đối chứng dương
pHT1399	Từ bộ sưu tập của các tác giả	Vector khung, sáp nhập tại vị trí <i>lacA</i>
pHT2095	Tạo ra trong nghiên cứu này	Vector sáp nhập tại vị trí <i>lacA</i> , mang gen <i>gfp⁺</i>
Oligonucleotide	Mục đích sử dụng	
ON1354	PCR khuôn lạc	
ON1277	PCR khuôn lạc và nhân bản gen <i>gfp⁺</i>	
ON1280	Nhân bản gen <i>gfp⁺</i>	
ON562	Kiểm tra gen <i>gfp⁺</i> trong chủng sáp nhập	
ON384		
ON1442	Kiểm tra gen sáp nhập ở vị trí 3' <i>lacA</i>	
ON945		
ON946	Kiểm tra gen sáp nhập ở vị trí 5' <i>lacA</i>	
ON1441		

2.2. Dòng hoá vector pHT2095 chứa promoter *Pgrac100* có khả năng sáp nhập tại vị trí *lacA* của vi khuẩn *B. subtilis*

Vector pHT2095 được tạo ra bằng cách nối gen *gfp⁺* vào vector khung sườn pHT1399 tại vị trí cắt *Bam*HI/*Aat*II. Gen *gfp⁺* được thu nhận bằng phản ứng PCR sử dụng khuôn từ plasmid pHT10-*gfp⁺* [7] với cặp mồi ON1277-ON1280. Sản phẩm nối có chứa vector pHT2095 được biến nạp vào chủng *E. coli* OmniMAX, sàng lọc trên môi trường có bổ sung kháng sinh ampicillin (100 µg/ml) và PCR khuôn lạc với cặp mồi ON1277-ON1354. Khuẩn lạc cho kết quả dương tính được nuôi cấy, tách chiết bằng bộ kit GeneJET Plasmid Miniprep (Thermo Scientific) và trình tự gen được giải theo phương pháp Sanger cải tiến.

2.3. Tạo chủng *B. subtilis* sáp nhập

Vector pHT2095 được biến nạp vào tế bào vi khuẩn *B. subtilis* 1012 để tạo chủng sáp nhập HT2095. Vi khuẩn được nuôi cấy ở 37°C trong 10 ml môi trường LB chứa kháng sinh neomycin (10 µg/ml) và 100 µl ethylene glycol tetraacetic acid (EGTA) 0,1 M và lắc 50 vòng/phút trong 2 giờ. Thêm 10 µg vector pHT2095 vào và nuôi cấy lắc ở 200 vòng/phút ở 37°C trong 2 giờ. Vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường rắn LB có bổ sung kháng sinh neomycin (10 µg/ml) và ủ qua đêm ở 37°C. Các khuẩn lạc đặc trưng cho *B. subtilis* được chọn để thực hiện PCR khuẩn lạc với 3 cặp mồi ON1442-ON945; ON562-ON384; ON946-ON1441 để kiểm tra sự sáp nhập.

2.4. Biểu hiện protein GFP của chủng *B. subtilis* sáp nhập

Vi khuẩn *B. subtilis* được nuôi cấy ở 37°C trên môi trường rắn LB có bổ sung neomycine (10 µg/ml) và IPTG ở các nồng độ khác nhau (0, 0,1 và 1 mM). Sau 12 giờ, khả năng biểu hiện GFP của khuẩn lạc được đánh giá thông qua sự phát sáng dưới tia UV ở bước sóng 320 nm.

Vi khuẩn *B. subtilis* được nuôi cấy ở 37°C trong môi trường lỏng LB có bổ sung kháng sinh neomycine (10 µg/ml) và IPTG ở các nồng độ khác nhau từ 0 đến 2,0 mM. Thu mẫu ở các thời điểm 0 giờ - trước cảm ứng và 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 và 24 giờ - sau cảm ứng, sinh khối tế bào được thu nhận để kiểm tra sự biểu hiện protein GFP bằng cách đo huỳnh quang ở bước sóng 470 nm. Sinh khối tế bào được huyền phù trong 500 µl dung dịch đệm PBS (25 mM SDS, 250 mM sucrose) chứa 200 µg/ml lysozyme và ủ ở 37°C trong 30 phút. Ly tâm ở tốc độ 13.000 vòng/phút trong 5 phút và thu dịch nổi. Hút 50 µl dịch nổi vào đĩa NuncTM 384 để đo hoạt tính GFP bằng máy đọc đĩa CLARIOstar Plus - BMG LabTech ở bước sóng kích thích 470±8 nm và bước sóng phát quang 515±8 nm. Hoạt tính phát quang của GFP được tính theo công thức: dGFP/OD₆₀₀. Trong đó, dGFP: đơn vị huỳnh quang tương đối của mẫu (RFU - The relative fluorescent unit) và OD₆₀₀: mật độ quang học của mẫu [8]. Bên cạnh đó, mức độ biểu hiện GFP trong tổng số protein tế bào được xác định bằng kỹ thuật điện di SDS-PAGE [9] và tính toán bằng phần mềm AlphaEaseFC 4.0.

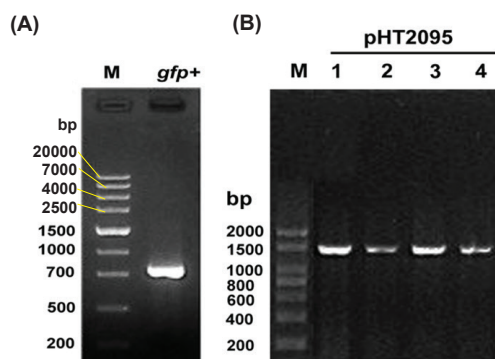
2.5. Phương pháp thống kê

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần trong cùng điều kiện. Đơn vị hoạt tính GFP của từng mẫu được biểu thị dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn của đơn vị huỳnh quang tương đối (RFU) từ 3 thí nghiệm. Sử dụng phần mềm Excel để tính toán và xử lý số liệu thu được.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Dòng hóa vector pHT2095 chứa promoter *Pgrac100* có khả năng sáp nhập tại vị trí *lacA* của vi khuẩn *B. subtilis*

Gen mục tiêu *gfp+* được thu nhận bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu ON1277-ON1280 từ khuôn pHT10-*gfp+* mang trình tự nhận biết của 2 enzyme cắt giới hạn *Bam*HI và *Aat*II. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 2%, kết quả cho thấy có 1 vạch sáng có kích thước tương ứng với kích thước lý thuyết là 748 bp (hình 1A). Như vậy, gen mục tiêu đã được thu nhận thành công. Sản phẩm PCR được nối vào plasmid khung sườn pHT1399 tại vị trí *Bam*HI và *Aat*II. Chủng *E. coli* OmniMAX chứa plasmid tái tổ hợp pHT2095 phát triển được trên môi trường LB chứa kháng sinh ampicillin (100 mg/ml) được kiểm tra bằng PCR khuẩn lạc. Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy, cả 4 khuẩn lạc *E. coli* được chọn để sàng lọc đều xuất hiện vạch sáng với kích thước đúng như lý thuyết là 1417 bp (hình 1B). Khuẩn lạc số 1 được chọn để tách plasmid và giải trình tự bởi Công ty Macrogen. Inc (Hàn Quốc). Kết quả cho thấy có sự tương đồng 100% của vector dòng hóa so với trình tự lý thuyết (kết quả không trình bày ở đây). Có thể kết luận đã tạo dòng thành công vector tái tổ hợp pHT2095 mang promoter *Pgrac100* với gen chỉ thị *gfp+*.

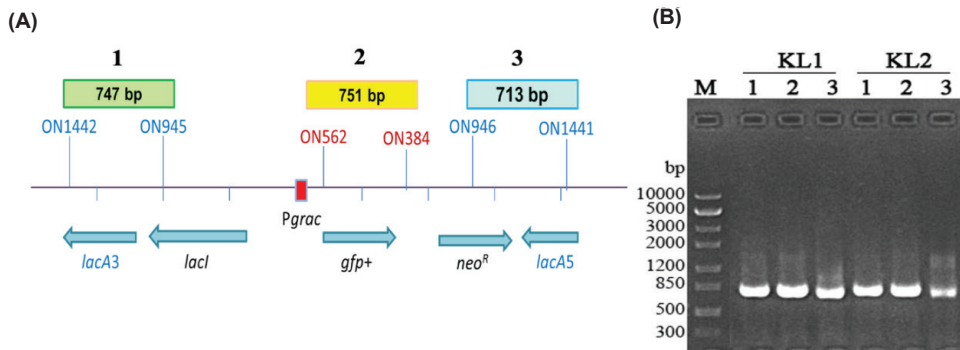


Hình 1. Điện di trên gel agarose 2%. (A) Sản phẩm PCR nhân bản gen *gfp+* (748 bp); **(B)** Sản phẩm PCR từ 4 khuẩn lạc (1417 bp). M: thang DNA chuẩn; 1, 2, 3, 4: mã khuẩn lạc.

3.2. Tạo vi khuẩn *B. subtilis* sáp nhập chứa vector pHT2095

Plasmid pHT2095 được biến nạp vào tế bào *B. subtilis* 1012 bằng phương pháp biến nạp tự nhiên. Các khuẩn lạc *B. subtilis* có mang vector tái tổ hợp đã được sáp nhập vào bộ gen được đặt tên là HT2095. Vi khuẩn sáp nhập có khả năng phát triển trên đĩa môi trường chứa kháng sinh neomycin. Phương pháp PCR khuẩn lạc sử dụng 3 cặp mồi đặc hiệu để kiểm tra sự sáp nhập tại 2 vị trí của vi khuẩn tái tổ hợp và kiểm tra gen mục tiêu sáp nhập *gfp+* được thể hiện trên hình

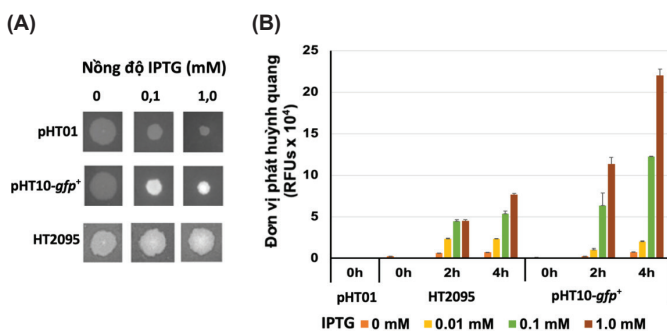
2A. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose cho thấy, cả 2 khuẩn lạc *B. subtilis* được chọn đều cho 3 vạch sáng (hình 2B), chứng tỏ có sự sáp nhập gen *gfp*⁺ tại vùng 3' và 5' của locus *lacA*. Như vậy, chủng *B. subtilis* sáp nhập HT2095 đã được tạo thành công.



Hình 2. PCR khuẩn lạc *B. subtilis*. (A) Sơ đồ vị trí bắt cặp của mỗi; (B) Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose từ 2 khuẩn lạc được nuôi cấy. M: thang DNA chuẩn; KL1, KL2: khuẩn lạc 1, 2; 1, 2, 3: số thứ tự cặp mỗi sử dụng.

3.3. Biểu hiện protein GFP của chủng *B. subtilis* sáp nhập HT2095

Sự biểu hiện protein GFP của các chủng vi khuẩn được khảo sát trên môi trường rắn LB có bổ sung IPTG thông qua độ sáng của khuẩn lạc dưới tia UV. Kết quả khảo sát cho thấy, khuẩn lạc *B. subtilis* HT2095 có khả năng phát huỳnh quang tăng dần theo nồng độ IPTG cảm ứng từ 0 đến 1 mM, độ sáng mạnh nhất được ghi nhận ở nồng độ IPTG 1 mM. Chủng chứng dương pHT10-*gfp*⁺ có khả năng phát sáng mạnh dưới điều kiện cảm ứng IPTG, trong khi chủng chứng âm pHT01 không có khả năng phát huỳnh quang (hình 3A). Điều này chứng tỏ độ sáng của khuẩn lạc là do GFP được biểu hiện ở các chủng *B. subtilis* tái tổ hợp mang gen *gfp*⁺. Như vậy, chủng HT2095 sáp nhập đã biểu hiện thành công protein mục tiêu GFP trên môi trường rắn.



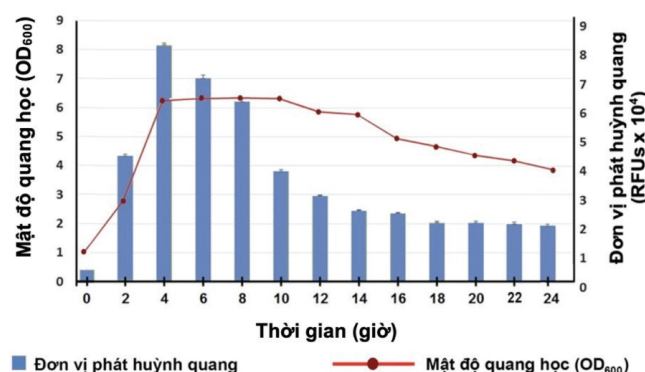
Hình 3. Sự biểu hiện GFP của các chủng *B. subtilis* khảo sát. (A) Tín hiệu huỳnh quang trên môi trường rắn; (B) Hoạt tính GFP thu được trên môi trường lỏng.

Kết quả đo hoạt tính GFP trong môi trường lỏng (hình 3B) phù hợp với kết quả khảo sát biểu hiện GFP trên môi trường rắn. Promoter *Pgrac*100 sau khi sáp nhập vào bộ gen *B. subtilis* có thể kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein mục tiêu, thể hiện qua sự tăng tín hiệu huỳnh quang đáng kể ở chủng khảo sát HT2095 khi tăng nồng độ chất cảm ứng IPTG từ 0 đến 1 mM. Khi cảm ứng với các nồng độ IPTG khác nhau (0, 0,01, 0,1 và 1 mM) thì tỷ lệ cảm ứng của chủng HT2095 thu được lần lượt là 3,8, 6,5, 8,2 sau 2 giờ và 3,3, 7,6 và 10,8 sau 4 giờ. Kết quả này thấp hơn so với chủng đối chứng pHT10-*gfp*⁺ chứa plasmid độc lập với tỷ lệ cảm ứng lần lượt là 4,03, 25,4 và 45,6 ở thời điểm 2 giờ và 2,8, 17,2 và 31,1 ở thời

điểm 4 giờ so với mẫu không cảm ứng (hình 3B). Ngoài ra, mức độ phát huỳnh quang của chủng HT2095 thu được cao nhất ở thời điểm 4 giờ sau cảm ứng ở nồng độ IPTG 1 mM là 76,780±1,178 RFUs, thấp hơn khoảng 3 lần khi so với chủng đối chứng dương pHT10-*gfp*⁺ mang plasmid độc lập pHT10-*gfp*⁺. Như vậy, mặc dù promoter *Pgrac*100 là promoter mạnh hơn *Pgrac*01 3 lần [5], nhưng khi sáp nhập vector chứa *Pgrac*100 vào bộ gen của *B. subtilis* cho mức độ biểu hiện protein vẫn thấp hơn, điều này là do sự khác biệt về số lượng bản sao gen mục tiêu. Trong đó, tế bào chủ pHT10-*gfp*⁺ chứa 4-6 bản sao của gen *gfp*⁺ do plasmid độc lập pHT10-*gfp*⁺ được thiết kế từ plasmid tự nhiên pBS72 và plasmid này tồn tại ổn định trong tế bào vi khuẩn *B. subtilis* với số lượng 4-6 bản sao [10]; còn chủng HT2095 chỉ có duy nhất một bản sao *gfp*⁺ được sáp nhập vào bộ gen tại vị trí *lacA*. Sự tăng nồng độ IPTG thúc đẩy hoạt động của promoter nên hoạt động phiên mã tăng; lượng mRNA mã hóa cho protein mục tiêu tăng kéo theo sự tăng số lượng protein có hoạt tính. Khi lượng IPTG đã đáp ứng đủ cho hoạt động cảm ứng gen, dù có tăng thêm nồng độ chất cảm ứng thì cũng không làm tăng số lượng protein mục tiêu. Kết quả này phù hợp với cơ sở lý thuyết và nghiên cứu trước đây thực hiện trên các vector mang promoter *Pgrac*01 và *Pgrac*100 [5]. Như vậy, hệ thống vector sáp nhập cảm ứng IPTG pHT2095 có khả năng kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện protein mục tiêu trong vi khuẩn *B. subtilis*.

3.4. Ảnh hưởng của thời gian cảm ứng đến sự biểu hiện GFP của chủng *B. subtilis* HT2095

Trong thí nghiệm này, chủng *B. subtilis* HT2095 được nuôi cấy ở 37°C trong môi trường lỏng LB có bổ sung 1 mM IPTG. Sinh khối tế bào ở các thời điểm 0 giờ (trước cảm ứng) và 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22 và 24 giờ (sau cảm ứng) được thu nhận để đo mức độ phát huỳnh quang (RFUs). Đồng thời, giá trị OD₆₀₀ của mẫu cấy ở thời điểm khác nhau cũng được ghi nhận để đánh giá ảnh hưởng của thời gian cảm ứng IPTG đối với sức sống của tế bào. Số liệu thể hiện ở hình 4 cho thấy, hoạt tính GFP của chủng khảo sát thay đổi theo thời gian cảm ứng. Từ thời điểm 0 giờ cho tới 4 giờ sau cảm ứng, hoạt tính của các mẫu có xu hướng tăng và đạt tối đa ở 4 giờ với hoạt tính gấp gần 22 lần so với trước khi cảm ứng. Tuy nhiên, khi tiếp tục kéo dài thời gian nuôi cấy từ 6 đến 24 giờ, hoạt tính GFP của các mẫu khảo sát giảm dần. Sự giảm hoạt tính này có thể liên quan đến mật độ tế bào và lượng protein biểu hiện. Do vi khuẩn *B. subtilis* biểu hiện GFP nội bào, khi mật độ tế bào tăng theo thời gian thì lượng GFP và mRNA mã hóa cho protein GFP cũng sẽ được nhân lên và chia cho thể hệ tế bào sau. Tuy nhiên, khi kéo dài thời gian nuôi cấy, lượng mRNA mã hóa cho GFP có thể bị phân rã dẫn đến sự sản xuất protein mục tiêu bị giảm theo thời gian nuôi cấy. Ngoài ra, kết quả OD₆₀₀ (hình 4) cũng cho thấy, ở thời điểm 4 giờ, vi khuẩn tái tổ hợp bắt đầu đã vượt qua pha log và bước

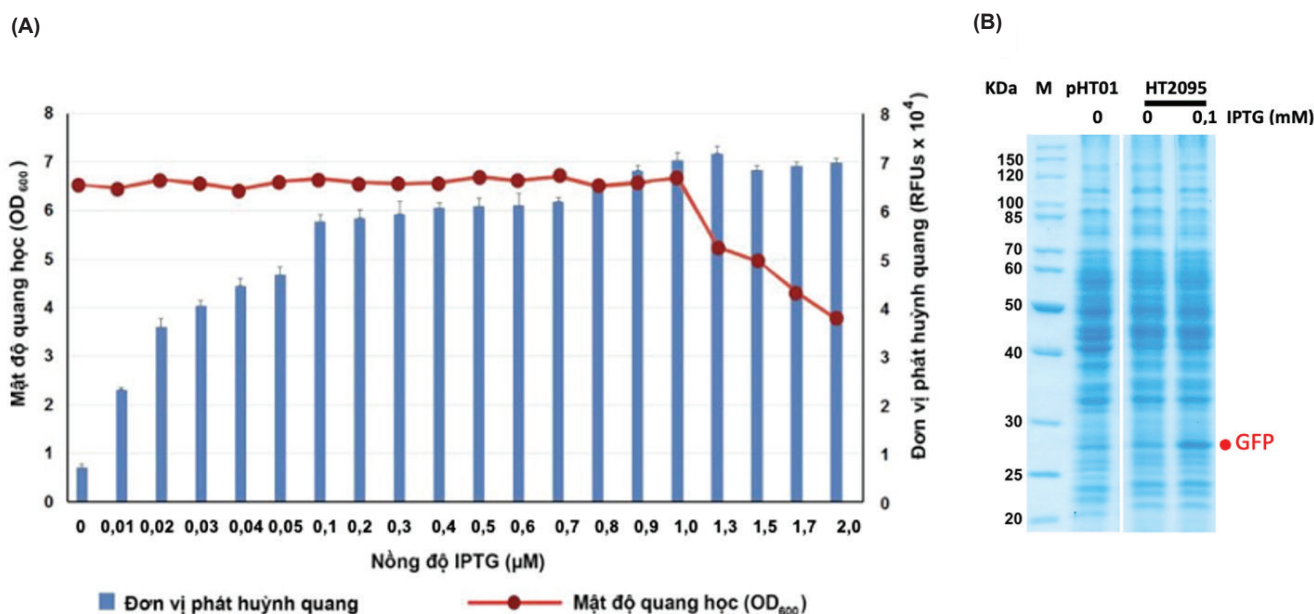


Hình 4. Sự sinh trưởng và sản xuất protein GFP của chủng *B. subtilis* HT2095 theo thời gian nuôi cấy.

vào đầu pha cân bằng. Đây là giai đoạn ổn định nhất của hệ nuôi cấy, số lượng tế bào đạt trạng thái cực đại và sức sống tế bào ở trạng thái tối ưu. Như vậy, thời gian cảm ứng tối ưu cho sự biểu hiện protein GFP trong môi trường lỏng của vi khuẩn *B. subtilis* cảm ứng sáp nhập HT2095 là 4 giờ. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi trước đó về ảnh hưởng của thời gian cảm ứng đối với sự sản xuất protein mục tiêu GFP trong vi khuẩn *B. subtilis* sáp nhập cảm ứng chứa promoter P_{grac212} [4].

3.5. Ảnh hưởng của nồng độ IPTG đến sự biểu hiện GFP của chủng *B. subtilis* HT2095

Trong thí nghiệm này, vi khuẩn *B. subtilis* HT2095 được nuôi cấy ở 37°C trong môi trường lỏng LB có bổ sung



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ IPTG đối với chủng *B. subtilis* HT2095 nuôi cấy. (A) Sự sinh trưởng và sản xuất protein GFP trong điều kiện cảm ứng ở các nồng độ IPTG khác nhau; (B) Phân tích protein thu được từ chủng HT2095 khi cảm ứng với 0,1 mM IPTG bằng SDS-PAGE.

kháng sinh neomycine (10 µg/ml) và IPTG ở các nồng độ khác nhau từ 0 tới 2,0 mM. Kết quả trong hình 5A cho thấy, chủng *B. subtilis* HT2095 có xu hướng tăng mức độ biểu hiện GFP khi tăng nồng độ chất cảm ứng. Cụ thể, hoạt tính GFP thu được trong điều kiện cảm ứng 0,1 và 0,2 mM IPTG lần lượt cao gấp 7,5 và 8,5 lần so với điều kiện không cảm ứng (0 mM). Tuy nhiên, khi tiếp tục gia tăng nồng độ IPTG đến 1,0 mM thì giá trị GFP (RFUs) chỉ gấp 10 lần so với điều kiện không cảm ứng. Ở nồng độ IPTG lớn hơn 1,0 mM (1,3, 1,5, 1,7 và 2,0 mM) thì hoạt tính GFP và sức sống tế bào có sự suy giảm (hình 5A). Điều này có thể giải thích do IPTG là chất độc đối với tế bào vi khuẩn, nồng độ IPTG cao trong môi trường nuôi cấy có tác động xấu đến sức sống của tế bào [4, 11]. Sự biểu hiện protein GFP của chủng *B. subtilis* HT2095 sáp nhập mang promoter *Pgrac100* và gen mục tiêu *gfp+* đạt hiệu quả cao ở điều kiện cảm ứng với 0,1 mM IPTG sau 4 giờ nuôi cấy với lượng protein GFP chiếm 13% protein tổng số tế bào (hình 5B), kết quả này phù hợp với các nghiên cứu liên quan đến phát triển hệ thống sáp nhập mang promoter *Pgrac100* trước đó [3, 8]. Tương tự, hệ thống vector cảm ứng chứa promoter *Pgrac100* sáp nhập tại vị trí *amyE* có khả năng kiểm soát hiệu quả sự biểu hiện protein mục tiêu trong vi khuẩn *B. subtilis*, với lượng protein BgaB và GFP chiếm lần lượt 15 và 14% protein tổng số tế bào [4].

4. Kết luận

Hệ thống vector pHT2095 cảm ứng IPTG mang promoter *Pgrac100* được sáp nhập vào bộ gen của vi khuẩn *B. subtilis* tại vị trí *lacA* có khả năng kiểm soát chặt chẽ sự biểu hiện hiệu quả protein mục tiêu GFP trong tế bào ở các nồng độ IPTG khác nhau. Sau 4 giờ nuôi cấy cảm ứng trong môi trường LB lỏng với 0,1 mM IPTG, vi khuẩn *B. subtilis* sản xuất lượng GFP đạt 13% protein tổng số tế bào. Hệ thống vector sáp nhập có tiềm năng ứng dụng trong nghiên cứu cơ bản và sản xuất công nghiệp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED) thông qua đề tài 106-NN.02-2015.24. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L. Westers, H. Westers, W.J. Quax (2004), “*Bacillus subtilis* as cell factory for pharmaceutical proteins: A biotechnological approach to optimize the host organism”, *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Mol. Cell. Res.*, **1694**(1-3), pp.299-310, DOI: 10.1016/j.bbamer.2004.02.011.
- [2] B. Härtl, W. Wehrl, T. Wiegert, et al. (2001), “Development of a new integration site within the *Bacillus subtilis* chromosome and construction of compatible expression cassettes”, *J. Bacteriol.*, **183**(14), pp.2696-2699, DOI: 10.1128/JB.183.8.2696-2699.2001.
- [3] D.T.M. Tran, T.T.P. Phan, T.T.N. Doan, et al. (2020), “Integrative expression vectors with *Pgrac* promoters for inducer-free overproduction of recombinant proteins in *Bacillus subtilis*”, *Biotechnol. Rep.*, **28**, DOI: 10.1016/j.btre.2020.e00540.
- [4] P.T.B. Chu, T.T.P. Phan, T.T.T. Nguyen, et al. (2023), “Potent IPTG-inducible integrative expression vectors for production of recombinant proteins in *Bacillus subtilis*”, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **39**(6), DOI: 10.1007/s11274-023-03566-8.
- [5] T.T.P. Phan, L.T. Tran, W. Schumann, et al. (2015), “Development of *Pgrac100*-based expression vectors allowing high protein production levels in *Bacillus subtilis* and relatively low basal expression in *Escherichia coli*”, *Microb. Cell Factories*, **14**(72), DOI: 10.1186/s12934-015-0255-z.
- [6] H. Saito, T. Shibata, T. Ando (1979), “Mapping of genes determining nonpermissiveness and host-specific restriction to bacteriophages in *Bacillus subtilis* Marburg”, *Mol. Gen. Genet.*, **170**(2), pp.117-122, DOI: 10.1007/BF00337785.
- [7] H.D. Nguyen, T.T.P. Phan, W. Schumann (2007), “Expression vectors for the rapid purification of recombinant proteins in *Bacillus subtilis*”, *Curr. Microbiol.*, **55**(2), pp.89-93, DOI: 10.1007/s00284-006-0419-5.
- [8] D.T.M. Tran, T.T.P. Phan, T.K. Huynh, et al. (2017), “Development of inducer-free expression plasmids based on IPTG-inducible promoters for *Bacillus subtilis*”, *Microb. Cell Factories*, **16**(130), DOI: 10.1186/s12934-017-0747-0.
- [9] T. Phan, P. Huynh, T. Truong, et al. (2017), “A generic protocol for intracellular expression of recombinant proteins in *Bacillus subtilis*”, *Heterologous Gene Expression in E. coli*, Springer, pp.325-334, DOI: 10.1007/978-1-4939-6887-9_21.
- [10] M.A. Titok, J. Chapuis, Y.V. Selezneva, et al. (2003), “*Bacillus subtilis* soil isolates: Plasmid replicon analysis and construction of a new theta-replicating vector”, *Plasmid*, **49**(1), DOI: 10.1016/S0147-619X(02)00109-9.
- [11] P. Dvorak, L. Chrast, P.I. Nikel, et al. (2015), “Exacerbation of substrate toxicity by IPTG in *Escherichia coli* BL21(DE3) carrying a synthetic metabolic pathway”, *Microb. Cell Factories*, **14**, DOI: 10.1186/s12934-015-0393-3.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI BÁO ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài báo gửi đăng trên Tạp chí phải là bài báo nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài báo 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 báo gửi qua Hệ thống gửi bài trực tuyến tại địa chỉ https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/about/submissions hoặc có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam) hoặc qua hòm thư điện tử: khoahocvacaongnghevietnam@most.gov.vn.

Cấu trúc của các loại bài báo khác nhau có thể thay đổi tùy theo loại hình nghiên cứu và nội dung của bài báo. Sau đây là chi tiết các thành phần chính của bài báo.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, in đậm, 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 (số nhà, tên đường, phường, quận, thành phố, quốc gia) bằng 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 khóa bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

1. Đặt vấn đề/Dẫn nhập/Mở đầu

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.

2. Đối tượng/Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

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...

3. 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.

Phân kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

4. 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.

5. 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.

LỜI CẢM ƠN (nếu có)

Tác giả cảm ơn các tổ chức/cá nhân đã tài trợ kinh phí hoặc hỗ trợ cho nghiên cứu.

Phụ lục (nếu có)

Đăng tải bảng số liệu, thông tin để hỗ trợ thêm cho nội dung bài báo.

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 chúng 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)**, trang/số trang/trang đầu-trang cuối (nếu có), số DOI (nếu có), URL (nếu có), ngày truy cập (ghi rõ ngôn ngữ nào nếu không phải tài liệu bằng tiếng Anh).

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả (chữ viết tắt đưa lên trước) 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... (chỉ viết hoa chữ cái đầu, trừ tên riêng và sau dấu hai chấm), viết trong ngoặc kép.

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*), viết hoa chữ cái đầu tiên của mỗi từ chính.

Tập(số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang/số trang/trang đầu-trang cuối phản ánh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng tác giả đầu tiên và cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a, 1986b...).

Nếu có một số tài liệu tham khảo có cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: A. Amber (1982, p.39).

Chi tiết vui lòng xem thêm tại: https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/quy-dinh-bai-viet.

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.

Quy định này áp dụng từ năm 2022 trở đi.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. 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
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. 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 66 - Number 1 - January 2024

Nghiên cứu chuyển pha smectic - đẳng hướng của tinh thể lỏng.

Nguyễn Thị Phương Thủy, Nguyễn Thị Vân Anh, Ngô Văn Thanh

Phân hủy các hợp chất chống cháy cơ phốt pho bởi tổ hợp các chủng vi khuẩn phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội.

Nguyễn Thị Lan Anh, Trần Thị Thu Lan, Phạm Thị Phương, Trần Thị Thu Hiền, Đào Hải Yến

Nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của tinh dầu lá loài Mộc hương balansae (*Aristolochia balansae* Franch.).

Lưu Đàm Ngọc Anh, Bùi Văn Hương, Đỗ Văn Trường, Nguyễn Thị Kiều Oanh

Tuyển trùng ký sinh thực vật ghi nhận trên cây Lan hài đài cuốn *Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe 1896.

Lê Thị Mai Linh, Nguyễn Thị Duyên, Nguyễn Hữu Tiền, Bùi Văn Thanh, Nguyễn Văn Sinh, Trần Văn Tiến, Trịnh Quang Pháp

Ứng dụng chỉ thị mã vạch DNA-ITS2 để định danh một số mẫu dược liệu.

Nguyễn Tiến Dũng, Trần Thị Thu Hà, Nguyễn Đức Huy, Trịnh Ngọc Ái, Nguyễn Phi Hùng

Phân tích vai trò của gen *HSC70* đến sinh trưởng và phát triển của cây cà chua.

Vũ Tuấn Nam, Đào Quang Hà, Nguyễn Nhật Linh, Lưu Hàn Ly, Hà Hồng Hạnh, Huỳnh Thị Thu Huệ, Lê Thị Thu Hiền

Sự tích lũy thủy ngân trong cơ cá Dia nâu (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) theo tuổi và mùa ở vùng ven biển tỉnh Quảng Bình.

Võ Văn Thiệp, Lê Thị Thu Phương, Nguyễn Thị Hương Bình

Nghiên cứu sản xuất và thử hoạt tính kháng nấm *Phytophthora* spp. gây thối quả và *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư của chế phẩm sinh học nhựa dầu nghệ kết hợp với nano bạc và chitosan.

Cao Đức Danh, Lê Thế Tâm, Thái Văn Bình, Trần Thị Ngân, Lê Đăng Quang, Hồ Đình Quang, Nguyễn Cao Cường, Nguyễn Thị Hà, Lê Thị Thu Hiệp, Trần Phương Chi, Dương Thị Ngân

Ảnh hưởng của polysiloxane tới tính chất chống thấm và cơ tính của vải cotton.

Nguyễn Vũ Việt Linh, Phạm Thị Hằng, Huỳnh Đại Phú

Nghiên cứu tổng hợp nano kẽm borate và đánh giá khả năng chống cháy của tổ hợp nano kẽm borate/phosphor đỏ/graphite giãn nở trên nền nhựa HDPE.

Nguyễn Thị Hạnh, Hắc Thị Nhung, Hoàng Văn Toàn, Lê Nhật Thùy Giang, Hoàng Mai Hà, Nguyễn Văn Tuyền

Tính chất quang của vật liệu Sr_2TiO_4 pha tạp ion Eu^{3+} chế tạo bằng phương pháp phản ứng pha rắn.

Chu Việt Hà, Chu Thị Anh Xuân, Lô Thị Huế, Bùi Minh Quý, Khiếu Thị Tâm, Nguyễn Phương Thảo, Hồ Kim Dân, Lê Tiến Hà

Xác nhận phương pháp xét nghiệm glucose máu trên máy đường huyết tại chỗ (POCT) Accu-chek Inform II.

Nguyễn Thị Ngọc Lan, Lê Hoàng Bích Nga, Trần Thanh Huyền, Trần Thị Thúy Quỳnh

Phát triển vector biểu hiện mang promoter *Pgrac100* được cảm ứng bởi IPTG và sáp nhập gen *gfp+* vào bộ gen vi khuẩn *Bacillus subtilis* tại locus *lacA*.

Chu Thị Bích Phượng, Nguyễn Đức Hoàng, Phan Thị Phượng Trang

1 Phase transitions of smectic-isotropic phase in liquid crystals.

Thị Phương Thủy Nguyen, Thị Vân Anh Nguyen, Văn Thanh Ngo

8 Degradation of organophosphate flame retardants by a consortium of bacterial strains isolated from the Tô Lịch river, Hanoi.

Thị Lan Anh Nguyen, Thị Thu Lan Tran, Thị Phương Phạm, Thị Thu Hiền Tran, Hai Yen Dao

14 Chemical components and antimicrobial activity of essential oil from leaf of *Aristolochia balansae* Franch.

Dam Ngọc Anh Lưu, Văn Hương Bùi, Văn Trường Đỗ, Thị Kiều Oanh Nguyễn

19 Plant-parasitic nematodes associated with *Paphiopedilum appletonianum* (Gower) Rolfe 1896.

Thị Mai Linh Lê, Thị Duyên Nguyễn, Hữu Tiền Nguyễn, Văn Thanh Bùi, Văn Sinh Nguyễn, Văn Tiến Trần, Quang Pháp Trịnh

24 Application of DNA barcode ITS2 to identify herbal medicinal materials.

Tiến Dũng Nguyễn, Thị Thu Hà Trần, Đức Huy Nguyễn, Ngọc Ái Trịnh, Phi Hùng Nguyễn

29 Evaluation of the involvement of *HSC70* gene in the growth and development of tomato.

Tuan Nam Vũ, Quang Hà Đào, Nhật Linh Nguyễn, Hàn Ly Lưu, Hồng Hạnh Hà, Thị Thu Huệ Huỳnh, Thị Thu Hiền Lê

36 Accumulation of mercury in muscle of orange-spotted spinefoot (*Siganus guttatus* Bloch, 1787) by age and season in the coastal Quang Binh.

Văn Thiệp Võ, Thị Thu Phương, Thị Hương Bình Nguyễn

42 Research on production and testing of antifungal activity *Phytophthora* spp. causing fruit rot and *Colletotrichum* spp. causing anthracnose of silver nanoparticles, chitosan and turmeric resin bioproducts.

Đức Danh Cao, Thế Tâm Lê, Văn Bình Thái, Thị Ngân Trần, Đăng Quang Lê, Đình Quang Hồ, Cường Cao Nguyễn, Thị Hà Nguyễn, Thị Thu Hiệp Lê, Phương Chi Trần, Thị Ngân Dương

50 The influence of polysiloxane on the mechanical properties and water repellency of cotton fabrics.

Vũ Việt Linh Nguyễn, Thị Hằng Phạm, Đại Phú Huỳnh

56 Preparation of nano zinc borate and investigation of flame-retardancy of ternary combination nano zinc borate/red phosphorus/expandable graphite on HDPE.

Thị Hạnh Nguyễn, Thị Nhung Hắc, Văn Toàn Hoàng, Nhật Thùy Giang Lê, Mai Hà Hoàng, Văn Tuyền Nguyễn

62 Optical properties of Eu^{3+} -doped Sr_2TiO_4 phosphor powder synthesised by solid-phase reaction method.

Việt Hà Chu, Thị Anh Xuân Chu, Thị Huệ Lo, Minh Quý Bùi, Thị Tâm Khiếu, Phương Thảo Nguyễn, Kim Dân Hồ, Tiến Hà Lê

68 Validation of the blood glucose testing method on the Accu-chek Inform II.

Thị Ngọc Lan Nguyễn, Hoàng Bích Nga Lê, Thanh Huyền Trần, Thị Thúy Quỳnh Trần

75 Development of expression vector with the *Pgrac100* promoter induced by IPTG and integrated *gfp+* gene into *Bacillus subtilis* genome at *lacA* locus.

Thị Bích Phượng Chu, Đức Hoàng Nguyễn, Thị Phượng Trang Phan