

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

TẬP 67, SỐ 1, THÁNG 1 NĂM 2025
VOLUME 67, NUMBER 1, JANUARY 2025

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

Phó Tổng biên tập

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

Ban biên tập

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

Lê Thị Tuyết Hạnh - 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 Dac 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 Nuan - 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

Deputy Editor-in-Chief

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

Managing Editors

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

Le Thi Tuet Hanh - 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

Ứng dụng học máy nhận dạng tướng đất đá khu vực bồn trũng An Châu

Doãn Ngọc San^{1*}, Nguyễn Văn Thắng², Hoàng Hữu Hiệp², Nguyễn Anh Hào², Trần Thị Oanh¹, Nguyễn Thị Minh Hồng³

¹Trường Đại học Dầu khí Việt Nam, 762 Cách Mạng Tháng Tám, phường Long Toàn, TP Bà Rịa, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu, Việt Nam

²Công ty TNHH MTV Dầu khí Sông Hồng, 117 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Mỏ - Địa chất, 18 phố Viên, phường Đức Thắng, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 22/2/2023; ngày chuyển phân biên 24/2/2023; ngày nhận phân biên 7/3/2023; ngày chấp nhận đăng 11/3/2023

Tóm tắt:

Bồn trầm tích An Châu (bồn An Châu) là một cấu trúc địa chất kéo dài theo phương Tây Bắc - Đông Nam, phân bố ở vùng Đông Bắc Việt Nam. Bồn An Châu được cho là bồn có quy mô lớn và có tiềm năng dầu khí. Thực tế này cho thấy, nhiều khả năng sẽ phát hiện được các tích tụ dầu khí trong bồn An Châu thuộc địa phận của Việt Nam. Mặc dù tiềm năng dầu khí của bồn này được nhận định từ rất sớm, nhưng vì nhiều lý do mà cho đến nay công tác điều tra, khảo sát địa chất và thăm dò ở khu vực bồn An Châu còn rất sơ sài, chưa đáp ứng được các yêu cầu của công tác tìm kiếm - thăm dò dầu khí. Việc ứng dụng mô hình học máy (machine learning - ML) vào nhận dạng tướng đá là một phương pháp mới giúp giảm thiểu thời gian xử lý, tổng hợp cơ sở dữ liệu về cả số lượng và định dạng, phát hiện các mối quan hệ ẩn sâu giữa các lớp thông tin nhận dạng. Mục tiêu chính của nghiên cứu này là nhận dạng tướng đất đá khu vực bồn An Châu từ phần số liệu đầy đủ đã được huấn luyện bởi cấu trúc mạng cây quyết định (DT) kết hợp thuật toán gradient boosting (XGB) để đánh giá cấu trúc và xác định tiềm năng dầu khí khu vực này. Điều kiện tiên quyết để nâng cao độ chính xác của học máy là phải làm giàu cơ sở dữ liệu thông qua tích hợp số liệu địa chất - địa chấn và tính toán thêm các thuộc tính để xây dựng “mô hình học” - huấn luyện ML và sử dụng kết quả huấn luyện đó để nhận dạng tướng đất đá trong khu vực bồn An Châu.

Từ khóa: cây quyết định, cơ sở dữ liệu địa chất - địa vật lý, học máy, trí tuệ nhân tạo.

Chỉ số phân loại: 1.2, 1.8, 2.1

Application of machine learning for facies recognition in An Chau basin

Ngoc San Doan^{1*}, Van Thang Nguyen², Huu Hiep Hoang², Anh Hao Nguyen², Thi Oanh Tran¹, Thi Minh Hong Nguyen³

¹Petroleum Vietnam University (PVU), 762 Cach Mang Thang Tam Street, Long Toan Ward, Ba Ria City, Ba Ria - Vung Tau Province, Vietnam

²PVEP Song Hong, 117 Tran Duy Hung Street, Trung Hoa Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³Hanoi University of Mining and Geology, 18 Vien Street, Duc Thang Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

Received 22 February 2023; revised 7 March 2023; accepted 11 March 2023

Abstract:

The An Chau basin (An Chau basin) is a geological structure extending in a northwest-southeast direction, located in the northeastern region of Vietnam. The An Chau basin is considered a large-scale basin with significant petroleum potential. This fact suggests a high likelihood of discovering hydrocarbon accumulations within the An Chau basin within Vietnam's territory. Although the petroleum potential of this basin was identified early, for various reasons, geological surveys and exploration activities in the An Chau basin remain rudimentary and have not yet met the requirements for effective petroleum exploration and production. The application of machine learning (ML) models to lithofacies identification offers a novel approach to reducing processing time, consolidating large and diverse datasets, and uncovering hidden relationships among layers of identification information. The primary objective of this study is to identify lithofacies in the An Chau basin using comprehensive datasets trained with a decision tree (DT) structure combined with a gradient boosting algorithm (XGB) to evaluate the structure and assess the petroleum potential of this area. A prerequisite for improving the accuracy of machine learning is enriching the database through the integration of geological and seismic data, along with the calculation of additional attributes to build the “learning model” training the ML system and applying the trained model to identify lithofacies in the An Chau basin.

Keywords: artificial intelligence, decision tree, geophysical database, machine learning.

Classification numbers: 1.2, 1.8, 2.1

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

1. Đặt vấn đề

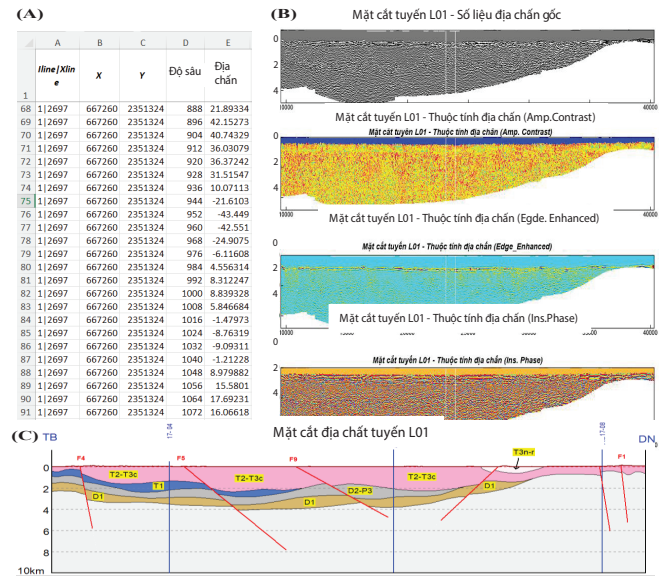
Đòi hỏi đổi mới công nghệ tìm kiếm thăm dò dầu khí (khảo sát và xử lý minh giải) để tìm ra các mỏ dầu khí mới là rất cấp bách trong điều kiện trữ lượng dầu khí ngày càng cạn kiệt, môi trường địa chất rất phức tạp của các vùng tiềm năng còn lại thì việc đổi mới công nghệ tìm kiếm thăm dò dầu khí (khảo sát và xử lý minh giải) để tìm ra các mỏ mới là rất cấp bách. Công tác xử lý số liệu yêu cầu đẩy mạnh việc phát triển về thuật toán, đòi hỏi việc sử dụng và tối ưu hóa các hệ thống phần cứng và đáp ứng việc xử lý Big data [1]. Với việc các bài toán cơ bản như xử lý hình ảnh và xử lý ngôn ngữ tự nhiên ngày càng tiếp cận với trình độ cơ bản của con người, trí tuệ nhân tạo (artificial intelligence - AI) sẽ là một giải pháp mang tính đột phá để khai phá lượng dữ liệu địa chất - địa vật lý để tìm ra các mối quan hệ ẩn giữa các lớp thông tin địa chất - địa vật lý và dầu khí, qua đó tìm ra các bộ thuộc tính đặc trưng để đánh giá triển vọng dầu khí [2]. Khu vực trũng An Châu hiện đang được đánh giá là một trong những vị trí có tiềm năng dầu khí cao trên đất liền ở Việt Nam [3].

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Tích hợp cơ sở dữ liệu phục vụ đầu vào cho hệ thống học máy

Sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ thông tin, sự nâng cấp về thiết bị và các chương trình ứng dụng cho phép chiết xuất được khối lượng thông tin ngày càng nhiều từ tài liệu địa chấn, làm tăng số lượng tham số có thể sử dụng được trong quá trình minh giải. Thuộc tính địa chấn (Seismic Attributes) được hiểu là những đặc trưng động lực học như: pha, tần số, biên độ hay các thông số phụ trợ khác như thuộc tính đa mạch (coherency...). Các thuộc tính địa chấn có thể được tính theo mặt cắt, theo bề mặt hoặc theo khối [4]. Các thuộc tính địa chấn bao gồm cả các đặc điểm hình học động (thời gian, tốc độ...) và đặc điểm động lực (pha, biên độ, tần số, độ suy giảm năng lượng). Thuộc tính địa chấn còn có thể được xác định theo đơn mạch (được tính cho từng mạch địa chấn), liên kết giữa các mạch hoặc thông qua tần số, biên độ, pha, tần số tức thời, pha tức thời, cường độ phản xạ... Các thuộc tính đa mạch được tính trên cơ sở hàm tương quan liên kết theo một nhóm mạch địa chấn và trên nhiều xung địa chấn (coherency).

Trong các thuộc tính địa chấn, thuộc tính được quan tâm nhiều hiện nay là biên độ. Từ các dị thường biên độ như các “điểm sáng”, “điểm tối”... có thể phát hiện các dấu hiệu liên quan đến dầu khí. Dị thường biên độ thường được sử dụng để thành lập các bản đồ phản ánh sự biến đổi tương đất đá và tham số vỉa của tầng chứa. Sự biến đổi biên độ theo chiều ngang có thể là cơ sở phân biệt sự khác nhau của các loại tương đất đá [5].



Hình 1. Tích hợp số liệu địa chất - địa chấn. (A) Số liệu địa chấn, (B) Các thuộc tính địa chấn, (C) Mặt cắt địa chất.

Hình 1 là các thông tin địa chấn và kết quả minh giải theo phương pháp truyền thống tại tuyến L01. Theo đó, đã minh giải được 5 tầng trầm tích (biểu hiện theo các màu) theo các mặt phản xạ địa chấn, có các tuổi khác nhau từ dưới lên như sau (hình 1C): Địa tầng tuổi Devon sớm (D_1); Địa tầng tuổi Devon giữa - Pecmi muộn (D_2-P_3); Địa tầng tuổi Trias sớm (T_1); Trias giữa - muộn (T_2-T_3c) và Trias muộn (T_3n-r).

Hiện nay, có trên 50 thuộc tính địa chấn khác nhau có thể chiết xuất được từ tài liệu địa chấn và được sử dụng để minh giải các cấu trúc địa chất, địa tầng, tính chất chất lưu, cơ lý đá [6]. Có thể nói, sự phát triển của phân tích thuộc tính địa chấn gắn liền với phát triển trong lĩnh vực máy tính - điện toán. Phân tích thuộc tính địa chấn trong tìm kiếm dầu khí là quá trình sử dụng các kỹ thuật phân tích dữ liệu địa chất và địa chấn để đánh giá tiềm năng của các khu vực địa chất có khả năng chứa dầu khí. Trong quá trình phân tích thuộc tính địa chấn, các chuyên gia sử dụng các phương pháp phân tích dữ liệu như phân tích tương quan, phân tích phân cụm, phân tích thành phần chính và các phương pháp khác để phân tích và tìm kiếm các mô hình địa chấn. Các mô hình này cung cấp thông tin về các tính chất địa chất và địa chấn của khu vực đó, bao gồm các đặc điểm về cấu trúc, độ sâu, hướng và hình dạng của các lớp đất và đá.

Phân tích thuộc tính địa chấn rất quan trọng trong tìm kiếm dầu khí. Nó giúp xác định các khu vực có tiềm năng khai thác dầu khí và giảm thiểu các rủi ro và chi phí không cần thiết trong quá trình tìm kiếm. Nó cũng giúp các chuyên gia địa chất và địa chấn tìm hiểu sâu hơn về đặc điểm địa chất và địa chấn của các khu vực khai thác dầu khí, để có thể phát triển các phương pháp khai thác hiệu quả và bền vững hơn. Khả năng quản trị dữ liệu lớn cũng là một ưu điểm nổi trội của hệ thống AI. Độ chính xác “nhận dạng” đối tượng của ML càng tăng lên khi chúng ta sử dụng càng nhiều “features” đặc trưng cho

đối tượng cần nghiên cứu [7]. Chính vì vậy, nhằm mục đích nâng cao độ chính xác của thuật toán nhận dạng bằng ML, bằng phần mềm PETREL đã tiến hành phân tích các thuộc tính địa chấn như: <amp_contrast>, <cur_contour>, <Cur_max>, <Curvature_Az_min>, 'Dominant_Freq', 'Edge_Enhanced', 'GLCM_X', 'ins_fre', 'ins_phase', 'Polarity', 'RAI', 'trace_gradient'... (hình 1).

Tuy nhiên, việc sử dụng số lượng feature một cách hợp lý, loại bỏ những features quá "liên kết chặt" với nhau sẽ làm tăng tính khách quan của tập hợp số liệu đầu vào. Để loại bỏ các thuộc tính có hệ số tương quan cao, tác giả đã sử dụng thuật toán 'Pearson' (linear correlation). Trong hình 2, các thuộc tính có $R > |0,7|$ đã được loại bỏ khỏi đầu vào của hệ thống ML.

(A)	org	amp_contrast	chaos	Cur_max	Cur_max_std	Cur_max_diff	Cur_max_delta	Curvature_Az_min	Dominant_Freq	Edge_Enhanced	envelope	GLCM_X	gradient_mag	ins_fre	ins_phase	Polarity	RAI	rms	sweetness	trace_gradient
org	1,00	-0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
amp_contrast	-0,01	1,00	0,66	-0,71	-0,09	-0,11	0,02	0,00	-0,02	0,01	-0,23	0,43	0,01	0,00	-0,37	0,02	0,39	0,05	0,00	0,00
chaos	0,02	-0,66	1,00	0,80	0,05	0,06	0,09	0,00	-0,01	0,11	0,18	-0,45	-0,10	-0,11	0,41	-0,12	-0,43	0,01	0,05	-0,11
Cur_max	0,00	-0,71	0,80	1,00	0,01	0,00	-0,10	0,08	0,10	-0,08	0,10	-0,51	-0,08	-0,08	0,38	-0,08	-0,48	0,00	0,00	-0,09
Cur_max_std	0,00	-0,09	0,05	0,01	1,00	0,94	0,44	0,23	-0,19	0,45	0,29	-0,14	-0,06	-0,06	0,06	-0,07	-0,13	-0,04	-0,02	0,00
Cur_max_diff	0,00	-0,11	0,06	0,00	0,94	1,00	0,47	0,01	-0,19	0,43	0,33	-0,15	-0,06	-0,07	0,07	-0,08	-0,14	-0,04	-0,03	0,00
Cur_max_delta	0,00	0,02	0,09	-0,10	0,44	0,47	1,00	-0,01	-0,18	0,86	0,11	-0,12	-0,05	-0,06	0,07	-0,06	-0,11	-0,06	0,09	0,00
Curvature_Az_min	0,00	0,00	0,08	0,23	0,01	-0,01	1,00	0,29	0,07	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dominant_Freq	0,00	-0,02	-0,01	0,10	-0,19	-0,18	0,29	1,00	-0,06	-0,03	0,01	-0,01	-0,01	-0,01	0,00	0,02	0,01	-0,01	-0,01	0,00
Edge_Enhanced	0,00	0,11	-0,08	0,45	0,43	0,86	-0,07	-0,06	1,00	0,10	-0,16	-0,07	-0,08	-0,07	-0,15	-0,05	0,11	0,00	-0,07	-0,07
envelope	0,00	-0,23	0,18	0,10	0,29	0,33	0,11	-0,03	-0,10	1,00	-0,05	0,00	0,01	0,09	0,00	-0,02	0,00	0,06	-0,01	0,01
GLCM_X	0,00	0,43	-0,45	-0,51	-0,14	-0,15	-0,12	0,00	0,01	-0,16	-0,05	1,00	0,18	0,20	-0,17	0,22	0,95	0,03	0,04	-0,02
gradient_mag	0,00	0,01	-0,10	-0,08	-0,06	-0,06	-0,05	-0,01	-0,07	0,00	0,18	0,00	1,00	0,91	-0,09	0,81	0,20	0,03	0,05	0,14
ins_fre	0,00	0,39	0,43	-0,48	-0,13	-0,14	-0,11	0,00	0,00	-0,15	-0,02	0,95	0,20	0,22	-0,15	-0,23	1,00	0,04	0,04	-0,07
ins_phase	0,00	0,01	0,05	-0,01	0,00	-0,04	0,04	-0,06	0,00	-0,02	-0,05	0,00	0,03	0,00	-0,51	0,01	0,04	1,00	-0,01	0,21
Polarity	0,00	-0,05	0,05	0,00	-0,02	0,03	0,09	0,01	0,11	0,06	0,04	0,05	0,03	-0,03	0,02	0,04	-0,01	1,00	-0,02	0,03
RAI	0,00	0,00	-0,01	0,00	0,00	0,00	-0,01	0,00	-0,01	-0,02	0,14	-0,06	-0,22	-0,10	-0,02	0,21	-0,02	1,00	-0,03	-0,06
rms	0,00	0,00	-0,11	-0,09	-0,06	-0,07	-0,06	0,00	-0,01	-0,07	0,01	0,21	0,90	1,00	-0,02	0,95	0,23	0,01	0,03	-0,03
sweetness	0,00	0,00	-0,11	-0,08	-0,06	-0,07	-0,06	0,00	-0,01	-0,07	0,01	0,20	0,91	1,00	-0,01	0,93	0,22	0,00	0,03	-0,06
trace_gradient	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	-0,15	0,03	0,17	0,11	0,01	-0,18	0,03	-0,73	0,02	0,03

(B)	org	amp_contrast	chaos	Cur_max	Curvature	Dominant	GLCM_X	ins_phase	Polarity	sweetness	trace_gradient
org	1										
amp_contrast		1									
chaos			1								
Cur_max				1							
Curvature					1						
Dominant_Freq						1					
GLCM_X							1				
ins_phase								1			
Polarity									1		
sweetness										1	
trace_gradient											1

Hình 2. Ma trận PC tương quan các thuộc tính địa chấn. (A) gốc và (B) đã loại bỏ các thuộc tính có R cao.

A	B	C	D	E	K	Q	R	X	AO	AI	AP	AV	AW	BC	BD	BI	CB	CC	CL	
line	x	y	Độ sâu	Địa chấn	amp_contrast	chaos	cur_max	Curvature	Dominant	Edge_Enhanced	envelope	GLCM_X	gradient_mag	ins_fre	ins_phase	rms	sweetness	trace		
12897	667260	2351324	528	0	0,594957	0,254632	-0,00209	-0,00169	179,6415	0,007704	0,0241	0,013539	1	0,005065	0,007697	-90	0,012735	0,013539	72,79	
12897	667260	2351324	536	0	0,117133	0,594953	0,156196	-0,00337	-0,00255	179,6256	0,01202	0,02802	0,028038	1	0,013854	0,012015	-45,3262	0,017216	0,028038	72,79
12897	667260	2351324	544	0	0,029282	0,566634	0,101157	-0,00454	-0,00356	179,6031	0,009956	0,032764	0,03334	1	0,010612	0,009955	-28,5633	0,020256	0,03334	72,79
12897	667260	2351324	552	0	0,021474	0,552538	0,066664	-0,00566	-0,00492	141,4501	0,000831	0,025922	0,022315	1	0,01824	0,06604	-15,7877	0,025602	0,022315	72,79
12897	667260	2351324	560	0	0,025378	0,554084	0,094047	-0,0082	-0,00771	147,7748	0,001187	0,024861	0,020905	1	0,032172	0,001151	-34,8002	0,029677	0,020905	72,79
12897	667260	2351324	568	0	0,025339	0,567925	0,017783	-0,00496	-0,00352	179,4121	0,003272	0,025973	0,029242	1	0,022399	0,003266	-26,4369	0,029362	0,029242	72,79
12897	667260	2351324	576	0	0,031887	0,595511	0,001077	0,012883	0,01069	0,217163	0,000576	0,026945	0,024601	1	0,026807	0,000522	-16,4401	0,028933	0,024601	72,79
12897	667260	2351324	584	0	0,021474	0,594069	0,03501	0,000287	0,40252	90	0,005918	0,056831	0,023416	1	0,015439	-0,00591	-32,5005	0,026735	0,023416	72,79
12897	667260	2351324	592	0	0,017560	0,579659	0,068886	-0,01447	0,239938	90	0,005202	0,088466	0,025803	1	0,053336	-0,0052	-47,0861	0,025244	0,025803	72,79
12897	667260	2351324	600	0	0,019521	0,542862	0,28832	-0,04216	0,028104	90	0,002719	0,114743	0,03902	1	0,059344	0,002687	-59,9804	0,047782	0,03902	72,79
12897	667260	2351324	608	0	0,009093	0,494713	0,454048	-0,11634	0,024043	90	0,007079	0,111634	0,075033	1	0,027076	0,007038	-68,9773	0,06881	0,075033	72,79
12897	667260	2351324	616	0	0,10931	0,495771	0,067716	0,109486	90	0,001739	0,125139	0,148999	1	0,097767	0,009781	-35,9016	0,117013	0,148999	72,79	
12897	667260	2351324	624	0	0,28401	0,49088	0,12036	0,044716	0,091965	0,000751	0,012319	0,141811	0,220788	0,666693	0,140946	0,012312	-54,0079	0,207994	0,220788	72,79
12897	667260	2351324	632	0	0,304335	0,480755	0,112245	-0,0875	-0,00329	0,263535	0,037369	0,177072	0,357926	0,80005	0,115081	0,012508	-33,69757	0,218936	0,357926	72,79
12897	667260	2351324	640	0	0,173741	0,494094	0,138959	-0,0225	-0,0049	0,38874	0,014495	0,432484	0,533024	0,80354	0,17446	0,013746	-70,20471	0,348063	0,533024	72,79
12897	667260	2351324	648	0	0,20599	0,426784	0,101721	-0,01667	-0,00389	0,490634	0,014461	0,5913	0,671997	0,932224	0,273893	0,013764	-109,1635	0,527511	0,671997	72,79
12897	667260	2351324	656	0	0,68915	0,423711	0,131733	-0,0074	-0,00204	179,4731	1,42142	0,05798	0,803958	0,9564	0,34232	0,013915	-148,9975	0,84991	0,803958	72,79
12897	667260	2351324	664	0	0,84848	0,425314	0,254574	-0,00165	-0,00055	179,4659	1,45642	0,06238	0,87751	0,921723	0,452978	0,014444	-170,237	0,588087	0,87751	72,79
12897	667260	2351324	672	0	0,51342	0,436838	0,22006	-0,0645	-0,05701	1,61142	0,28636	0,844889	0,887704	0,47559	0,015945	-127,423	0,614237	0,844889	72,79	
12897	667260	2351324	680	0	0,162038	0,432781	0,02955	-0,00199	0,00909	0,670977	1,98642	0,491876	0,70975	0,843988	0,341219	0,019296	-76,800	0,518818	0,70975	72,79
12897	667260	2351324	688	0	0,002214	0,665737	0,4317	-0,00162	-0,00099	0,804621	2,15642	0,663879	0,919819	0,809182	0,540887	0,021525	-129,292	0,402179	0,919819	72,79
12897	667260	2351324	696	0	0,434325	0,440466	0,178003	-0,00623	-0,00457	0,79661	1,88642	0,662674	0,634354	0,800463	0,511664	0,018599	-47,14846	0,37179	0,634354	72,79
12897	667260	2351324	704	0	0,05271	0,421748	0,739958	-0,0014	-0,00085	0,45959	1,44642	0,46504	0,59167	0,834436	0,206711	0,014035	-95,1108	0,363699	0,59167	72,79
12897	667260	2351324	712	0	0,26549	0,416495	0,44446	-0,02375	0,224137	90	0,007514	0,257281	0,460846	0,887548	0,188884	0,006459	-125,1766	0,397185	0,460846	72,79
12897	667260	2351324	720	0	0,28892	0,428423	0,496657	-0,00174	0,389678	90	0,007041	1,115341	0,50462	0,895969	0,190637	0,006888	-124,9379	0,879015	0,50462	72,79

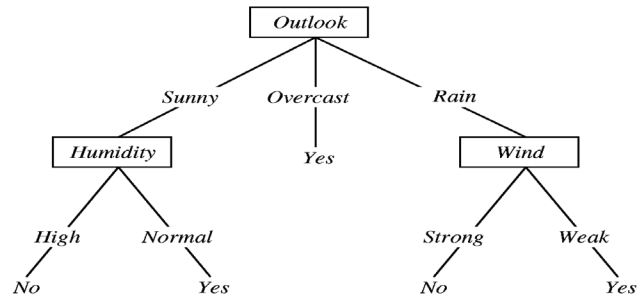
main

Hình 3. Mẫu để huấn luyện nhận dạng và tập hợp đối tượng để phân loại.

Dữ liệu đầu vào cho cấu trúc mạng DT gồm 2 phần: 1) mẫu để huấn luyện nhận dạng và 2) tập hợp đối tượng để phân loại. Cả hai loại số liệu phải đảm bảo tính thống nhất về cấu trúc dữ liệu như nhau. Nghĩa là các "mẫu" được đặc trưng bởi các thuộc tính (features) nào thì các đối tượng cũng phải có các thuộc tính như vậy (hình 3). Cả hai loại dữ liệu này được tích hợp thành một hệ thống GIS-DB đảm bảo tính thống nhất trong không gian [2].

2.2. Mô hình cây quyết định và thuật toán XGBoost

DT là một thuật toán máy học phổ biến được sử dụng để giải quyết các bài toán phân loại và dự đoán. Nó được gọi là DT bởi vì nó bắt đầu từ một nút gốc và phân nhánh ra thành các nút lá dựa trên các quyết định được đưa ra tại các nút nội bộ trên đường đi từ gốc đến lá. Một DT thường được xây dựng bằng cách chia tập dữ liệu thành các tập con nhỏ hơn dựa trên các đặc trưng của dữ liệu (hình 4). Các đặc trưng này được chọn dựa trên mức độ quan trọng và khả năng phân loại của chúng. Việc chia tập dữ liệu tiếp tục được thực hiện cho đến khi không thể phân loại các mẫu dữ liệu tốt hơn hoặc cây đạt đến độ sâu được xác định trước DT thường được sử dụng trong phân tích quyết định, để giúp xác định một chiến lược có nhiều khả năng đạt được mục tiêu nhất, nhưng cũng là một công cụ phổ biến trong học máy.



Cây quyết định được xây dựng bằng cách chia tập dữ liệu gốc, bắt đầu từ nút gốc của cây, sau đó tạo ra các tập con kế tiếp. Việc chia tách này dựa trên các quy tắc phân chia được thiết lập dựa trên các đặc điểm phân loại. Quá trình này được lặp đi lặp lại một cách đệ quy, được gọi là phân vùng đệ quy. Quá trình đệ quy kết thúc khi tập hợp con tại một nút có tất cả các giá trị giống nhau của biến mục tiêu hoặc khi việc phân tách không mang lại cải thiện cho dự đoán. Phương pháp suy diễn từ trên xuống của DT là một ví dụ về thuật toán tham lam và cho đến nay vẫn là chiến lược phổ biến nhất để xây dựng cây quyết định từ dữ liệu.

Ưu điểm của DT là:

- Dễ hiểu và diễn giải: DT có cấu trúc rõ ràng, dễ hiểu và diễn giải, do đó dễ dàng giải thích cho những người không có kinh nghiệm về ML.

- Khả năng xử lý các dữ liệu lớn: DT có khả năng xử lý các tập dữ liệu lớn, có thể xử lý các tập dữ liệu chứa hàng triệu bản ghi.

- Tính linh hoạt: DT có tính linh hoạt cao trong việc chọn các tính năng và tham số để tối ưu hóa kết quả.

- Hiệu quả tính toán: DT có thể được xây dựng và tối ưu hóa bằng các thuật toán hiệu quả, do đó, thời gian tính toán và tài nguyên cần thiết để xây dựng một DT là tương đối thấp.

- Có thể xử lý dữ liệu không đầy đủ: DT có khả năng xử lý các tập dữ liệu không đầy đủ hoặc bị thiếu thông tin.

Nhược điểm của DT:

- Dễ bị quá khớp: DT có thể trở nên quá phức tạp và dễ bị quá khớp với dữ liệu huấn luyện nếu không được tối ưu hóa một cách chính xác.

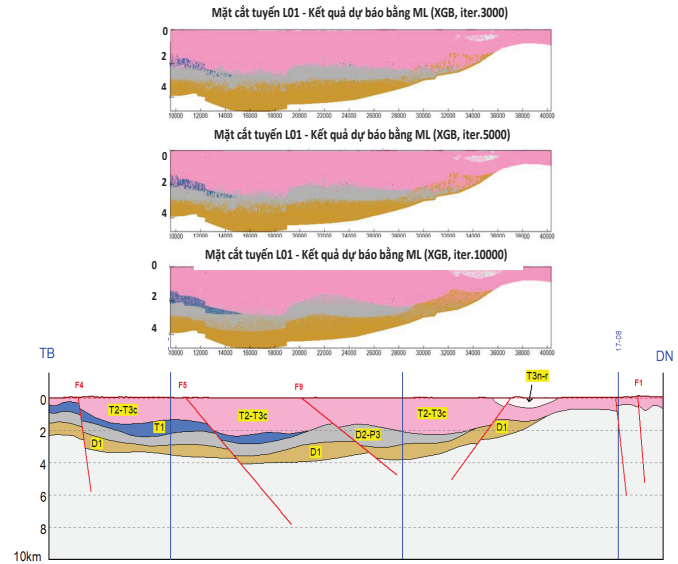
- Nhạy cảm với nhiễu và các giá trị ngoại lai: DT có thể dễ bị ảnh hưởng bởi các giá trị ngoại lai hoặc nhiễu trong dữ liệu.

- Không hiệu quả với các dữ liệu dạng liên tục: DT không hiệu quả trong việc xử lý các tập dữ liệu dạng liên tục.

- Khó khăn trong việc xử lý các mối quan hệ phức tạp giữa các tính năng: DT có thể không hiệu quả trong việc xử lý các mối quan hệ phức tạp giữa các trường thông tin.

Thuật toán XGBoost [8] là viết tắt của eXtreme Gradient Boosting. “eXtreme” nói đến các cải tiến về tốc độ như tính toán song song và nhận biết bộ nhớ cache giúp XGBoost nhanh hơn khoảng 10 lần so với tăng cường Gradient truyền thống. Ngoài ra, XGBoost còn bao gồm một thuật toán tìm kiếm phân tách độc đáo để tối ưu hóa cây, cùng với tính năng chính quy tích hợp giúp giảm việc trang bị quá mức. Nói chung, XGBoost là phiên bản Gradient Boost nhanh hơn, chính xác hơn. Vì XGBoost là phiên bản nâng cao của Gradient Boosting và kết quả của nó là không song song nên nó có thể được cho là ML tốt nhất chúng ta có hiện nay.

3. Kết quả và bàn luận



Hình 5. Kết quả nhận dạng tương đất đá theo DT-XGBoost.

Nghiên cứu đã sử dụng các lát cắt địa chất truyền thống đã xây dựng để làm “mẫu luyện mạng” (hình 5). Số lượng mẫu học chỉ chiếm 60% và hoàn toàn ngẫu nhiên về vị trí XY. Cấu trúc mạng DT-XGBoost đã được sử dụng thử nghiệm với các số iteration lần lượt là 3.000, 5.000 và 10.000. Mục đích sử dụng DT-XGBoost là xác định mối liên hệ giữa mặt cắt địa chất đã biết (mẫu học) và dữ liệu địa chấn (số liệu gốc và các thuộc tính địa chấn). Kết quả nhận dạng được trình bày trong hình 6.



Hình 6. Sai số nhận dạng tương đất đá với số lần lặp. (A) >3.000, (B) >5.000, (C) >10.000.

Các tham số thống kê đánh giá sai số được trình bày trong hình 6 cho thấy, sai số nhận dạng phân loại với 3000 lần lặp còn thấp: nhận dạng sai 16%, đặc biệt đất đá T_3n-r và $T1$ có sai số cao (75-80%). Khi phân loại với số lần lặp trên 10.000 lần thì độ chính xác đã được cải thiện đáng kể (hình 6C).

Các tham số thống kê của số liệu địa chấn và 11 thuộc tính địa chấn cho thấy nếu chỉ sử dụng các tham số thống kê với các thuật toán thông kê truyền thống để phân loại đất đá thì rất khó khăn, vì các nhóm tham số có giá trị rất gần nhau và cấu trúc số liệu không hoàn toàn phản ánh cấu trúc địa chất của các tuyến (hình 1). Các thuật toán ML đã chứng tỏ được khả năng vượt trội của mình so với mình giải theo các phương pháp truyền thống trong công tác nhận dạng/phân loại đối tượng theo các thuộc tính. Đó là khả năng quản trị dữ liệu lớn: Bảng số liệu tích hợp các tuyến địa chấn có dung lượng khoảng xấp xỉ 10TB (hàng triệu dòng và gần 80 cột); khả năng khai thác các mối quan hệ ẩn sâu giữa các cột thuộc tính từ đó nhận dạng các tướng đá với độ chính xác cao.

Các tham số thống kê mức độ chính xác nhận dạng phân loại đất đá bằng ML và truyền thống cho thấy (hình 7 và 8) [9]:

Hệ tầng Nà Khuất, Mẫu Sơn (T_2-T_{3c}) gồm sét vôi, bột kết, cát kết, đá phiến sét, đá vôi; sạn kết, cát kết, sét vôi, cát kết màu đỏ, bột kết xen cát kết màu đỏ; Phân hệ tầng dưới: cát kết, cát kết dạng quazit, thấu kính cuội kết, bột kết màu đỏ được nhận dạng chính xác (~90% đúng).

Hệ tầng Tam Hoa, Bắc Sơn, Đồng Đăng (D_2-P_3) với thành phần đất đá gồm cuội kết, sạn kết, cát kết arko, đá phiến sét, đá vôi, đá vôi dolomit, bauxit, bột kết, đá vôi, sét silic được nhận dạng với độ chính xác trung bình cao (70-90% đúng).

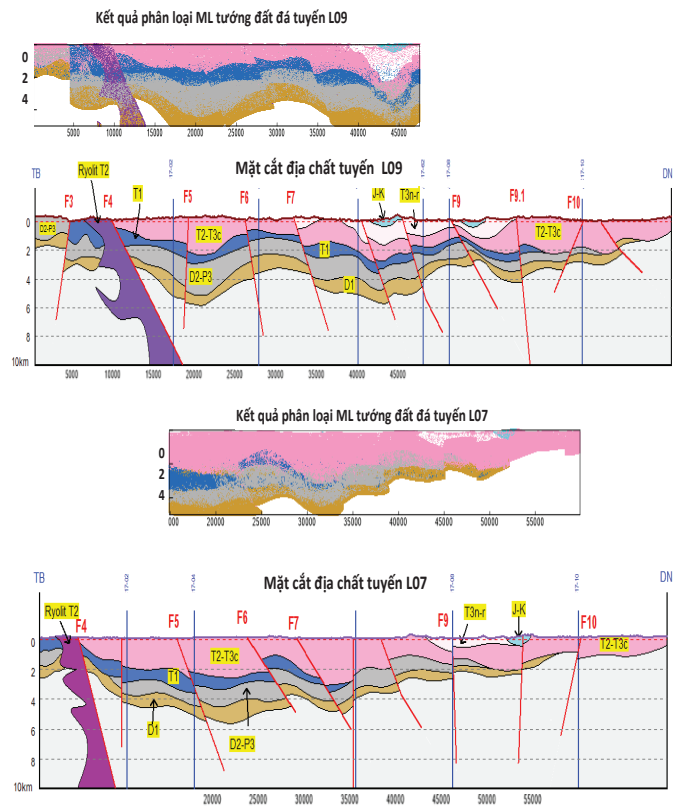
Ngược lại, hệ tầng Văn Lãng (T_3n-r) gồm cát kết, bột kết, sét - bột kết màu đen, xám đen, đá vôi - silic, sét than lại có độ chính xác nhận dạng trung bình thấp nhất (~45-50%).

Tuyến L06.1						Tuyến L06.2						Tuyến L08					
Total	3811064	79.43	71.71			Total	4688156	82.85	75.71			Total	1423018	77.01	64.97		
Formation	Class_No	Sample_count	Percent	Corr_forecast	Aver_ident	Formation	Class_No	Sample_count	Percent	Corr_forecast	Aver_ident	Formation	Class_No	Sample_count	Percent	Corr_forecast	Aver_ident
D1	1	620314	16.28	84.47	63.74	D1	1	249639	5.31	57.7	60.32	D1	1	340749	23.95	79.59	63.94
D2-P3	2	745819	19.56	69.27	60.12	J-K	4	1153303	23.79	92.55	81.05	D2-P3	2	133205	9.36	57.36	57.13
T1	9	147762	3.88	50.80	54.72	T1	9	241578	5.15	70.53	70.10	J-K	4	144066	10.14	68.73	68.18
T2-T3c	11	1940262	51.15	89.98	78.95	T2-P3	10	240179	5.12	62.38	63.75	T2-T3c	11	519446	36.51	84.4	65.99
T3n-r	12	348097	9.13	45.15	69.86	T3n-r	12	1984085	42.32	85.05	76.13						
class No	No sample					class No	No sample					class No	No sample				
11	1995956					12	1868057					11	431528				
1	548940					4	1193541					-1	341341		23.01 %		
-1	519944			13.46 %		11	754810					0	277879				
2	517937					-1	431653			8.21 %		4	144711				
12	173739					9	177899					9	95761				
9	55448					10	143492					2	58009				
Total:	3811064					Total:	4688156					Total:	1423018				
Incorrect:	794075			20.91 %		Incorrect:	803940			17.16 %		Incorrect:	327159			23.01 %	

Hình 7. Sai số nhận dạng tướng đất đá trên các mặt cắt L06.1, L06.2 và L08.

Tuyến L09						Tuyến L07					
Total	1484940	67.65	57.29			Total	1097313	84.52	76.93		
Formation	Class_No	Sample_count	Percent	Corr_forecast	Aver_ident	Formation	Class_No	Sample_count	Percent	Corr_forecast	Aver_ident
D1	1	260466	17.54	66.61	60.46	D1	1	154252	14.06	77.35	68.05
D2-P3	2	402326	27.09	76.3	55.57	D2-P3	2	221537	20.19	77.81	62.62
J-K	4	12266	0.83	45.68	63.41	J-Kr	5	6894	0.63	56.7	79.34
Rhyolit T2	8	104279	7.02	23.95	50.74	T1	9	98852	9.01	60.83	60.24
T1	9	248162	16.71	61.07	51.19	T2-T3c	11	581010	52.95	95.11	87.45
T2-T3c	11	359093	24.18	82.72	63.46	T3n-r	12	34768	3.17	54.97	78.56
T3n-r	12	98348	6.62	45.62	54.97						
class No	No sample					class No	No sample				
-1	553631			17.21 %		11	589010				
11	307904					2	178156				
2	299948					-1	139989		12.76 %		
1	177529					1	115931				
9	93878					9	50126				
12	33208					12	20266				
8	14170					5	3835				
4	4872					Total:	1097313				
Total:	1484940					Incorrect:	169866		15.48 %		
Incorrect:	480452			32.36 %							

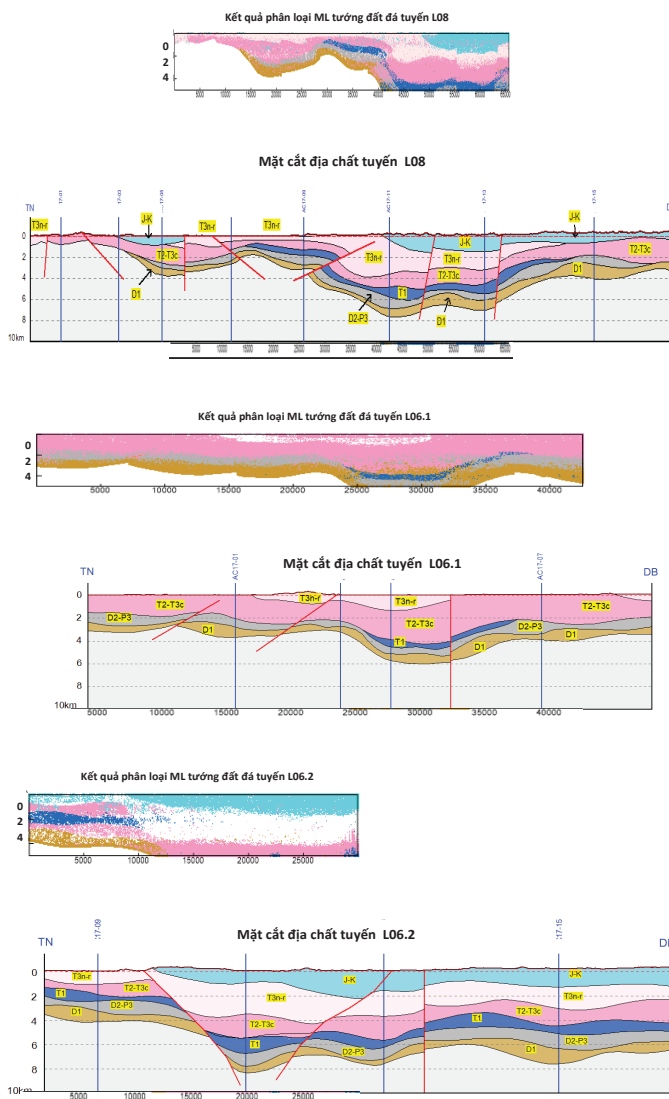
Hình 8. Sai số nhận dạng tướng đất đá trên các mặt cắt L09 và L07.



Hình 9. Mặt cắt địa chất và kết quả nhận dạng tướng đất đá trên các mặt cắt L09 và L07.

Theo kết quả xây dựng mặt cắt địa chấn - địa chấn trên cơ sở nhận dạng theo dữ liệu địa chấn (hình 9 và 10) có thể thấy: ML đã khẳng định có mối liên quan chặt chẽ giữa các hệ tầng trên mặt cắt địa chất do các chuyên gia truyền thống xây dựng và dữ liệu địa chấn, đặc biệt là dữ liệu thuộc tính địa chấn. Đa số các đoạn tuyến đều có tính phù hợp cao giữa mặt cắt địa chất đã biết và kết quả dự báo bằng ML.

Tuy nhiên, DT (XGB) cũng phát hiện một vài chỗ không phù hợp giữa kết quả của truyền thống và liên kết địa chấn [10]:



Hình 10. Mặt cắt địa chất và kết quả nhận dạng tương đất đá trên các mặt cắt L08, L06.1 và L06.2.

Trên tuyến L09, đoạn 40.000-47.000 m, độ sâu 2.000-3.000 m. Khả năng hệ tầng Lạng Sơn (T_1 , cát kết, bột kết, đá phiến sét, đá vôi sét, sét vôi) có thể nằm ngang, không tạo nên đứt gãy.

Trên tuyến L08, đoạn 40.000-45.000 m, hệ tầng Lạng Sơn không có biểu hiện rõ và vị trí đứt gãy được xác định ở độ sâu nông hơn.

Trên dữ liệu địa chấn, các khối rhyolit thể hiện khá mờ nhạt và không rõ ràng với độ nhận dạng không cao (29%).

4. Kết luận

Kết quả cho thấy, các phần mềm được phát triển trong phạm vi nghiên cứu cũng như hệ thống máy tính công suất cao (High Performance Computer - HPC) đáp ứng được khả năng xử lý cơ sở dữ liệu khổng lồ bằng các thuật toán tiên tiến. Tuy nhiên, để đáp ứng được công tác xử lý một lượng

lớn số liệu địa chất - địa vật lý rất cần các thuật toán mới, phương pháp mới, hướng đi mới để khắc phục được các yếu điểm của hệ thống truyền thống hiện nay. Đó là khả năng tổng hợp cơ sở dữ liệu nhiều cả về số lượng và định dạng; xác định các mối liên kết giữa dầu khí và thông tin địa chất - địa vật lý.

Với thử nghiệm mô hình cấu trúc ML dạng DT và thuật toán Gradient Boosting (GB) để phân loại có kiểm định (có mẫu học) trên cơ sở tài liệu địa chất - địa chấn bước đầu đã thu được một số kết quả nhất định:

Thử nghiệm thành công tích hợp dữ liệu địa chất - địa chấn thành cơ sở dữ liệu lớn theo nguyên tắc GIS.

Phát hiện các mối quan hệ ẩn sâu giữa các lớp thông tin qua đó nhận dạng với độ chính xác chấp nhận được các đối tượng địa chất theo mẫu đã biết.

Với DT - GB số lần lặp phải trên 10.000 lần thì kết quả nhận dạng mới chấp nhận được. Thời gian tính toán còn quá lâu (~60-90 giờ chạy máy) để đạt được kết quả cao.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là kết quả đề tài “Nghiên cứu xây dựng hệ thống trí tuệ nhân tạo tích hợp dữ liệu địa chất dầu khí đánh giá triển vọng dầu khí” (mã số KC-4.0-01/19-25) thuộc Chương trình trọng điểm quốc gia “Hỗ trợ nghiên cứu, phát triển và ứng dụng công nghệ của công nghiệp 4.0”. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.N. San (2003), *Conducting and Completing Technology for Synthesizing and Analyzing Data using Geological Geographic Information Systems and Geological Expert Systems, Applied for in the Cho Don Area*, Ministerial level research project (in Vietnamese).
- [2] D.N. San, N.D. Nuong (2019), *Research and Development of an Artificial Intelligence System Integrated with Petroleum Geological Data for Petroleum Prospect Evaluation*, Government level research project (in Vietnamese).
- [3] N.T. San (1975), “How should the petroleum prospects in the An Chau Basin be assessed”, *Geological Journal*, **122(11-12)**, 6pp (in Vietnamese).
- [4] Schlumberger (2015), *3D Seismic Facies Generated From Independent Seismic Attributes Using The Neural Network Technique*, 56pp.
- [5] M.T. Tan (2011), *Seismic Exploration*, Transport Publishing House, 45pp (in Vietnamese).
- [6] S. Chopra, K.J. Marfurt (2005), *Seismic Attribute Mapping of Structure and Stratigraphy*, EAGE, 30pp.
- [7] L. Zhang, C. Zhan (2017), “Machine learning in rock facies classification: An application of XGBoost”, *International Geophysical Conference*, Qingdao, China, Society of Exploration Geophysicists and Chinese Petroleum Society, DOI: 10.1190/IGC2017-351.
- [8] Boosting Algorithm (2020), *XGBoost*, Towards Data Science, 2017-05-14.
- [9] PVEP Song Hong (2019), *Phase I Report of The An Chau Basin Research Project* (in Vietnamese).
- [10] PVEP Song Hong (2013), *Petrographic Analysis Report of The An Chau Basin Region* (in Vietnamese).

Nghiên cứu khảo sát đặc trưng đo liều gamma của LiAlO_2

Nguyễn Thị Thu Hà*, Trịnh Văn Giáp, Bùi Đức Kỳ

Viện Khoa học và Kỹ thuật Hạt nhân, Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam, 179 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 27/3/2023; ngày chuyển phản biện 29/3/2023; ngày nhận phản biện 28/4/2023; ngày chấp nhận đăng 3/5/2023

Tóm tắt:

Vật liệu đo liều bức xạ đang được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu, nhằm phát triển thành các liều kế đo tích lũy ứng dụng trong đo liều môi trường, cũng như đo liều cá nhân. Nhóm tác giả đã tiến hành các bài thực nghiệm nghiên cứu, và khảo sát đặc trưng của vật liệu LiAlO_2 ứng dụng trong đo liều. Trên cơ sở phân tích và thực nghiệm chế tạo ra LiAlO_2 đơn pha gamma, nghiên cứu này bước đầu khảo sát các đặc trưng đo liều bao gồm: giá trị phông, độ tuyến tính, độ đồng đều, độ nhạy tín hiệu nhiệt phát quang (TL), khả năng tái sử dụng/đáp ứng liều cũng như đặc trưng suy giảm tín hiệu nhiệt phát quang sau khi vật liệu LiAlO_2 được chiếu bức xạ gamma. Kết quả chỉ ra rằng, vật liệu LiAlO_2 có ngưỡng nhạy 6,09 nC, độ đồng đều 6,98%. Khảo sát dải liều 2-40 mGy cho thấy, độ tuyến tính tốt với thăng giáng giữa liều đo và liều chiếu là 8,8%. Độ suy giảm tín hiệu được lưu giữ 90 ngày sau khi chiếu xạ là 6%. Kết quả các phép đo kiểm tra khả năng tái sử dụng của mẫu bột LiAlO_2 với độ lệch chuẩn của 10 phép đo là 3,63%. Giá trị phân bố các phép đo khá đồng đều, có độ nhạy hầu như không thay đổi trong quá trình sử dụng, có khả năng tái sử dụng cao. Từ những kết quả đã nghiên cứu và khảo sát có thể kết luận rằng, LiAlO_2 có khả năng ứng dụng trong đo liều bức xạ.

Từ khóa: độ suy giảm tín hiệu, độ tuyến tính, giới hạn phát hiện.

Chỉ số phân loại: 1.3, 1.4, 2.5

Study on gamma dosimetry characteristics of LiAlO_2

Thi Thu Ha Nguyen*, Van Giap Trinh, Duc Ky Bui

Institute for Nuclear Science and Technology, Vietnam Atomic Energy Institute, 179 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 27 March 2023; revised 28 April 2023; accepted 3 May 2023

Abstract:

Radiation dosimetry materials are being studied by scientists to create passive dosimeters in environment dosimetry as well as personal dosimetry. The research team conducted experimental studies and investigated the characteristics of LiAlO_2 material for dosimetry applications. On the basis of analysis and synthesis of LiAlO_2 , preliminary investigation of dosimetry characteristics, including background, linearity, uniformity, the sensitivity of thermoluminescent (TL) signal, reusability, dose-response and fading of TL signals after LiAlO_2 being irradiated by gamma. The results show that LiAlO_2 has a detection limit of 6.09 nC, uniformity of 6.98%. The investigation of the 2-40 mGy dose range showed good linearity, with a fluctuation of 8.8% between the measured dose and the irradiation dose. The fading of the TL signal maintained 90 days after being irradiated was 6%. The results of the tests measuring the reusability of the LiAlO_2 powder sample show a standard deviation of 3.63% from 10 measurements. The distribution of the measurements is quite uniform, and the sensitivity remains almost unchanged during use, indicating a high reusability. The results of the research and investigation lead to the conclusion that LiAlO_2 has the potential for application in radiation dose measurement.

Keywords: detection limit, fading, linearity.

Classification numbers: 1.3, 1.4, 2.5

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

1. Mở đầu

Đo liều bức xạ đã được các tác giả nghiên cứu, khảo sát và ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực. Ví dụ, trong nghiên cứu vật liệu, trong đo liều cá nhân, trong đo liều môi trường. Đo liều bức xạ là phương pháp tin cậy được dùng để đánh giá liều bức xạ tích lũy theo thời gian của các nhân viên bức xạ. Phương pháp đo liều bằng nhiệt phát quang (TLD) ra đời cùng năm Roentgen C.W phát hiện ra tia X (1895). Tuy nhiên, mãi đến năm 1953, sau khi Daniels và cộng sự tiến hành thử nghiệm và ứng dụng TLD thành công trong lĩnh vực y tế tại Trường Đại học Wisconsin, thì phương pháp TLD mới thực sự được chấp nhận sử dụng như một phương pháp đo liều bức xạ. Đầu tiên, người ta đã sử dụng vật liệu LiF trong phép chẩn đoán bằng X-quang, các mẫu LiF được đặt trên bệnh nhân, sau đó nhận lại mẫu đã chiếu xạ. Liều hấp thụ bức xạ tia X trong vật liệu được xác định bằng cách đo tín hiệu nhiệt phát quang (TL) các mẫu đã chiếu xạ bởi nhóm các tác giả H. Teng và cs (2010) [1], M. Martini và cs (1997) [2], M.S. Akselrod và cs (2000) [3]. Đến nay, TL là một trong những hiện tượng đã và đang thu được nhiều thành công ứng dụng trong thực tiễn, như nghiên cứu cấu trúc khuyết tật của vật liệu, xác định tuổi và đo liều bức xạ [4-7].

Một vài nghiên cứu về các tính chất nhiệt phát quang của lithium aluminate cũng được báo cáo. Tác giả B. Dhabekar và cs (2008b) [8] đã nghiên cứu và khảo sát các đường cong nhiệt phát quang tích phân của hai vật liệu LiAlO_2 : Mn và LiAlO_2 : Ce. Vào năm 2010, nhóm tác giả H. Teng và cs (2010) [1] cũng nghiên cứu các tính chất TL của vật liệu LiAlO_2 : Mn. Sau đó, năm 2014 nhóm tác giả J.I. Lee và cs (2012) [9] đã nghiên cứu, khảo sát đường cong nhiệt phát quang tích phân của vật liệu LiAlO_2 . Nhóm tác giả M. Sadel và cs (2014) [10] đã báo cáo hiệu suất của vật liệu LiAlO_2 đối với proton. Các nhóm tác giả khác cũng chủ yếu tập trung vào nghiên cứu, khảo sát đặc trưng phát quang chung của lithium aluminate [11-13]. Ngoài ra, J.I. Lee và cs (2013) [11] cũng nghiên cứu các tham số động học nhiệt phát quang và quang phát quang của vật liệu LiAlO_2 .

Vật liệu đo liều LiAlO_2 dạng bột đơn pha gamma đã được nhóm tác giả chế tạo thành công tại phòng thí nghiệm thuộc Viện Khoa học và Kỹ thuật Hạt nhân. Bảng 1 tóm tắt một số tính chất của vật liệu LiAlO_2 . Trong bài báo này, nhóm tác giả đã tiến hành thực nghiệm khảo sát các đặc trưng đo liều của vật liệu LiAlO_2 sau khi được chế tạo.

Bảng 1. Tính chất của vật liệu LiAlO_2 .

Khối lượng phân tử	65,92 g·mol ⁻¹
Công thức hóa học	LiAlO_2
Đặc tính nhận dạng	Bột tinh thể trắng
Mật độ pha γ - LiAlO_2	2,615 g/cm ³
Mật độ pha β - LiAlO_2	2,61 g/cm ³
Mật độ pha α - LiAlO_2	3,401 g/cm ³
Nhiệt độ nóng chảy	1,625°C
Độ hòa tan	Không hòa tan trong nước

2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

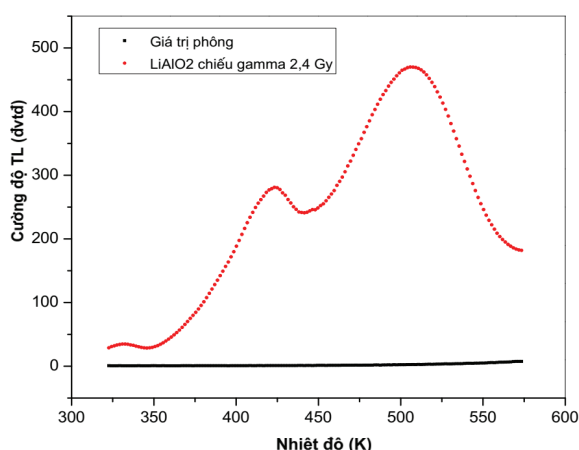
Nhóm tác giả đã tiến hành thực nghiệm khảo sát đặc trưng đo liều của vật liệu LiAlO_2 tại Viện Khoa học và Kỹ thuật Hạt nhân. Mẫu sau khi chế tạo được chiếu bức xạ gamma và đọc kết quả liều trên thiết bị Harshaw 4000 thuộc Viện Khoa học và Kỹ thuật Hạt nhân. Nguồn bức xạ hạt nhân được lựa chọn là nguồn phóng xạ ¹³⁷Cs. Đây là nguồn phóng xạ phát gamma có đỉnh năng lượng 0,661 MeV, hoạt độ ~1.1Ci vào ngày 13/04/2020, chu kỳ bán hủy tương đối dài (30 năm), chứng tỏ nguồn có khả năng cung cấp chùm tia gamma có cường độ ổn định trong thời gian làm thực nghiệm.

Tín hiệu nhiệt phát quang được thu nhận dựa trên quá trình đốt nóng vật liệu từ nhiệt độ phòng đến 400°C. Các bộ phận chính của hệ đo TL gồm: bộ phận gia nhiệt, bộ phận thu gom tín hiệu, bộ phận xử lý và ghi nhận tín hiệu. Hầu hết các phòng thí nghiệm trên thế giới hiện đang sử dụng các máy đọc TL thương phẩm. Tuy nhiên, tùy từng điều kiện và mục đích sử dụng mà các phòng thí nghiệm lựa chọn cho mình loại máy đọc phù hợp như bán tự động hoặc tự động. Loại máy đọc tự động có thể đo nhanh với số lượng mẫu lớn và hạn chế sự can thiệp của con người, thường được sử dụng cho mục đích đo liều. Mặt khác, loại bán tự động phát huy tốt hơn cho mục đích nghiên cứu vì có thể dễ dàng thay đổi các tham số thực nghiệm như: tốc độ gia nhiệt, các giới hạn tích phân đường cong nhiệt phát quang [13, 14].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phòng và giới hạn phát hiện của LiAlO_2

LiAlO_2 đã được khử hết tín hiệu về giá trị nội tại của LiAlO_2 bằng cách nung ở nhiệt độ 500°C trong thời gian 30 phút và lưu trong bình hút ẩm. Sau đó, tiến hành đọc trên thiết bị Harshaw (thực hiện 10 phép đọc trên lô mẫu đã được khử tín hiệu), kết quả phòng trung bình thu được sau 10 phép đo là 23,36 nC, độ lệch chuẩn sau 10 phép đo phòng của vật liệu LiAlO_2 là $\sigma=2,03$ nC. Giá trị giới hạn phát hiện được đánh giá bằng 3 lần độ lệch chuẩn và có giá trị là: $DL=3 \times \sigma = 6,09$ nC. Hình 1 mô tả đường cong TL của vật liệu trước và sau khi chiếu bức xạ gamma 2,4 Gy.



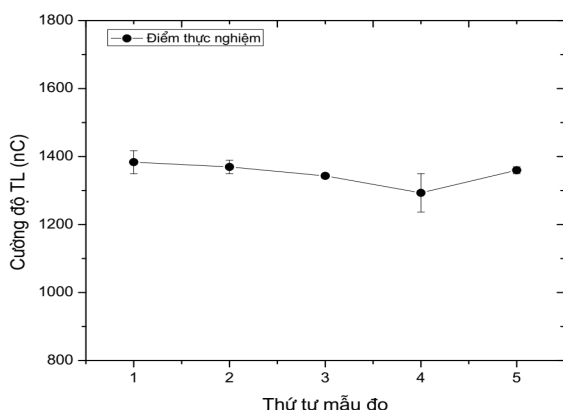
Hình 1. Đường cong tín hiệu nhiệt phát quang của LiAlO₂ trước và sau khi chiếu bức xạ gamma 2,4 Gy.

3.2. Đánh giá sự đồng đều của vật liệu LiAlO₂ sau khi được chế tạo

Một thông số quan trọng đầu tiên cần được xem xét, đánh giá đối với vật liệu được chế tạo là sự đồng đều của tinh thể vật liệu LiAlO₂ sau khi được chế tạo. Độ đồng nhất của một lô mẫu được thực hiện bằng cách đánh giá độ nhạy nhiệt phát quang dựa trên 5 phép đo tương ứng ngẫu nhiên của lô mẫu được chế tạo. Quá trình đánh giá độ lệch chuẩn được lấy ngẫu nhiên 5 phép đo trong cùng một lô mẫu được chế tạo, cùng một liều chiếu gamma 4 mGy, giữ nguyên các thông số của máy đọc. Hình 2 trình bày kết quả kiểm tra sự đồng đều của lô mẫu với độ lệch chuẩn 2,58%. Độ đồng đều được tính theo công thức sau:

$$H(\%) = \frac{D_{\max} - D_{\min}}{D_{\min}} \times 100$$

Với $D_{\max}$ là giá trị liều đo cao nhất và $D_{\min}$ là giá trị liều đo thấp nhất của 5 phép đo. Kết quả tính được độ đồng đều là 6,98%.



Hình 2. Kết quả kiểm tra sự đồng đều của lô vật liệu LiAlO₂ được chế tạo bằng phương pháp sol-gel kết hợp với EDTA sau khi chiếu bức xạ gamma 4 mGy, tốc độ gia nhiệt 5°C/s.

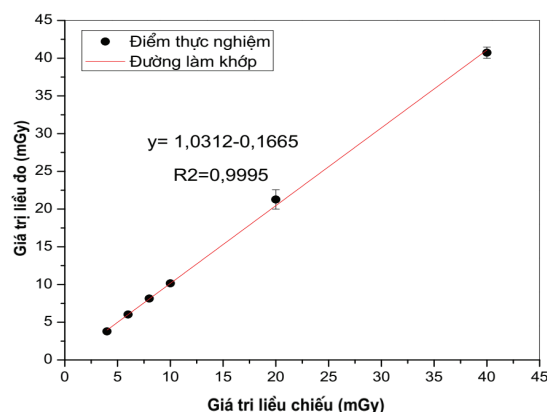
3.3. Khảo sát đặc trưng tuyến tính

Để tiến hành khảo sát đặc trưng tuyến tính của vật liệu LiAlO₂, nhóm tác giả đã chia vật liệu sau khi chế tạo thành sáu nhóm, vật liệu được nung khử tín hiệu và thực hiện chiếu xạ gamma với liều chiếu tương ứng: 4, 6, 8, 10, 20 và 40 mGy, đọc kết quả trên thiết bị Harshaw 4000. Sự thay đổi của giá trị liều đọc đối với giá trị liều chiếu thực (r_i) được đánh giá theo công thức:

$$r_i = \frac{D_r \pm a}{D_c}$$

trong đó, D_r là giá trị liều đọc lấy trung bình, D_c là giá trị liều chiếu, a là một nửa giá trị khoảng tin cậy.

Hình 3 đánh giá số liệu đặc trưng tuyến tính của vật liệu LiAlO₂.



Hình 3. Đánh giá đặc trưng tuyến tính của LiAlO₂ trong dải liều 4-40 mGy.

Hình 3 mô tả đặc trưng tuyến tính của vật liệu LiAlO₂ đối với dải liều chiếu 4-40 mGy cho thấy, liều đọc thấp hơn 8,8% so với liều chiếu và điều này thỏa mãn theo IEC-62387:2012 là 11%.

3.4. Khảo sát đặc trưng tái sử dụng của vật liệu LiAlO₂

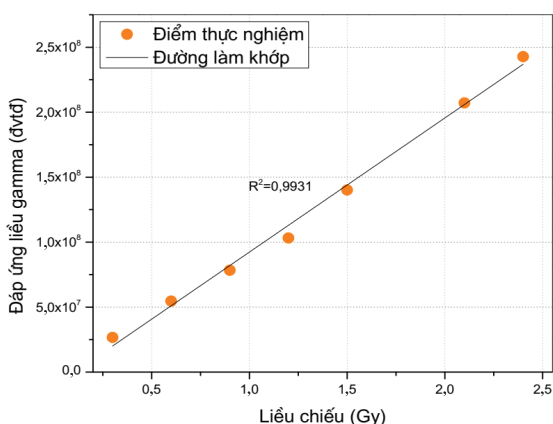
Để kiểm tra khả năng tái sử dụng của vật liệu LiAlO₂, nhóm tác giả đã thực hiện lặp lại 10 chu trình thực hiện giống nhau của một mẫu vật liệu LiAlO₂, bao gồm các bước: xử lý nhiệt, chiếu bức xạ gamma và đọc liều. Bảng 2 trình bày kết quả kiểm tra đặc trưng tái sử dụng của vật liệu LiAlO₂. Kết quả độ lệch chuẩn của 10 phép đọc liều là 3,63%, giá trị phân bố các phép đọc liều khá đồng đều. Điều này chứng tỏ vật liệu TL LiAlO₂ được chế tạo có độ nhạy khá ổn định trong quá trình sử dụng, có khả năng tái sử dụng cao.

Bảng 2. Kết quả đánh giá khả năng tái sử dụng của vật liệu LiAlO₂.

Lần đọc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TL (10 ³ nC)	2,47	2,39	2,22	2,46	2,50	2,36	2,41	2,52	2,44	2,49
Giá trị trung bình	2,42 × 10 ³ (nC)									
Độ lệch chuẩn	3,63%									

3.5. Khảo sát đặc trưng đáp ứng liều của LiAlO_2 khi được chiếu bức xạ gamma

Một đặc trưng quan trọng, cần thiết được đánh giá trong ứng dụng đo liều là đặc trưng đáp ứng liều của vật liệu được chế tạo trong khoảng liều quan tâm. Đường cong đáp ứng liều mô tả mối quan hệ giữa cường độ nhiệt phát quang và liều chiếu bức xạ. Để khảo sát đặc trưng đáp ứng liều của vật liệu LiAlO_2 , nhóm tác giả đã tiến hành chiếu bức xạ gamma với các giá trị liều chiếu khác nhau đối với vật liệu LiAlO_2 . Hình 4 mô tả đường đáp ứng liều của vật liệu LiAlO_2 sau khi chiếu bức xạ gamma với dải liều 0,3-2,4 Gy. Trên đồ thị, chấm tròn là điểm thực nghiệm tại các giá trị liều chiếu khác nhau còn đường nét liền là đường làm khớp.

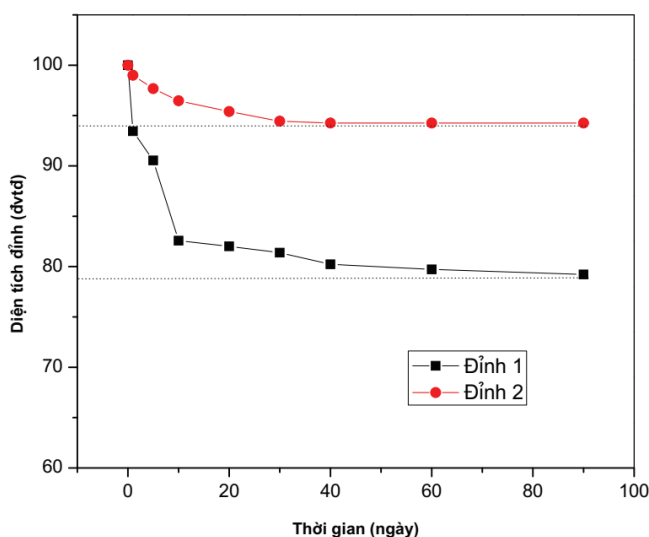
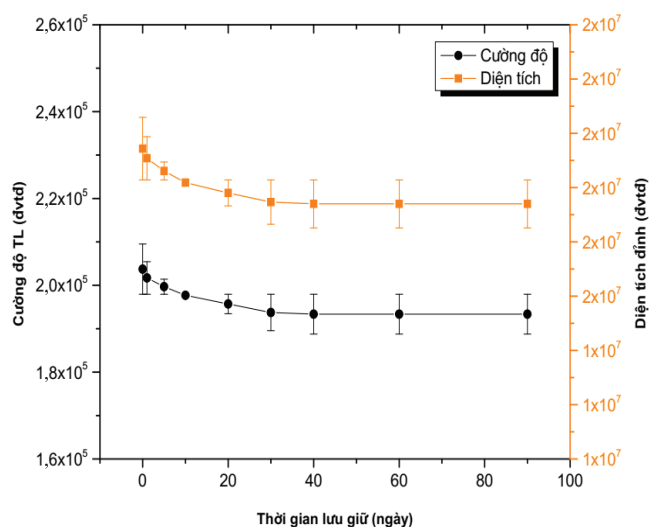


Hình 4. Đặc trưng đáp ứng liều gamma của vật liệu LiAlO_2 .

Kết quả hình 4 cho thấy, vật liệu LiAlO_2 đáp ứng tốt trong khoảng liều khảo sát từ 0,3-2,4 Gy, điều này chứng tỏ vật liệu có khả năng áp dụng trong đo liều bức xạ.

3.6. Khảo sát sự suy giảm tín hiệu nhiệt phát quang của LiAlO_2

Sự suy giảm của tín hiệu TL hay còn gọi là hiệu ứng fading là một thông số rất quan trọng của vật liệu đo liều, thông số này đánh giá khả năng lưu trữ thông tin theo thời gian của liều kế. Để khảo sát sự suy giảm tín hiệu TL của vật liệu LiAlO_2 , nhóm tác giả đã chiếu xạ tia gamma với cùng một liều chiếu 0,3 Gy từ nguồn Cs-137. Sau khi chiếu xạ, vật liệu LiAlO_2 được tiến hành đọc liều tại các thời gian lưu mẫu khác nhau. Sau 5 ngày chiếu xạ gamma, tín hiệu nhiệt phát quang tại đỉnh đo liều (đỉnh 2) giảm khoảng 3%. Sau 10 ngày chiếu xạ gamma tín hiệu TL giảm khoảng 1,2%. Sau 30 ngày chiếu xạ tia gamma, tín hiệu TL của vật liệu LiAlO_2 giảm khoảng 6%. Sau 60 ngày và 90 ngày chiếu xạ tia gamma thì tín hiệu TL gần như là ổn định hay giảm không đáng kể. Hình 5 trình bày sự suy giảm tín hiệu TL theo thời gian của vật liệu LiAlO_2 sau khi được chiếu xạ tia gamma.

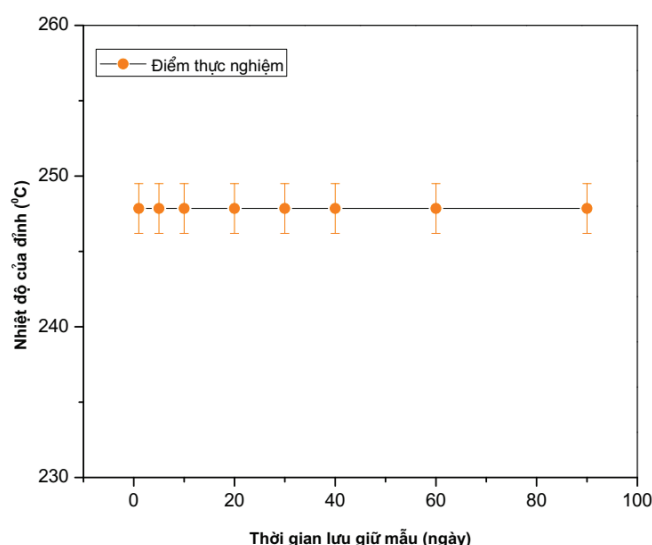


Hình 5. Khảo sát sự suy giảm tín hiệu nhiệt phát quang theo thời gian của LiAlO_2 sau khi chiếu xạ tia gamma.

Hiệu ứng fading hay sự suy giảm tín hiệu TL theo thời gian là một thông số để hiệu chỉnh chính xác kết quả đo liều. So sánh các kết quả tổng hợp của các nhóm tác giả B. Dhabekar và cs (2008a) [6], W. Pan và cs (2008) [7], R. Visocekas (1985) [14] về sự ảnh hưởng suy giảm tín hiệu vì nhiệt của một số vật liệu TL phổ biến đang sử dụng trong đo liều, thì hiệu ứng fading của vật liệu LiAlO_2 do chúng tôi chế tạo là chấp nhận được. Sự dịch chuyển vị trí đỉnh theo thời gian lưu giữ là rất quan trọng để biết bản chất của sự phân bố bẫy. Giảm độ vị trí nhiệt độ đỉnh đo liều của vật liệu LiAlO_2 theo thời gian lưu trữ mẫu được trình bày trong hình 6 và quan sát thấy rằng, vị trí cực đại của đỉnh gần như là không đổi theo thời gian. Bảng 3 dẫn chứng chỉ số suy giảm tín hiệu TL của một số vật liệu phổ biến đang được sử dụng trong đo liều:

Bảng 3. Suy giảm tín hiệu nhiệt phát quang của một số vật liệu khác nhau sử dụng trong đo liều bức xạ và vật liệu do chúng tôi chế tạo.

STT	Vật liệu nhiệt phát quang	Suy giảm tín hiệu nhiệt phát quang
1	LiF	5 đến 10%/năm
2	Li ₂ B ₄ O ₇ :Mn	2,5%/tháng
3	Li ₂ B ₄ O ₇ :Cu	4%/tháng
4	CaSO ₄ :Dy	1 đến 5%/tháng
5	CaSO ₄ :Mn	10%/tháng
6	CaF ₂ :Dy	25%/tháng
7	CaF ₂ :Mn	7%/ngày
8	LiAlO ₂	2 đến 6%/3 tháng



Hình 6. Sự dịch chuyển vị trí đỉnh đo liều của vật liệu LiAlO₂ được chiếu bức xạ gamma theo thời gian.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã khảo sát các đặc trưng đo liều của LiAlO₂ với giá trị phong và giới hạn ghi nhận lần lượt là 23,36 và 6,09 nC. Độ đồng đều của vật liệu đo liều LiAlO₂ là 6,98%, giá trị thẳng giáng giữa dải liều chiếu 4-40 mGy với các giá trị đọc liều trên Harshow 4000 là 8,8%, điều này thỏa mãn theo IEC-62387 là 11%. Kết quả các phép đo kiểm tra khả năng tái sử dụng của mẫu bột LiAlO₂ với độ lệch chuẩn của 10 phép đọc liều là 3,63%, có độ nhạy hầu như không thay đổi trong quá trình sử dụng, có khả năng tái sử dụng cao. Tín hiệu TL của vật liệu LiAlO₂ giảm khoảng 6% sau 90 ngày. Từ những kết quả đã nghiên cứu và khảo sát có thể kết luận rằng LiAlO₂ có khả năng ứng dụng trong đo liều bức xạ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Teng, S. Zhou, H. Lin, et al. (2010), "Growth and characterization of high-quality Mn-doped LiAlO₂ single crystal", *Chin. Opt. Lett.*, **8**, pp.414-417.
- [2] M. Martini, F. Meinardi (1997), "Thermally stimulated luminescence: New perspectives in the study of defects in solids", *La Rivista del Nuovo Cimento*, **20**, pp.1-71, DOI: 10.1007/BF02897907.
- [3] M.S. Akselrod, N.A. Larsen, S.W.S.M. Keever (2000), "A procedure for the distinction between static and dynamic radiation exposures of personal radiation badges using pulsed optically stimulated luminescence", *Radiat. Meas.*, **32**(3), pp.215-225, DOI: 10.1016/S1350-4487(00)00040-8.
- [4] A.K. Fischer (1977), "Atmospheric pressure synthesis for β -LiAlO₂", *Inorganic Chemistry*, **16**(4), DOI: 10.1107/S0365110X65003511.
- [5] J. Lin, Z. Wen, X. Xu, et al. (2010), "Processing and microstructure of γ -LiAlO₂ ceramics", *Ceramics International*, **36**(7), pp.2221-2225, DOI: 10.1016/j.ceramint.2010.03.032.
- [6] B. Dhabekar, E.A. Raja, S. Menon, et al. (2008a), "Identification of defect centres using TSL, PL, OSL and ESR studies in LiAlO₂ based phosphors", *J. Phys. D. Appl. Phys.*, **41**(11), pp.115414-115416, DOI: 10.1088/0022-3727/41/11/115414.
- [7] W. Pan, G. Ning, Y. Lin, et al. (2008), "Sol-gel processed Ce³⁺, Tb³⁺ codoped white emitting phosphors in Sr₂Al₂SiO₇", *Journal of Rare Earths*, **26**(2), pp.207-210, DOI: 10.1016/S1002-0721(08)60066-6.
- [8] B. Dhabekar, E.A. Raja, S. Menon, et al. (2008b), "ESR, PL and TL studies of LiAlO₂: Mn/Ce phosphor", *Radiat. Meas.*, **43**(2-6), pp.291-294, DOI: 10.1016/j.radmeas.2007.11.054.
- [9] J.I. Lee, A.S. Pradhan, J.L. Kim, et al. (2012), "Preliminary study on development and characterization of high sensitivity LiAlO₂ optically stimulated luminescence material", *Radiat. Meas.*, **47**(9), pp.837-840, DOI: 10.1016/j.radmeas.2012.01.007.
- [10] M. Sadel, P. Bilski, J. Swakon (2014), "Relative TL and OSL efficiency to protons of various dosimetric materials", *Radiat. Prot. Dosim.*, **161**(1-4), pp.112-115, DOI: 10.1093/rpd/nct217.
- [11] J.I. Lee, A.S. Pradhan, J.L. Kim, et al. (2013), "Characteristics of LiAlO₂- radioluminescence and optically stimulated luminescence", *Radiat. Meas.*, **56**, pp.217-222, DOI: 10.1016/j.radmeas.2013.01.066.
- [12] L. Brian, A.M. Miller, L.A. Huston, et al. (2000), *Dosimetry Measurement*, CRC Press, pp.1820-1824.
- [13] J.V. Dam, G. Marinello (2006), *Methods for In Vivo Dosimetry in External Radiotherapy*, European Society for Radiation Oncology, Brussels.
- [14] R. Visocekas (1985), "Tunneling radiative recombination in labradorite: Its association with anomalous fading of thermoluminescence", *Nucl. Tracks*, **10**(4-6), pp.521-529, DOI: 10.1016/0735-245X(85)90053-5.

Nghiên cứu, thử nghiệm phương pháp đánh dấu để khảo sát giếng khai thác gas-lift

Bùi Quang Trí*, Lê Văn Sơn, Huỳnh Thị Thu Hương, Trần Trọng Hiệu, Đặng Nguyễn Thế Duy, Trần Văn Bá

Trung tâm Ứng dụng Kỹ thuật Hạt nhân trong Công nghiệp (CANTI), 1 đường ĐT 723, phường 12, TP Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

Ngày nhận bài 8/6/2023; ngày chuyển phản biện 10/6/2023; ngày nhận phản biện 20/6/2023; ngày chấp nhận đăng 24/6/2023

Tóm tắt:

Trong quá trình hoạt động, các giếng khai thác gas-lift thường bị trục trặc, như các van gas-lift đáng lý đóng thì lại mở hoặc ngược lại. Ngoài ra, đôi khi còn có sự rò rỉ khí nâng vào trong ống khai thác hoặc ra ngoài vành xuyên. Do đó, việc khảo sát giếng khai thác gas-lift để tìm ra nguyên nhân của những trục trặc nêu trên là nhu cầu cần thiết trong khai thác dầu khí bằng phương pháp gas-lift. Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu, thử nghiệm phương pháp đánh dấu để khảo sát giếng khai thác gas-lift. Kết quả nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp và tiến hành thử nghiệm phương pháp tại hiện trường trên giếng 7010, giàn BK7, mỏ Bạch Hổ của Liên doanh Việt - Nga. Kết quả thử nghiệm đã xác định được giếng 7010 có hai điểm phun khí nâng tại độ sâu 2973 và 2248 m, tương ứng với van gas-lift số 5 (van cuối cùng) và một điểm thủng ống khai thác nằm giữa van gas-lift số 3 và van số 4. Ngoài ra, còn xác định được hơn 80% khí nâng được bơm qua điểm thủng ống khai thác và chỉ có gần 20% khí nâng được bơm qua van gas-lift số 5. Như vậy, giếng khai thác gas-lift 7010 hoạt động không hiệu quả. Kết quả này cũng được so sánh khá phù hợp với kết quả đo PT (đo áp suất và nhiệt độ trong lòng giếng) và kết quả đo mức chất lỏng trong vành xuyên. Kết quả nghiên cứu, thử nghiệm này cho thấy, có thể ứng dụng phương pháp đánh dấu vào thực tiễn khảo sát giếng khai thác gas-lift, trở thành một dịch vụ thường xuyên của ngành dầu khí.

Từ khóa: chất đánh dấu khí, điểm phun, giếng gas-lift, rò rỉ, van gas-lift.

Chỉ số phân loại: 1.3, 2.1

The research and testing of the tracer method for surveying gas-lift wells

Quang Tri Bui*, Van Son Le, Thi Thu Huong Huynh, Trong Hieu Tran, Nguyen The Duy Dang, Van Ba Tran

Centre for Applications of Nuclear Technique in Industry, 1 DT 723 Street, Ward 12, Da Lat City, Lam Dong Province, Vietnam

Received 8 June 2023; revised 20 June 2023; accepted 24 June 2023

Abstract:

During operation, gas-lift wells often have problems, such as the gas-lift valves designed to close are actually open or vice versa. In addition, sometimes, there is a leak of lifting gas into the tubing or out of the annulus. Therefore, surveying gas-lift wells to find out the causes of the above-mentioned problems is necessary for oil and gas exploitation using the gas-lift method. This article presents the results of research and testing of the tracer method for surveying gas-lift wells. As a result, the method has been developed and tested in the field on well 7010, the BK7 platform, and the Bach Ho oil field of the Vietnam-Russia Joint Venture. Test results have determined that well 7010 has two gas injection points at a depth of 2973 and 2248 m, respectively, with gas-lift valve no. 5 (the last valve) and a leak point in the tubing located between gas-lift valve no. 3 and valve no. 4. Moreover, it was determined that more than 80% of the lifting gas was pumped through the tubing perforation and only nearly 20% of the lifting gas was pumped through the gas-lift valve no. 5. Therefore, the 7010 gas-lift well is inefficient. This result is also quite consistent with the results of PT (measurement of pressure and temperature in the well) and the results of measuring the liquid level in the annulus. The results of this research and experiment show that the tracer method can be applied in the practical survey of gas-lift extraction wells, becoming a regular service for the oil and gas industry.

Keywords: gas-lift valve, gas-lift well, gas tracer, injection point, leak.

Classification numbers: 1.3, 2.1

*Tác giả liên hệ: Email: tribq@canti.vn

1. Đặt vấn đề

Trong khai thác dầu mỏ, ban đầu giếng tự phun, sau một thời gian do áp suất mỏ giảm, người ta phải tiến hành bơm ép nước để tăng áp suất mỏ và đẩy dầu về giếng khai thác. Khi bơm ép nước không còn hiệu quả, người ta phải sử dụng đến phương pháp khai thác nhân tạo như: bơm thủy lực, bơm điện chìm hoặc phương pháp gas-lift. Hiện nay, phần lớn các mỏ dầu trên thềm lục địa nước ta đều chuyển sang chế độ khai thác nhân tạo, trong đó khai thác bằng phương pháp gas-lift là chủ yếu.

Phương pháp bơm khí nâng vào vành xuyên và van gas-lift được lắp đặt dọc theo ống khai thác để hỗ trợ nâng dòng sản phẩm khai thác lên miệng giếng được gọi là phương pháp gas-lift. Để giếng khai thác dầu bằng phương pháp gas-lift đạt hiệu quả đòi hỏi: bơm khí nâng vào một điểm tại van gas-lift cuối cùng, đồng thời đóng tất cả các van gas-lift phía trên, để tối đa hoá sản lượng khai thác [1]. Tuy nhiên, trong quá trình hoạt động, các giếng gas-lift thường hay bị trục trặc như: các van gas-lift cần đóng thì lại mở hoặc ngược lại, rò rỉ khí nâng từ vành xuyên vào trong ống khai thác hoặc rò rỉ ra ngoài vành xuyên... Giếng khai thác gas-lift có nhiều van gas-lift cùng mở, hoặc có một van mở nhưng không đúng thiết kế hoặc bị rò rỉ, thì giếng khai thác gas-lift hoạt động sẽ không hiệu quả, tiêu tốn khí đồng hành và đôi khi còn mất an toàn cho giếng.

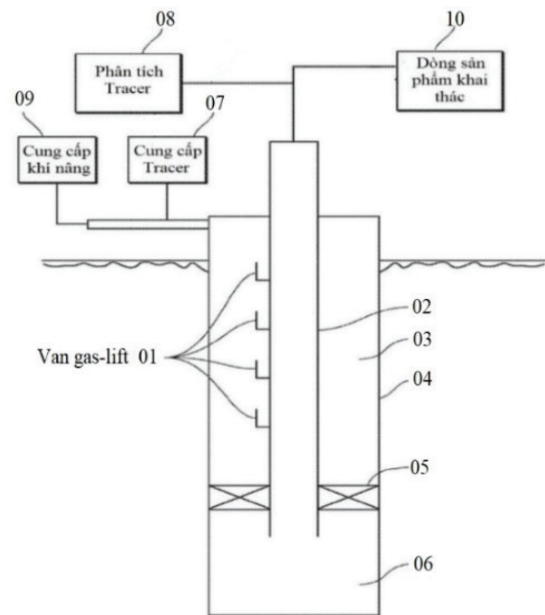
Để xác định các van gas-lift mở hoặc vị trí rò rỉ trong giếng (nếu có), người ta thường dùng các phương pháp như: đo nhiệt độ, đo áp suất hoặc đo dòng trong ống khai thác [2]. Việc đưa thiết bị đo vào trong lòng giếng thường gây ra nhiều phiền toái như phải dừng hoạt động của giếng, dẫn đến giảm sản lượng khai thác, đôi khi còn gặp rủi ro do rút thiết bị đo xuống giếng, khi đó mất rất nhiều thời gian, công sức và tiền bạc để khắc phục hậu quả. Ngoài ra, các kỹ thuật nêu trên rất khó đoán giải kết quả và giá dịch vụ tương đối cao. Do đó, cần phải xây dựng một phương pháp mới nhằm khắc phục được những nhược điểm của các phương pháp nêu trên.

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu phương pháp đánh dấu khảo sát giếng khai thác gas-lift, xác định điểm phun hoặc rò rỉ (nếu có) trong giếng, và thử nghiệm phương pháp tại hiện trường trên giếng khai thác gas-lift 7010, giàn BK7, mỏ Bạch Hổ.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Mô tả phương pháp

Phương pháp đánh dấu khảo sát giếng khai thác gas-lift xác định điểm phun khí nâng và vị trí rò rỉ trong giếng (nếu có) được mô tả cụ thể như sau: Chất đánh dấu hóa học dưới dạng khí (07) được bơm vào dòng khí nâng (09) của giếng khai thác gas-lift, chất đánh dấu di chuyển theo dòng khí nâng trong vành xuyên, để đi vào ống khai thác (02) nếu có bất cứ khe hở nào của ống khai thác, nó sẽ đi ra ngoài vành xuyên. Chất đánh dấu đi vào ống khai thác, di chuyển theo dòng sản phẩm lên miệng giếng (10). Tại miệng giếng, ta trích một phần dòng sản phẩm để đưa qua bộ tách, lọc khí. Khí sau khi lọc sẽ được đưa vào buồng đo của máy đo chất đánh dấu (08), để phân tích nồng độ chất đánh dấu theo thời gian tại miệng giếng (hình 1).



Hình 1. Sơ đồ khảo sát giếng khai thác gas-lift bằng kỹ thuật đánh dấu.
(01): Van gas-lift; (02): Ống khai thác; (03): Khoảng không vành xuyên; (04): Ống chống vành xuyên; (05): Packer; (06): Vía dầu; (07): Bơm chất đánh dấu; (08): Máy đo chất đánh dấu; (09): Dòng khí nâng; (10): Dòng sản phẩm khai thác [3].

Sự hiện diện của chất đánh dấu được phát hiện trong dòng sản phẩm khai thác tại miệng giếng như là một hàm của thời gian. Nghĩa là, ta có thể xác định được thời gian kể từ lúc chất đánh dấu bơm vào dòng khí nâng đi xuống giếng vào trong ống khai thác, qua van gas-lift mở hoặc qua điểm rò rỉ vào ống khai thác, đi lên miệng giếng cùng với dòng sản phẩm khai thác.

Nếu biết vận tốc khí nâng trong vành xuyên và trong ống khai thác, thì khoảng cách di chuyển của xung đánh dấu có thể được tính bằng cách đo thời gian đã trôi qua giữa thời điểm xung đánh dấu được bơm vào vành xuyên và thời điểm nó đến bề mặt, tại miệng giếng.

Lưu lượng dòng khí tại độ sâu cụ thể của một vị trí trong vành xuyên cho bởi [4]:

$$Q_{is} = Q_{gi} \frac{14,7}{P} Z \frac{T}{520} \quad (1)$$

trong đó: Q_{is} là lưu lượng dòng khí nâng tại một vị trí trong vành xuyên, tính bằng Mscf/D; Q_{gi} là lưu lượng dòng khí nâng được bơm vào vành xuyên, tính bằng Mscf/D; P và T là áp suất và nhiệt độ tuyệt đối tương ứng của khí tại độ sâu cụ thể của vị trí đó trong vành xuyên; Z là hệ số nén khí tại vị trí đó theo P và T ; các hệ số 14,7 và 520 là các hệ số thực nghiệm.

Vận tốc khí nâng trong vành xuyên: Vận tốc khí nâng tại độ sâu cụ thể của một vị trí trong vành xuyên sẽ bằng lưu lượng dòng khí nâng tại vị trí đó (Q_{is}), chia cho tiết diện vành xuyên (A_a) tại vị trí đó [4].

$$V_{is} = \frac{Q_{is}}{A_a \cdot 1,44} \quad (2)$$

trong đó: V_{is} là vận tốc của khí tại một vị trí cụ thể trong vành xuyên tính bằng ft/phút; Q_{is} là lưu lượng dòng khí nâng tại vị trí đó; A_a là tiết diện vành xuyên tại vị trí đó và được biểu thị bằng ft²; 1,44 là hệ số chuyển đổi đơn vị (từ Mscf/D sang scfM).

Thời gian khác nhau dt để chất khí đi được độ sâu chênh lệch dD bằng dD/V_{is} . Tổng thời gian ($T_{total-anular}$) để xung chất đánh dấu đi từ bề mặt đến điểm phun ở độ sâu D_M nào đó bằng [4]:

$$T_{total-anular} = \int_0^{D_M} \frac{dD}{V_{is}} = \int_0^{D_M} \frac{dD}{Q_{gi} \frac{14,7}{P} Z \frac{T}{520} \left(\frac{1}{1,44 A_a} \right)} \quad (3)$$

Phương trình (3) có thể được giải bằng phương pháp số nếu biết được sự phân bố áp suất và nhiệt độ của khí nâng dọc theo độ sâu của vành xuyên.

Tổng thời gian ($T_{total-return}$) để xung chất đánh dấu quay trở lại bề mặt kể từ thời điểm nó được đưa vào, bằng:

$$T_{total-return} = T_{total-anular} + D_M/V_{mean-tub} \quad (4)$$

trong đó: $V_{mean-tub}$ là vận tốc trung bình của khí nâng trong ống khai thác; $T_{total-anular}$ là tổng thời gian để xung chất đánh dấu đi từ bề mặt đến điểm phun ở độ sâu D_M nào đó trong vành xuyên.

Vận tốc khí nâng trong ống khai thác: Vận tốc khí nâng tại độ sâu cụ thể trong ống khai thác có thể được tính bằng cách sử dụng các mô hình hoặc tương quan dòng chảy nhiều pha. Việc tính toán này là tương đối phức tạp, nếu cần có thể bỏ qua khoảng thời gian di chuyển của khí nâng trong ống khai thác, bởi vì thời gian di chuyển của khí nâng trong vành xuyên lớn gấp từ 50÷60 lần [4] thời gian di chuyển của khí nâng trong ống khai thác (nếu bỏ qua nó cũng chỉ dẫn đến sai số khoảng một vài phần trăm). Trong khi đó, các điểm gắn van gas-lift trong giếng gas-lift cách nhau tối thiểu là 200 m [5], do đó sai số trong thực nghiệm đánh dấu khoảng một vài phần trăm, vẫn có thể xác định được van gas-lift mở. Tuy nhiên, nếu cần xác định vị trí điểm rò rỉ càng chính xác càng tốt thì không nên bỏ qua khoảng thời gian này.

Vận tốc khí nâng được tính toán trong vành xuyên và trong ống khai thác được sử dụng để kết hợp với thời gian đo được của xung chất đánh dấu, để tính độ sâu của điểm phun khí nâng nếu giếng chỉ có một điểm phun khí nâng vào ống khai thác.

Nếu giếng có 2 hoặc nhiều điểm phun hoặc điểm rò rỉ, quy trình tính toán để xác định độ sâu của các điểm phun hoặc điểm rò rỉ này thì phức tạp hơn, cụ thể là:

Khi có 2 hoặc nhiều điểm phun hay điểm rò rỉ, cần phải biết tỷ lệ khí đi vào ống khai thác tại mỗi điểm, để có thể tính vận tốc của khí trong vành xuyên phía dưới mỗi điểm phun hoặc điểm rò rỉ. Tỷ lệ phần trăm của tổng lưu lượng khí được bơm vào tại mỗi điểm phun được xác định bằng cách tích phân theo thời gian của các giá trị nồng độ chất đánh dấu. Ví dụ: nếu chỉ có hai điểm phun, tỷ lệ phần trăm của tổng lưu lượng khí đi vào mỗi điểm (được đặt tên là điểm “1” và “2”) bằng [4]:

$$Q_1 = \frac{\int_{t_{1a}}^{t_{1b}} C_1(t) dt}{\int_{t_{1a}}^{t_{1b}} C_1(t) dt + \int_{t_{2a}}^{t_{2b}} C_2(t) dt} \quad (5)$$

$$Q_2 = \frac{\int_{t_{2a}}^{t_{2b}} C_2(t) dt}{\int_{t_{1a}}^{t_{1b}} C_1(t) dt + \int_{t_{2a}}^{t_{2b}} C_2(t) dt} \quad (6)$$

trong đó: $C_n(t)$ tương ứng với đường cong nồng độ chất đánh dấu đo được từ thời điểm t_{na} khi xuất hiện xung thứ n (khi mức nồng độ tăng lên trên nồng độ bình thường) đến thời điểm t_{nb} , là thời điểm nồng độ chất đánh dấu thay đổi đến mức nồng độ bình thường.

Về tính toán vận tốc: Vận tốc dòng khí nâng trong vành xuyên trước khi đến điểm phun đầu tiên được tính như đã được trình bày ở trên. Dưới điểm phun đầu tiên, lưu lượng

dòng khí phun Q_{gi} được quy đổi lại thành $(1 - \% Q_1) Q_{gi}$, là lưu lượng dòng khí nâng mới được gọi là (Q_{1-gi}) để tính toán vị trí điểm phun thứ hai của khí nâng bằng cách sử dụng phương trình (1). Lưu lượng dòng khí trong vành xuyên bên dưới điểm phun “1” (Q_{1-gi}) sẽ nhỏ hơn lưu lượng dòng khí nâng trên điểm phun “1”, do đó sẽ mất một khoảng thời gian dài hơn để xung đánh dấu đến điểm phun thứ hai (nếu không được thực hiện điều chỉnh này, khi tính toán độ sâu sẽ sâu hơn nhiều so với thực tế).

Trong thực tế có thể xảy ra trường hợp rò rỉ ra ngoài vành xuyên. Khi điều này xảy ra, thời gian xuất hiện của xung đánh dấu có thể lâu hơn nhiều so với thời gian dự kiến, vì vận tốc khí trong vành xuyên bị giảm do một phần do lưu lượng dòng khí nâng bị mất qua lỗ rò trên ống chống ra ngoài vành xuyên. Để phát hiện được vị trí điểm rò này, cần đo chất đánh dấu trong một khoảng thời gian dài hơn thời gian dự kiến, để nhận được xung đánh dấu quay trở lại bề mặt. Sau đó, cần phải tính toán cân bằng lượng chất đánh dấu bơm vào và lượng chất đánh dấu thu hồi, để tính ra lượng chất đánh dấu bị mất.

Lượng chất đánh dấu thu hồi tại bề mặt có thể được tính theo công thức sau [4]:

$$V_{TracerProd} = Q_{total} \int_{t_a}^{t_{1b}} C_1(t) dt \quad (7)$$

trong đó: Q_{total} là lưu lượng dòng khí khai thác. Nếu Q_{total} được biểu thị bằng $Mscf/D$ và thời gian t tính bằng ngày, thì $V_{TracerProd}$ được biểu thị bằng $Mscf$.

Biết được lượng chất đánh dấu được bơm vào và lượng chất đánh dấu thu hồi, ta có thể tính được lượng chất đánh dấu bị mất $V_{TracerLost}$, hay lượng khí nâng bị mất theo tỷ lệ phần trăm Q_{Lost} như sau [4]:

$$Q_{Lost} = (1 - (V_{TracerProd}/V_{TracerInj})) * 100 \quad (8)$$

trong đó: Q_{Lost} là lưu lượng dòng khí nâng bị mất do rò rỉ ra ngoài vành xuyên; $V_{TracerInj}$ là lượng chất đánh dấu bơm vào vành xuyên của giếng; $V_{TracerProd}$ là lượng chất đánh dấu thu hồi trong ống khai thác tại miệng giếng.

Từ tỷ lệ phần trăm này, vận tốc khí trên và dưới lỗ rò ra ngoài vành xuyên có thể được tính toán (như đã chỉ ra ở trên cho hai điểm phun). Ta có vận tốc trung bình của khí nâng ở trên và dưới lỗ rò ra ngoài vành xuyên lần lượt là V_1 và V_2 . Giả thiết rằng, khoảng thời gian cần thiết để khí di chuyển bên trong ống khai thác (từ độ sâu điểm phun đến bề mặt) là rất ngắn, thì tổng thời gian $\Delta_{tmeasured}$ để xung quay trở lại bề mặt (kể từ thời điểm nó được bơm vào) bằng khoảng cách mà khí nâng đi từ bề mặt đến lỗ rò ra ngoài vành xuyên chia cho vận tốc khí nâng vành xuyên V_1 của nó, cộng với

thời gian di chuyển của xung đánh dấu di chuyển từ lỗ rò ra ngoài vành xuyên đến điểm phun của ống khai thác, chia cho vận tốc V_2 của nó. Khi đó, độ sâu H của lỗ rò ra ngoài vành xuyên, được tính theo công thức (9) [5]:

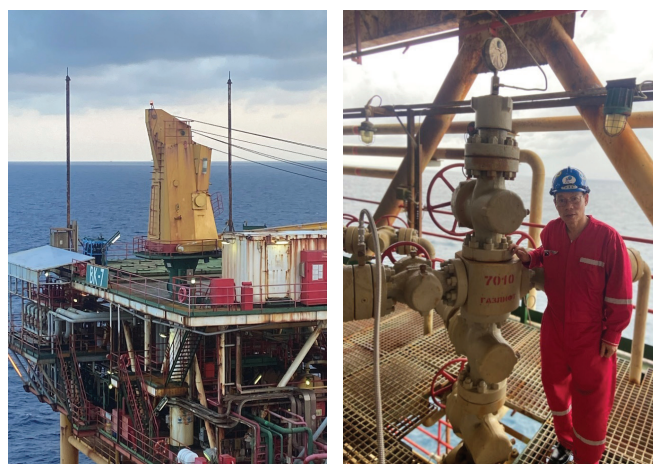
$$\Delta_{tmeasured} = \frac{H}{V_1} + \frac{D_M - H}{V_2} \quad (9)$$

trong đó: D_M là độ sâu của van gas-lift, qua đó lưu lượng dòng khí nâng còn lại được phun vào ống khai thác. Lưu lượng dòng khí còn lại này tính được khi biết lưu lượng khí nâng bơm vào giếng và lưu lượng khí nâng bị mất (sử dụng phương trình (8) ở trên); V_1 là vận tốc khí nâng trong vành xuyên phía trên điểm rò; V_2 là vận tốc khí nâng trong vành xuyên phía dưới điểm rò; H là độ sâu của lỗ rò ra ngoài vành xuyên.

Nếu lỗ rò ra ngoài vành xuyên nằm dưới điểm phun của van gas-lift, xung chất đánh dấu sẽ được phát hiện tại thời điểm đúng bằng thời điểm dự kiến, nên không thể sử dụng phương trình (9) để tìm độ sâu H của lỗ rò ra ngoài vành xuyên nằm dưới điểm phun của van gas-lift.

2.2. Thử nghiệm phương pháp tại hiện trường trên giếng gas-lift 7010

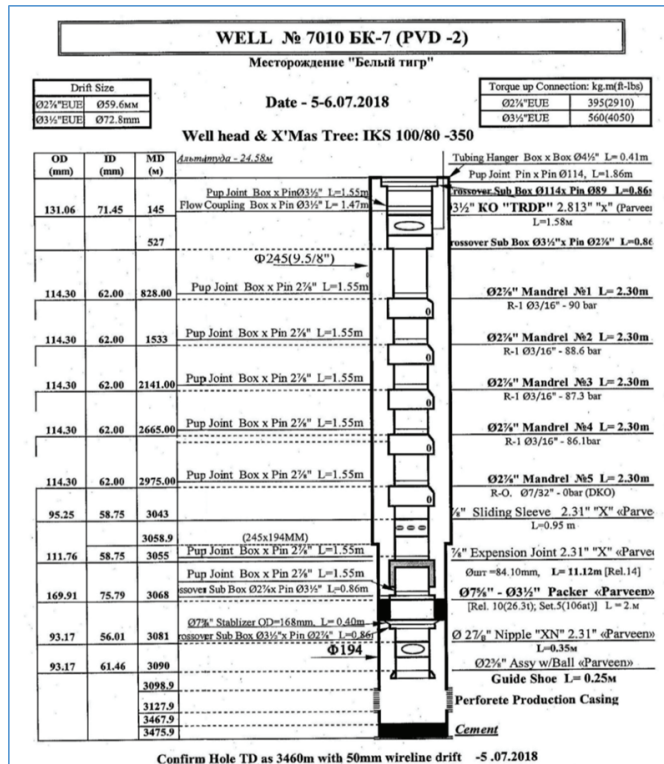
Để kiểm chứng phương pháp, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm phương pháp tại hiện trường. Được sự đồng ý của Lãnh đạo Liên doanh Việt - Nga tại văn bản số 1040/22-CV-DCKTM/KT, ngày 23/12/2022, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm công nghiệp tại giếng gas-lift 7010, thuộc giàn khoan BK7, vòm Trung tâm mỏ Bạch Hổ, ngoài khơi biển Vũng Tàu (hình 2).



Hình 2. Giếng 7010 trên giàn BK7, mỏ Bạch Hổ.

Giếng 7010 bắt đầu khoan khai thác tầng móng từ ngày 20/8/2006, là giếng thân trần có khoảng mở vỉa ở độ sâu từ 4.349÷4.810 m. Lưu lượng khai thác ban đầu là 106 tấn dầu/ngày đêm. Đến ngày 25/07/2012, sản lượng khai thác

của giếng về 0 tấn dầu/ngày đêm. Từ ngày 25/7/2012 đến 6/8/2012 tiến hành sửa giếng chuyển sang khai thác dầu ở tầng Mioxen hạ. Sản lượng khai thác sau khi sửa chữa là 80 tấn dầu/ngày đêm. Sau đó đến ngày 1/10/2012, sản lượng giảm xuống 49 tấn dầu/ngày đêm, đã tiến hành xử lý axit và nâng sản lượng lên 73 tấn dầu/ngày đêm. Đến ngày 22/3/2016, sản lượng khai thác giảm xuống 36 tấn dầu/ngày đêm và tiến hành xử lý axit lần hai, kết quả cho sản lượng 0 tấn/24 giờ. Đến ngày 15/4/2016, giếng được thay van gas-lift và chuyển sang chế độ hoạt động theo phương pháp gas-lift từ đó đến nay. Hiện nay, sản lượng khai thác của giếng là 25,28 tấn dầu/ngày đêm và 5.187,29 m³ khí/ngày đêm. Hiện tại, tỷ lệ nước trong sản phẩm khai thác là 32,6%. Như vậy, giếng 7010 đang khai thác kém hiệu quả, cần phải nghiên cứu tìm nguyên nhân và biện pháp khắc phục để nâng cao hiệu quả khai thác của giếng. Giếng 7010 có cấu trúc như trong hình 3 [5].

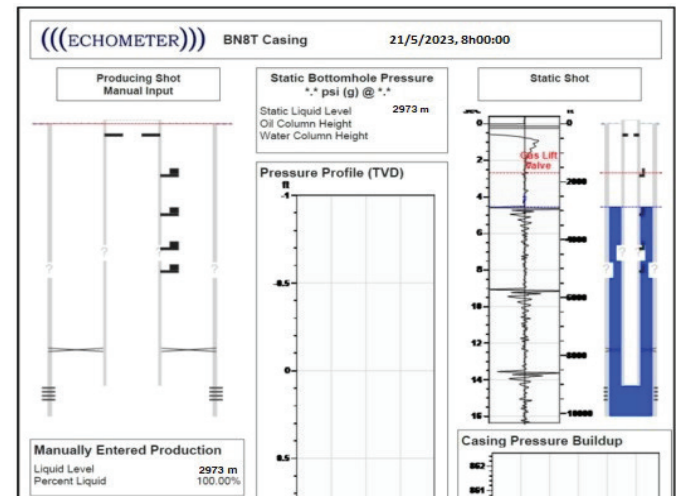


Hình 3. Cấu trúc giếng gas-lift 7010 [5].

Thông số kỹ thuật cụ thể như sau: Giếng có độ sâu 3.475,9 m và đóng parker tại độ sâu 3.068 m. Ống chống có hai đoạn với kích thước khác nhau. Đoạn 1 từ miệng giếng đến độ sâu 3.058 m, có đường kính ngoài 245 mm. Đoạn 2 từ độ sâu 3.058 đến 3.475,9 m, có đường kính ngoài 194 mm. Trên ống khai thác đặt 5 van gas-lift từ số 1 đến số 5 (van số 5 là van DKO) lần lượt tại các độ sâu là: 828, 1.533, 2.141, 2.665 và 2.975 m. Trong đó, các van từ số 1 đến số 4 là van khởi động, các van này đóng/mở theo áp suất; van

số 5 là van hoạt động (DKO), luôn luôn mở. Tại thời điểm tiến hành thử nghiệm, giếng hoạt động với lưu lượng bơm khí nâng trung bình là 14.012,6 m³/ngày đêm, áp suất khí nâng trung bình là 61,12 Bar, nhiệt độ khí nâng trung bình là 25°C, lưu lượng khí khai thác trung bình là 5.187,29 m³/ngày đêm, áp suất miệng giếng trung bình là: 16,21 Bar, nhiệt độ trung bình dòng sản phẩm khai thác là 44,55°C. Tổng sản lượng khai thác dầu là 25,28 tấn/ngày đêm. Tỷ lệ nước khai thác là 32,6%.

Tiến hành thử nghiệm: Trước khi tiến hành thử nghiệm phương pháp đánh dấu, giếng 7010 đã được các cán bộ kỹ thuật của Xí nghiệp Khai thác Dầu khí của Liên doanh Việt - Nga, tiến hành đo mức chất lỏng trong vành xuyên của giếng. Việc đo mức chất lỏng trong vành xuyên trước khi đánh dấu là một việc rất quan trọng, nhằm xác định được độ sâu mà chất đánh dấu khí có thể đi qua được, trên cơ sở đó có thể ước lượng được thời gian đo chất đánh dấu trên miệng giếng. Đồng thời phục vụ cho việc xử lý số liệu thực nghiệm đánh dấu sau này. Kết quả đo mức chất lỏng trong vành xuyên được xác định ở độ sâu 2.973 m (hình 4). Tuy nhiên, số liệu này cũng chỉ để tham khảo vì phương pháp này cũng gặp phải sai số.



Hình 4. Kết quả đo mức chất lỏng tại giếng khai thác gas-lift 7010.

Bơm chất đánh dấu: Vị trí lắp đặt hệ thống bơm chất đánh dấu vào đầu giếng 7010 tại vị trí van 1/2" NPT, trên đường dẫn khí nâng vào vành xuyên của giếng. Việc lắp đặt và kiểm tra rò rỉ hệ thống bơm chất đánh dấu được thực hiện theo đúng quy trình đã được Lãnh đạo Liên doanh Việt - Nga phê duyệt. Lắp đặt hệ thống bơm chất đánh dấu và bơm chất đánh dấu vào giếng 7010 như ở hình 5. Thời điểm bơm chất đánh dấu vào lúc 10 giờ 15 phút và kết thúc vào lúc 10 giờ 17 phút ngày 21/5/2023. Áp suất bơm từ 194 xuống 65 atm, khoảng thời gian bơm là 2 phút 30 giây. Lượng chất đánh dấu khí bơm vào giếng là 11,61 m³ khí ở điều kiện tiêu chuẩn.



Hình 5. Lắp đặt và bơm chất đánh dấu vào giếng gas-lift 7010.

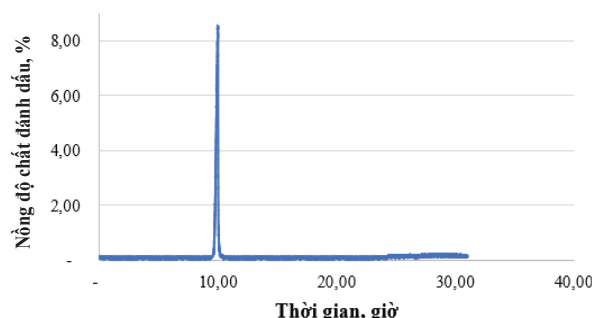
Đo chất đánh dấu: Vị trí lắp đặt thiết bị đo vào đầu giếng 7010 tại vị trí van 1/2 inch trên đường dẫn sản phẩm khai thác của giếng về khu xử lý. Việc lắp đặt và kiểm tra rò rỉ hệ thống đo chất đánh dấu được thực hiện theo đúng quy trình đã được Lãnh đạo Liên doanh Việt - Nga phê duyệt. Thiết bị đo chất đánh dấu và việc lắp đặt thiết bị vào đầu giếng như trong hình 6.



Hình 6. Thiết bị đo chất đánh dấu và vị trí lắp đặt thiết bị vào giếng gas-lift 7010.

Bắt đầu đo, theo dõi chất đánh dấu tại miệng giếng vào lúc 10 giờ 15 phút ngày 21/5/2023, và kết thúc vào lúc 16 giờ ngày 22/5/2023. Các thực nghiệm khảo sát giếng khai thác gas-lift trên thế giới thường được đo trong khoảng thời gian từ 5 đến 7 giờ, đối với các giếng khoan của ta thường sâu hơn, nên theo tính toán của chúng tôi, thời gian khảo sát khoảng từ 10 đến 15 giờ là tối đa. Tuy nhiên, trong thử nghiệm này Liên doanh Việt - Nga giao cho chúng tôi giếng 7010, một trường hợp rất đặc biệt, cụ thể là: sau khi đo bắt được đỉnh chất đánh dấu đầu tiên, chúng tôi tiến hành tính toán sơ bộ cho thấy, vị trí điểm phun khí nâng này mới chỉ nằm ở độ sâu khoảng từ 2.200 đến 2.300 m, trong khi đó kết quả đo mức chất lỏng trong vành xuyên ở độ sâu 2.973 m. Chúng tôi quyết định kéo dài thời gian quan trắc. Kết quả đã tìm thấy đỉnh chất đánh dấu thứ hai xuất hiện sau

khoảng 23,25 giờ, kể từ thời điểm bơm chất đánh dấu vào giếng nhưng với nồng độ rất thấp và đỉnh kéo dài nhiều giờ, khi đỉnh chất đánh dấu đã có xu hướng giảm dần, có thể dùng phương pháp nội suy trong quá trình xử lý kết quả nên chúng tôi quyết định dừng đo (hình 7).



Hình 7. Kết quả đo chất đánh dấu tại miệng giếng 7010 theo thời gian.

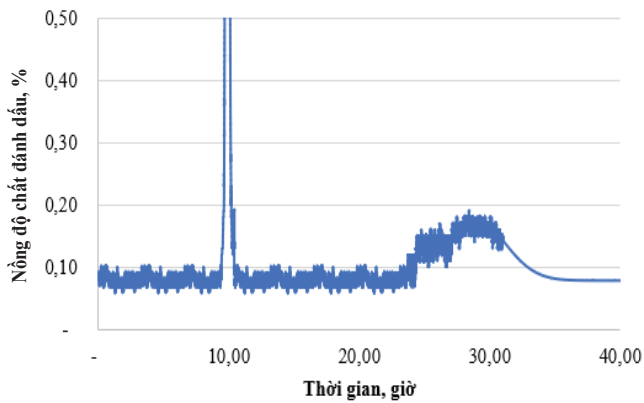
3. Kết quả và bàn luận

Kết quả đo chất đánh dấu tại miệng giếng theo thời gian đã phát hiện thấy hai đỉnh chất đánh dấu. Một đỉnh có nồng độ chất đánh dấu khá lớn (trên 8%), được phát hiện vào lúc 19h40:29PM ngày 21/5/2023 (sau 9 giờ 25 phút 48 giây, kể từ khi bơm chất đánh dấu vào giếng); một đỉnh có nồng độ chất đánh dấu tương đối nhỏ (khoảng 0,2%) được phát hiện vào lúc 10h:35:41AM ngày 22/5/2023 (sau 24 giờ 21 phút, kể từ khi bơm chất đánh dấu vào giếng). Đỉnh chất đánh dấu thứ hai do theo dõi chưa hết thời gian nên chúng tôi đã sử dụng phần mềm Origin để khớp hàm và ngoại suy, cho ra kết quả như trong hình 8. Kết quả đo chất đánh dấu tại miệng giếng theo thời gian được trình bày trong hình 9. Kết quả sau khi tính toán, xử lý bằng phần mềm (CANTI-GL) được đưa ra như trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm phương pháp đánh dấu trên giếng gas-lift 7010.

TT	V_{VX}	V_{KT}	$V_{VX} + V_{KT}$	D_{VG}	T_{TRACER}	D_{TRACER}	Δ_D	SS	Q_G	V_{GL}
	m/h	m/h	m/h	m	h	m	m	%	m ³ /ngđ	
1				828						V_1
2				1.533						V_2
3				2.141						V_3
4	245,10	8.586,44	238,296	2.250	9,43	2.247,13	2,87	0,12	11.502	Rò ống khai thác
5				2.665						V_4
6	127,08	4.201,82	122,026	2.975	24,35	2.971,33	3,67	0,13	2.498	V_5

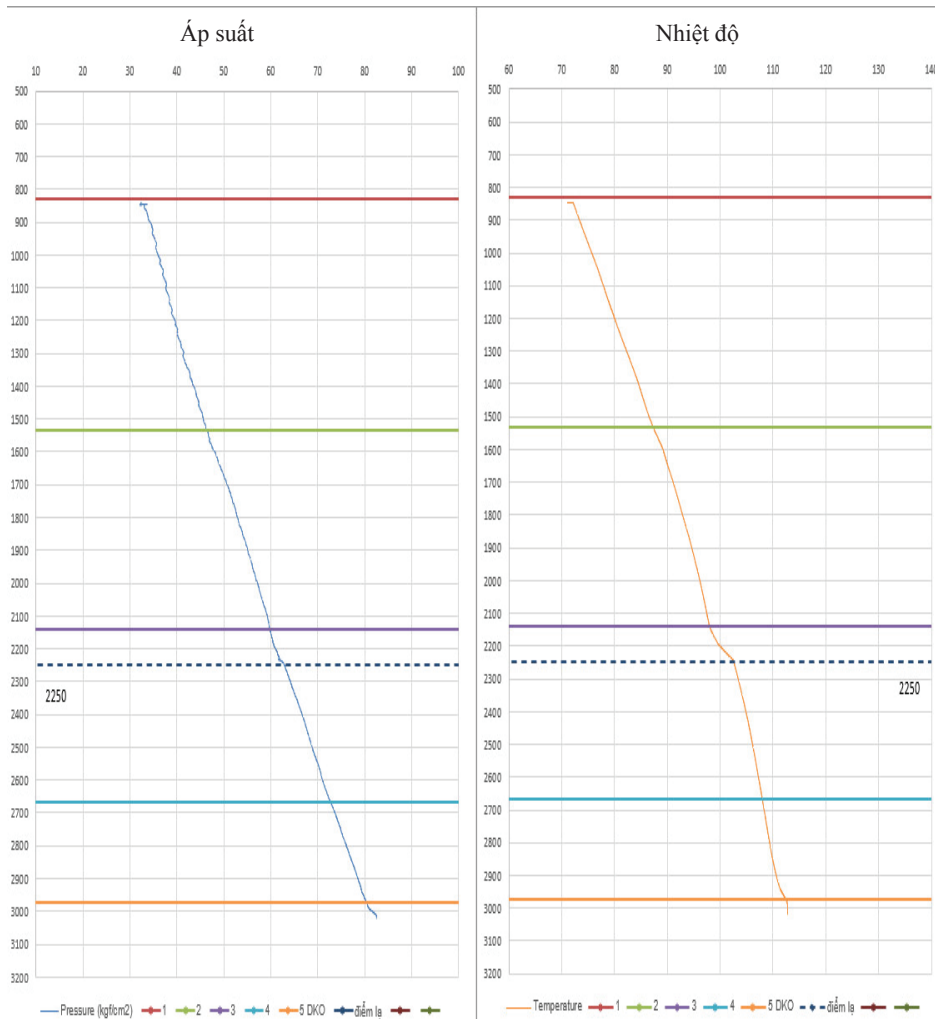
Ghi chú: V_{VX} là vận tốc trung bình của khí nâng trong vành xuyên; V_{KT} là vận tốc trung bình của khí trong ống khai; $(V_{VX} + V_{KT})/2$ là vận tốc trung bình của khí trong vành xuyên và ống khai thác; D_{VG} là độ sâu thực tế của các van gas-lift; T_{TRACER} là thời gian di chuyển của chất đánh dấu; D_{TRACER} là độ sâu theo thực nghiệm đánh dấu; Δ_D là chênh lệch độ sâu theo thực nghiệm so với thực tế; SS là sai số; Q_G là lưu lượng khí nâng vào các van gas-lift; V_{GL} là van gas-lift số.



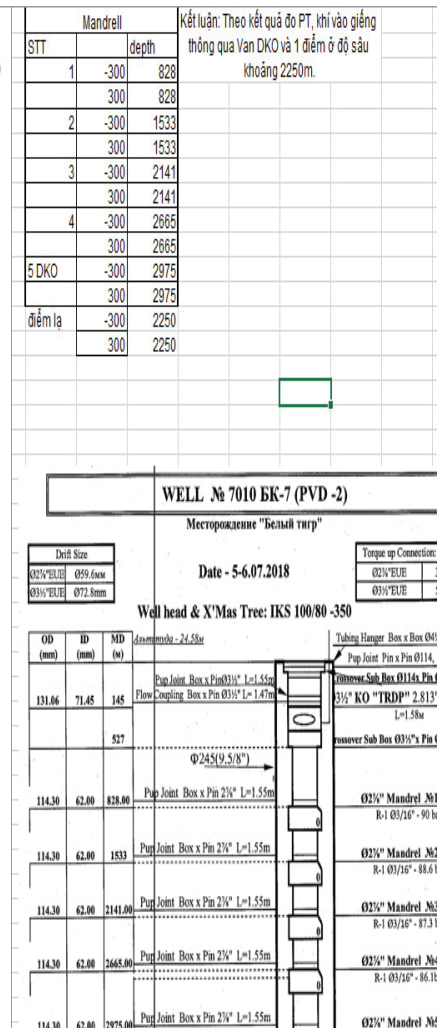
Hình 8. Kết quả ngoại suy đỉnh chất đánh dấu thứ hai theo thời gian.

Kết quả thử nghiệm này đã được so sánh với kết quả đo áp suất và nhiệt độ trong ống khai thác 7010, do Xí nghiệp Khai thác Dầu khí của Liên doanh Việt - Nga thực hiện (hình 9) cho sự khác biệt về độ sâu không nhiều (2.247,13 so với 2.250 m). Như vậy, sai số khoảng 0,12%.

Như vậy, phương pháp đánh dấu khảo sát giếng khai thác gas-lift để xác định điểm phun khí nâng và xác định vị trí rò rỉ (nếu có) đã được nghiên cứu hoàn thiện và tiến hành thử nghiệm công nghiệp thành công tại hiện trường trên giếng khai thác gas-lift 7010, giàn BK7, mỏ Bạch Hổ của Liên doanh Việt - Nga. Kết quả thử nghiệm đã xác định được giếng 7010 có hai điểm phun khí nâng: điểm thứ nhất được xác định tại độ sâu 2.247,13 m, không nằm trong vị trí các van gas-lift mà do ống khai thác đã bị thủng. Vị trí điểm thủng được xác định có sai số là 0,12% so với phương pháp PLT. Lỗ thủng này rất lớn chiếm trên 80% tổng lượng khí nâng bơm vào giếng (11.502 m³/ngày đêm so với 14.012,29 m³/ngày đêm). Điểm thứ hai được xác định tại độ sâu 2.971,33 m, được cho là điểm phun khí nâng của van gas-lift số 5, với sai số là 0,13%. Lưu lượng khí nâng qua van này chưa đến 20% tổng lượng khí nâng bơm vào giếng (2.498 m³/ngày đêm so với 14.012,29 m³/ngày đêm). Như vậy, giếng gas-lift 7010 hoạt động không hiệu quả, cần phải vá lại lỗ thủng trên ống khai thác tại độ sâu 2.247,13 m thì



Hình 9. Kết quả đo áp suất và nhiệt độ trong ống khai thác giếng 7010.



khí nâng mới đưa xuống van gas-lift số 5 theo như thiết kế, khi đó giếng sẽ hoạt động hiệu quả cho sản lượng dầu khai thác tăng hơn nhiều so với hiện nay.

Qua kết quả thử nghiệm này, chúng tôi nhận thấy: trong thực tế, nếu giếng khai thác gas-lift có hai van gas-lift đều mở thì tỷ lệ lưu lượng khí nâng vào từng van gần tương đương nhau, do đường kính lỗ thoát khí của van gas-lift đều bằng nhau và chỉ khác nhau về áp suất mở van, do đó, nồng độ chất đánh dấu tại đỉnh hơn kém nhau không nhiều và thời gian di chuyển của chất đánh dấu đến van thứ hai có tăng (do lưu lượng khí nâng giảm) nhưng tăng không nhiều. Với lý do trên, khoảng thời gian để hoàn thành việc khảo sát một giếng gas-lift bằng kỹ thuật đánh dấu ước tính tối đa là khoảng 15 giờ. Tuy nhiên, trong thử nghiệm giếng gas-lift 7010, do ống khai thác bị thủng và lỗ thủng này là tương đối lớn, tại độ sâu 2.247,13 m. Nó chiếm trên 80% tổng lượng khí nâng qua lỗ thủng này vào ống khai thác nên lưu lượng khí nâng còn lại trong vành xuyên di chuyển xuống van số 5 (van hoạt động) không nhiều (dưới 20%). Chính vì vậy, thời gian di chuyển của chất đánh dấu sau lỗ thủng trên là rất chậm. Lưu lượng giảm, di chuyển chậm làm cho chất đánh dấu bị pha loãng nhiều hơn. Chính vì vậy, khi tính toán thiết kế thực nghiệm cần phải tăng lượng chất đánh dấu, để gặp phải những trường hợp đặc biệt nêu trên ta vẫn thu được đỉnh của chất đánh dấu tại miệng giếng rõ ràng hơn.

Việc tính toán thời gian quan trắc chất đánh dấu tại miệng giếng tùy thuộc vào từng trường hợp, có trường hợp chất đánh dấu đi rất nhanh (chỉ vài chục phút) nếu giếng bị thủng ở trên cao và mức chất lỏng trong vành xuyên đã nâng lên đến điểm thủng, nhưng có trường hợp chất đánh dấu đi rất chậm (vài chục giờ) như trường hợp nêu trên.

Việc tăng lượng chất đánh dấu bơm vào giếng đôi khi cũng cần phải cân nhắc sao cho hợp lý, vì nếu lượng chất đánh dấu quá nhiều thì chi phí khảo sát sẽ tăng theo, mặt khác nó sẽ tăng lưu lượng khí nâng, ảnh hưởng đến sai số trong kết quả đánh dấu. Chính vì vậy, cần phải đầu tư nghiên cứu tiếp theo để lựa chọn ra được loại chất đánh dấu phù hợp, và chế tạo được loại thiết bị có thể đo được chất đánh dấu với nồng độ PPM, để giảm lượng chất đánh dấu bơm vào giếng, giảm chi phí khảo sát, thuận tiện cho việc bơm chất đánh dấu, cũng như vận chuyển ra giàn khoan biển.

4. Kết luận

Sau thời gian nghiên cứu, Phòng Kỹ thuật đánh dấu thuộc Trung tâm Ứng dụng Kỹ thuật Hạt nhân trong Công nghiệp đã nghiên cứu hoàn thiện phương pháp đánh dấu khảo sát giếng khai thác gas-lift, để xác định điểm phun khí nâng và vị trí rò rỉ trong giếng, nhằm khắc phục những nhược điểm của các phương pháp truyền thống. Phương pháp đã được

thử nghiệm thành công tại hiện trường. Phương pháp này đơn giản với thiết bị tối thiểu và không can thiệp nhiều vào giếng. Các kết quả được phân tích tại chỗ một cách dễ dàng đối với nhân viên thực hiện ngoài hiện trường.

Như vậy, sử dụng phương pháp đánh dấu để khảo sát giếng khai thác gas-lift có thể trả lời được các câu hỏi sau:

- 1) Các van gas-lift trong giếng có hoạt động đúng theo thiết kế hay không?
- 2) Nếu không thì hiện tại các van gas-lift nào đang mở, hoặc có bao nhiêu van đang mở, vị trí của nó và lưu lượng khí nâng vào mỗi van là bao nhiêu?
- 3) Có hiện tượng rò rỉ khí nâng trong ống khai thác hoặc rò rỉ ra ngoài vành xuyên hay không?
- 4) Nếu có thì vị trí rò rỉ ở độ sâu bao nhiêu và lưu lượng khí nâng vào các điểm rò rỉ là bao nhiêu?

Những thông tin nêu trên thực sự cần thiết đối với kỹ sư vận hành khai thác dầu khí. Tuy nhiên, qua kết quả thử nghiệm tại hiện trường là cơ sở để chúng tôi đánh giá, cải tiến và hoàn thiện công nghệ, nhằm phát triển công nghệ này thành một dịch vụ thường xuyên, phục vụ cho ngành dầu khí trong và ngoài nước.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện nhờ sự tài trợ tài chính từ nhiệm vụ nghiên cứu khoa học cấp Bộ Khoa học và Công nghệ, mã số ĐTCB.09/21/TTUDKTHN. Bên cạnh đó, tập thể tác giả trân trọng cảm ơn sự giúp đỡ của Ban Lãnh đạo Liên doanh Việt - Nga, Xi nghiệp Khai thác Dầu khí, Giàn trường và Đốc công Giàn MSP-1, Ban Lãnh đạo Trung tâm Ứng dụng Kỹ thuật Hạt nhân trong Công nghiệp trong quá trình thực hiện nghiên cứu và thử nghiệm phương pháp này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] American Petroleum Institute (2000), *Design, Operation, and Troubleshooting of Dual Gas-lift Wells, First Edition*, pp.35-40.
- [2] F. Shnaib, M.S. Nadar, M.P. Sreekumar, et al. (2010), "Successful application of CO₂ tracer technology for surveillance of gas lifted wells", *OnePetro*, DOI: 10.2118/133268-MS.
- [3] United States Patent (1990), *Method for Trouble Shooting Gas-Lift Wells*, patent number: 4,972,704.
- [4] A. Hernandez (2016), *Fundamentals of Gas-Lift Engineering Well Design and Troubleshooting*, Gulf Professional Publishing, pp.669-733.
- [5] Vietnam - Russia Joint Venture (Vietsovpetro) (2022), *Gas-Lift Exploitation Well Design Drawing Document* (in Vietnamese).

Tác dụng của chiếu xạ chùm điện tử đến một số đặc tính của xanthan định hướng ứng dụng cho sản xuất phân bón lá

Nguyễn Văn Bình*, Trần Xuân An, Nguyễn Xuân Tùng, Hoàng Đăng Sáng, Trần Bằng Diệp, Trần Huyền Thanh, Hoàng Phương Thảo, Trần Minh Quỳnh

Trung tâm Chiếu xạ Hà Nội, Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam, Km 12 đường 32, phường Minh Khai, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/3/2023; ngày chuyển phân biện 6/3/2023; ngày nhận phân biện 4/4/2023; ngày chấp nhận đăng 10/4/2023

Tóm tắt:

Xử lý chiếu xạ cắt mạch đã được biết đến là một công cụ hiệu quả để phân hủy các polysaccharide thành các phân đoạn có kích thước và khối lượng phân tử nhỏ hơn, hay thậm chí tạo oligo-saccharide với hoạt tính sinh học cải thiện. Mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định một số đặc tính của xanthan chiếu xạ hướng tới ứng dụng cho sản xuất phân bón lá. Dung dịch xanthan 2% đã được chiếu xạ bằng chùm điện tử (EB) với các liều 10, 20, 30 và 50 kGy, suất liều 1,5; 3,5 và 7,5 kGy/s. Các thông số nghiên cứu bao gồm ảnh hưởng của liều chiếu, suất liều đến một số đặc tính của xanthan ở trạng thái dung dịch. Kết quả chỉ ra rằng, độ nhớt và khối lượng phân tử của xanthan giảm khi tăng liều xạ và suất liều. Chiếu xạ EB không làm thay đổi cấu trúc của xanthan, dù phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis) và máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) đều cho thấy đỉnh hấp thụ ứng với nhóm carbonyl tăng lên do quá trình cắt mạch làm hình thành các liên kết đôi C=O trong phân tử. Các phân đoạn xanthan cắt mạch hình thành có độ linh động cao hơn, do đó độ kết tinh và nhiệt độ nóng chảy của xanthan chiếu xạ cũng cao hơn.

Từ khóa: cắt mạch, cấu trúc phân tử, chiếu xạ bằng chùm điện tử, đặc tính, xanthan.

Chỉ số phân loại: 1.3, 4.7

Effect of electron beam irradiation on some characteristics of xanthan with emphasis on application in foliar fertiliser production

Van Binh Nguyen*, Xuan An Tran, Xuan Tung Nguyen, Dang Sang Hoang, Bang Diep Tran, Huyen Thanh Tran, Phuong Thao Hoang, Minh Quynh Tran

Hanoi Irradiation Center, Vietnam Atomic Energy Institute, Km 12, Road 32, Minh Khai Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

Received 3 March 2023; revised 4 April 2023; accepted 10 April 2023

Abstract:

Irradiation-induced chain scission is known as a useful tool for degrading polysaccharides into smaller-sized and lower-molecular-weight fragments or even producing oligo-saccharides that have improved bioactivities. This study aimed to investigate the properties of radiation-degraded xanthan for further application in the production of foliar fertiliser. The xanthan solutions of 2% were electron beam (EB) irradiated at 10, 20, 30, and 50 kGy doses, with dose rates of 1.5, 3.5, and 7.5 kGy/s. The study parameters include the effects of irradiation dose and dose rate on certain properties of xanthan in solution. Results showed the viscosity and molecular weight of xanthan significantly decreased with the increases in radiation dose and dose rate. EB irradiation seemed not to introduce the changes in the xanthan structure, though UV-Vis and FT-IR spectra both revealed the absorption peaks corresponding to the carbonyl group increased with radiation dose due to the formation of C=O double bonds during radiation degradation. The resulting degraded xanthan fragments showed higher mobilities for crystallisation, so their crystallinity degree and melting temperature also increased.

Keywords: characteristics, degradation, electron beam irradiation, molecular structure, xanthan.

Classification numbers: 1.3, 4.7

*Tác giả liên hệ: Email: nvanbinhsh@yahoo.com

1. Đặt vấn đề

Xanthan là một polysaccharide được hình thành trong quá trình lên men cơ chất giàu glucose, như tinh bột ngô của các chủng vi khuẩn *Xanthomonas campestris*. Phân tử xanthan có cấu trúc gồm một mạch chính là cellulose, trong đó các phân tử glucose liên kết với nhau bằng liên kết $\beta(1,4)$ và các mạch nhánh trisaccharide gồm 2 gốc manose và một gốc galactose. Mỗi đơn vị β -D-glucopyranosyl trên mạch chính liên kết với một đơn vị trisaccharide [1-4]. Đa số các sản phẩm xanthan thương mại đều có khối lượng phân tử (KLPT) rất cao (2×10^6 - 2×10^7 g/mol), cấu trúc vững chắc nên là những polysaccharide rất bền với tác dụng của axit và enzyme.

Trong lĩnh vực nông nghiệp, xanthan thường được dùng để kéo dài thời gian tiếp xúc phân bón với cây trồng, giúp bám dính chặt các hóa chất như dung dịch phân bón qua lá khi phun và kiểm soát sự thất thoát, bay hơi trong khi phun của thuốc diệt cỏ, thuốc trừ sâu và phân bón [5, 6]. Xanthan cũng có thể bị phân hủy bởi các enzyme giống như nhiều polysaccharide khác. Mức độ phân hủy xanthan trong dung dịch bởi các enzyme ngoại bào của chủng *cellulomonas* sp. LX đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, sản phẩm xantho-oligosaccharide có thể sử dụng như chất kích thích và điều hòa sinh trưởng, giúp tăng tốc độ sinh trưởng và phát triển của cây đậu tương [7].

Trong những năm gần đây, kỹ thuật cắt mạch bằng bức xạ đã được áp dụng để phân hủy các polysaccharide [8]. Tương tự như các polysaccharide khác, xanthan cũng dễ dàng phân hủy khi chiếu xạ thành các phân đoạn ngắn hơn, với khả năng hòa tan tốt hơn, do đó dễ dàng sử dụng hơn. Trong khi chiếu xạ xanthan ở dạng khô đòi hỏi liều chiếu cao, mức độ phân hủy xanthan lớn hơn khi chiếu xạ ở dạng lỏng [9]. Khối lượng phân tử của xanthan chiếu xạ ở trạng thái dung dịch giảm còn một nửa ngay ở liều thấp 5 kGy, như đã được báo cáo bởi Y.J. Li và cs (2011) [10]. Kết quả của họ cũng cho thấy, oligoxanthan với KLPT khoảng 10 kDa có thể tạo được từ dung dịch xanthan chiếu xạ liều 120 kGy. Khi chiếu xạ dung dịch xanthan nồng độ khác nhau, H. Hayrabolulu và cs (2018) [11] nhận thấy, hiệu suất cắt mạch xanthan tăng theo sự tăng của liều chiếu, song giảm khi nồng độ dung dịch tăng từ 0,5 đến 4%.

Nghiên cứu trước đây của chúng tôi cũng cho thấy, xanthan có KLPT trung bình nhớt khoảng $12.000 \text{ g.mol}^{-1}$, có thể thu được khi chiếu xạ dung dịch xanthan trên nguồn Co-60 với liều 150 kGy [12]. Nghiên cứu này tiếp tục khảo sát ảnh hưởng của chiếu xạ EB đến một số đặc tính của xanthan, hướng tới ứng dụng cho sản xuất phân bón lá. Các dung dịch xanthan nồng độ 2% đã được chiếu xạ trên máy gia tốc (EB) và ảnh hưởng của liều chiếu, suất liều chiếu đến một số đặc tính quan trọng của xanthan cắt mạch đã được xác định.

2. Nguyên, vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên, vật liệu

Xanthan do Deosen Biochemical Ltd. (Trung Quốc) sản xuất và cung cấp ở dạng bột màu trắng, dung dịch xanthan 1% pha trong dung môi KCl 1% có độ nhớt 1200-1600 mPa.s. Các hóa chất sử dụng đều là tinh khiết của Hãng Merck.

2.2. Xử lý chiếu xạ xanthan

Xanthan được hòa tan trong nước cất thành dung dịch đồng nhất với nồng độ 2%, sau đó được đóng vào các chai nhựa 500 ml, mỗi chai chứa 150 ml. Chiếu xạ chùm điện tử được thực hiện trên máy gia tốc UELR-10-15S2 của Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ Bức xạ (Vinagamma) tại TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh. Thiết bị có năng lượng electron 10 MeV và công suất 15 kW. Các mẫu dung dịch xanthan được chiếu xạ ở các liều 10, 20, 30 và 50 kGy, với suất liều 1,5; 3,5 và 7,5 kGy/s. Trong đó, hiệu ứng của suất liều chúng tôi chỉ nghiên cứu ở liều 20 kGy. Sau khi chiếu xạ, các dung dịch xanthan được tách nước trên máy đông khô FDU-2110 (Nhật Bản). Mẫu được bảo quản để phục vụ các phân tích khác nhau.

2.3. Xác định độ nhớt biểu kiến

Độ nhớt biểu kiến của xanthan chiếu xạ với các liều xạ khác nhau được xác định bằng máy đo độ nhớt Brookfield, DV-III Ultra (Anh). Các mẫu xanthan khác nhau được pha thành dung dịch nồng độ 0,5%, được đo với đầu đo LV1 cho mẫu đối chứng (không chiếu xạ) và LV4 cho các mẫu chiếu xạ từ 10 đến 50 kGy, tốc độ quay 100 v/ph ở nhiệt độ phòng $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

2.4. Xác định khối lượng phân tử trung bình nhớt

Khối lượng phân tử trung bình nhớt (M_v) của xanthan được xác định theo phương pháp đo độ nhớt nội phân tử. Các mẫu xanthan được hòa tan trong NaCl 0,01 M thành các dung dịch loãng có nồng độ (c) trong khoảng 0,01 đến 0,08%, độ nhớt tương đối (η_r) của mỗi dung dịch được xác định từ tỷ số thời gian chảy t của dung dịch và t_0 của dung môi trong mao quản của nhớt kế Ubbelohde ở cùng điều kiện. Độ nhớt đặc trưng ($\eta_{sp} = \eta_r - 1$) liên quan đến sự tăng độ nhớt do các phân tử polyme, và độ nhớt giảm ($\eta_{red} = \eta_{sp}/c$) phản ánh khả năng tăng độ nhớt do dung môi của polyme. Sự phụ thuộc của độ nhớt giảm (η_{red}) và nồng độ dung dịch được lập thành đồ thị và giá trị độ nhớt thực $[\eta]$ của polyme được ngoại suy từ độ nhớt giới hạn khi nồng độ dung dịch $c=0$. Khối lượng trung bình nhớt của xanthan được xác định theo công thức:

$$M = ([\eta]/K)^{1/\alpha}$$

trong đó: giá trị $K=2,79 \times 10^{-5}$ và $\alpha=1,2754$ [13].

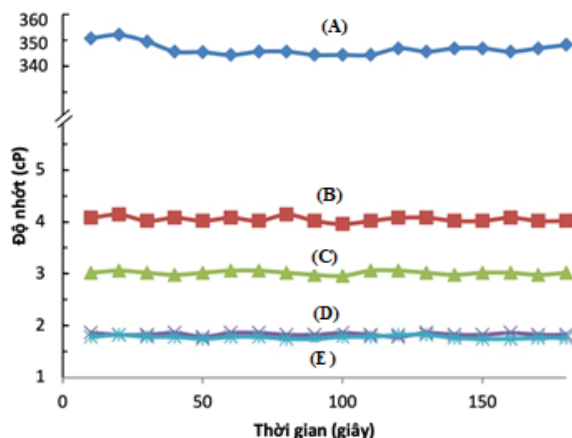
2.5. Phân tích cấu trúc và đặc tính nhiệt

Mẫu xanthan được hòa tan trong nước cất thành dung dịch nồng độ 0,1%, phổ UV-Vis của dung dịch được ghi lại bằng quang phổ kế UV-2450 Shimadzu (Nhật Bản), trong khoảng bước sóng 200-350 nm. Phổ FT-IR được ghi trên Spectrum One FT-IR spectrometer 8100 (Perkin-Elmer), tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Khoảng 3 mg mẫu xanthan khô được trộn đều với 30 mg KBr tinh khiết và ép thành màng mỏng. Phổ FT-IR của mẫu được ghi lại trung bình của 20 lần quét trong dải 4.000-400 cm^{-1} . Giảm đồ nhiệt lượng vi sai (DSC) được xác định bằng thiết bị đo nhiệt lượng TG/DSC Setaram (Pháp). Mẫu xanthan được gia nhiệt từ nhiệt độ phòng (30) đến 250°C, với tốc độ gia nhiệt 10°C/phút. Nhiệt độ nóng chảy (T_m) của mẫu được xác định theo phần mềm phân tích phổ DSC-131.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tác dụng của chiếu xạ bằng chùm điện tử đến độ nhớt biểu kiến của dung dịch xanthan

Sự thay đổi độ nhớt biểu kiến của dung dịch xanthan và xanthan chiếu xạ theo thời gian được trình bày trên hình 1. Rõ ràng, độ nhớt biểu kiến của dung dịch xanthan dường như không phụ thuộc vào thời gian trượt. Kết quả cũng cho thấy, độ nhớt biểu kiến của dung dịch xanthan giảm nhanh khi chiếu xạ, mức độ giảm tiếp tục tăng theo sự tăng của liều xạ. Điều này là do hiệu ứng cắt mạch bức xạ đã bẻ gãy liên kết glucosid trong phân tử xanthan ban đầu thành các phân đoạn có kích thước ngắn và linh động hơn, dẫn đến độ nhớt của dung dịch giảm xuống. Nghiên cứu của Y.J. Li và cs (2011) [10] cũng đã báo cáo rằng, độ nhớt biểu kiến của dung dịch xanthan giảm còn 1/3 ngay khi chiếu xạ gamma liều 5 kGy. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước đây của chúng tôi khi chiếu xạ xanthan trên nguồn gamma ^{60}Co [9, 12].



Hình 1. Độ nhớt biểu kiến của dung dịch xanthan không chiếu xạ (A) và chiếu xạ liều 10 (B), 20 (C), 30 (D) và 50 kGy (E) theo thời gian trượt.

3.2. Ảnh hưởng của chiếu xạ bằng chùm điện tử đến khối lượng phân tử của xanthan

Ảnh hưởng của chiếu xạ EB đến độ nhớt thực và KLPT trung bình nhớt của xanthan chiếu xạ được xác định theo liều xạ và suất liều được trình bày trên bảng 1 và 2. Kết quả ở bảng 1 thấy rằng, cả độ nhớt và KLPT của xanthan đã giảm nhanh khi chiếu xạ ngay ở liều 10 kGy. Sau đó, tiếp tục giảm chậm khi liều chiếu tăng lên đến 50 kGy. Thậm chí, dường như không có sự khác biệt rõ rệt về KLPT của xanthan chiếu xạ liều 30 và 50 kGy. Tương tự như tia gamma, bức xạ chùm điện tử EB đã bẻ gãy liên kết glucosid trong phân tử xanthan thành các phân đoạn ngắn hơn với KLPT thấp hơn. Trong nghiên cứu trước sử dụng nguồn chiếu xạ gamma, chúng tôi cũng thu được kết quả tương tự. Cụ thể, KLPT trung bình nhớt của xanthan giảm nhanh ngay khi chiếu xạ liều thấp dưới 25 kGy, sau đó giảm chậm lại. Y.J. Li và cs (2010) [14] khi nghiên cứu xử lý chiếu xạ xanthan ở trạng thái khô trong dải liều (0-500 kGy), bằng nguồn Co-60, nhận thấy có sự thay đổi KLPT ($1,71 \times 10^6 - 2,23 \times 10^6$ ở liều 10 kGy, $1,59 \times 10^4$ ở liều 500 kGy).

Bảng 1. Ảnh hưởng của liều chiếu xạ bằng chùm điện tử đến độ nhớt và khối lượng phân tử trung bình nhớt (M_v) của xanthan chiếu xạ ở dạng dung dịch.

Liều chiếu (kGy)	Độ nhớt thực (dl/g)	Khối lượng phân tử ($M_v \times 10^3$ g/mol)
0	351,5	1,798
10	4,08	176,7
20	3,02	38,7
30	1,78	22,3
50	1,86	22,6

Ảnh hưởng của chiếu xạ EB đến tính chất phân tử của xanthan cũng phụ thuộc vào suất liều như nêu trong bảng 2. Kết quả cho thấy, khi chiếu xạ các dung dịch xanthan với liều 20 kGy, mức độ suy giảm độ nhớt và KLPT của nó tỷ lệ thuận với suất liều chiếu. Khi chiếu xạ dung dịch xanthan 2% với liều 20 kGy và suất liều 7,5 kGy/giây, M_v của xanthan giảm gần 50 lần ($1,798 \times 10^3$ g/mol xuống $38,7 \times 10^3$ g/mol). Trong khi chiếu xạ với các suất liều thấp hơn là 3,5 và 1,5 kGy/giây, M_v của xanthan chỉ giảm khoảng 20 lần. Chiếu xạ EB có suất liều rất cao so với chiếu xạ gamma nên hiệu ứng phân hủy oxy hóa khi có mặt oxy là không đáng kể, lượng gốc tự do tạo thành khi chiếu xạ ở suất liều cao lớn hơn nhiều so với suất liều thấp, dẫn đến hiệu suất cắt mạch tăng và KLPT của xanthan giảm theo sự tăng của suất liều. Khi chiếu xạ xanthan bằng chùm điện tử (EB), F.F. Vieira và cs (2001) [15] cũng nhận

thấy độ nhớt của dung dịch xanthan chiếu xạ với suất liều 11,17 kGy/giây giảm theo sự tăng của liều chiếu trong khoảng từ 5-50 kGy. Như vậy, hiệu quả cắt mạch bức xạ của chùm điện tử đối với xanthan cao hơn so với tia gamma, do suất liều chiếu cao và tốc độ chiếu nhanh hơn.

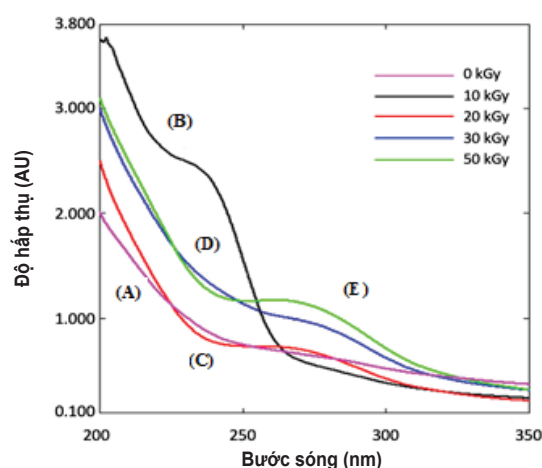
Bảng 2. Ảnh hưởng của suất liều chiếu bằng chùm điện tử đến độ nhớt và khối lượng phân tử trung bình nhớt (M_v) của xanthan chiếu xạ liều 20 kGy ở dạng dung dịch.

Suất liều (kGy/s)	Độ nhớt thực (dl/g)	Khối lượng phân tử ($M_v \times 10^3$ g/mol)
7,5	3,02	38,7
3,5	3,24	89,9
1,5	3,32	92,8

Theo lý thuyết, quá trình cắt mạch bức xạ của các polysaccharide chủ yếu phụ thuộc vào sản lượng gốc tự do hình thành trong quá trình chiếu xạ. Khi chiếu xạ ở trạng thái dung dịch, tác động gián tiếp của bức xạ làm phân ly các phân tử nước đã tạo ra một lượng gốc tự do lớn hơn nhiều, bằng cách đó thúc đẩy các phản ứng phân hủy làm đứt gãy các liên kết $\beta(1,4)$ glycosid, tạo thành các phân đoạn có kích thước và KLPT khác nhau [6]. Khi liều xạ tăng lên, các đoạn mạch lớn hơn tiếp tục bị tấn công bởi gốc tự do và KLPT của polyme tiếp tục giảm xuống. Tuy nhiên, lượng gốc tự do tạo thành do xạ ly nước có thể bão hòa khi liều xạ và suất liều tăng đến giá trị nhất định, dẫn đến KLPT của polyme giảm không đáng kể khi liều chiếu tăng từ 30-50 kGy. Mặt khác, với các heteropolymer như xanthan, độ nhớt dung dịch có thể không thay đổi, nhiều dù KLPT tiếp tục giảm. Điều này chỉ có thể nhận biết dựa trên KLPT trung bình số (M_n) và KLPT trung bình khối (M_w) [11].

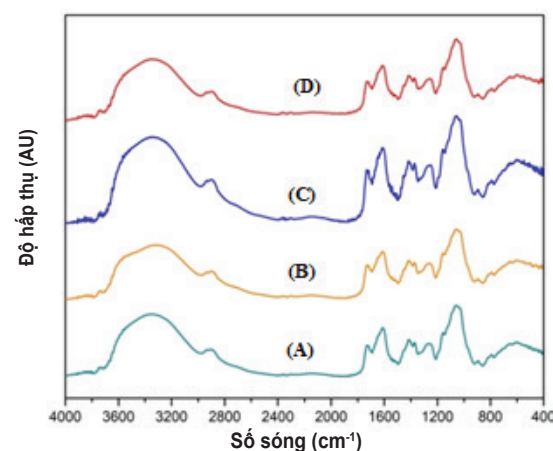
3.3. Ảnh hưởng của chiếu xạ bằng chùm điện tử đến cấu trúc và đặc tính nhiệt của xanthan

Phổ UV-Vis của dung dịch xanthan (0,2%) chiếu xạ ở các liều khác nhau được nêu ở hình 2. Có thể nhận thấy độ hấp thụ của tất cả các dung dịch xanthan đều có xu hướng giảm khi bước sóng tăng. Mức độ giảm mạnh trong dải bước sóng thấp, sau đó giảm chậm lại. Phổ UV-Vis của xanthan không chiếu xạ (A) có dạng hyperbol, phổ UV-Vis của các dung dịch xanthan chiếu xạ (B-E) có hai điểm uốn ở khoảng 235 và 265 nm, và một đỉnh hấp thụ mới hình thành ở khoảng bước sóng 265 nm với cường độ tăng theo liều chiếu từ 20 (C) đến 50 kGy (E). Điều này có thể lý giải là do sự hình thành liên kết đôi $C=O$ hình thành khi cắt mạch chính cellulose và tách nguyên tử hydro khỏi xanthan, tương tự như khi chiếu xạ alginate [16].



Hình 2. Phổ hấp thụ phân tử của xanthan (A) và xanthan chiếu xạ ở trạng thái dung dịch với liều chiếu 10 (B), 20 (C), 30 (D) và 50 kGy (E).

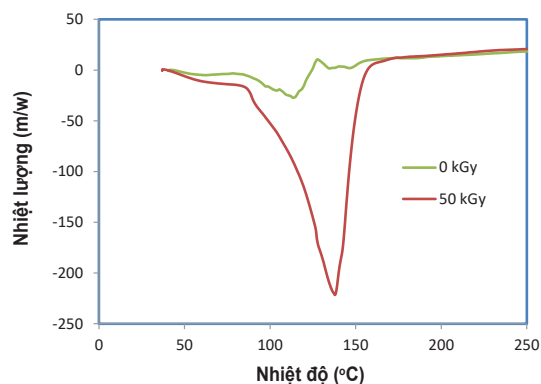
Ảnh hưởng của chiếu xạ EB đến cấu trúc nhóm chức của xanthan được phân tích bằng phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR). Hình 3 cho thấy, phổ FT-IR của tất cả các mẫu xanthan và xanthan chiếu xạ đều giống nhau, dù có sự thay đổi cường độ của đỉnh hấp thụ tại khoảng số sóng 1750 cm^{-1} , tương ứng với dải hấp thụ của nhóm carbonyl ($-R-C=O$) trong polyme. Kết quả này cho thấy rằng, chiếu xạ EB không ảnh hưởng đến cấu trúc của xanthan, dù quá trình cắt mạch bức xạ đã hình thành các nhóm chức carbonyl mới như đã chỉ ra trong phổ tử ngoại.



Hình 3. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của xanthan (A) và xanthan chiếu xạ ở dạng dung dịch liều 10 (B), 20 (C) và 50 kGy (D).

Giản đồ nhiệt lượng vi sai (DSC) cung cấp thông tin về các đặc tính nhiệt của mẫu thuộc dạng tinh thể hay vô định hình. Hình 4 trình bày giản đồ nhiệt lượng vi sai của xanthan và xanthan chiếu xạ liều 50 kGy. Dễ dàng nhận thấy xanthan là một polyme bán tinh thể, có thể nóng chảy ở nhiệt độ khá thấp. Nhiệt độ nóng chảy (T_m) của xanthan không chiếu xạ ban đầu vào khoảng $111,3^\circ\text{C}$. Giá trị này là

108,9°C như trong báo cáo của T. Ramasamy và cs (2011) [17]. Sau khi chiếu xạ liều 50 kGy, nhiệt độ nóng chảy của xanthan chiếu xạ tăng lên 137,9°C. Điều này là do quá trình cắt mạch đã tạo thành các phân đoạn ngắn với tính linh động cao hơn, dẫn đến mức kết tinh lớn hơn thành các tinh thể nóng chảy ở nhiệt độ cao hơn.



Hình 4. Giảm độ nhiệt lượng vi sai của xanthan và xanthan chiếu xạ ở dạng dung dịch với liều 50 kGy, suất liều 7,5 kGy/giây.

4. Kết luận

Ảnh hưởng của chiếu xạ chùm điện tử đến một số đặc tính của dung dịch xanthan đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy, giống như tia gamma, bức xạ chùm điện tử EB cũng gây cắt mạch phân tử xanthan, làm giảm độ nhớt biểu kiến của dung dịch cũng như KLPT trung bình nhớt của xanthan. Sự giảm độ nhớt và KLPT của xanthan phụ thuộc vào liều xạ và suất liều chiếu. KLPT của nó giảm mạnh ngay khi chiếu xạ dung dịch 2% với liều 10 kGy, sau đó giảm chậm lại và dường như không thay đổi khi liều chiếu tăng tiếp từ 30 đến 50 kGy. Quá trình cắt mạch và tách nguyên tử hydro đã làm hình thành các nhóm carbonyl song không làm thay đổi đặc trưng nhóm chức của xanthan như chỉ ra trên phổ UV-Vis và FT-IR. Chiếu xạ EB cũng làm tăng độ kết tinh và nhiệt nóng chảy của phân tử xanthan.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ thông qua đề tài cấp bộ, mã số ĐTCB.03/21/TTCX. Các tác giả cũng xin được cảm ơn Trung tâm Chiếu xạ Hà Nội và Trung tâm Nghiên cứu và Triển khai Công nghệ bức xạ đã hỗ trợ việc chiếu xạ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F.G. Ochoa, V.E. Santos, J.A. Casas, et al. (2000), "Xanthan gum: Production, recovery, and properties", *Biotechnol. Adv.*, **18**(7), pp.549-579, DOI: 10.1016/S0734-9750(00)00050-1.
- [2] M.P. Tombs, S.E. Harding (1998), *An Introduction to Polysaccharide Biotechnology*, Taylor & Francis Ltd, pp.158-163.

- [3] A. Lackke (2004), "Xanthan - A versatile gum", *Resonance*, **9**, pp.25-33, DOI: 10.1007/BF02834866.
- [4] D.F.S. Petri (2015), "Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications" *Appl. Polym. Sci.*, **132**(23), DOI: 10.1002/app.42035.
- [5] R.W. Lewis, A.E. Richard, N. Malic, et al. (2016), "Polymeric drift control adjuvants for agricultural spraying", *Macromol. Chem. Phys.*, **217**(20), pp.2223-2242, DOI: 10.1002/macp.201600139.
- [6] X. Zhang, J. Liu (2011), "Effect of arabic gum and xanthan gum on the stability of pesticide in water emulsion", *J. Agric. Food Chem.*, **59**(4), pp.1308-1315, DOI: 10.1021/jf1034459.
- [7] F. Qian, L. An, X. He, et al. (2006), "Antibacterial activity of xantho-oligosaccharide cleaved from xanthan against phytopathogenic *Xanthomonas campestris* PV", *Campestris Process Biochem.*, **41**(7), pp.1582-1588, DOI: 10.1016/j.procbio.2006.03.003.
- [8] F. Yoshii, N. Nagasawa, T. Kume, et al. (2002), "Radiation degradation of marine polysaccharides by low energy electron beam", *Proceedings of The Fnca 2002 Workshop on Application of Electron Accelerator-Radiation System for Liquid Samples*, JAERI-Conf, **2003-016**, pp.42-47.
- [9] N.V. Binh, T.B. Diep, N.T. Thom, et al. (2016), "Low molecular weight xanthan prepared by gamma irradiation and its effects on development of seedlings", *RAD Conf. Proc.*, **1**, pp.95-98, DOI: 10.21175/RadProc.2016.22.
- [10] Y.J. Li, Y.M. Ha, F. Wang, et al. (2011), "Effect of irradiation on the molecular weight, structure and apparent viscosity of xanthan gum in aqueous solution", *Adv. Mater. Res.*, **239-242**, pp.2632-2637, DOI: 10.4028/www.scientific.net/AMR.239-242.2632.
- [11] H. Hayrabolulu, M. Demeter, M. Cutrubinis, et al. (2018), "Radiation-induced degradation of xanthan gum in aqueous solution", *Radiat. Phys. Chem.*, **144**, pp.189-193, DOI: 10.1016/j.radphyschem.2017.08.014.
- [12] T.M. Quynh, N.V. Binh, T.X.A. Tran (2018), "Preparation of low molecular weight xanthan by gamma radiation degradation", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **60**(3), pp.41-44 (in Vietnamese).
- [13] B. Tinland, M. Rinaudo (1989), "Dependence of the stiffness of the xanthan chain on the external salt concentration", *Macromolecules*, **22**(4), pp.1863-1865, DOI: 10.1021/ma00194a058.
- [14] Y.J. Li, Y.M. Ha, F. Wang, et al. (2010), "Effect of irradiation on molecular weight and antioxidant activity of xanthan gum", *J. Agric. Sci.*, **24**(6), pp.1208-1213, DOI: 10.11869/hnxb.2010.06.1208.
- [15] F.F. Vieira, N.I. Del Mastro (2001), *Electron Beam Irradiation Effects on Xanthan Gum, Rheological Aspects*, IAEA-SM-336, 152pp.
- [16] N. Nagasawa, H. Mitomo, F. Yoshii, et al. (2000), "Radiation-induced degradation of sodium alginate", *Polym. Degrad. Stab.*, **69**(3), pp.279-285, DOI: 10.1016/S0141-3910(00)00070-7.
- [17] T. Ramasamy, U.D.S. Kandhasami, H. Ruttala, et al. (2011), "Formulation and evaluation of xanthan gum-based aceclofenac tablets for colon targeted drug delivery", *Brazilian J. Pharm. Sci.*, **47**(2), pp.299-311, DOI: 10.1590/S1984-82502011000200011.

Tổng hợp vật liệu hỗn hợp Cu/C bằng nhiệt phân yếm khí Cu-MOF và ứng dụng làm xúc tác cho phản ứng phân hủy 4-nitrophenol

Huỳnh Thái, Trần Ngọc Đan, Nguyễn Mộng Hoàng, Nguyễn Thị Tuyết Nhung*

Bộ môn Sư phạm Hóa học, Trường Sư phạm, Trường Đại học Cần Thơ, khu 2, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/2/2023; ngày chuyển phản biện 13/2/2023; ngày nhận phản biện 20/3/2023; ngày chấp nhận đăng 23/3/2023

Tóm tắt:

Vật liệu Cu-MOF được tổng hợp bằng phương pháp nhiệt dung môi qua phản ứng giữa $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và 1,4-benzenedicarboxylic acid (H_2BDC) trong hệ dung môi $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$ (1:1, v/v) ở 100°C trong 24 giờ. Quá trình carbon hóa vật liệu Cu-MOF ở 600°C trong dòng khí argon trong 1 giờ đã tổng hợp thành công vật liệu C@Cu-MOF. Qua phân tích phổ nhiễu xạ tia X trên bột (PXRD) cho thấy, có sự chuyển hoàn toàn các peak nhiễu xạ tương ứng với pha tinh thể của Cu-MOF sang peak nhiễu xạ của tinh thể đồng kim loại tương ứng với vật liệu C@Cu-MOF. Hình ảnh SEM của Cu-MOF minh họa các tinh thể hình kim kích thước micro. Sau khi carbon hóa, hình ảnh kính hiển vi điện tử quét (scanning electron microscope - SEM) của C@Cu-MOF cho thấy, có sự tạo thành các hạt nano đồng kim loại phân bố trên khung sườn vật liệu. Vật liệu C@Cu-MOF tạo thành được khảo sát hoạt tính xúc tác phản ứng khử chất thải ô nhiễm 4-nitrophenol với tác nhân khử NaBH_4 . Kết quả được so sánh với các nghiên cứu trước đó dựa trên xúc tác nano kim loại quý và kim loại chuyển tiếp cho thấy C@Cu-MOF có hoạt tính xúc tác cao. Sau khi tái sử dụng cho ba lần phản ứng liên tiếp, hoạt tính xúc tác giảm không đáng kể (<3%), chứng tỏ xúc tác có độ bền cao.

Từ khóa: carbon hóa, độ kết tinh, vật liệu khung cơ kim, 4-nitrophenol.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.7, 2.5

Synthesis of Cu/C composite materials by anaerobic pyrolysis of Cu-MOF and application as catalyst for the 4-nitrophenol decomposition reaction

Thai Huynh, Ngoc Dan Tran, Mong Hoang Nguyen, Thi Tuyet Nhung Nguyen*

Department of Chemistry, School of Education, Can Tho University, Campus 2, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

Received 10 February 2023; revised 20 March 2023; accepted 23 March 2023

Abstract:

A copper-based metal-organic framework (Cu-MOF) was successfully synthesised via a solvothermal method by reacting $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and 1,4-benzenedicarboxylic acid (H_2BDC) in a water/DMF (1:1, v/v) solvent mixture at 100°C for 24 hours. The Cu-MOF precursor underwent carbonisation at 600°C for 1 hour under an argon atmosphere and successfully obtained C@Cu-MOF. Powder X-ray diffraction (PXRD) analysis confirmed the complete transformation of diffraction peaks corresponding to the crystalline phase of Cu-MOF to diffraction peaks of metallic copper with C@Cu-MOF material. Scanning electron microscope (SEM) images of C@Cu-MOF illustrate micro-sized needle-like crystals. After carbonisation, SEM images of C@Cu-MOF show the formation of metallic copper nanoparticles distributed on the material's framework. The catalytic performance of C@Cu-MOF was tested in the reduction of the environmental pollutant 4-nitrophenol using NaBH_4 as a reducing agent. The results were compared with previous studies based on noble metal and transition metal nanocatalysts, demonstrating that C@Cu-MOF exhibits high catalytic activity. After being reused in three consecutive reactions, the catalytic activity decreased insignificantly (<3%), demonstrating the high durability of the catalyst.

Keywords: carbonisation, crystallisation, metal-organic framework, 4-nitrophenol.

Classification numbers: 1.4, 1.7, 2.5

*Tác giả liên hệ: Email: tuyetnhung@ctu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

4-nitrophenol (4-NP) là một loại chất hữu cơ ô nhiễm khó phân hủy, thường được tìm thấy trong các chất thải công nghiệp khác nhau. Nó được thải ra từ thuốc trừ sâu, thuốc nhuộm, mỹ phẩm, chất hóa dẻo và công nghiệp dược phẩm [1]. Hợp chất 4-NP được liệt kê là một trong số 114 chất ô nhiễm hàng đầu bởi Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ (USEPA) [2]. Do đặc tính gây đột biến và ung thư, nồng độ của 4-NP được quy định phải $<10 \text{ ng l}^{-1}$ trong nước tự nhiên [2, 3]. Do đó, sự hiện diện của 4-NP trong nước thải gây ra các mối đe dọa rất lớn không chỉ đối với môi trường mà còn ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người và đời sống thủy sinh.

Trong những năm gần đây, có nhiều phương pháp xử lý đối với các chất gây ô nhiễm chứa vòng benzene được đề xuất và phát triển. Trong số này, hai phương pháp điển hình được sử dụng là hấp phụ và phân hủy hóa học. Hấp phụ được hiểu là quá trình tích tụ của một chất tại mặt phân cách giữa hai pha (mặt phân cách lỏng - rắn hoặc mặt phân cách khí - rắn). Phương pháp này dựa trên các tương tác vật lý như liên kết hydrogen, lực van der Waals, tính phân cực... hay hóa học như liên kết cộng hóa trị, ion... [4]. Phương pháp này đã được chứng minh là vượt trội so với các phương pháp khác về tính linh hoạt cao, quy trình đơn giản và không tạo ra các chất có hại [4-6]. Tuy nhiên, hiệu quả xử lý mà phương pháp này mang lại chưa cao, do quá trình hấp phụ còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố như tương tác chất hấp phụ-chất bị hấp phụ, diện tích bề mặt chất hấp phụ, kích thước hạt của chất hấp phụ, nhiệt độ, pH môi trường, thời gian tiếp xúc [4, 5, 7]... Phân hủy hóa học là phương pháp mà các chất hữu cơ độc hại ban đầu được chuyển hóa thành các hợp chất vô hại như CO_2 và H_2O , dưới sự hỗ trợ của các tác nhân oxy hóa rất mạnh thường dùng như ozone, hydrogen peroxide hoặc các gốc hydroxyl [7, 8]. Tuy nhiên, các phản ứng thường xảy ra chậm, nên thường sử dụng sự hỗ trợ của chiếu xạ UV hay các vật liệu xúc tác để cải thiện hiệu suất cũng như tốc độ phân hủy các chất hữu cơ [7]. Các vật liệu xúc tác thường được sử dụng như vật liệu nano, vật liệu MOFs, vật liệu composite... [9]. Một số ưu điểm nổi bật khi sử dụng các vật liệu xúc tác là cho phản ứng xúc tác nhanh, không hình thành sản phẩm phụ trong các giai đoạn phản ứng và tạo ra các sản phẩm vô hại [8].

Quá trình phân hủy 4-NP thành 4-aminophenol (4-AP) với sự có mặt của các chất xúc tác kim loại như Au hay Pt đã được báo cáo [10, 11]. Tuy nhiên, việc sử dụng chúng bị hạn chế ở quy mô công nghiệp, do các chất xúc tác này thường đắt tiền, tốc độ khử và hiệu quả chưa cao, khả năng tái sinh tương đối kém [2, 12, 13]. Do đó, việc phát triển các vật liệu xúc tác vừa cho hiệu quả cao, vừa có khả năng tái sử dụng là

rất cần thiết. MOFs là vật liệu rắn có độ kết tinh cao, được hình thành bằng cách liên kết các cluster kim loại thông qua cầu nối là hợp chất hữu cơ đa chức [14]. Với ưu điểm diện tích bề mặt lớn, độ xốp cao và cấu trúc tinh thể đồng nhất, vật liệu MOFs được sử dụng rộng rãi trong các ứng dụng liên quan hấp phụ, tách khí [15], xúc tác [16], pin điện hóa [17], cảm biến [18] hay dẫn truyền thuốc [19]... Gần đây, những nỗ lực nghiên cứu ứng dụng vật liệu MOFs trong phản ứng phân hủy hóa học các chất hữu cơ nhân tạo nhận được sự quan tâm. Đáng lưu ý, những vật liệu MOFs có tâm xúc tác dựa trên kim loại có hoạt tính xúc tác tốt như Co [3, 20], Ni, Cu [21]... ngày càng được nghiên cứu và phát triển. Điển hình như W. Zhuang và cs (2012) [15] sử dụng vật liệu Co-MOF sau khi carbon hóa ở nhiệt độ 500°C trong 4 giờ thu được vật liệu xúc tác cho phản ứng phân hủy 4-NP đạt hiệu suất xúc tác cao so với các vật liệu xúc tác khác. Hay M.A. Ahsan và cs (2019a) [1] đã sử dụng vật liệu Fe-BDC MOF sau khi carbon hóa ở nhiệt độ 800°C trong 1 giờ cho phản ứng phân hủy 4-NP và methyl orange cũng thu được hiệu suất xúc tác tốt. Tại nước ta định hướng nghiên cứu xử lý các chất thải ô nhiễm hữu cơ đang được quan tâm nghiên cứu. Tuy nhiên, các công bố về sự carbon hóa các loại vật liệu MOFs cũng như việc nghiên cứu hiệu quả xúc tác của các loại vật liệu tạo thành còn rất hạn chế.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát quá trình hình thành vật liệu Cu-MOF từ phản ứng giữa $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và H_2BDC bằng phương pháp nhiệt dung môi. Vật liệu xúc tác C@CuMOF được tạo thành qua quá trình carbon hóa Cu-MOF. Tiếp đến, hoạt tính xúc tác của C@Cu-MOF cho phản ứng khử 4-NP được khảo sát và khả năng tái sử dụng của chất xúc tác cũng được nghiên cứu.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Thiết bị và hóa chất

Các mẫu nhiễu xạ tia X dạng bột (PXRD) được đo trên máy Bruker D8 Advance sử dụng CuK_α đã được lọc Ni ($\lambda=1,54178 \text{ \AA}$), hoạt động ở $40 \text{ kV}/30 \text{ mA}$. Giảm độ PXRD lần lượt được ghi nhận ở góc $2\theta=3-50$ và $3-80^\circ$ cho mẫu MOF vừa mới tổng hợp và mẫu MOF sau khi carbon hóa, với tốc độ quét $0,01^\circ \cdot \text{s}^{-1}$.

Hình thái của vật liệu được phân tích bằng thiết bị FE-SEM (S-4800, Hitachi, Nhật Bản) ở điện áp 5-10 kV.

Các đường cong phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) được ghi nhận trên thiết bị phân tích nhiệt TA Q500 trong dòng khí nitrogen. Mẫu được gia nhiệt ở tốc độ $10^\circ\text{C} \cdot \text{phút}^{-1}$ từ 30 đến 750°C .

Độ hấp thụ của các dung dịch thu được trên máy quang phổ UV-Vis A V730 Jasco.

Hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu gồm $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, *N,N*-dimethylformamide (DMF) mua từ Hãng Prolabo; nước DI, 4-NP được mua từ Hãng Merck; sodium borohydride (NaBH_4) được mua từ Công ty Fisher.

2.2. Quy trình tổng hợp Cu-MOF và C@Cu-MOF

Cân $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (63 mg, 0,37 mmol) và H_2BDC (20 mg, 0,12 mmol). $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ được hòa tan trong 3 ml DI và H_2BDC được hòa tan hoàn toàn trong 3 ml DMF. Sau đó, trộn hai dung dịch lại với nhau và khuấy đều. Dung dịch sau khi khuấy được cho vào lọ thủy tinh chịu nhiệt 8 ml có nắp đậy kín và đặt vào tủ sấy ở nhiệt độ 100°C trong 24 giờ. Khi đạt đến thời gian cần khảo sát, lọ phản ứng được lấy ra và để nguội tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Tinh thể Cu-MOF được tách ra và rửa với nước DI (3x3 ml), tiếp đến là rửa nhiều lần với DMF (5x3 ml) nhằm loại bỏ các tạp chất phản ứng còn dư. Tinh thể Cu-MOF sau đó được sấy khô trong chân không ở nhiệt độ phòng và được sử dụng cho các bước phân tích tiếp theo.

Vật liệu C@Cu-MOF được tổng hợp bằng cách carbon hóa vật liệu Cu-MOF ở 600°C trong dòng khí argon trong 1 giờ.

2.3. Quy trình khảo sát hoạt tính xúc tác của vật liệu C@Cu-MOF thông qua phản ứng khử chất hữu cơ ô nhiễm 4-nitrophenol

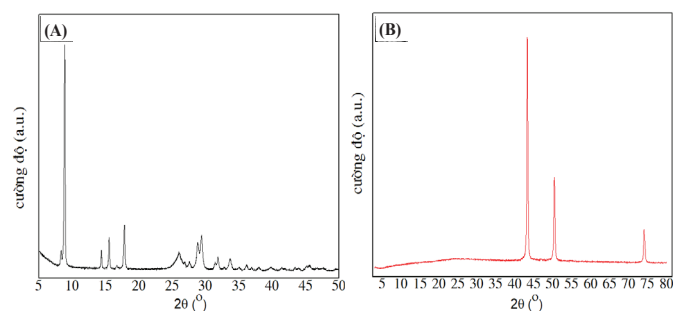
Trong thí nghiệm không có xúc tác, cho vào cuvette thạch anh 2 ml của dung dịch chất ô nhiễm 4-NP 40 ppm. Sau đó thêm vào cuvette 2 ml dung dịch NaBH_4 0,053 M và phản ứng khử 4-NP được theo dõi bằng quang phổ hấp thụ UV-Vis trong vùng từ 200 đến 800 nm ở mỗi khoảng thời gian phản ứng 2 phút trong 10 phút. Trong thí nghiệm có chất xúc tác, đầu tiên 1 mg C@Cu-MOF được cho vào 2 ml dung dịch 4-NP 40 ppm và đánh siêu âm trong 2 phút. Sau đó, 2 ml dung dịch NaBH_4 0,053 M được thêm vào và phản ứng được theo dõi bằng phổ UV-Vis đến khi dung dịch phản ứng trở nên không màu.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân tích cấu trúc của vật liệu Cu-MOF và C@Cu-MOF

Cu-MOF được tổng hợp bằng cách hòa tan hoàn toàn $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (63 mg, 0,37 mmol) trong 3 ml nước DI và H_2BDC (20 mg, 0,12 mmol) trong 3 ml DMF. Hai dung dịch được trộn lại với nhau và khuấy đều, sau đó cho vào lọ phản ứng 8 ml. Hỗn hợp phản ứng được đặt trong tủ sấy ở 100°C trong 24 giờ. Tinh thể màu xanh được tách ra khỏi dung dịch, được rửa và làm khô để sử dụng cho các phân tích tiếp theo. Sau đó Cu-MOF được nung ở 600°C trong một giờ trong dòng khí argon thu được vật liệu xúc tác C@Cu-MOF.

Độ kết tinh của vật liệu Cu-MOF và C@Cu-MOF được kiểm tra qua phân tích PXRD và được trình bày ở hình 1.

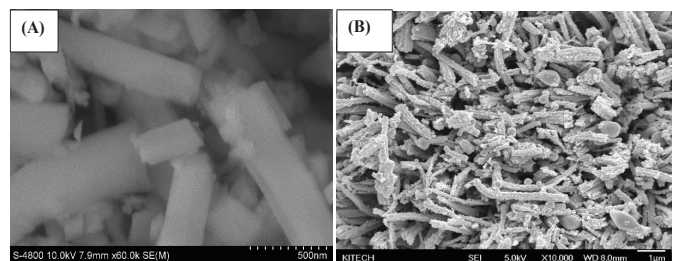


Hình 1. Giản đồ XRD của Cu-MOF (A) và C@Cu-MOF (B).

Từ hình 1A cho thấy, giản đồ XRD của vật liệu Cu-MOF có đường nền thấp cùng với các mũi nhọn rất sắc nét, chứng tỏ vật liệu có độ kết tinh cao. Cu-MOF có các peak nhiễu xạ đặc trưng ở các vị trí 2 lần lượt là 8,9, 14,4, 15,5, 17,8, 26,0, 28,8, 29,4 chứng minh Cu-MOF được tổng hợp thành công [22]. Có thể nhìn thấy, từ giản đồ hình 1B của C@Cu-MOF, các peak nhiễu xạ của Cu-MOF đã biến mất sau quá trình carbon hóa, thay vào đó là các peak nhiễu xạ tương ứng với pha tinh thể của đồng. Cụ thể, các peak nhiễu xạ sắc nét ở vị trí 2 là 43,6, 50,8 và 74,4 là các peak nhiễu xạ đặc trưng của tinh thể đồng kim loại (JCPDS 04-0836) [23]. Kết quả này chứng minh sự thành công của quá trình chuyển hóa từ Cu-MOF thành C@Cu-MOF dựa trên carbon hóa.

3.2. Hình thái của vật liệu Cu-MOF và C@Cu-MOF

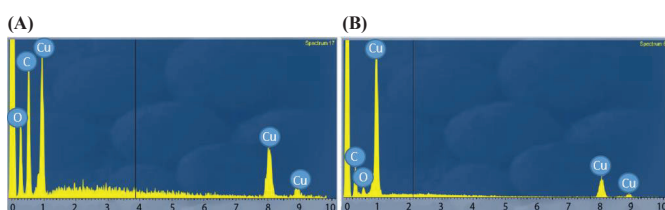
Để phân tích đặc điểm hình thái của vật liệu Cu-MOF, phân tích SEM được thực hiện cho vật liệu Cu-MOF vừa tổng hợp và vật liệu xúc tác C@Cu-MOF (hình 2). Qua ảnh SEM hình 2A, Cu-MOF có hình kim kích thước micro. Sau quá trình carbon hóa, các hạt nano Cu được hình thành phân bố trên khung sườn carbon (hình 2B) [21]. Điều đáng chú ý là sự dính kết của các tâm Cu trên khung sườn carbon đã ngăn cản sự oxy hóa các tâm Cu thành các oxide, bằng chứng là không xuất hiện peak liên quan đến CuO trên giản đồ XRD [21]. Chính sự hiện diện của các tâm kim loại Cu đã tạo nên hoạt tính xúc tác mong đợi của C@Cu-MOF.



Hình 2. Hình thái của vật liệu Cu-MOF (A) và C@Cu-MOF (B).

3.3. Thành phần nguyên tố của vật liệu Cu-MOF và C@Cu-MOF

Thành phần hóa học của vật liệu Cu-MOF và C@Cu-MOF được xác định qua phân tích thành phần vật chất bằng phổ tán sắc năng lượng tia X (EDS), kết quả được trình bày ở hình 3 và bảng 1. Kết quả cho thấy, thành phần vật liệu Cu-MOF gồm 3 nguyên tố C (28,42%), O (33,86%) và Cu (37,72%). Sau khi than hóa, vật liệu C@Cu-MOF có hàm lượng nguyên tố O giảm đáng kể chỉ còn 4,65%. Điều này được giải thích là do một phần nhỏ liên kết Cu-O trong CuMOF chưa được cắt đứt hoàn toàn. Nhưng điều đáng chú ý là hàm lượng Cu tăng lên đến 63,14%. Từ kết quả phân tích EDS cho thấy sự thành công của quá trình than hóa Cu-MOF thành C@Cu-MOF.



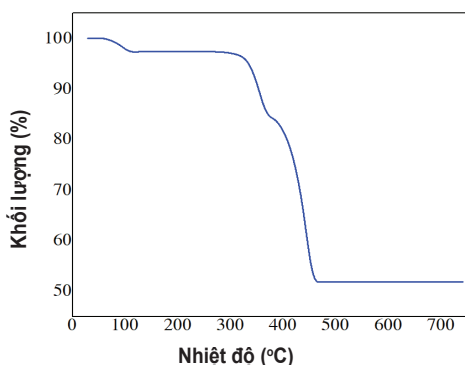
Hình 3. Phổ tán sắc năng lượng tia X của Cu-MOF (A) và C@Cu-MOF (B).

Bảng 1. Thành phần nguyên tố của Cu-MOF và C@Cu-MOF.

Vật liệu	Phần trăm khối lượng các nguyên tố (%)		
	C	O	Cu
Cu-MOF	28,42	33,86	37,72
C@Cu-MOF	32,21	4,65	63,14

3.4. Độ bền nhiệt của vật liệu Cu-MOF

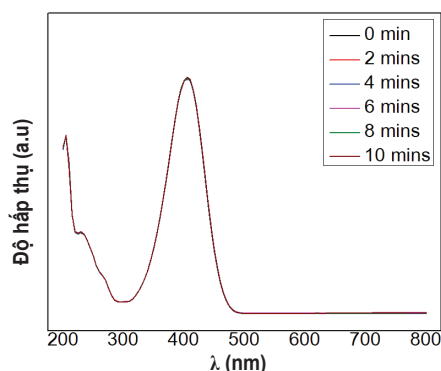
Để xác định độ bền nhiệt của vật liệu, phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) được tiến hành cho vật liệu CuMOF vừa tổng hợp trong dòng khí nitrogen ở nhiệt độ từ 30 đến 750°C và kết quả được thể hiện ở hình 4. Qua giản đồ TGA cho thấy, độ giảm khối lượng khoảng 4% xung quanh 100°C là do sự bay hơi của các phân tử H₂O. Khung sườn của vật liệu được giữ đến nhiệt độ 350°C. Trong vùng nhiệt độ 350-450°C, khung sườn bị phá hủy với độ giảm khối lượng trên 45%.



Hình 4. Giản đồ phân tích nhiệt trọng lượng của vật liệu Cu-MOF vừa tổng hợp.

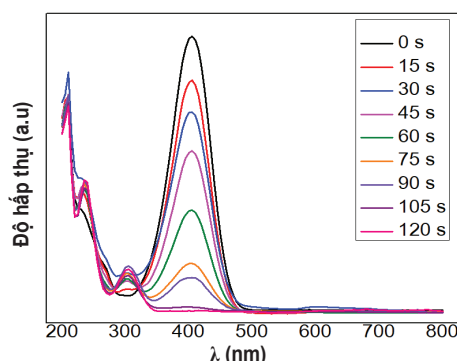
3.5. Xúc tác phản ứng khử 4-NP bằng vật liệu C@Cu-MOF

Vật liệu C@Cu-MOF tạo thành được khảo sát hoạt tính xúc tác cho phản ứng khử 4-NP thành 4-AP với tác nhân khử NaBH₄. Trước hết, phổ hấp thụ UV-Vis của hỗn hợp phản ứng khử gồm 4 ml dung dịch 4-NP và NaBH₄ trong môi trường nước được tiến hành đo với bước sóng quét từ 200 đến 800 nm theo thời gian từ 0 đến 10 phút, mỗi lần đo cách nhau 2 phút (hình 5). Kết quả thể hiện rõ rệt rằng, chất khử NaBH₄ không khử được 4-NP vì không có sự thay đổi cường độ peak của 4-NP ở bước sóng 400 nm và không đồng thời xuất hiện peak mới của sự hình thành 4-AP ở 300 nm. Điều này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu trước đó của I. Asif và cs (2021) [2]. Kết quả này là một thuận lợi để kiểm tra hoạt tính xúc tác của vật liệu C@Cu-MOF.



Hình 5. Phổ UV-Vis theo thời gian của phản ứng khử 4-NP bằng tác nhân khử NaBH₄ không có sự hiện diện của xúc tác.

Sau đó, 1 mg C@Cu-MOF được cho vào để khảo sát hoạt tính xúc tác phản ứng khử 4NP với tác nhân khử NaBH₄. Quy trình được thực hiện tương tự và kết quả được trình bày ở hình 6. Kết quả cho thấy, peak tại bước sóng 400 nm biến mất hoàn toàn sau 120 giây, một peak mới đã bắt đầu xuất hiện ở bước sóng 300 nm là do sự hình thành 4-AP từ 4-NP. Ngoài ra, không có peak lạ khác xuất hiện trên phổ UV-Vis chứng tỏ không xảy ra phản ứng phụ.



Hình 6. Phổ UV-Vis theo thời gian của phản ứng khử 4-NP bằng tác nhân khử NaBH₄ có sự hiện diện của 1 mg C@Cu-MOF.

Tiếp đến, động học của phản ứng khử 4-NP được phân tích để hiểu rõ thêm về hoạt tính xúc tác của C@Cu-MOF. Trong quá trình nghiên cứu xúc tác, nồng độ NaBH_4 được sử dụng gấp 184 lần 4-NP và do đó nồng độ NaBH_4 được xem như là hằng số. Từ đó mô hình động học phản ứng giả bậc một được sử dụng để tính hằng số tốc độ biểu kiến dựa trên phương trình động học như sau:

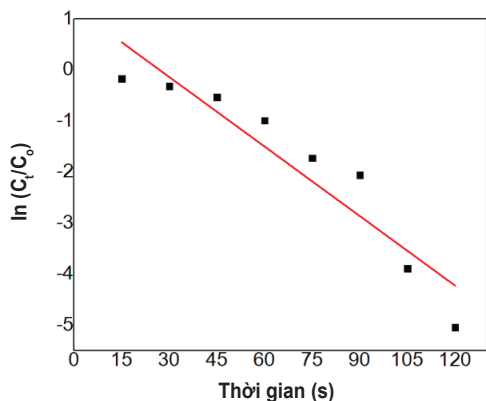
$$\ln \frac{C_0}{C_t} = -kt$$

trong đó: C_0 và C_t là nồng độ của dung dịch gây ô nhiễm tại thời điểm 0 và t, k là hằng số tốc độ biểu kiến và t là thời gian [1]. Giá trị hằng số tốc độ phản ứng cho phản ứng khử 4-NP tính được là $0,045 \text{ s}^{-1}$ với hiệu suất phản ứng 99,35% (hình 7). Giá trị này cao hơn nhiều chất xúc tác đã được báo cáo trước đó (bảng 2).

Bảng 2. So sánh hoạt tính xúc tác của các chất xúc tác nano khác nhau cho phản ứng khử 4-NP bằng NaBH_4 .

Chất xúc tác	Khối lượng (mg)	[4-NP] (ppm)	[NaBH_4] (mmol.l ⁻¹)	Hằng số tốc độ phản ứng (s ⁻¹)	Hiệu suất khử (%)	Thời gian khử (s)	Tài liệu tham khảo
Au/MPC	0,3	15,5	28	0,01	97	510	[11]
Au@C particles	2	13,8	0,01	0,0006	32	480	[13]
Pt/NPC-900	1	20	83,6	0,011	100	360	[10]
Ni/NPC-900	1	20	13,9	0,01	100	360	[10]
C@Fe-800	1	15	125	0,0223	100	240	[1]
C@Cu	1	20	33	0,059	95,35	60	[21]
C@Cu-MOF	1	20	26,4	0,045	99,35	120	Trong nghiên cứu này

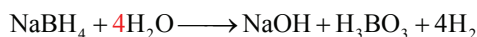
Như được trình bày ở bảng 2, hầu hết các chất xúc tác được sử dụng trước đó dựa trên các kim loại quý, đắt tiền hoặc cần trải qua thời gian phản ứng dài hơn. Mặt khác, chất xúc tác C@Cu-MOF trong nghiên cứu này có thời gian phản ứng dài hơn, và hằng số tốc độ phản ứng thấp hơn C@Cu của M.A. Ahsan và cs (2019b) [21], tuy nhiên cũng cần



Hình 7. Đồ thị $\ln(C_0/C_t)$ theo thời gian của phản ứng khử 4-NP bằng tác nhân khử NaBH_4 sử dụng 1 mg xúc tác C@Cu-MOF.

chú ý đến hiệu suất phản ứng khử chỉ đạt khoảng 95,35 so với 99,35% của nghiên cứu này. Nguyên nhân được giải thích có thể là do quy trình carbon hóa tạo nên vật liệu xúc tác. Vấn đề này mở ra định hướng nghiên cứu tiếp theo.

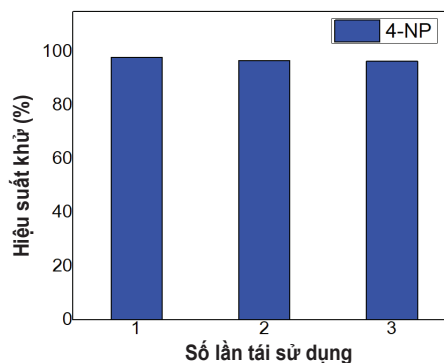
Cơ chế xúc tác phản ứng khử 4-NP dựa trên các hạt xúc tác nano kim loại được nhiều nhóm đề nghị và đều có điểm chung thống nhất [1, 12, 24]. Khi không có chất xúc tác, NaBH_4 không khử được 4NP là do trong nước NaBH_4 thủy phân tạo sodium hydroxide theo phương trình:



Dung dịch lúc này có môi trường kiềm sẽ khử proton với 4-NP tạo anion 4nitrophenolate (4NP⁻). Sự đẩy nhau giữa các ion tích điện âm 4-NP⁻ và BH_4^- làm mất đi hoạt tính khử của NaBH_4 . Tuy nhiên, khi có sự hiện diện của xúc tác kim loại, quá trình khử 4-NP bởi NaBH_4 diễn ra rất nhanh chóng. Cơ chế phản ứng khi có sự hiện diện chất xúc tác nano kim loại được đề nghị như sau: (1) đầu tiên anion BH_4^- và 4-NP⁻ được hấp phụ trên bề mặt tâm xúc tác kim loại, (2) sau đó phản ứng chuyển electron từ BH_4^- sang 4-NP⁻ được diễn ra trên bề mặt xúc tác tại các tâm kim loại [12, 21].

3.6. Khả năng tái sử dụng chất xúc tác C@Cu-MOF

Nhằm đánh giá khả năng tái sử dụng của chất xúc tác C@Cu-MOF, chất xúc tác sau khi sử dụng được thu hồi bằng cách ly tâm và rửa nhiều lần bằng nước DI. Tiếp đến, khảo sát hoạt tính của C@Cu-MOF sau thu hồi bằng cách tái sử dụng xúc tác cho 3 lần phản ứng liên tiếp. Kết quả được trình bày ở hình 8.



Hình 8. Hiệu suất khử dung dịch 4-NP sau ba lần tái sử dụng C@Cu-MOF.

Qua khảo sát cho thấy, hoạt tính xúc tác của C@Cu-MOF giảm không đáng kể, giảm khoảng 1,23% cho hai lần đầu và 2,81% cho lần tái sử dụng thứ 3. Sự giảm nhẹ hoạt tính xúc tác sau ba lần phản ứng khử liên tiếp được giải thích có thể là do sự hao hụt lượng xúc tác sau các lần rửa, hoặc một ít các tâm kim loại bị khóa sau các lần thực hiện phản ứng [21].

4. Kết luận

Cu-MOF được tổng hợp thành công bằng phương pháp nhiệt dung môi và C@CuMOF được tạo thành qua quá trình carbon hóa Cu-MOF ở 600°C trong dòng khí argon. Kết quả phân tích XRD thể hiện rõ có sự chuyển từ các peak của khung sườn kết tinh Cu-MOF sang các peak của nano kim loại đồng. C@Cu-MOF thể hiện hoạt tính xúc tác cao cho phản ứng khử 4-NP với tác nhân khử NaBH₄. Hoạt tính xúc tác C@Cu-MOF sau ba lần tái sử dụng liên tiếp giảm không đáng kể chứng tỏ độ bền của xúc tác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.A. Ahsan, E. Deemer, O.F. Delgado, et al. (2019a), "Fe nanoparticles encapsulated in MOF-derived carbon for the reduction of 4-Nitrophenol and methyl orange in water", *Catalysis Communications*, **130**, pp.105753-105758, DOI: 10.1016/j.catcom.2019.105753.
- [2] I. Asif, N. Baig, M. Sher, et al. (2021), "Mof derived novel zero-valent iron@ graphitic carbon-based nanoreactors for selective reduction of hazardous 4-nitrophenol", *Cleaner Engineering and Technology*, **2**, pp.100081-100089, DOI: 10.1016/j.clet.2021.100081.
- [3] Z. Hasan, D.W. Cho, C.M. Chon, et al. (2016), "Reduction of P-Nitrophenol by magnetic Co-carbon composites derived from metal organic frameworks", *Chemical Engineering Journal*, **298**, pp.183-190, DOI: 10.1016/j.cej.2016.04.029.
- [4] M.T. Yagub, T.K. Sen, S. Afroze, et al. (2014), "Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review", *Advances in Colloid and Interface Science*, **209**, pp.172-184, DOI: 10.1016/j.cis.2014.04.002.
- [5] G. Crini (2006), "Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review", *Bioresource Technology*, **97**(9), pp.1061-1085, DOI: 10.1016/j.biortech.2005.05.001.
- [6] M. Rafatullah, O. Sulaiman, R. Hashim, et al. (2010), "Adsorption of methylene blue on low-cost adsorbents: A review", *Journal of Hazardous Materials*, **177**(1-3), pp.70-80, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.12.047.
- [7] A. Bafana, S.S. Devi, T. Chakrabarti (2011), "Azo dyes: Past, present and the future", *Environmental Reviews*, **19**(NA), pp.350-371, DOI: 10.1139/a11-018.
- [8] A. Akbari, Z. Sabouri, H.A. Hosseini, et al. (2020), "Effect of nickel oxide nanoparticles as a photocatalyst in dyes degradation and evaluation of effective parameters in their removal from aqueous environments", *Inorganic Chemistry Communications*, **115**, pp.107867-107877, DOI: 10.1016/j.inoche.2020.107867.
- [9] T. Xia, Y. Lin, W. Li, et al. (2021), "Photocatalytic degradation of organic pollutants by MOFs based materials: A review", *Chinese Chemical Letters*, **32**(10), pp.2975-2984, DOI: 10.1016/j.ccl.2021.02.058.
- [10] X.Q. Wu, J. Zhao, Y.P. Wu, et al. (2018), "Ultrafine Pt nanoparticles and amorphous nickel supported on 3d mesoporous carbon derived from Cu-metal-organic framework for efficient methanol oxidation and nitrophenol reduction", *ACS Applied Materials & Interfaces*, **10**(15), pp.12740-12749, DOI: 10.1021/acsami.8b01970.
- [11] Z. Dong, X. Le, Y. Liu, et al. (2014), "Metal organic framework derived magnetic porous carbon composite supported gold and palladium nanoparticles as highly efficient and recyclable catalysts for reduction of 4-nitrophenol and hydrodechlorination of 4-chlorophenol", *Journal of Materials Chemistry A*, **2**(44), pp.18775-18785, DOI: 10.1039/C4TA04010D.
- [12] A.A. Kassem, H.N. Abdelhamid, D.M. Fouad, et al. (2021), "Catalytic reduction of 4-nitrophenol using copper terephthalate frameworks and Cu@ C composite", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **9**(1), DOI: 10.1016/j.jece.2020.104401.
- [13] B. Guan, X. Wang, Y. Xiao, et al. (2013), "A versatile cooperative template-directed coating method to construct uniform microporous carbon shells for multifunctional core-shell nanocomposites", *Nanoscale*, **5**(6), pp.2469-2475, DOI: 10.1039/C3NR34041D.
- [14] U. Schubert (2011), "Cluster-based inorganic-organic hybrid materials", *Chemical Society Reviews*, **40**(2), pp.575-582, DOI: 10.1039/C0CS00009D.
- [15] W. Zhuang, D. Yuan, D. Liu, et al. (2012), "Robust metal-organic framework with an octatopic ligand for gas adsorption and separation: Combined characterization by experiments and molecular simulation", *Chemistry of Materials*, **24**(1), pp.18-25, DOI: 10.1021/cm2008889.
- [16] P. Puthiaraj, A. Ramu, K. Pitchumani (2014), "Copper-based metal-organic frameworks as reusable heterogeneous catalysts for the one-pot syntheses of imidazo [1, 2-a] pyridines", *Asian Journal of Organic Chemistry*, **3**(7), pp.784-791, DOI: 10.1002/ajoc.201402019.
- [17] R.S. Kumar, M. Raja, M.A. Kulandainathan, et al. (2014), "Metal organic framework-laden composite polymer electrolytes for efficient and durable all-solid-state-lithium batteries", *RSC Advances*, **4**(50), pp.26171-26175, DOI: 10.1039/C4RA03147D.
- [18] C. Sapsanis, H. Omran, V. Chernikova, et al. (2015), "Insights on capacitive interdigitated electrodes coated with MOF thin films: Humidity and VOCs sensing as a case study", *Sensors*, **15**(8), pp.18153-18166, DOI: 10.3390/s150818153.
- [19] R.C. Huxford, J.D. Rocca, W. Lin (2010), "Metal-organic frameworks as potential drug carriers", *Current Opinion in Chemical Biology*, **14**(2), pp.262-268, DOI: 10.1016/j.cbpa.2009.12.012.
- [20] X. Zhang, N. Wang, L. Geng, et al. (2018), "Facile synthesis of ultrafine cobalt oxides embedded into N-doped carbon with superior activity in hydrogenation of 4-nitrophenol", *Journal of Colloid and Interface Science*, **512**, pp.844-852, DOI: 10.1016/j.jcis.2017.11.005.
- [21] M.A. Ahsan, V. Jabbari, A.A.E. Gendy, et al. (2019b), "Ultrafast catalytic reduction of environmental pollutants in water via MOF-derived magnetic Ni and Cu nanoparticles encapsulated in porous carbon", *Applied Surface Science*, **497**, DOI: 10.1016/j.apsusc.2019.143608.
- [22] Y.A. Patil, G.S. Shankarling (2020), "Deep eutectic solvent-mediated, energy-efficient synthesis of copper terephthalate metal-organic framework and its application in degradation of an azo dye", *Chemical Engineering Journal Advances*, **3**, DOI: 10.1016/j.cej.2020.100032.
- [23] Y. Song, D. Cho, S. Venkateswarlu, et al. (2017), "Systematic study on preparation of copper nanoparticle embedded porous carbon by carbonization of metal-organic framework for enzymatic glucose sensor", *RSC Advances*, **7**(17), pp.10592-10600, DOI: 10.1039/C7RA00115K.
- [24] J. Zeng, Q. Zhang, J. Chen, et al. (2010), "A comparison study of the catalytic properties of Au-based nanocages, nanoboxes, and nanoparticles", *Nano Letters*, **10**(1), pp.30-35, DOI: 10.1021/nl903062e.

Xác định hàm lượng các nguyên tố kim loại trong mô thịt của một số loài cá phổ biến vùng cửa sông Bạch Đằng, Hải Phòng

Phạm Thị Kha*, Vũ Mạnh Hùng, Lê Văn Nam, Cao Thị Thu Trang, Trần Mạnh Hà

Viện Tài nguyên và Môi trường biển, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 246 Đà Nẵng, phường Cầu Tre, quận Ngô Quyền, TP Hải Phòng, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/1/2023; ngày chuyển phản biện 16/1/2023; ngày nhận phản biện 13/2/2023; ngày chấp nhận đăng 16/2/2023

Tóm tắt:

Bài báo trình bày các kết quả nghiên cứu về hàm lượng các kim loại magie (Mg), sắt (Fe), kẽm (Zn), đồng (Cu), Mangan (Mn), Asen (As), Cadimi (Cd), thủy ngân (Hg) trong 3 loài cá phổ biến ở khu vực: cá trích bầu (*Escualosa thoracata*), lườn canh đuôi phượng (*Coilia mystus*) và đối mục (*Mugil cephalus*) trong đợt thu mẫu năm 2020 tại vùng cửa sông Bạch Đằng - Hải Phòng. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng các nguyên tố kim loại trong mẫu cá dao động như sau: Mg: 854,19-1718,01 mg/kg khô; Fe: 32,60-167,89 mg/kg khô; Zn: 26,33-108,47 mg/kg khô; Mn: 0,92-25,46 mg/kg khô; Cu: 1,63-9,33 mg/kg khô; As: 0,56-13,11 mg/kg khô; Hg: 0,00-0,40 mg/kg khô; Cd: 0,01-0,10 mg/kg khô. Hàm lượng các nguyên tố kim loại trong 3 loài cá khu vực nằm trong giới hạn theo QCVN 8-2:2011/BYT đồng thời cũng thuộc giới hạn của Ủy ban châu Âu 2006 và giới hạn của Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên hợp quốc/Tổ chức Y tế thế giới (FAO/WHO) (1989). Các mẫu nghiên cứu chỉ ra mối tương quan đáng kể giữa Fe-Cu, Zn-Cu, Hg-Cd. Cá lườn canh đuôi phượng tích lũy nồng độ cao của Mn, Mg, Hg, Cd; cá trích bầu tích lũy nồng độ cao của Fe, Zn, Cu; cá đối mục tích tụ hàm lượng thấp kim loại As.

Từ khóa: cá, *Coilia mystus*, *Escualosa thoracata*, *Mugil cephalus*, nguyên tố kim loại, vùng cửa sông Bạch Đằng.

Chỉ số phân loại: 1.4, 2.10, 4.5

Determination of metal popular fishes in Bach Dang estuary, Hai Phong city

Thi Kha Pham*, Manh Hung Vu, Van Nam Le, Thi Thu Trang Cao, Manh Ha Tran

Institute of Marine Environment and Resources, Vietnam Academy of Science and Technology,
246 Da Nang Street, Cau Tre Ward, Ngo Quyen District, Hai Phong City, Vietnam

Received 12 January 2023; revised 13 February 2023; accepted 16 February 2023

Abstract:

This article presents the research results on the content of the macronutrients Magnesium (Mg), iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu), Manganese (Mn), Arsenic (As), Cadmium (Cd), mercury (Hg) in 3 fish species: The white sardine (*Escualosa thoracata*), phoenix-tailed anchovy (*Coilia mystus*) and Sea Mullet (*Mugil cephalus*) based on samples collected in 2020 from the Bach Dang estuary in Hai Phong. The analysis results showed that the metal content in fish samples in the area ranged from 854.19 to 1718.01 mg/kg dry weight for Mg; Fe from 32.60 to 167.89 mg/kg dry weight; Zn from 26.33 to 108.47 mg/kg dry weight; Mn from 0.92 to 25.46 mg/kg dry weight; Cu from 1.63 to 9.33 mg/kg dry weight; As from 0.56 to 13.11 mg/kg dry weight; Hg from 0.00 to 0.40 mg/kg dry weight; Cd from 0.01 to 0.10 mg/kg dry weight. The concentrations of metal elements in the three fish species fall within the limits specified by QCVN 8-2:2011/BYT, as well as the limits set by the European Commission (EC) in 2006 and the guidelines established by the Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO) (1989). The correlation analysed samples showed a significant correlation between Fe-Cu, Zn-Cu, Hg-Cd. *Coilia mystus* accumulate high concentrations of Mn, Mg, Hg, Cd; *Escualosa thoracata* accumulate high concentrations of Fe, Zn, Cu; *Mugil cephalus* accumulates low levels of metal As.

Keywords: Bach Dang estuary, *Coilia mystus*, *Escualosa thoracata*, fish, *Mugil cephalus*, trace elements.

Classification numbers: 1.4, 2.10, 4.5

*Tác giả liên hệ: Email: khapt@imer.ac.vn

1. Đặt vấn đề

Các nguyên tố cần thiết cho cơ thể sống bao gồm 4 nhóm nguyên tố: nhóm 1 là 4 nguyên tố hữu cơ cơ bản: H, C, O và N; nhóm 2 là các nguyên tố đại lượng: Na, Mg, K, Ca, P, S và Cl; nhóm 3 là các nguyên tố vi lượng cần thiết: Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Se và I; nhóm 4 là các nguyên tố chưa xác định chức năng sinh hóa cụ thể: Li, V, Cr, B, F, Si và As [1].

Các nguyên tố kim loại vi lượng cần thiết Fe, Mn, Zn, Cu có vai trò rất quan trọng đối với sinh vật và con người. Thiếu sắt có thể dẫn đến thiếu máu và suy giảm sự phát triển trí tuệ, tuy vậy nồng độ sắt cao hơn 60 mg/kg/khẩu phần ăn có thể gây suy đa cơ quan, hôn mê, co giật, thậm chí tử vong [2]. Mn là một nguyên tố cần thiết như một chất chống oxy hóa, bổ máu, điều hòa lượng đường và phát triển xương, tuy nhiên, Mn cao có thể ảnh hưởng đến sức khỏe con người, gây ra bệnh giống hội chứng Parkinson [3]. Zn là một vi chất dinh dưỡng cần thiết để duy trì các chức năng sinh học nhất định cho động vật và con người. Tuy nhiên, nồng độ Zn cao có thể dẫn đến chán ăn, chậm lớn, chậm phát triển, thay đổi da, hôn mê và các bất thường về miễn dịch [4]. Cu thường tồn tại dạng phức chất hữu cơ trong mô của các cơ thể sinh vật, tuy nhiên nếu tiếp xúc với Cu trong thời gian dài có thể ảnh hưởng đến sức khỏe, gây tổn thương gan và thận [5].

Ngoài ra, trong cơ thể sinh vật tồn tại các nguyên tố kim loại độc hại như As, Cd và Hg. As tồn tại dạng hữu cơ và vô cơ trong sinh vật, dạng hữu cơ ít độc hại hơn dạng vô cơ. As có thể gây ung thư, thậm chí tử vong nếu ở nồng độ cao, phơi nhiễm As ở nồng độ thấp có thể gây buồn nôn, giảm sản xuất tế bào máu đỏ và trắng, bất thường nhịp tim [6]. Cd là một nguyên tố không cần thiết đối với hầu hết các sinh vật sống. Cd có thể gây suy thận, làm mềm xương, thậm chí gây ra ung thư tuyến tiền liệt do tiếp xúc lâu dài hoặc dùng liều cao [7]. Hg là một nguyên tố độc do có ái lực mạnh với nguyên tử lưu huỳnh trong cấu trúc protein enzyme của cơ thể sống. Sự tích tụ Hg cao trong các sinh vật có thể gây suy thận, giảm trí nhớ, tê liệt, thể chất run và rối loạn chức năng thần kinh, hoặc các bệnh khác (ví dụ: Minamata) [8].

Cá là một trong những loài hải sản giàu đạm và protein, cung cấp các nguyên tố vi lượng cần thiết (Mg, Zn, Fe, Cu, Mn...) như chất dinh dưỡng cho cơ thể con người, ngoài ra trong mô thịt cá còn chứa các nguyên tố vi lượng độc hại (As, Cd, Hg...). Vì vậy, khi con người tiêu thụ cá, các nguyên tố kim loại được hấp thụ và tích lũy trong cá sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe. Có rất nhiều nghiên cứu về tích tụ

các nguyên tố kim loại trong các loại thủy sản và sử dụng chúng như chỉ thị sinh học cho việc đánh giá chất lượng môi trường [9-12].

Vùng cửa sông Bạch Đằng (Hải Phòng) có đặc trưng hình phễu, là phần hạ lưu cuối cùng trước khi đổ ra biển của hệ thống sông Thái Bình. Đây là một khu vực trọng điểm phát triển kinh tế của Hải Phòng cũng như khu vực Bắc Bộ. Các hoạt động công nghiệp, nông nghiệp, đô thị hóa, nuôi trồng, đánh bắt thủy hải sản và đặc biệt là các hoạt động của cảng biển đã gây sức ép cho môi trường, ảnh hưởng đến nguồn lợi thủy hải sản cũng như đa dạng sinh học của khu vực [11].

Chất lượng nước và trầm tích ở vùng cửa sông Bạch Đằng là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến hàm lượng kim loại. Kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy, môi trường nước vùng cửa sông Bạch Đằng đã có dấu hiệu ô nhiễm bởi chất rắn lơ lửng, dầu mỡ, dinh dưỡng nitrat, amoni và kim loại nặng As [12]. Hàm lượng của các nguyên tố kim loại vi lượng như Cu, Zn, Pb, As, Cd và Hg trong trầm tích khu vực cũng đã được nghiên cứu [13]. Theo đó, nồng độ Cu (8,13-768,95 mg/kg), Pb (8,59-83,65 mg/kg), As (7,35-31,13 mg/kg), Zn (34,61-140,91 mg/kg) và Cd (0,02-0,44 mg/kg) thấp hơn giới hạn theo QCVN 43:2017/BTNMT về chất lượng trầm tích nước mặn, lợ. Sự có mặt với nồng độ cao của các nguyên tố này có thể ảnh hưởng đến đời sống và chất lượng nguồn thủy sản khu vực lân cận. Vì vậy, việc đánh giá hàm lượng nguyên tố kim loại trong thủy sản khu vực là rất quan trọng. Tuy nhiên, nghiên cứu về tích lũy sinh học nguyên tố kim loại vi lượng trong thủy sản ở khu vực vẫn còn hạn chế.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng phương pháp xử lý mẫu sinh vật bằng lò vi sóng và phân tích các kim loại bằng phương pháp quang phổ nguồn plasma cảm ứng cao tần kết nối khối phổ (ICP-MS), để đánh giá các nguyên tố kim loại vi lượng (Mg, Cu, Fe, Zn, Mn, As, Cd và Hg) trong 3 loài cá phổ biến trong khu vực là trích bầu, lênh canh đuôi phượng và đối mục. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp cơ sở khoa học cho quản lý quy hoạch để bảo vệ, phát triển bền vững nguồn lợi thủy sản khu vực và phát triển nuôi trồng thủy sản trên địa bàn nghiên cứu.

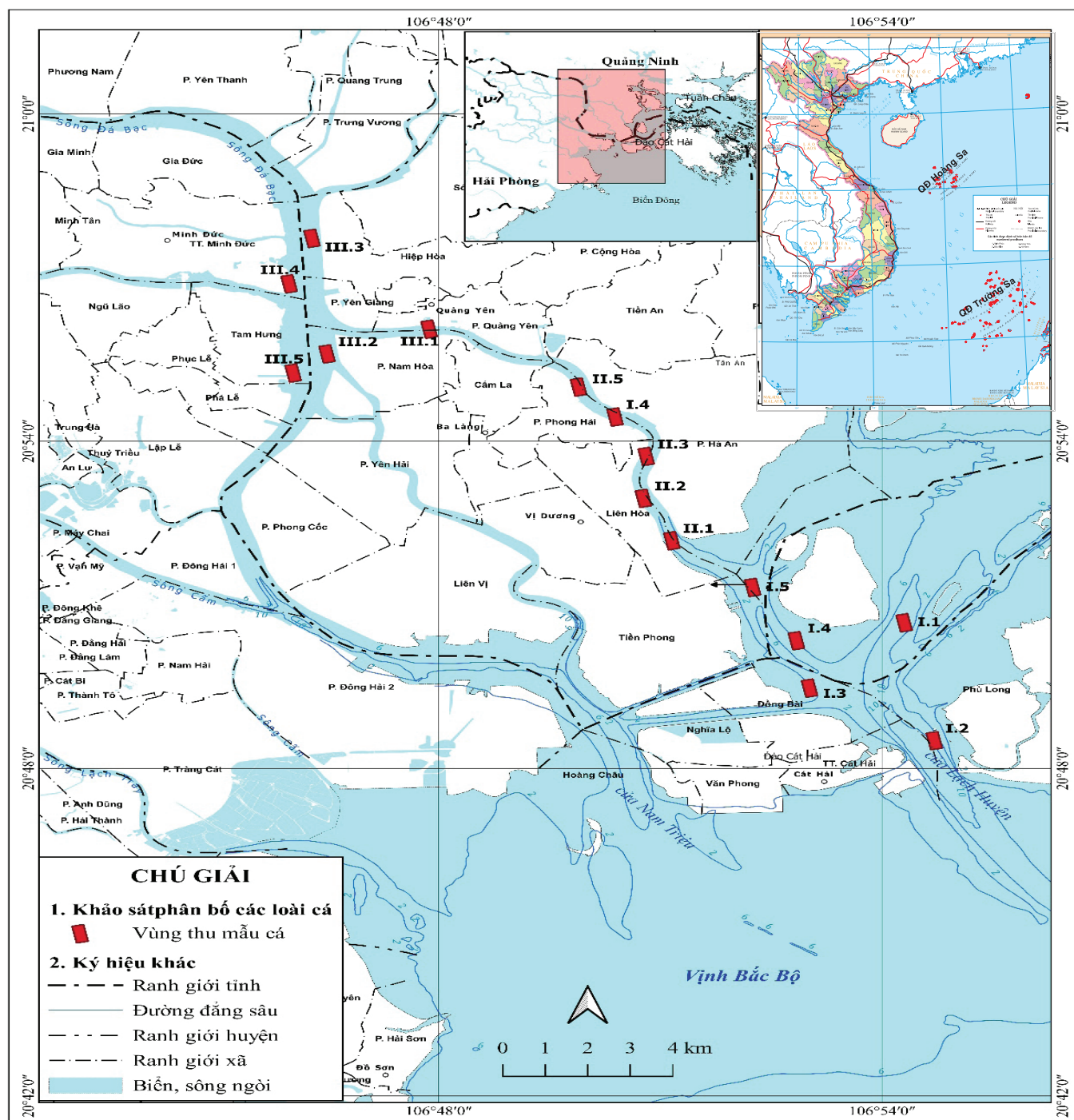
2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Khu vực thu mẫu

Vùng cửa sông Bạch Đằng với tọa độ địa lý: 106°37'-107°00'E và 20°37'-21°00'N, diện tích trong ô bản đồ là 1650 m². Khu vực cửa sông Bạch Đằng nằm ở vùng chuyển

tiếp giữa tỉnh Quảng Ninh và TP Hải Phòng. Khu vực tả ngạn (bên trái) chủ yếu thuộc địa phận thị xã Quảng Yên, một phần liên quan đến thị xã Uông Bí và huyện Hoành Bồ (Quảng Ninh); khu vực hữu ngạn (bên phải) chủ yếu thuộc về huyện Thủy Nguyên, Cát Hải và các quận nội thành (Hong Bang, Ngo Quyen, Hai An) của TP Hải Phòng (hình 1).

Tổng số 34 mẫu cá thuộc 3 loài: trích bầu, lảnh canh đuôi phượng và đối mực được thu thập ở vùng cửa sông Bạch Đằng, trong đó có 11 mẫu cá trích bầu, 11 mẫu lảnh canh đuôi phượng và 12 mẫu đối mực. Các mẫu cá được thu thập trong đợt khảo sát mùa khô và mùa mưa năm 2020. Mẫu cá sau khi thu được rửa sạch bằng nước cất siêu sạch, đựng trong các túi nhựa rồi lưu giữ trong tủ lạnh ở -20°C trước khi phân tích.



Hình 1. Sơ đồ khu vực thu mẫu vùng cửa sông Bạch Đằng.

2.2. Xử lý mẫu và phân tích

Phương pháp xử lý và phân tích mẫu được thực hiện theo SMWW3125 [14].

Xử lý mẫu: Dùng dao tách phần cơ thịt cá, đông khô lạnh mô thịt cá trong thiết bị đông khô lạnh FreeZone của Hãng Labconco (Hoa Kỳ). Mẫu sau đông khô lạnh, được nghiền nhỏ thành bột, cân khối lượng trước khi tiến hành phá mẫu. Cân 0,25-0,5 g mẫu bột khô, thêm 8 ml dung dịch phá mẫu $H_2O:HNO_3:HCl$ với tỷ lệ 3:4:0,25 (v/v) sử dụng axit HNO_3 đậm đặc 68% (Merck, Đức), HCl đậm đặc 37% (Merck, Đức) và 1 ml H_2O_2 30% (Merck, Đức) vào bom phá mẫu bằng Teflon, sau đó mẫu được đông hoá trong thiết bị phá mẫu lò vi sóng Microwave Digestion System Multiwave (Hãng CEM model Mars 6). Sau khi chờ mẫu đạt nhiệt độ phòng 25°C, mẫu trong bom phá mẫu bằng Teflon được chuyển sang bình định mức 25 ml, được làm đầy bằng nước cất để ion độ dẫn điện 18 MΩ, sau đó mẫu được lọc qua giấy lọc kích cỡ 0,45 μm (Whatman, Merck, Đức) trước khi đo trên thiết bị ICP-MS Agilent.

Mẫu được dẫn vào buồng hóa hơi để sol khí hóa dung dịch mẫu, sau đó dẫn thể sol khí mẫu vào plasma ICP. Trong plasma ICP sẽ xảy ra các quá trình dung môi bay hơi, để lại các hạt mẫu dạng bột mịn (hạt 1 μm), nhờ có sự nung nóng và hóa hơi, các phân tử được nguyên tử hóa thành nguyên tử tự do dạng hơi. Sau đó, các nguyên tử được ion hóa thành các ion điện tích 1+ (Me^{1+} , $Z=1$). Các ion Me^+ này là phần tử sẽ tạo ra phổ khối của các nguyên tố có trong mẫu, dựa theo số khối m/Z sẽ cho một pic phổ khối tương ứng, detector phát hiện và ghi lại các phổ.

Mẫu được phân tích trên hệ ICP-MS 7700 của Agilent, sử dụng mode Heli để loại nhiễu đa phân tử và có sử dụng nội chuẩn (Sc, Ge, Rh, In, Tb, Lu và Bi) trong quá trình phân tích. Trước khi chạy mẫu tiến hành chạy các mẫu chất chuẩn, mẫu blank và mẫu kiểm soát sử dụng vật liệu chuẩn DORM -4.

2.3. Xử lý số liệu

Để đánh giá mức độ tương quan của 8 nguyên tố kim loại vi lượng trong 33 mẫu cá, sử dụng phần mềm XLSTAT để tính hệ số tương quan Pearson, phân tích thành phần chính PCA được sử dụng để xác định đại diện các biến cho từng nhóm (cá trích bạc, cá lênh canh đuôi phượng và cá đối mực).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hàm lượng các nguyên tố vi lượng cần thiết trong mẫu cá

Hàm lượng trung bình các nguyên tố vi lượng cần thiết trong các mẫu cá được trình bày ở bảng 1. Kết quả nghiên cứu cho thấy, hàm lượng Fe trong cá trích bạc 71,48±28,08 mg/kg, lênh canh đuôi phượng 70,75±21,85 mg/kg và đối mực 87,05±36,49 mg/kg. Chưa có tiêu chuẩn nào giới hạn hàm lượng Fe trong các loài hải sản.

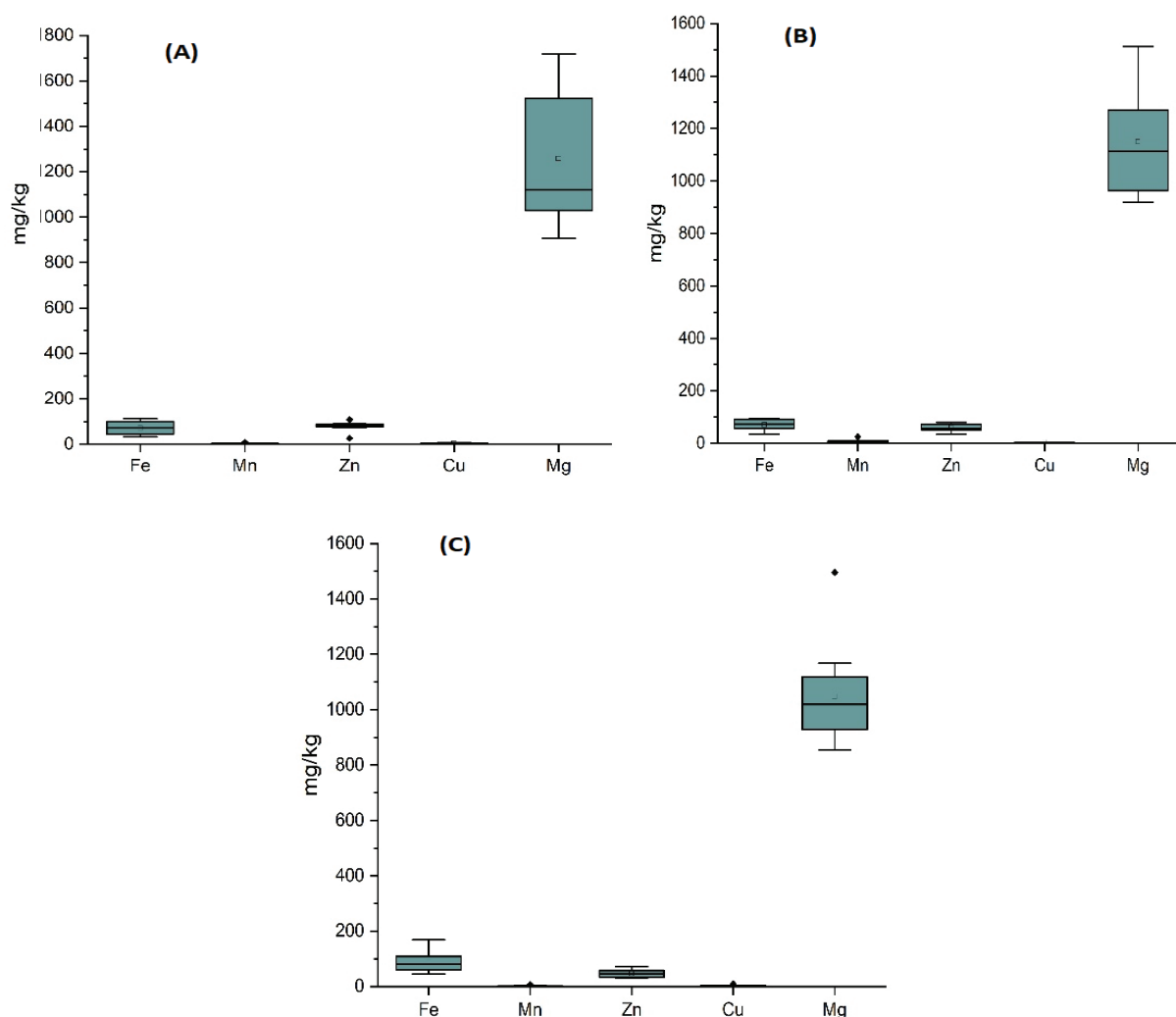
Kết quả ở bảng 1, hình 2 cho thấy, hàm lượng Mn trong cá trích bạc 3,95±2,03 mg/kg, lênh canh đuôi phượng 8,28±6,41 mg/kg và đối mực 2,33±1,65 mg/kg. Chưa có tiêu chuẩn nào giới hạn hàm lượng Mn trong các loài hải sản. Hàm lượng Zn trong cá trích bạc 80,41±20,09 mg/kg, lênh canh đuôi phượng 59,60±14,12 mg/kg và đối mực 47,70±14,39 mg/kg. Hàm lượng Cu trong cá trích 3,86±1,54 mg/kg, lênh canh đuôi phượng 3,04±0,87 mg/kg và đối mực 3,58±1,91 mg/kg. Hàm lượng này thấp hơn giới hạn 30 mg/kg theo QCVN 8-2:2011/BYT. Hàm lượng Mg trong cá trích 1257,35±271,09 mg/kg, lênh canh đuôi phượng 1149,60±181,00 mg/kg và đối mực 1046,15±173,36 mg/kg.

Như vậy, hàm lượng trung bình của Mg cao nhất trong cả 3 mẫu cá. Trong mẫu cá trích bạc, hàm lượng trung bình của các kim loại giảm dần theo thứ tự: $Mg > Zn > Fe > Mn > Cu$; trong mẫu cá lênh canh đuôi phượng, hàm lượng trung bình kim loại giảm theo thứ tự: $Mg > Fe > Zn > Mn > Cu$; trong mẫu

Bảng 1. Hàm lượng (mg/kg khô) của nguyên tố vi lượng cần thiết trong 3 loài cá vùng cửa sông Bạch Đằng.

Loài		Fe	Mn	Zn	Cu	Mg
Cá trích bạc	Trung bình	71,48	3,95	80,41	3,86	1257,35
	Min-Max	32,60-112,49	2,17-8,86	26,33-108,47	1,63-6,43	906,09-1718,01
Cá lênh canh đuôi phượng	Trung bình	70,75	8,28	59,60	3,04	1149,60
	Dao động	34,85-94,90	2,38-25,46	33,94- 80,77	1,78-4,64	918,25-1513,00
Cá đối mực	Trung bình	87,05	2,33	47,70	3,58	1046,15
	Dao động	44,83-168,79	0,92-6,81	31,32-71,91	1,98-9,33	854,19-1495,86
QCVN 8-2:2011/BYT		-	-	-	30	
QĐ 46-2007/BYT		-	-	100		
FAO/WHO (1989)				50	30	

Ghi chú: QCVN 802:2011/BYT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm. QĐ 46-2007/BYT: Quyết định quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hóa học trong thực phẩm.



Hình 2. Hàm lượng các nguyên tố vi lượng Fe, Mn, Zn, Cu, Mg trong cá trích bầu (A), lành canh đuôi phượng (B) và đối mục (C).

cá đối mục, hàm lượng trung bình kim loại nặng giảm theo thứ tự: $Mg > Fe > Zn > Cu > Mn$. Cá trích bầu chứa hàm lượng cao các nguyên tố Mg, Zn, Cu và Fe. Cá lành canh đuôi phượng chứa hàm lượng cao các nguyên tố vi lượng Fe và Cu. Cá đối mục chứa hàm lượng cao nguyên tố vi lượng Fe cần thiết cho cơ thể.

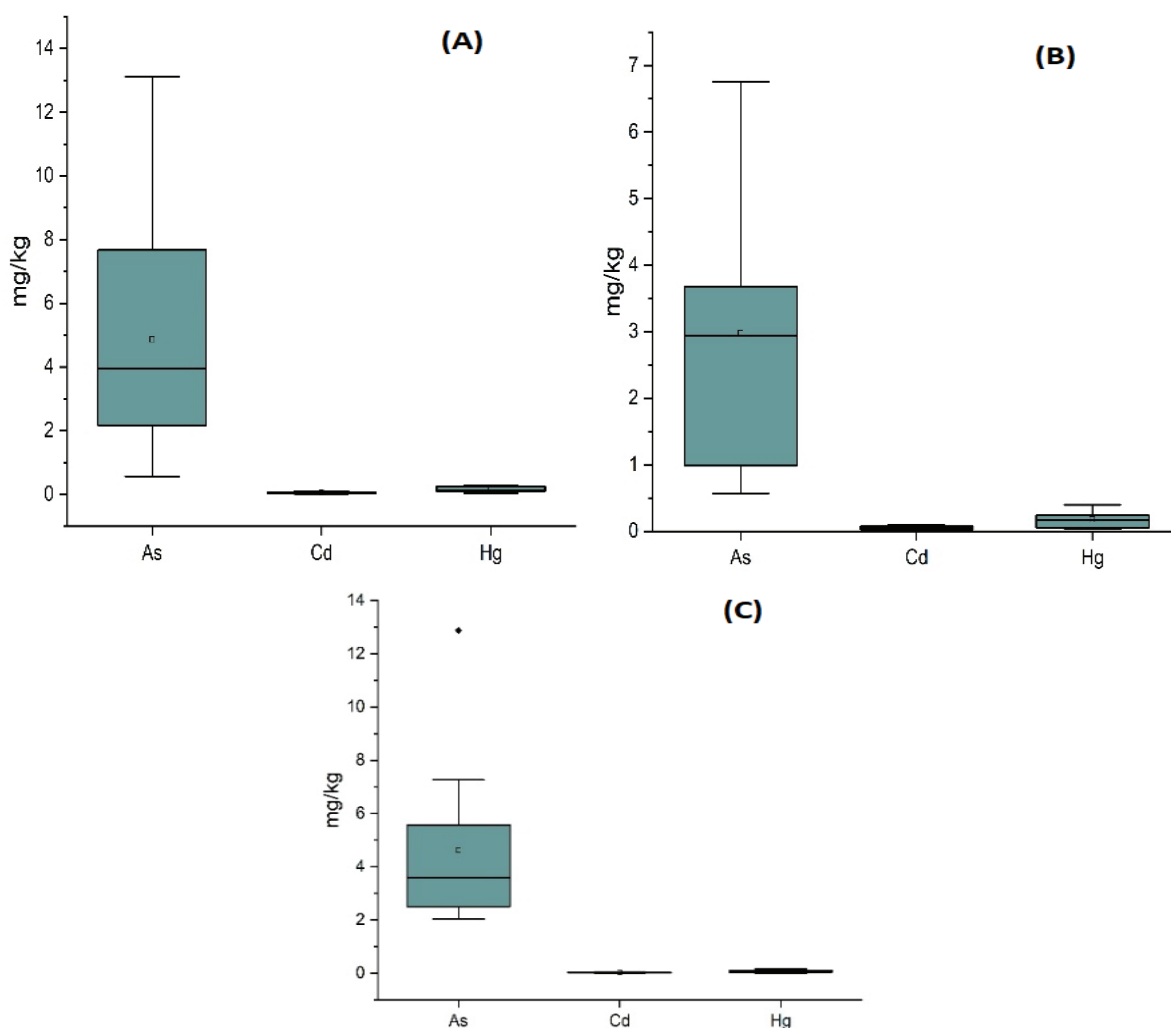
3.2. Hàm lượng các nguyên tố vi lượng độc hại trong mẫu cá

Hàm lượng trung bình các nguyên tố vi lượng độc hại trong các mẫu cá được trình bày ở bảng 2, hình 3. Kết quả cho thấy, hàm lượng As trong cá trích bầu $4,85 \pm 3,68$ mg/kg, lành canh đuôi phượng $2,97 \pm 1,91$ mg/kg và đối mục $4,62 \pm 3,07$ mg/kg. Trong kết quả này, As phân tích dạng tổng, vì vậy kết quả này không thể so sánh với tiêu chuẩn của Bộ Y tế theo QĐ 46-2007/BYT (tiêu chuẩn quy định hàm lượng giới hạn 2 mg/kg trong cá đối với As vô cơ).

Bảng 2. Hàm lượng (mg/kg khô) của nguyên tố vi lượng độc hại trong 3 loài cá vùng cửa sông Bạch Đằng.

Loại		As	Cd	Hg
Cá trích bầu	Trung bình	4,85	0,05	0,15
	Min - Max	0,56-13,11	0,01-0,09	0,03-0,28
Cá lành canh đuôi phượng	Trung bình	2,97	0,05	0,18
	Dao động	0,57-6,75	0,02-0,10	0,03-0,40
Cá đối mục	Trung bình	4,62	0,02	0,08
	Dao động	2,04-12,88	0,01-0,05	0,00-0,16
QCVN 8-2:2011/BYT	-	-	0,1	1
QĐ 46-2007/BYT	2*	-	0,05	0,5
FAO/WHO (1989)	-	-	0,1	0,3
EC 2006	-	-	0,05	0,5

*: hàm lượng As vô cơ trong cá.



Hình 3. Hàm lượng As, Cd, Hg trong cá trích bầu (A), lênh canh đuôi phượng (B) và đối mực (C).

Hàm lượng Cd trong cá trích bầu là $0,05 \pm 0,02$ mg/kg, lênh canh đuôi phượng $0,05 \pm 0,03$ và đối mực $0,02 \pm 0,01$ mg/kg. Theo QCVN 8-2:2011/BYT giới hạn hàm lượng Cd trong cá 0,1 mg/kg, theo QĐ 46-2007/BYT giới hạn hàm lượng Cd trong cá là 0,05 mg/kg, theo FAO/WHO (1989) giới hạn hàm lượng Cd trong cá là 0,05 mg/kg, thì hàm lượng Cd trong 3 loài cá khu vực cửa sông Bạch Đằng thấp hơn giá trị giới hạn.

Hàm lượng Hg trong cá trích bầu là $0,15 \pm 0,09$ mg/kg, lênh canh đuôi phượng $0,05 \pm 0,03$ mg/kg và đối mực $0,02 \pm 0,01$ mg/kg. Hàm lượng này thấp hơn giới hạn theo QĐ/46-2007/BYT (0,5 mg/kg), theo QCVN 8-2:2011/BYT (1,0 mg/kg), của châu Âu năm 2006 [15] và FAO/WHO (1989).

Như vậy, hàm lượng trung bình của As cao nhất trong 3 loài cá. Thứ tự giảm dần hàm lượng các kim loại trong 3

loài cá: $As > Hg > Cd$. Trong 3 loài cá thì hàm lượng Cd và Hg trong loài cá đối mực thấp nhất, hàm lượng As thấp nhất trong cá lênh canh đuôi phượng.

3.3. Mối quan hệ giữa tích tụ các nguyên tố kim loại và các loài cá

Kết quả hệ số tương quan Pearson của 8 nguyên tố kim loại trong 34 mẫu phân tích chỉ ra mối tương quan đáng kể giữa Fe-Cu, Zn-Cu, Hg-Cd (bảng 3).

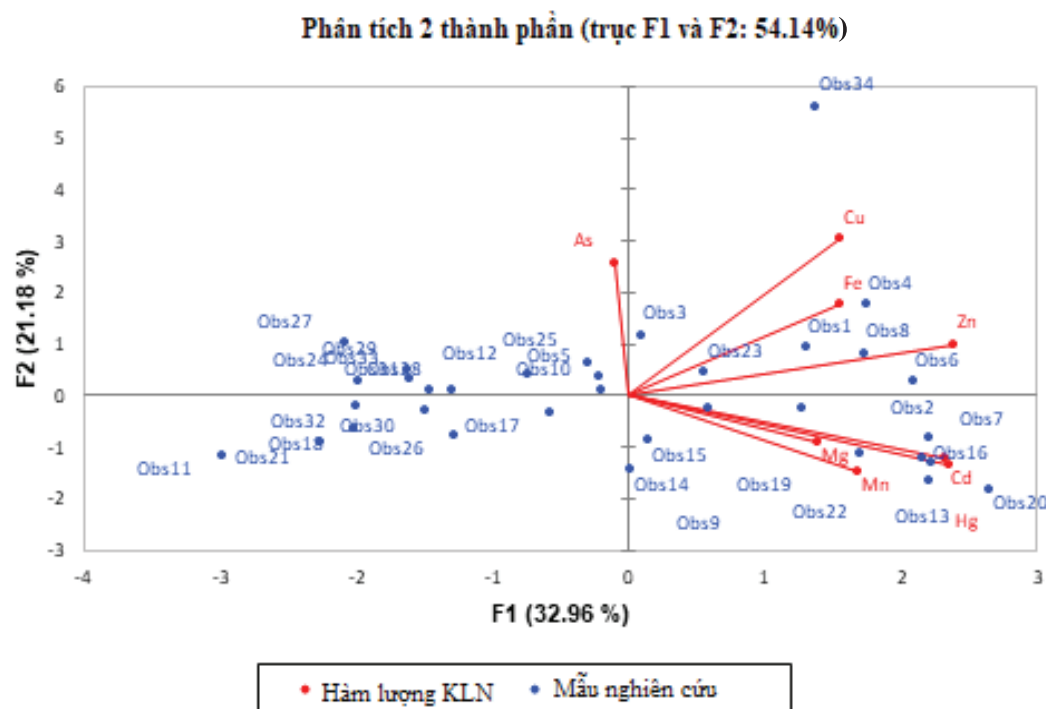
Mối quan hệ giữa các nguyên tố kim loại với các loài cá được thể hiện qua phân tích PCA (hình 4). Hai trục đầu tiên chiếm 54,14% phương sai và 3 nhóm điều kiện được thể hiện rõ ràng: nồng độ cao của Mn, Mg, Hg, Cd tích tụ trong mẫu phân tích là 13-22 tương ứng với loài cá lênh canh đuôi phượng; nồng độ cao của các nguyên tố Fe, Zn, Cu tích tụ trong mẫu phân tích 1-8 tương ứng với loài cá trích bầu.

Bảng 3. Sự tương quan giữa 8 nguyên tố kim loại trong 34 mẫu phân tích.

	Mg	Cu	Fe	Zn	Mn	As	Cd	Hg
Mg	1							
Cu	-0,080	1						
Fe	-0,069	0,528	1					
Zn	0,306	0,501	0,352	1				
Mn	0,086	0,113	0,157	0,294	1			
As	0,178	0,401	-0,069	0,061	-0,403	1		
Cd	0,319	0,133	0,073	0,391	0,358	-0,088	1	
Hg	0,386	0,077	0,234	0,321	0,267	-0,081	0,665	1

Giá trị in đậm chỉ ra mối tương quan đáng kể.

học của của từng loài và từng giai đoạn là khác nhau. Tuy nhiên, so sánh một cách tương đối cho thấy, hàm lượng Mn trong loài cá khu vực nghiên cứu thấp hơn so với loài cá ở khu vực phá Tam Giang - Cầu Hai [16] 5,2 mg/kg khô và khu vực cửa Ba Lạt [17] 5,99 mg/kg khô. So với các nghiên cứu ở khu vực khác trên thế giới như sông Sakarya, Thổ Nhĩ Kỳ [18], hồ Geriyo, Nigeria [19], hồ Skadar, Montenegro [20], TP Erbil, Iraq [21] thì hàm lượng Mn trong các loài cá khu vực cửa sông Bạch Đằng cao hơn. Hàm lượng nguyên tố vi lượng Fe, Cu, Zn trong 3 loài cá khu vực cửa Bạch Đằng (76,43 mg/kg khô) cao hơn so với kết quả nghiên cứu trong cá khu vực phá Tam Giang - Cầu Hai [16] 39 mg/kg khô, cửa Ba Lạt [17] 51,23 mg/kg khô và cao hơn một số



Hình 4. Phân tích PCA của 8 nguyên tố kim loại vi lượng trong 34 mẫu phân tích vùng cửa sông Bạch Đằng, Hải Phòng năm 2021.

So với các kết quả nghiên cứu về hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong các loài cá trong các khu vực nghiên cứu khác trong nước và trên thế giới, hàm lượng nguyên tố vi lượng Mn, Fe, Cu, Zn trung bình trong 3 loài cá vùng cửa Bạch Đằng, Hải Phòng lần lượt là 4,85, 76,43, 3,49 và 62,66 mg/kg khô. Sự khác nhau về hàm lượng các nguyên tố vi lượng phụ thuộc vào hàm lượng của các nguyên tố trong môi trường nước, trầm tích cũng như khả năng tích tụ sinh

khu vực trên thế giới. Hàm lượng các nguyên tố kim loại độc hại As, Cd, Hg trung bình trong 3 loài cá khu vực cửa Bạch Đằng, Hải Phòng lần lượt là 4,15, 0,04 và 0,14 mg/kg khô. Hàm lượng As trong cá khu vực cửa Bạch Đằng cao hơn các khu vực khác. Hàm lượng Cd trong cá khu vực cửa Bạch Đằng thấp hơn so với hàm lượng trong cá hồ Geriyo, Nigeria, hàm lượng Hg trong cá khu vực cửa Bạch Đằng thấp hơn so với các nghiên cứu khu vực cửa Ba Lạt, thành phố Erbil, Iraq và hồ Skadar, Montenegro (bảng 4).

Bảng 4. Các nguyên tố kim loại trong các loài cá ở một số khu vực trong nước và trên thế giới.

Vị trí	Tên loài	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Cd	Hg	Tài liệu tham khảo
Sông Sakarya, Thổ Nhĩ Kỳ	<i>Cyprinus carpio</i>	11,4±0,1	25,4±1,1	1,14±0,07	45,7±2,0	-	-	-	[18]
	<i>Mugil cephalus</i>	0,24±0,04	10,8±0,6	0,6±0,05	16,2±0,4	-	-	-	
	<i>Barbus capito</i>	0,08±0,03	12,5±0,5	0,92±0,12	11,5±1,5	-	-	-	
	<i>Capoeta pestai</i>	1,64±0,04	12,5±0,4	1,08±0,03	52,9±5,2				
	<i>Silurus glanis</i>	0,33±0,03	26,5±1,3	0,35±0,05	12,9±2,1				
	<i>Blicca bjoerkna</i>	1,06±0,02	11,6±0,7	1,10±0,04	23,8±0,4				
Phá Tam Giang - Cầu Hai, Việt Nam	<i>Oxyurichthys papuensis</i>	5,2	39	0,8	58	2,1	0,0074	-	[16]
Hồ Geriyo, Adamawa State, Nigeria	<i>Clarias fish</i>	-	-	2,02±1,87	4,17±0,39	-	0,37±0,25	-	[19]
	<i>Tilapia fish</i>	-	-	1,27±1,12	5,06±0,38	-	0,33±0,16	-	
	<i>Heterotis fish</i>	-	-	4,42±1,89	6,61±0,89	-	0,39±0,11	-	
Hồ Skadar - Montenegro	<i>Scardinius knezevici</i>	1,03±1,12	5,66±1,36	0,64±0,19	16,29±11,40	0,091±0,003	0,018±0,002	0,118±0,037	[20]
	<i>Alburnus scoranza</i>	1,76±0,69	7,90±1,23	0,61±0,24	26,12±7,91	0,098±0,074	0,020±0,001	0,096±0,040	
	<i>Cyprinus carpio</i>	0,20±0,08	6,95±1,96	0,58±0,24	20,88±7,25	< 0,06	0,012	0,112±0,040	
	<i>Rutilus prespensis</i>	5,12±3,96	14,48±7,41	0,57±0,26	19,47±10,71	0,062±0,049	< 0,01	0,099±0,040	
	<i>Anguilla anguilla</i>	0,64±0,071	3,23±0,778	0,84±0,12	15,088±2,142	0,288±0,069	< 0,01	0,138±0,035	
	<i>Perca fluviatilis</i>	0,22±0,05	4,77±0,21	0,81±0,05	5,83±1,46	< 0,06	< 0,01	0,121±0,019	
TP Erbil, Kurdistan Region, Iraq	<i>Cyprinus carpio</i>	0,102	-	0,073	2,902	-	ND	0,137	[21]
Cửa Ba Lạt, Việt Nam	Cá	5,99	51,23	1,84	17,51	1,10	0,02	0,19	[17]
Cửa Bạch Đằng, Việt Nam	<i>Escualosa thoracata</i>	3,95	71,48	3,86	80,41	4,85	0,05	0,15	Nghiên cứu này
	<i>Coilia mystus</i>	8,28	70,75	3,04	59,86	2,97	0,05	0,18	
	<i>Mugil cephalus</i>	2,33	87,05	3,58	47,70	4,62	0,02	0,08	
	Trung bình	4,85	76,43	3,49	62,66	4,15	0,04	0,14	

4. Kết luận

Kết quả phân tích hàm lượng các nguyên tố vi lượng trong 3 loài cá khu vực cửa Bạch Đằng, Hải Phòng cho thấy, mỗi loài cá có hàm lượng khác nhau. Hàm lượng trung bình các nguyên tố vi lượng trong loài cá cá trích bầu theo thứ tự $Mg > Zn > Fe > Mn > Cu > As > Hg > Cd$; trong loài cá lênh canh đuôi phượng theo thứ tự: $Mg > Fe > Zn > Mn > Cu > As > Hg > Cd$ và trong mẫu cá đối mục theo thứ tự: $Mg > Fe > Zn > Cu > Mn > As > Hg > Cd$. Tuy nhiên, hàm lượng các nguyên tố

kim loại As, Hg, Cd trong các loài cá vẫn trong giới hạn cho phép so với tiêu chuẩn Việt Nam (QĐ46-2007/BYT, QCVN 8-2:2011/BYT), tiêu chuẩn châu Âu và thế giới FAO/WHO (1989).

Kết quả phân tích tương quan trong các mẫu phân tích chỉ ra mối tương quan đáng kể giữa Fe-Cu, Zn-Cu, Hg-Cd. Cá lênh canh đuôi phượng tích lũy nồng độ cao của Mn, Mg, Hg, Cd; cá trích bầu tích lũy nồng độ cao của các nguyên tố Fe, Zn, Cu; cá đối mục tích tụ hàm lượng thấp kim loại As.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn đề tài VAST 07.03/20-21 và đề tài mã số VAST 05.01/20-21 đã tạo điều kiện để nhóm tác giả thực hiện nội dung và sử dụng số liệu nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Chitturi, V.R. Baddam, L. Prasad, et al. (2015), “A review on role of essential trace elements in health and disease”, *J. Dr. NTR Univ. Heal. Sci.*, **4(2)**, pp.75-85, DOI: 10.4103/2277-8632.158577.
- [2] T. Chang, C. Rangan (2011), “Iron poisoning a literature-based review of epidemiology, diagnosis, and management”, *Pediatr. Emerg. Care.*, **27**, pp.978-985, DOI: 10.1097/PEC.0b013e3182302604.
- [3] D.S. Avila, R.L. Puntel, M. Aschner (2013), “Manganese in health and disease”, *Met. Ions Life Sci.*, **13**, pp.199-227, DOI: 10.1007/978-94-007-7500-8_7.
- [4] M. Gray, J. Centeno (2003), “Environmental exposure to cadmium, zinc and selenium and risk of prostate disease”, *Epidemiology*, **14**, DOI: 10.1097/00001648-200309001-00043.
- [5] A. Ikem, N. Egiebor (2005), “Assessment of trace elements in canned fishes (Mackerel, Tuna, Salmon, Sardines and Herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America)”, *J. Food Compos. Anal.*, **18**, pp.771-787, DOI: 10.1016/j.jfca.2004.11.002.
- [6] Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients (2001), *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc* No Title, Washington (DC).
- [7] FAO/WHO (1989), *Evaluation of Certain Food Additives and the Contaminants Mercury, Lead and Cadmium*, WHO Technical Report Series No. 505.
- [8] USEPA (2023), “Health effects of exposures to mercury|US EPA”, <https://www.epa.gov/mercury/health-effects-exposures-mercury>, accessed 21 May 2020.
- [9] A.C. Bosch, B. O'Neill, G.O. Sigge, et al. (2016), “Heavy metals in marine fish meat and consumer health: A review”, *J. Sci. Food Agric.*, **96(1)**, pp.32-48, DOI: 10.1002/jsfa.7360.
- [10] E. Silva, F.N. Costa, T.L. Souza, et al. (2016), “Assessment of trace elements in tissues of fish species: Multivariate study and safety evaluation”, *J. Braz. Chem. Soc.*, **27(12)**, pp.2234-2245, DOI: 10.5935/0103-5053.20160116.
- [11] T.V. Chu, J.P. Torréton, X. Mari, et al. (2014), “Nutrient ratios and the complex structure of phytoplankton communities in a highly turbid estuary of Southeast Asia”, *Environ. Monit. Assess.*, **186(12)**, pp.8555-8572, DOI: 10.1007/s10661-014-4024-y.
- [12] L.V. Nam, C.T.T. Trang, L.X. Sinh, et al. (2021), “Water environment quality in Bach Dang estuary (Hai Phong)”, *J. Anal. Sci.*, **4A(26)**, pp.72-77 (in Vietnamese).
- [13] D.H. Nhon, N.D. Thanh, H.N. Manh, et al. (2022), “Distribution and ecological risk of heavy metal(loid)s in surface sediments of the Hai Phong coastal area, North Vietnam”, *Chem. Ecol.*, Taylor&Francis, pp.1-21, DOI: 10.1080/02757540.2021.2017901.
- [14] Standard Method for the Examination of Water and Wastewater (2013), “3125 metal by inductively coupled plasma - Mass spectrometry”, <https://www.standardmethods.org/doi/10.2105/smww.2882.048>, accessed 19 April 2020.
- [15] European Commission (2006), *Commission Regulation (EC) No. 466/2001 of 8 March 2001 Setting Maximum Levels For Certain Contaminants in Foodstuffs*, R0466(013.001), pp.1-25.
- [16] T.A.M. Tran, M. Leermakers, T.L. Hoang, et al. (2018), “Metals and arsenic in sediment and fish from Cau Hai lagoon in Vietnam: Ecological and human health risks”, *Chemosphere*, **210**, pp.175-182, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.07.002.
- [17] D. Le, H. Hoang, V. Phung, et al. (2021), “Trace metal element analysis in some seafood in the coastal zone of the Red river (Ba Lat estuary, Vietnam) by green sample preparation and inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS)”, *J. Anal. Methods Chem.*, **2021**, pp.1-14, DOI: 10.1155/2021/6649362.
- [18] T. Küpeli, H. Altundag, M. Imamoglu (2014), “Assessment of trace element levels in muscle tissues of fish species collected from a river, stream, lake, and sea in Sakarya, Turkey”, *Sci. World J.*, **2014**, DOI: 10.1155/2014/496107.
- [19] A.A. Bawuro, R.B. Voegborlo, A.A. Adimado (2018), “Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in lake Geriyo, Adamawa State, Nigeria”, *J. Environ.*, **2018**, DOI: 10.1155/2018/1854892.
- [20] J. Rakocevic, D. Sukovic, D. Maric (2018), “Distribution and relationships of eleven trace elements in muscle of six fish species from Skadar Lake (Montenegro)”, *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.*, **18**, pp.647-657, DOI: 10.4194/1303-2712-v18_5_01.
- [21] D.A. Mashhadany, H. Khalid, H. Ali (2020), “Determination of heavy metals and selenium contents in fish meat sold at Erbil city, Kurdistan region, Iraq”, *Ital. J. Food Saf.*, **9(3)**, pp.161-166, DOI: 10.4081/ijfs.2020.8753.

Phân lập và tuyển chọn nấm mốc có khả năng phân giải pectin từ vỏ cam sành (*Citrus sinensis*)

Huỳnh Xuân Phong*, Dương Thị Ngọc Lan, Lưu Minh Châu, Bùi Hoàng Đăng Long,
Nguyễn Ngọc Thanh, Hà Thanh Toàn

Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, khu 2 đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/10/2022; ngày chuyển phân biện 12/10/2022; ngày nhận phân biện 18/11/2022; ngày chấp nhận đăng 23/11/2022

Tóm tắt:

Nấm mốc là loài có khả năng sinh enzyme pectinase với hoạt tính cao và được sử dụng nhiều nhất hiện nay. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các dòng nấm mốc có khả năng phân giải pectin từ vỏ cam sành (*Citrus sinensis*). Phân lập nấm mốc trên các môi trường potato dextrose agar (PDA), czapek dox agar (CZ) và malt extract agar (MEA). Kết quả cho thấy, 6 dòng nấm mốc được phân lập thuộc bốn chi bao gồm *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* và *Rhizopus*. Kiểm tra khả năng phân giải pectin trên môi trường pectin agar cho thấy, tất cả các dòng nấm mốc đều có khả năng phân giải pectin với vòng phân giải nằm trong khoảng 10,33-29,33 mm. Trong đó, dòng XX2 có khả năng sinh enzyme pectinase cao nhất khi lên men, dựa trên nguồn cơ chất vỏ cam, nên được chọn để định danh. Kết quả giải trình tự cho thấy, dòng XX2 thuộc chi *Aspergillus* với độ tương đồng ở mức 91,04-91,88% so với loài *A. tamarii*, *A. flavus* và *A. oryzae*.

Từ khóa: *Aspergillus*, nấm mốc, pectinase, vỏ cam.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8

Isolation and selection strains for degradation of pectin from orange peels (*Citrus sinensis*)

Xuan Phong Huynh*, Thi Ngoc Lan Duong, Minh Chau Luu, Hoang Dang Long Bui,
Ngoc Thanh Nguyen, Thanh Toan Ha

Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Campus 2, 3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

Received 10 October 2022; revised 18 November 2022; accepted 23 November 2022

Abstract:

Mould is the species, which has capable of producing the enzyme pectinase with high activity and is most commonly used today. This study was carried out to isolate and select mould strains that have potential use in degradation of pectin from orange peels (*Citrus sinensis*). Isolation of mould on potato dextrose agar (PDA), czapek dox agar (CZ), and malt extract agar (MEA) media, the results showed that 6 mould strains were isolated belonging to 4 genera, including *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, and *Rhizopus*. Testing the ability to degrade pectin on pectin agar medium showed that all mould strains were able to degrade pectin with the zone of clearance in the range of 10.33-29.33 mm. In which, XX2 strain has the highest ability to produce pectinase enzyme when fermenting based on orange peel substrate should be selected for identification and the result revealed that the XX2 strain could be identified as genus *Aspergillus* and primarily presumed as *A. tamarii*, *A. flavus*, and *A. oryzae* with the identical percentage of 91.04-91.88%.

Keywords: *Aspergillus*, mould, orange peels, pectinase.

Classification numbers: 1.6, 2.8

*Tác giả liên hệ: Email: hxphong@ctu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cây có múi là một nhóm cây ăn quả quan trọng và chiếm tỷ trọng lớn trong nền nông nghiệp thế giới, đứng đầu là cam, chanh, quýt và bưởi. Tại Việt Nam, nhóm cây ăn quả này, đặc biệt là cam được trồng phổ biến và trở thành nguồn cung chủ yếu trong công nghiệp chế biến nước quả. Do đó, một lượng lớn phụ phẩm được tạo ra ở dạng vỏ, cùi, hạt... gây ra những lo ngại về ô nhiễm môi trường. Tuy nhiên, theo B. Rivas và cs (2008) [1], vỏ cam vẫn còn chứa các chất dinh dưỡng như đường (16,9%), pectin (42,5%), tro (3,50%), chất béo (1,95%) và protein (6,50%). Chính vì vậy, nhiều nghiên cứu đã đề xuất xử lý nguồn chất thải tiềm năng này như sản xuất ethanol, acid citric, tinh dầu và ly trích các hợp chất có hoạt tính sinh học [2]. Ngoài ra, với một lượng pectin đáng kể, vỏ cam cũng được sử dụng làm chất nền để sản xuất enzyme pectinase từ các nhóm vi sinh vật.

Enzyme pectinase là một enzyme được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực, đặc biệt là trong công nghiệp thực phẩm như chiết xuất nước trái cây, lên men cà phê và trà, cải thiện màu sắc và độ trong của rượu vang hay trong các ngành công nghiệp dược phẩm, dệt, giấy và xử lý nước thải. Hiện nay, nhu cầu sử dụng enzyme pectinase đang tăng lên trên toàn cầu. Để đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng đối với enzyme này, quá trình sản xuất đã được thực hiện thông qua việc lên men nhờ vào các vi sinh vật như nấm mốc, nấm men hay vi khuẩn. Trong đó, nấm mốc loài có khả năng sản xuất enzyme cao, do chúng là những vi sinh vật hoại sinh và phát triển nhờ việc lấy chất dinh dưỡng từ môi trường nên có thể tạo ra một số lượng lớn các enzyme ngoại bào cần thiết cho quá trình chuyển hóa từ các hợp chất hữu cơ. Các enzyme được sản xuất bởi nấm mốc thường dễ dàng thu nhận và tinh chế nên nấm mốc trở thành nguồn cung cấp các enzyme ổn định và rẻ tiền trong công nghiệp [3]. Hiện nay, enzyme từ nấm chiếm hơn 50% tổng số enzyme có mặt trên thị trường và được sản xuất bởi các nấm mốc chính như *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* và *Rhizopus* [4]. Hơn nữa, do có khả năng phân giải pectin cao nên nấm mốc cũng là loài vi sinh vật chính yếu làm hư hỏng vỏ cam sành trong quá trình bảo quản. Mặc dù nhiều nghiên cứu đã phân lập các vi sinh vật mới có nguồn gốc và địa lý khác nhau với các đặc điểm chuyển hóa mong muốn, song tùy thuộc vào đặc điểm của từng loại nguyên liệu khác nhau, sẽ có các dòng nấm mốc thích hợp với từng loại nguyên liệu. Vì vậy, trong nghiên cứu này, với mục tiêu phân lập và tuyển chọn các dòng nấm mốc từ vỏ cam sành có khả năng sinh enzyme pectinase cao để định hướng ứng dụng trong quá trình sản xuất pectinase dựa trên chính nguồn cơ chất vỏ cam. Từ đó, góp phần giảm thiểu ô nhiễm môi trường và đáp ứng nhu cầu sử dụng enzyme pectinase hiện nay.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên, vật liệu và hóa chất

Vỏ cam sành được thu gom tại các chợ, các quầy nước ép trái cây ở địa bàn TP Cần Thơ. Hóa chất bao gồm KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, FeSO_4 , pectin, agar và các môi trường nuôi cấy nấm mốc như potato dextrose agar (PDA), czapek-dox agar (CZ), malt extract agar (MEA) được mua từ các sản phẩm thương mại của Merck (Đức) và HiMedia Laboratories (Ấn Độ).

2.2. Phân lập và định danh sơ bộ các dòng nấm mốc hiện diện trên vỏ cam sành

Vỏ cam sành được rửa với nước, để ráo và được cắt nhỏ khoảng 1-2 mm. Mẫu vỏ quả cam đã cắt nhỏ được đặt trên bề mặt môi trường PDA trong đĩa petri. Mẫu được ủ ở nhiệt độ phòng trong khoảng 3-4 ngày. Sự phát triển của nấm mốc được quan sát và ghi nhận dựa vào hình dạng khuẩn lạc. Nấm mốc được cấy truyền nhiều lần trên môi trường PDA cho đến khi được các dòng nấm mốc thuần. Nấm mốc được định loại hình thái bằng cách cấy chuyển các dòng khuẩn lạc thuần đã phân lập được sang đĩa petri chứa môi trường CZ và MEA. Mỗi dòng nấm được cấy sang đĩa petri và cấy 3 điểm cách đều nhau trên mặt môi trường. Mẫu được ủ ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày. Đặc điểm đại thể (hình dạng, kích thước, màu sắc bề mặt) bằng mắt thường và vi thể (khuẩn ty, bề mặt cuống bào tử, hình dạng bào tử) của nấm được quan sát bằng kính hiển vi quang học (Leica, DM3000). Các dòng nấm mốc phân lập được xác định theo khóa phân loại của M.J. Carlile và cs (2001) [5].

2.3. Khảo sát khả năng phân giải pectin của các dòng nấm mốc đã phân lập

Các dòng nấm mốc khảo sát được nuôi cấy trong ống thạch nghiêng PDA, ở nhiệt độ phòng trong, khoảng 3-4 ngày. Nước cất vô trùng (5 ml) được cho vào ống nghiệm để thu dịch bào tử (10^7 bào tử/ml). Các giếng thạch với đường kính 3 mm được tạo trên môi trường pectin - agar (0,5-2%) trong đĩa petri. Dịch bào tử nấm mốc (100 μl) được cho vào mỗi giếng và ủ trong 2 ngày. Tiếp theo, dung dịch Lugol được trải đều trên bề mặt thạch để ghi nhận khả năng phân giải pectin dựa vào đường kính vòng phân giải [6].

2.4. Tuyển chọn dòng nấm mốc sinh enzyme pectinase cao trên nguồn cơ chất vỏ cam

Vỏ cam sau khi thu gom được loại bỏ phần vỏ xanh, thu phần vỏ trắng bên trong, rửa sạch bằng nước ấm 60°C, để ráo rồi cắt nhỏ và sấy ở 55°C đến độ ẩm khoảng 10%. Mẫu được nghiền thành bột và sàng qua rây để thu được

vỏ cam đồng nhất về kích thước. Các dòng nấm mốc được tuyển chọn từ thí nghiệm trên được nuôi trong ống thạch nghiêng PDA ở nhiệt độ phòng trong 3-4 ngày. Nước cất vô trùng (5 ml) được cho vào ống nghiệm để thu dịch bào tử (10^7 bào tử/ml) và chuyển sang bình tam giác chứa sẵn môi trường bao gồm 0,5% KH_2PO_4 , 0,05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và 0,0005% FeSO_4 (pH 5,0) được bổ sung 2% bột vỏ cam. Các dòng nấm mốc được ủ lắc với tốc độ 120 vòng/phút trong thời gian 4 ngày ở nhiệt độ phòng. Mẫu nuôi cấy được ly tâm ở 5.000 vòng/phút trong 10 phút để thu enzyme ngoại bào. Các giếng thạch với đường kính 3 mm trên môi trường pectin - agar (0,5-2%) trong đĩa petri. Dịch enzyme ngoại bào (100 μl) được cho vào giếng, đập nắp đĩa petri, giữ trong tủ lạnh ở 4°C trong 8 giờ, sau đó nuôi ở 2 ngày ở 30°C. Dung dịch Lugol được trải trên bề mặt thạch để xác định khả năng phân giải pectin dựa vào đường kính vòng phân giải [6].

2.5. Định danh dòng nấm mốc có khả năng sinh enzyme pectinase cao

Dòng nấm mốc tuyển chọn được ly trích DNA như sau: khuẩn lạc nấm mốc sau khi nuôi cấy 48 giờ trên môi trường PDA được chuyển vào ống tube 2,2 ml cùng viên bi sắt để phá mẫu bằng máy lắc trong 1 phút. Một ml lysis buffer (mM Tris-HCl pH 8, 10 mM EDTA, 2% SDS, 1% β -mercaptoethanol, 100 μg proteinase K) được cho vào tube và lắc trong 1 phút. Tiếp theo, mẫu được ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút và ly tâm 12.000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch trong (khoảng 500 μl) được hút chuyển vào tube mới và bổ sung một lượng tương đương ethanol 95%, lắc đều. Sau khi ủ ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 phút, mẫu được ly tâm 12.000 vòng/phút trong 10 phút và loại bỏ phần dịch trong. Phần kết tủa được rửa bằng 500 μl ethanol 70% (2 lần) và để khô ở nhiệt độ phòng. Mẫu kết tủa được tái huyền bằng cách hòa tan DNA trong 100 μl TE 0,1X đã ổn định pH rồi trữ -20°C. Trình tự vùng ITS được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR dựa trên cặp mồi ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') và ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') [7]. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích của phản ứng là 25 μl trong đó 9 μl Mytaq mix 2X, 1 μl mồi ITS1, 1 μl mồi ITS4, 3 μl DNA khuôn và 11,0 μl dH_2O . Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình: (95°C trong 3 phút) x 1 chu kỳ, (95°C trong 1 phút, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút) x 35 chu kỳ, (72°C trong 7 phút) x 1 chu kỳ, dừng phản ứng ở nhiệt độ phòng. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose, DNA được quan sát và chụp hình gel bằng máy Bio-Rad và giải trình tự vùng ITS1/ITS4 trên máy ABI 3130. Cuối cùng,

kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự nấm mốc trên ngân hàng dữ liệu của ngân hàng gen NCBI bằng công cụ Nucleotide BLAST.

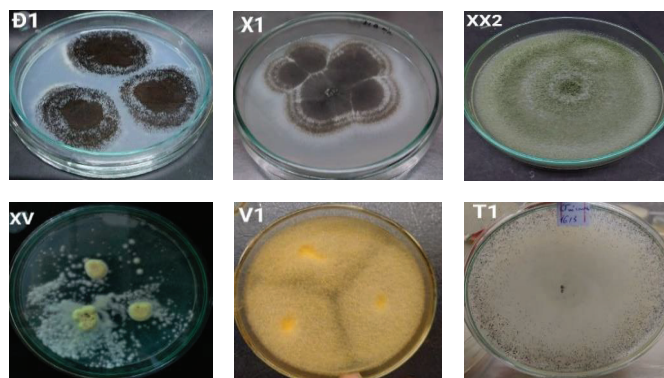
2.6. Phân tích và xử lý số liệu

Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI (Statpoint Technologies Inc., Hoa Kỳ).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập và định danh sơ bộ các dòng nấm mốc hiện diện trên vỏ cam sành

Theo dõi sự phát triển của nấm mốc trên môi trường PDA trong khoảng 3-4 ngày cho thấy, sự phát triển của nấm mốc với màu sắc ban đầu là trắng, sau đó chuyển dần thành màu xanh, vàng, đen, xám. Chọn những khuẩn lạc rời có đặc điểm giống với khuẩn lạc nấm mốc, cấy chuyển nhiều lần trên môi trường PDA để loại bỏ tạp nhiễm. Kết quả thu được 6 dòng nấm mốc thuần bao gồm Đ1, X1, XX2, XV, V1 và T1 (hình 1).



Hình 1. Các dạng khuẩn lạc phân lập được.

Các dòng nấm này được cấy lần lượt vào các đĩa petri có chứa môi trường MEA và CZ để xác định hình thái. Mẫu được nuôi cấy ở nhiệt độ phòng trong vòng 7 ngày để quan sát và ghi nhận đặc điểm khuẩn lạc của các dòng nấm mốc trên hai môi trường. Kết quả cho thấy, khuẩn lạc trên môi trường MEA có dạng gần tròn đến tròn, khuẩn ty mọc dày, có rãnh cao thấp khác nhau. Trong khi đó, các khuẩn lạc trên môi trường CZ đều có dạng gần tròn đến tròn, bề mặt có nhiều chấm, thưa. Khuẩn lạc có các màu như vàng, trắng, xám, mặt dưới có màu vàng đôi khi trắng. Đường kính khuẩn lạc của các dòng nấm mốc trong khoảng 22,0-39,3 mm trên môi trường MEA (trừ dòng khuẩn lạc T1 mọc khá nhanh) và từ 15,3 đến 33,6 mm trên môi trường CZ. Có thể thấy, tùy theo từng loại môi trường mà các dòng nấm có đường kính khuẩn lạc cũng như biểu hiện màu sắc khác nhau.

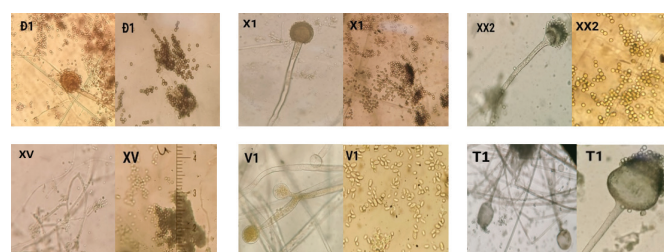
Kết hợp quan sát các đặc điểm vi thể dưới kính hiển vi cho thấy các dòng Đ1, X1 và XX2 dù có hình dạng màu sắc khuẩn lạc khác nhau nhưng tất cả các dòng nấm trên đều có bào tử đỉnh hình cầu với kích thước 3-6 μm , kết thành từng chuỗi, cuống bào tử trong suốt, bong đỉnh giả dạng hình cầu giống với kết luận của R. Thilagam và cs (2016) [8] khi mô tả về dòng nấm thuộc chi *Aspergillus*. Quan sát dòng nấm XV có đặc điểm hình thái tương tự như chi *Penicillium* với khuẩn lạc có màu vàng, xanh lục bào tử kết chuỗi dài dính vào nhau ở cuống thể bình, sợi nấm có vách ngăn và phân nhánh, bào tử có dạng hình cầu kích thước 2,5-3,0 μm , tương tự như mô tả của S. Ülhan và cs (2005) [9] về đặc điểm hình thái của chi *Penicillium* được phân lập từ đất nông nghiệp ở Eskisehir (Thổ Nhĩ Kỳ). Dòng nấm V1 sau 24 giờ đã thấy xuất hiện khuẩn ty màu vàng, nấm có lớp màng nhầy bám vào bề mặt môi trường, quan sát dưới kính hiển vi bào tử có hình elip kích thước 2,5x6,0 μm , cuống bọc bào tử phân nhánh, từ đó cho thấy dòng nấm V1 thuộc chi *Mucor* [10]. Riêng dòng nấm T1 có hệ khuẩn ty phát triển rất nhanh, chỉ sau hai ngày nuôi cấy tơ nấm tràn khắp môi trường, khuẩn lạc có màu trắng bông và nâu đen. Sợi nấm màu nâu, có vách ngăn, phân nhánh, bào tử có hình cầu đường kính 4,6-6,6 μm , túi (bong) bào tử có hình cầu hoặc hình bầu dục có đường kính 60-65 μm khi được quan sát dưới kính hiển vi. Những đặc điểm này cho thấy, đây là chi *Rhizopus* [11]. Các đặc điểm này của các chủng nấm mốc phân lập được mô tả chi tiết ở các bảng 1, 2 và hình 2.

Bảng 1. Đặc điểm đại thể và vi thể của nấm mốc đã phân lập trên môi trường malt extract agar sau 7 ngày.

Ký hiệu	Đặc điểm đại thể		Đặc điểm vi thể			
	Hình dạng	Màu sắc	Đường kính trung bình (mm)	Khuẩn ty	Bề mặt cuống bào tử	Hình dạng bào tử
Đ1	Gần tròn, chấm hạt, mịn dày, có rãnh thấp	Màu đen, trắng	38,3 $\pm$ 2,8	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình cầu
X1	Gần tròn, hạt nấm mịn, rìa có màu trắng	Màu xám nhạt, trắng	36,0 $\pm$ 1,7	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình cầu
XX2	Gần tròn đến tròn, tơ nấm mịn, mọc thấp, tâm khuẩn lạc bông lên	Màu xanh	30,6 $\pm$ 2,8	Phân nhánh, có vách ngăn	Gồ ghề	Hình cầu
XV	Tròn tơ nấm mịn màu vàng, mọc cao, tâm bị lõm	Màu xanh, vàng	22,0 $\pm$ 2,6	Phân nhánh, có vách ngăn	Gồ ghề	Hình cầu
V1	Gần tròn đến tròn tơ nấm dài, dễ thấm nước, tâm khuẩn lạc bị lõm.	Màu vàng nhạt	39,3 $\pm$ 1,2	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình elip
T1	Tơ nấm mọc dày, phát triển rất nhanh, bao trùm khắp bề mặt đĩa, đầu là những chấm màu đen	Màu trắng, đen	90,0 $\pm$ 0,0	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình cầu

Bảng 2. Đặc điểm đại thể và vi thể của nấm mốc đã phân lập trên môi trường czapek-dox agar sau 7 ngày.

Ký hiệu	Đặc điểm đại thể		Đặc điểm vi thể			
	Hình dạng	Màu sắc	Đường kính trung bình (mm)	Khuẩn ty	Bề mặt cuống bào tử	Hình dạng bào tử
Đ1	Hình tia tỏa tròn, hạt đen càng thưa khi về tâm	Màu đen, màu trắng đục	20,3 $\pm$ 0,6	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình cầu
X1	Gần tròn, tơ nấm mịn thấp màu trắng nâu	Màu nâu nhạt, màu trắng	24,0 $\pm$ 1,5	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình cầu
XX2	Tròn, hạt mịn, bề mặt xốp, ở giữa gồ lên	Màu xanh	19,3 $\pm$ 1,2	Phân nhánh, có vách ngăn	Gồ ghề	Hình cầu
XV	Tròn đến gần tròn, bám sát bề mặt môi trường	Màu xanh vàng	15,3 $\pm$ 1,5	Phân nhánh, có vách ngăn	Gồ ghề	Hình cầu
V1	Tròn đến gần tròn, tơ nấm nhiều nhưng ngắn, dễ thấm nước, thấp dần về tâm	Màu vàng	33,6 $\pm$ 1,5	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình elip
T1	Tơ nấm màu trắng, mọc thưa, trải đều khắp môi trường, không bám chặt	Màu trắng	25,0 $\pm$ 0,0	Phân nhánh, có vách ngăn	Nhẵn	Hình cầu



Hình 2. Cuống bào tử và bào tử của các dòng nấm phân lập.

Nhìn chung, nấm sợi được phân lập từ vỏ cam sành khá đa dạng về chủng loại. Trong 6 dòng được phân lập thì có 3 dòng được xác định là thuộc chi *Aspergillus*, 1 dòng thuộc chi *Penicillium*, 1 dòng thuộc chi *Mucor* và 1 dòng thuộc chi *Rhizopus*.

3.2. Khảo sát khả năng phân giải pectin của các dòng nấm mốc đã phân lập

Việc khảo sát khả năng phân giải pectin của các dòng nấm mốc sau khi phân lập là bước đầu tiên cho việc tuyển chọn dòng nấm mốc thích hợp sinh enzyme pectinase cao thủy phân pectin vỏ cam sành. Thí nghiệm được tiến hành và đánh giá thông qua đường kính của vòng phân giải pectin. Dựa trên các số liệu ghi nhận ở bảng 3, có thể thấy, tất cả các dòng nấm mốc đã phân lập có đều có khả năng phân giải pectin, với kích thước vòng phân giải nằm trong khoảng 10,33-29,33 mm. Trong đó, dòng XX2 có đường kính vòng

phân giải cao nhất (29,33 mm) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các dòng còn lại (bao gồm dòng đối chứng), ở mức ý nghĩa 5%. Các dòng V1 và Đ1 có khả năng phân giải pectin ở mức trung bình (15-20 mm) với đường kính phân giải lần lượt là 18,33 mm và 19,00 mm. Ba dòng còn lại được xếp vào nhóm có khả năng phân giải pectin ở mức thấp (<15 mm), trong đó dòng XV thuộc chi *Penicillium* có kích thước vòng phân giải thấp nhất với 10,33 mm.

Bảng 3. Khả năng phân giải pectin của các dòng nấm phân lập.

Dòng nấm mốc phân lập	Đường kính vòng phân giải pectin ¹ (mm)	Khả năng phân giải ²
Đ1	19,00 ^c	++
X1	14,67 ^d	+
XX2	29,33 ^a	+++
XV	10,33 ^e	+
V1	18,33 ^c	++
T1	13,00 ^d	+
ĐC+	24,33 ^b	+++

*Ghi chú: ¹: Các giá trị trung bình (3 lần lặp lại) trong cùng một cột theo sau có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.
²: Mức độ phân giải pectin: (+): <15 mm; (++) : 15-20 mm; (+++): >20 mm.

Nhìn chung, kết quả cho thấy các dòng nấm có khả năng phân giải pectin tốt nằm trong nhóm phân loại của chi *Aspergillus*. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy, chi *Aspergillus* nói chung hay *A. niger* nói riêng đóng vai trò chính trong quá trình sản xuất pectinase, vì sự phát triển lâu đời của chủng này trong các ngành công nghiệp lên men và được xem là một sinh vật an toàn [12]. Bên cạnh đó, W. Gong và cs (2015) [13] cũng báo cáo, hàm lượng pectinase sinh ra từ *Aspergillus* (40,66%) cao hơn so với *Penicillium* (27,91%) và *Trichoderma* (2,86%).

Thông thường, các chủng nấm mốc có khả năng sinh trưởng và hệ khuẩn ty phát triển trên môi trường với nguồn carbon duy nhất là pectin, nên điều này chỉ xác định sơ bộ các dòng nấm mốc có hoạt tính pectinase, mà chưa đánh giá chính xác khả năng sinh pectinase của chúng. Từ đó, chọn được 3 dòng nấm mốc gồm Đ1, XX2 và V1 để khảo sát khả năng sinh enzyme pectinase cao trên nguồn cơ chất vỏ cam sành.

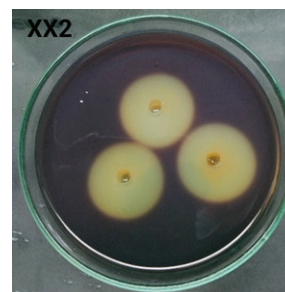
3.3. Tuyển chọn dòng nấm mốc có khả năng phân giải pectin từ nguồn cơ chất vỏ cam

Khả năng phân giải pectin từ vỏ cam sành được xác định dựa trên đường kính vòng phân giải pectin, kết quả được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Khả năng tổng hợp enzyme pectinase phân giải pectin vỏ cam.

Dòng nấm mốc phân lập	Đường kính vòng phân giải pectin ¹ (mm)	Khả năng phân giải ²
Đ1	18,33 ^b	++
XX2	31,00 ^a	+++
V1	10,33 ^c	+

*Ghi chú: ¹: Các giá trị trung bình (3 lần lặp lại) trong cùng một cột theo sau có mẫu tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức độ tin cậy 95%, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.
²: Mức độ phân giải pectin: (+): <15 mm; (++) : 15-20 mm; (+++): >20 mm.



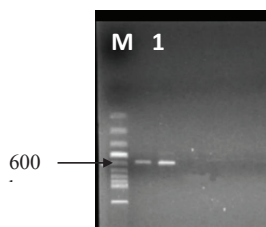
Hình 3. Vòng phân giải pectin của dòng nấm mốc XX2.

Từ kết quả thống kê ở bảng 4, có thể thấy, dòng nấm XX2 thể hiện khả năng sinh enzyme pectinase cao nhất, với đường kính vòng phân giải đạt 31,00 mm (hình 3). Hai dòng nấm Đ1 và V1 có khả năng phân giải pectin ở mức thấp hơn, với đường kính vòng phân giải lần lượt là 18,33 và 10,33 mm. Điều này cho thấy, kết quả của nghiên cứu này có sự tương đồng với kết quả công bố của T.T.D. Phan và cs (2018) [14] đã phân lập được các dòng nấm mốc từ vỏ củ quả giàu pectin. Kết quả ghi nhận chỉ có khoảng 8,9% dòng nấm mốc có đường kính vòng phân giải pectin lớn hơn 15 mm, với kích thước dao động từ 19 đến 29,3 mm. Bên cạnh đó, kết quả thu được từ nghiên cứu này cao hơn so với kết quả nghiên cứu của P.L. Reddy và cs (2012) [15] khi chỉ chọn được 1 dòng *A. flavus* trong 44 dòng phân lập, có khả năng phân giải pectin tối đa là 15,00 mm. Nhìn chung, dòng nấm XX2 được chọn để định danh do có khả năng sinh enzyme pectinase cao nhất, khi nuôi cấy trong môi trường chứa nguồn pectin vỏ cam.

3.4. Định danh dòng nấm mốc có khả năng sinh phân giải pectin cao

Sau khi khảo sát trên môi trường pectin - agar cũng như tuyển chọn thông qua việc lên men dựa trên nguồn vỏ cam là nguồn carbon duy nhất, dòng nấm XX2 được chọn để định danh thông qua các bước trích ly DNA, phản ứng PCR và giải trình tự. Kết quả phản ứng PCR cho sản phẩm có chất lượng tốt, với một băng rõ duy nhất trong mỗi dòng nằm trên gel điện di, ở vị trí 600 bp (hình 4). Điều này phù

hợp với các nghiên cứu trước, khi sử dụng cặp mồi ITS1 và ITS4 để khuếch đại gen ITS1, 5,8S, ITS2 trên các dòng nấm là khoảng 500-600 bp [7].



Hình 4. Kết quả điện di kiểm tra DNA nấm mốc (M: thang chuẩn; 1: dòng XX2).

Giải trình tự gen vùng ITS (internal transcribed spacer) trong phạm vi ITS1, 5,8S và ITS2 cho kết quả vùng ITS của dòng nấm mốc XX2, với tổng số nucleotide là 660. Trình tự của vùng này được phân tích và so sánh trên ngân hàng gen NCBI bằng công cụ BLASTN. Kết quả so sánh được thể hiện trong hình 5.

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓	Aspergillus fumigatus strain M24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1 - Aspergillus fumigatus	896	1482	97%	0.0	91.88%	889	1819577	
✓	Aspergillus flavus isolate GHP/ISR/AAH2019 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal - Aspergillus flavus	889	1110	97%	0.0	91.65%	734	MG281652	
✓	Aspergillus flavus isolate Asp-7862 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene - Aspergillus flavus	880	1019	98%	0.0	91.78%	693	MF152937	
✓	Aspergillus sp. SV109-11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S rbs. - Aspergillus sp. S	874	1014	97%	0.0	91.38%	743	FJ584485.1	
✓	Aspergillus flavus isolate 2101954 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed sp. - Aspergillus flavus	870	1014	97%	0.0	91.93%	627	MG153531	
✓	Aspergillus flavus isolate Asp-6095 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed s. - Aspergillus flavus	854	993	98%	0.0	91.05%	650	MF152945	
✓	Aspergillus flavus strain Beica_43 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed sp. - Aspergillus flavus	852	1175	97%	0.0	91.05%	849	KY234269	
✓	Aspergillus flavus strain Beica_79 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed sp. - Aspergillus flavus	845	1151	97%	0.0	90.77%	859	KY234273	
✓	Aspergillus oryzae strain SV109-02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1 - Aspergillus oryzae	845	984	97%	0.0	91.04%	646	FJ584483.1	
✓	Aspergillus flavus strain Beica_5 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and - Aspergillus flavus	839	1137	97%	0.0	90.62%	816	KY234263	

Hình 5. Tỷ lệ tương đồng của dòng năm mốc XX2 so với các dòng nấm trên NCBI.

Dựa vào hình 5 có thể thấy, trình tự ITS của dòng XX2 có độ tương đồng với các loài thuộc chi *Asperillus*, bao gồm *A. tamarii* (ON819577.1), *A. flavus* (MK281652) và *A. oryzae* (FJ654483) lần lượt là 91,88, 91,85 và 91,04%. Như vậy, với kết quả này có thể xác định dòng XX2 thuộc chi *Asperillus*. Các enzyme pectinase được thu nhận chủ yếu từ loài nấm sợi như *A. niger*, *A. oryzae*, *A. awamori*, *A. sojae*, *Trichoderma viridiae*, *T. virens*, *Penicillium griseoroseum* và *Phanerochaete chrysosporium* đã được nghiên cứu trước đây. Trong đó, *A. niger* có khả năng sinh nhiều enzyme pectinase khi nuôi cấy trong môi trường thích hợp. Chế phẩm enzyme từ vi sinh vật này đã được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ chấp nhận. Trong số các loài có độ tương đồng với dòng XX2, *A. tamarii* là loài ít phổ biến hơn. Tuy nhiên, nghiên cứu sản xuất pectinase và tối ưu hóa điều kiện lên men từ loài này đã được thực hiện trên cơ chất vỏ xoài [16]. Hơn nữa, M. Shanmugavel và cs (2018) [17] còn nghiên cứu sử dụng *A. tamarii* trong quá trình lên men rắn các phụ phẩm nông nghiệp để sản xuất

pectinase và ứng dụng có hiệu quả trong việc chiết xuất sắc tố sinh học hay tạo các chế phẩm phân hủy sinh học. Do đó, *A. tamarii* có thể xem là loài hữu ích cho các ứng dụng công nghiệp, đặc biệt là trong ngành công nghiệp thực phẩm bởi độ an toàn của nó.

Một loài khác phổ biến, an toàn và tương đồng với dòng XX2 là *A. oryzae*. Chúng cũng được ghi nhận là có khả năng sản xuất pectinase với hiệu suất cao, đã được nghiên cứu các điều kiện tối ưu cho quá trình lên men vỏ của các loài cây có múi [18]. Ngoài ra, kết quả giải trình tự cho thấy, dòng XX2 cũng có thể là *A. flavus*. Một số nghiên cứu gần đây cũng cho thấy, sự có mặt của *A. flavus* với khả năng sinh enzyme pectinase. Cụ thể là trong nghiên cứu của J.H. Doughari và cs (2019) [19] đã chọn được dòng *A. flavus* có hoạt tính polygalacturonase cao trong các dòng phân lập và tối ưu việc sản xuất trên vỏ cam. Tuy nhiên, cần cân nhắc việc sử dụng *A. flavus* trong sản xuất pectinase để ứng dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm bởi đặc tính sinh độc tố aflatoxin của nó.

Nhìn chung, dòng *Asperillus* sp. XX2 có tiềm năng để sản xuất enzyme pectinase nhưng cần tiến hành xác định tên khoa học một cách chính xác hơn, cũng như tiếp tục các thử nghiệm và chứng minh về độ an toàn của chủng nấm này trên động/thực vật trước khi sử dụng trong ngành thực phẩm phục vụ con người.

4. Kết luận

Phân lập các dòng nấm mốc trên vỏ cam sành cho thấy sự đa dạng của các loài nấm mốc, với sự hiện diện của 6 dòng nấm mốc thuộc 4 chi bao gồm: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* và *Rhizopus*. Tất cả các dòng nấm mốc được phân lập đều có khả năng phân giải pectin. Trong đó, dòng XX2 có khả năng sinh enzyme pectinase cao nhất, thông qua khả năng phân giải pectin từ nguồn cơ chất vỏ cam sành, với đường kính vòng phân giải pectin đạt 31,00 mm. Giải trình tự và so sánh trên NCBI cho thấy, dòng XX2 thuộc chi *Asperillus*, trong đó cho thấy độ tương đồng cao với loài *A. tamarii*, *A. flavus* hay *A. oryzae*. Do đó, với mục đích ứng dụng dòng nấm mốc *Asperillus* sp. XX2 để sản xuất pectinase dùng cho thực phẩm cần phải có những nghiên cứu sâu hơn, để định danh chính xác tên loài và đánh giá độ an toàn của chủng nấm này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí thực hiện thông qua đề tài nghiên cứu khoa học, theo hợp đồng thực hiện nhiệm vụ khoa học và công nghệ số 10/HĐ-SKHCN ngày 18/10/2021 giữa Sở Khoa học và Công nghệ TP Cần Thơ và Trường Đại học Cần Thơ. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Rivas, A. Torrado, P. Torre, et al. (2008), "Submerged citric acid fermentation on orange peel autohydrolysate", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**(7), pp.2380-2387, DOI: 10.1021/jf073388r.
- [2] L. Xiao, F. Ye, Y. Zhou, et al. (2021), "Utilization of pomelo peels to manufacture value-added products: A review", *Food Chemistry*, **351**, DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129247
- [3] K.C. Sudeep, J. Upadhyaya, D.J. Joshi, et al. (2020), "Production, characterization, and industrial application of pectinase enzyme isolated from fungal strains", *Fermentation*, **6**, DOI: 10.3390/fermentation6020059.
- [4] N. Kango, U.K. Jana, R. Choukade (2019), "Fungal enzymes: Sources and biotechnological applications", *Advancing Frontiers in Mycology & Mycotechnology*, Springer, pp.515-538, DOI: 10.1007/978-981-13-9349-5_21.
- [5] M.J. Carlile, S.C. Watkinson, G.W. Gooday (2001), *The Fungi*, 2nd Edition Academic Press, 603pp.
- [6] Y. Khairnar, K. Krishna, A. Boraste, et al. (2009), "Study of pectinase production in submerged fermentation using different strains of *Aspergillus niger*", *International Journal of Microbiology Research*, **1**(2), pp.13-17, DOI: 10.9735/0975-5276.1.2.13-17.
- [7] T.J. White, T. Bruns, S. Lee, et al. (1990), "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics", *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, pp.315-322, DOI: 10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1.
- [8] R. Thilagam, N. Hemalatha, E. Poongothai, et al. (2016), "Identification of *Aspergillus* species isolated from corn and peanuts in storage godowns", *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **7**(4), pp.600-606, DOI: 10.22376/ijpbs.2016.7.4.b600-606.
- [9] S. Ülhan, R. Demürel, A. Asan, et al. (2005), "Colonial and morphological characteristics of some microfungi species isolated from agricultural soils in Eskişehir province (Turkey)", *Turkey Journal of Botany*, **30**(2), pp.95-104.
- [10] T.T.T. Nguyen, Y.J. Jeon, H.Y. Mun, et al. (2019), "Isolation and characterization of four unrecorded *Mucor* species in Korea", *Mycobiology*, **48**(1), pp.29-36, DOI: 10.1080/12298093.2019.1703373.
- [11] A.T. Hartanti, G. Rahayu, I. Hidayat (2015), "*Rhizopus* species from fresh tempeh collected from several regions in Indonesia", *HAYATI Journal of Biosciences*, **22**(3), pp.136-142, DOI: 10.1016/j.hjb.2015.10.004.
- [12] S.M. Gummadi, T. Panda (2003), "Purification and biochemical properties of microbial pectinases: Review", *Process Biochemistry*, **38**(7), pp.987-996, DOI: 10.1016/S0032-9592(02)00203-0.
- [13] W. Gong, H. Zhang, S. Liu, et al. (2015), "Comparative secretome analysis of *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, and *Penicillium oxalicum* during solid-state fermentation", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **177**(6), pp.1252-1271, DOI: 10.1007/s12010-015-1811-z.
- [14] T.T.D. Phan, T.N.L. Pham, T.B.C. Ngo, et al. (2018), "Isolation and screening of mould strains for cloning and expressing pectinase gene", *Hue University Journal of Science: Natural Science*, **27**(1C), pp.95-106, DOI: 10.26459/hueuni-jns.v127i1C.4885 (in Vietnamese).
- [15] P.L. Reddy, A. Sreeramulu (2012), "Isolation, identification and screening of Pectinolytic fungi from different soil samples of Chittoor district", *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, **1**(3), pp.186-193.
- [16] T. Amande, B.A. Tayo, U.N. Nnaji, et al. (2013), "Production and partial characterization of pectinases from mango peels by *Aspergillus tamarii*", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, **3**(1), pp. 59-62.
- [17] M. Shanmugavel, S. Vasantharaj, A. Yazhmozhi, et al. (2018), "A study on pectinases from *Aspergillus tamarii*: Toward greener approach for cotton bioscouring and phytopigments processing", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **15**, pp.295-303, DOI: 10.1016/j.bcab.2018.06.013.
- [18] R. Ketipally, M.R. Ram (2018), "Optimization of pectinase production by *Aspergillus oryzae* RR 103", *Current Agriculture Research Journal*, **6**(1), pp.37-44, DOI: 10.12944/CARJ.6.1.05.
- [19] J.H. Doughari, G.C. Onyebarachi (2019), "Production, purification and characterization of polygalacturonase from *Aspergillus flavus* grown on orange peel", *Applied Microbiology Open Access*, **4**(3), pp.1-7, DOI: 10.4172/2471-9315.1000155.

Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn sinh lipase từ nước thải nhà hàng

Bạch Ngọc Minh*, Nguyễn Thị Anh Thu, Nguyễn Thị Thanh Kiều, Huỳnh Hoàn Mỹ

Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 9/621 Xa lộ Hà Nội, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/10/2022; ngày chuyển phản biện 24/10/2022; ngày nhận phản biện 25/11/2022; ngày chấp nhận đăng 28/11/2022

Tóm tắt:

Chất thải sinh hoạt đang là vấn đề nan giải tại các đô thị lớn. Các chất thải dạng lỏng từ dịch vụ ăn uống lâu ngày sẽ kết váng trên mặt nước, gây ô nhiễm môi trường và làm tắc nghẽn dòng chảy trong hệ thống cống. Nghiên cứu này nhằm chọn lọc chủng vi khuẩn có khả năng sinh lipase cao, có thể sử dụng để xử lý ô nhiễm do chất thải lỏng có lipid từ các nhà hàng ăn uống. Kết quả phân lập được 50 chủng vi khuẩn có hoạt tính lipase từ mẫu nước được lấy ở nhà hàng thuộc các khu vực tại TP Hồ Chí Minh. Tiến hành sàng lọc dựa vào đường kính vòng phân giải lipid, tuyển chọn được 10 chủng có vòng phân giải 9-11 mm. Kết quả định lượng cho thấy, chủng GV-04 và BT-06 được phân lập từ mẫu nước thải ở khu vực quận Gò Vấp và Bình Thạnh cho hoạt độ lipase cao nhất (GV-04 là 0,3250 UI/ml, BT-06 là 0,3158 UI/ml). Kết quả định danh cho thấy, hai chủng GV-04 và BT-06 lần lượt là *Bacillus subtilis* và *Bacillus amyloliquefaciens*.

Từ khoá: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, lipase, phân giải lipid.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8

Isolation and selection of lipase-producing bacteria from restaurant wastewater

Ngoc Minh Bach*, Thi Anh Thu Nguyen, Thi Thanh Kieu Nguyen, Hoan My Huynh

Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, 9/621 Hanoi Highway, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 21 October 2022; revised 25 November 2022; accepted 28 November 2022

Abstract:

Domestic waste is a problem in big cities. Liquid wastes from food and drink services can be clumped to form a fatty layer on the water surface, causing environmental pollution and clogging the flow of the sewer system. This study aims to select bacterial strains capable of producing highly active lipase that can be used to deal with pollution from liquid waste containing lipids from restaurants. There are 50 strains of bacteria with lipase activity that have been isolated from water samples collected at restaurants in Ho Chi Minh city areas. Screening based on the diameter of the lipid degradation zone, 10 selected strains have a resolution ring of 9-11 mm. Quantitative results showed that strains GV-04 and BT-06 isolated from wastewater samples in Go Vap and Binh Thanh districts areas showed the highest lipase activity (GV-04 was 0.3250 UI/ml, BT-06 was 0.3158 UI/ml). The identification results showed that the two strains, GV-04 and BT-06, were *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*, respectively.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, lipase, lipolysis.

Classification numbers: 1.6, 2.8

*Tác giả liên hệ: Email: greensi02@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Theo các nghiên cứu của Đại học Arizona (Hoa Kỳ) về tỷ lệ rác thải trong nhà hàng, dầu mỡ chiếm từ 9,55% tới 11,3% tổng số lượng thực phẩm nhập vào [1]. Các chất thải dầu mỡ từ thực phẩm thừa có thể gây tắc nghẽn đường cống, gây ra các mùi hôi thối, kích thích sự tăng trưởng của vi sinh vật gây hại [2]. Các phương pháp xử lý dầu mỡ trong nước thải bằng vật lý như sử dụng các thiết bị đánh tan mỡ, hút bỏ mỡ; hoặc xử lý bằng phương pháp hóa học để phá vỡ lớp dầu mỡ rồi xả vào môi trường. Tuy rằng, biện pháp này hiệu quả và dễ tìm kiếm hóa chất, xử lý nhanh nhưng lại tốn kém. Ngoài ra, các hợp chất này rất độc hại cho con người và gây ô nhiễm môi trường. Sử dụng vi sinh vật xử lý nước thải là giải pháp mà con người đang hướng đến, để giúp môi trường sạch hơn. Đây cũng là giải pháp thân thiện với môi trường. Vi sinh vật có khả năng sử dụng dầu mỡ thừa làm nguồn dinh dưỡng, phân hủy hoàn toàn và giúp loại bỏ lớp dầu mỡ có trong đường ống [3].

Hầu hết lipase vi khuẩn có nguồn gốc từ các loài thuộc *Bacillus* [4, 5]. Một số khác từ các chi *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas* [6, 7]. Nhiều loài trong các chi nấm *Aspergillus*, *Candida*, *Humicola*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* và *Yarrowia* sinh lipase mạnh, được nghiên cứu và ứng dụng ở các lĩnh vực khác nhau [8]. Với sự đa dạng lớn về đặc tính, khả năng xúc tác hình thành nhiều liên kết ester khác nhau, các lipase vi sinh vật là đối tượng hấp dẫn cho những ứng dụng công nghiệp. Hiện nay, các nhà khoa học đã thực hiện các nghiên cứu để đưa các enzyme hoạt động trong điều kiện pH kiềm vào nhiều lĩnh vực công nghiệp khác nhau, đặc biệt là công nghiệp sản xuất chất tẩy rửa và xử lý môi trường [9].

Ở Việt Nam, một số nghiên cứu về lipase đã được báo cáo. Tác giả D.M. Lam và cs (2012) [10] đã phân lập chủng vi khuẩn sinh tổng hợp lipase từ nước thải và khảo sát hoạt tính lipase của 102 chủng *Pseudomonas*. T.D. Khoa và cs (2011) [11] đã nghiên cứu thu nhận và thử nghiệm hoạt tính lipase trên 10 chủng *Bacillus*. D.M. Lam và cs (2012) [10] đã phân lập 250 chủng *Bacillus* từ rừng ngập mặn, chọn ra 8 chủng có khả năng sinh lipase kiềm, hoạt động ở pH 9 và nồng độ muối 3%. T.T.B. Lan và cs (2012) [12] đã nghiên cứu việc sử dụng enzyme lipase từ *Candida rugosa* và *Porcine pancreas* xúc tác phản ứng transester hoá dầu dừa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Bốn mẫu nước thải được thu ở cuối đường xả thải hoặc bể lắng nước thải tại các nhà hàng ở 4 quận: Phú Nhuận (PN), Gò Vấp (GV), Bình Thạnh (BT), Thủ Đức (TD).

Phương pháp lấy mẫu được quy định ở TCVN 5999:1995 (ISO 5667/10: 1992) về chất lượng nước - lấy mẫu - hướng dẫn lấy mẫu nước thải.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập vi khuẩn có khả năng sinh lipase: Các mẫu nước thải được pha loãng tới nồng độ thích hợp để phân lập ở 37°C trong 48 giờ, trên môi trường TBA (Tributyryn agar) [13]. Các khuẩn lạc xuất hiện vòng phân giải xung quanh được tuyển chọn để tiếp tục sàng lọc bằng phương pháp định tính và định lượng, nhằm xác định hoạt tính enzyme. Thành phần môi trường TBA được liệt kê ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần môi trường Tributyrin agar phân lập vi khuẩn.

Thành phần	Nồng độ (g/l)	Thành phần	Nồng độ (g/l)
Peptone	5	K ₂ HPO ₄	0,5
Tributyryn	10	KH ₂ PO ₄	0,5
Cao nấm men	3	Agar	15
Ammonium nitrate	10	pH	7,5-8,0

Phương pháp định tính xác định khả năng sinh lipase: Dịch vi khuẩn nuôi cấy sau 48 giờ trên môi trường Lysogenia Broth (LB) lỏng (peptone 10 g/l, cao nấm men 5 g/l, NaCl 10 g/l) có bổ sung 1% dầu olive được nhũ hoá. Sau đó, hút 40 µl dịch khuẩn sau khi lắc tăng sinh lên giấy lọc đường kính 1,5 cm trên đĩa môi trường thạch TBA, đo đường kính vòng phân giải sau 48 giờ.

Phương pháp định lượng xác định khả năng sinh lipase: Sử dụng phương pháp đo quang phổ hấp thụ với cơ chất là p-nitrophenyl palmitate (p-NPP) ở bước sóng mật độ quang (OD) 410 nm [14].

Đặc điểm hình thái và sinh hóa: Các chủng được lựa chọn đã được kiểm tra hình thái, sinh hóa như khả năng di động; thử nghiệm khả năng sinh H₂S và khả năng sử dụng đường trên môi trường TSI (Triple-sugar iron agar); khả năng chuyển hoá citrate, sản xuất indole, hoạt tính oxidase, khả năng chịu mặn và hình thành nội bào tử [15].

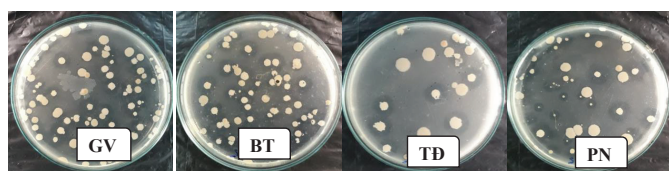
Định danh bằng sinh học phân tử: Mẫu vi khuẩn được gửi định danh tại Phòng Thí nghiệm vi sinh thuộc Viện Sinh học Nhiệt đới. Phương pháp phân tích dựa vào trình tự gen 16S rDNA được nhân lên bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGG CTCAG3') và 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACG ACTT - 3'). Sử dụng phần mềm BLAST để so sánh mức độ tương đồng của chuỗi trình tự vùng 16S rRNA với dữ liệu trên ngân hàng gen của NCBI (National Center for Biotechnology Information) để xác định tên loài của chủng vi khuẩn [15].

Xử lý số liệu: Tất cả các thí nghiệm được thực hiện 3 lần để lấy giá trị trung bình. Kết quả được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XV để kiểm tra sự khác biệt giữa các kết quả thu được ở mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng sinh lipase

Kết quả phân lập ở nồng độ 10^{-4} , 10^{-5} thu được 50 chủng vi sinh vật có đường kính vòng phân giải khác nhau trên môi trường TBA. Trong đó có 10 chủng vi sinh vật có vòng phân giải cao từ 9 mm trở lên. Các chủng này sẽ được làm thuần, giữ giống và tiến hành các thử nghiệm tiếp theo. Trên hình 1 là các hình ảnh một số khuẩn lạc đặc trưng trên môi trường phân lập TBA.



Hình 1. Các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải lipid phân lập được ở 4 khu vực. GV: Gò Vấp; BT: Bình Thạnh; TĐ: Thủ Đức; PN: Phú Nhuận.

3.2. Kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hoá

Các chủng được chọn lọc được nhuộm gram và tiến hành thử nghiệm các phản ứng sinh hóa cơ bản, để phân loại sơ bộ các chủng vi khuẩn. Bảng 2 thể hiện kết quả nhuộm gram của 10 chủng vi khuẩn được chọn, quan sát dưới vật kính 100X.

Kết quả nhuộm gram của 10 chủng được khảo sát, tất cả đều có hình que dài kích thước dao động 1-3 μm . Trong đó, có 4 chủng gram âm và 6 chủng gram dương, 4 chủng xếp chuỗi dài và 6 chủng là các tế bào đơn.

Bảng 2. Mô tả hình dạng tế bào của 10 chủng vi sinh vật dưới vật kính 100X.

STT	Tên mẫu	Mô tả
1	GV-02	Gram âm, tế bào que, ngắn khoảng nhỏ hơn 1 μm , đơn lẻ.
2	GV-04	Gram dương, tế bào que, ngắn khoảng 1,5-2 μm , đơn lẻ.
3	GV-10	Gram dương, tế bào que, ngắn khoảng 1 μm , đơn lẻ.
4	GV-12	Gram dương, tế bào que, ngắn khoảng 1 μm , đơn lẻ.
5	TĐ-02	Gram âm, tế bào que, ngắn khoảng 1-1,5 μm , đơn lẻ.
6	TĐ-06	Gram âm, tế bào que ngắn, dài khoảng 1,5-2 μm , đơn lẻ.
7	BT-06	Gram dương, tế bào que dài, 2,5-3 μm , xếp chuỗi.
8	PN-03	Gram âm, tế bào que, ngắn khoảng 1,5-2 μm , xếp chuỗi.
9	PN-08	Gram dương, tế bào hình que, dài 2-4 μm , xếp chuỗi.
10	PN-09	Gram dương, tế bào que, dài khoảng 2-3 μm , xếp chuỗi.

Kết quả kiểm tra các đặc tính sinh hóa được thể hiện ở bảng 3. Cả 10 chủng đều có khả năng di động, phát triển được trong môi trường hiếu khí và có phản ứng oxidase dương tính. Có 6 chủng có khả năng phát triển trong môi trường kỵ khí, 7 chủng có phản ứng Citrate dương tính, 8 chủng có khả năng sinh bào tử, 2 chủng có phản ứng Indole dương tính. Hầu như các chủng được phân lập không sử dụng được Lactose và Sucrose (9/10 chủng) và có 2 chủng không sử dụng được glucose.

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm các đặc tính sinh hóa của 10 chủng vi sinh vật.

Tên mẫu	Các đặc tính sinh hóa								
	ĐD	HK	KK	CT	BT	Indole	TSI		Oxidase
							Glu	Lac&Suc	
GV-02	+	+	-	-	+	-	+	-	+
GV-04	++	+	+	-	+	-	+	-	+
GV-10	++	+	+	+	-	-	-	-	+
GV-12	+++	+	-	+	+++	-	+	-	+
TĐ-02	+++	+	+	+	-	-	+	-	+
TĐ-06	+++	+	+	+	+	+	+	+	+
BT-06	++	+	+	+	+++	-	+	-	+
PN-03	+++	+	-	+	+	+	+	-	+
PN-08	+	+	-	-	+	-	-	-	+
PN-09	+++	+	+	+	+	-	+	-	+

ĐD: di động; HK: hiếu khí; KK: kỵ khí; CT: citrate; BT: bào tử; Glu: glucose; Lac&Suc: lactose & sucrose; ISI: triple sugar iron.

Dịch tăng sinh vi khuẩn sau khi nuôi cấy 48 giờ trong môi trường LB với các nồng độ NaCl là 0, 5, 10 và 15%, được xác định bằng máy đo quang phổ LaMotte ở bước sóng 600 nm, để nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ NaCl đến sự sinh trưởng của vi khuẩn. Sự sinh trưởng của các chủng vi sinh vật được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả mật độ quang của 10 chủng vi sinh vật ở các nồng độ muối khác nhau.

Tên mẫu	Nồng độ muối			
	0%	5%	10%	15%
GV-02	1,88 $\pm$ 0,0011	1,25 $\pm$ 0,0016	1,24 $\pm$ 0,0041	1,24 $\pm$ 0,0041
GV-04	1,74 $\pm$ 0,0087	0,85 $\pm$ 0,0017	1,22 $\pm$ 0,0123	0,01 $\pm$ 0,0000
GV-10	1,68 $\pm$ 0,0020	1,00 $\pm$ 0,0174	1,22 $\pm$ 0,0168	0,10 $\pm$ 0,1517
GV-12	1,52 $\pm$ 0,0000	1,00 $\pm$ 0,0020	0,98 $\pm$ 0,0040	0,03 $\pm$ 0,0002
TĐ-02	1,45 $\pm$ 0,00046	1,44 $\pm$ 0,0090	0,69 $\pm$ 0,0015	0,01 $\pm$ 0,0001
TĐ-06	1,42 $\pm$ 0,0087	1,23 $\pm$ 0,0173	0,84 $\pm$ 0,0029	0,01 $\pm$ 0,0001
BT-06	1,33 $\pm$ 0,0027	1,22 $\pm$ 0,0009	0,99 $\pm$ 0,0003	0,01 $\pm$ 0,0003
PN-03	1,01 $\pm$ 0,0012	1,57 $\pm$ 0,0137	0,87 $\pm$ 0,0026	0,01 $\pm$ 0,0003
PN-08	1,98 $\pm$ 0,0243	1,49 $\pm$ 0,0008	1,24 $\pm$ 0,0006	0,01 $\pm$ 0,0001
PN-09	1,80 $\pm$ 0,0019	1,30 $\pm$ 0,0021	0,05 $\pm$ 0,0055	0,01 $\pm$ 0,0000

Trong cùng một cột, các giá trị được đánh dấu bởi các chữ cái giống nhau thì sự khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=0,05$).

Khả năng chịu mặn của 50 chủng vi sinh vật phân lập được từ 4 mẫu nước thải nhà hàng được đánh giá qua giá trị OD_{600nm}, sau khi nuôi cấy trong môi trường LB lỏng có chứa các nồng độ muối tương ứng là 0, 5, 10 và 15% sau 48 giờ. Tất cả 10 chủng phân lập được đều có khả năng thích nghi và phát triển ở tất cả các nồng độ muối từ 0-10 %. Giá trị OD_{600nm} của các chủng vi sinh vật biến thiên qua các nồng độ muối khác nhau. Trong đó, có 2 chủng GV-02 và GV-10 có khả năng chịu mặn ở nồng độ muối 15%.

3.3. Phương pháp định tính khả năng sinh lipase

Dịch vi khuẩn được cấy từ ống nghiệm vào môi trường LB lỏng có bổ sung 1% dầu olive được nhũ hoá, lắc trong 48 giờ. Đồ đĩa môi trường TBA, đặt giấy lọc tròn, đường kính 1,5 cm đã được hấp khử trùng vào đĩa môi trường TBA. Dùng pipet hút 0,004 ml dịch khuẩn sau khi lắc tăng sinh lên giấy lọc, sao cho dịch khuẩn không tràn ra ngoài môi trường. Sau 48 giờ đo đường kính vòng phân giải. Kết quả được thể hiện trên bảng 5.

Bảng 5. Kết quả định tính khả năng sinh lipase bằng phương pháp đo vòng phân giải của chủng vi khuẩn phân lập trên môi trường TBA.

Số thứ tự	Chủng	Đường kính vòng phân giải (mm)
1	GV-04	11,67 ^{a±} 0,577
2	GV-10	10,67 ^{ab±} 0,577
3	BT-06	10,00 ^{bc±} 0,577
4	GV-02	9,67 ^{cd±} 0,577
5	TĐ-06	9,67 ^{cd±} 0,577
6	PN-08	9,33 ^{de±} 0,577
7	TĐ-02	9,33 ^{de±} 0,577
8	PN-03	9,33 ^{def±} 0,577
9	GV-12	9,00 ^{efg±} 0,000
10	PN-09	9,00 ^{efg±} 0,000

Trong cùng một cột, các giá trị được đánh dấu bởi các chữ cái giống nhau thì sự khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=0,05$).

Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp và có sự tương đồng với một số nghiên cứu đã được công bố trước đó. C.T. Hou và cs (1992) [16] đã làm một nghiên cứu tổng quan về khả năng sinh lipase từ 1229 vi sinh vật, bằng phương pháp đo vòng phân giải trên đĩa thạch, bao gồm nhiều chi và loài. Khoảng 25% chủng có xét nghiệm dương tính với lipase. Những chủng lipase dương tính tiếp tục được phân thành ba loại theo hoạt động của enzyme: chủng sinh lipase tốt, vừa và yếu có vòng phân giải có đường kính lần lượt là 10, 7,5 hoặc 5 mm. D.M. Lam và cs (2012) [10] đã nghiên cứu khả

năng sinh lipase của các chủng *Bacillus*, tác giả đã phân lập được 8 chủng vi khuẩn có đường kính vòng phân giải dao động từ 16 đến 21 mm.

3.4. Phương pháp định lượng khả năng sinh lipase

Dịch tăng sinh vi khuẩn được đo lượng khả năng sinh lipase sử dụng phương pháp đo quang phổ hấp thụ với cơ chất là p-nitrophenyl palmitate (p-NPP) ở bước sóng OD 410 nm. Kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả định tính khả năng sinh lipase.

Chủng	Giá trị UI/ml	Chủng	Giá trị UI/ml
GV-04	0,33 ^{a±} 0,0003	TĐ-02	0,20 ^{a±} 0,0006
BT-06	0,32 ^{b±} 0,0001	PN-08	0,20 ^{a±} 0,0001
GV-10	0,26 ^{c±} 0,0001	GV-12	0,20 ^{a±} 0,0001
GV-02	0,25 ^{d±} 0,0002	PN-03	0,20 ^{a±} 0,0008
TĐ-06	0,23 ^{c±} 0,0015	PN-09	0,18 ^{a±} 0,0004

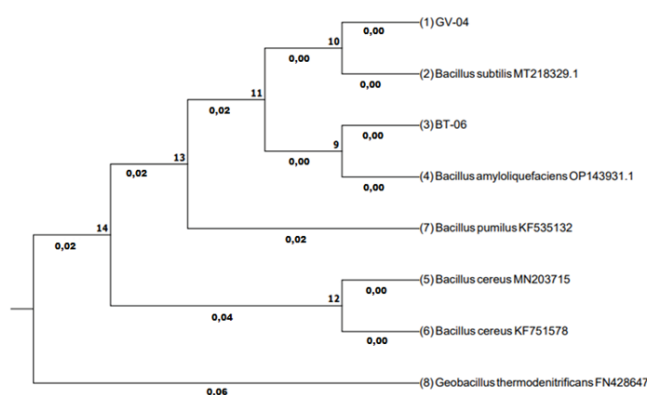
Trong cùng một cột, các giá trị được đánh dấu bởi các chữ cái giống nhau thì sự khác nhau không có ý nghĩa về mặt thống kê, các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo phân tích ANOVA ($\alpha=0,05$).

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, 10 chủng vi sinh vật có hoạt tính từ 0,18 đến 0,33 IU/ml sau 24 giờ nuôi cấy, so sánh với một số nghiên cứu của D.M. Lam và cs (2012) [12] nghiên cứu tuyển chọn *Bacillus* sinh lipase kiểm từ rừng ngập mặn, kết quả của nghiên cứu có 8 chủng có khả năng phân giải lipid (chiếm 2,4%) trong tổng số 250 chủng thử nghiệm, với hoạt độ lipase dao động từ 0,03 đến 0,15 UI/ml. Kết quả cho thấy, 10 chủng vi sinh vật phân lập được có khả năng biểu hiện hoạt tính lipase từ 0,1789 UI/ml đến 0,3250 UI/ml là khá cao.

3.5. Định danh chủng vi sinh vật bằng sinh học phân tử

Định danh 2 chủng vi sinh vật có giá trị UI từ 0,3 UI/ml trở lên, là chủng có ký hiệu mã hóa GV-04 và BT-06 bằng phương pháp giải trình tự gen 16S RNA.

Kết quả chạy PCR cho thấy, chủng BT-06 cho sản phẩm dài 1439 cặp base. Số nucleotide loại A và T chiếm 42,95%, số nucleotide loại G và C chiếm 53,03%. Kết quả phân tích bằng BLAST cho thấy, trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng BT-06 có độ tương đồng 100% với loài *Bacillus amyloliquefaciens*. Chủng GV-04 cho sản phẩm PCR dài 1458 cặp base. Số nucleotide loại A và T chiếm 43,48% và số nucleotide loại G và C chiếm 52,67%. Kết quả phân tích bằng BLAST cho thấy, trình tự đoạn gen 16S rRNA của chủng GV-04 có độ tương đồng 100% với loài *Bacillus subtilis* (hình 2).



Hình 2. Vị trí phân loại của chủng GV-04 và BT-06 và các loài có họ hàng gần nhau (theo phân tích trình tự gen mã hóa 16S rRNA).

4. Kết luận

Quá trình phân lập mẫu nước thải của 4 nhà hàng ở 4 khu vực Gò Vấp, Bình Thạnh, Thủ Đức và Phú Nhuận thu được 50 chủng vi sinh vật có khả năng sinh lipase. Thí nghiệm định lượng khả năng sinh lipase của 10 chủng vi sinh vật có vòng phân giải từ 9 mm trở lên thu được hoạt độ UI/ml thấp nhất là chủng PN-09 0,1760 UI/ml, cao nhất là chủng GV-04 có giá trị UI/ml là 0,3250 UI/ml.

Định danh hai chủng có hoạt độ UI/ml cao nhất, kết quả định danh GV-04 là *Bacillus subtilis* và BT-06 là *Bacillus amyloliquefaciens*, với mức độ tương đồng cao so với các trình tự liên quan trên GenBank.

Kết quả của nghiên cứu có thể được sử dụng để thử nghiệm sản xuất chế phẩm vi sinh có khả năng sinh lipase sử dụng trong xử lý dầu mỡ từ rác thải sinh hoạt. Từ đó, mở ra cơ hội sử dụng phương pháp vi sinh an toàn để xử lý ô nhiễm môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V.M. Nguyen (2019), *Sustainability of a Zero-Waste Restaurant: Case: Nolla Restaurant, Helsinki*, Tourism and Hospitality Management Thesis, Saimaa University of Applied Sciences.
- [2] EPA (2012), *National Pretreatment Program - Controlling Fats, Oils, and Grease Discharges from Food Service Establishments*, Office of Water, EPA-833-F-12-003, September 2012.
- [3] H.S.A.E. Gawad (2014), "Oil and grease removal from industrial wastewater using new utility approach", *Advances in Environmental Chemistry*, DOI: 10.1155/2014/916878.
- [4] E.A.E. Abada (2008), "Production and characterization of a mesophilic lipase isolated from *Bacillus stearothermophilus* AB-1", *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **11**, pp.1100-1106, DOI: 10.3923/pjbs.2008.1100.1106.

- [5] N. Annamalai, S. Elayaraja, S. Vijayalakshmi, et al. (2011), "Thermostable, alkaline tolerant lipase from *Bacillus licheniformis* using peanut oil cake as a substrate", *African Journal of Biochemistry Research*, **5**(6), pp.176-181.

- [6] E.H. Ahmed, T. Raghavendra, D. Madamwar (2010), "An alkaline lipase from organic solvent tolerant *Acinetobacter* sp. EH28: Application for ethyl caprylate synthesis", *Bioresource Technology*, **101**(10), pp.3628-3634, DOI: 10.1016/j.biortech.2009.12.107.

- [7] L. Kanwar, P. Goswami (2002), "Isolation of a *Pseudomonas* lipase produced in pure hydrocarbon substrate and its application in the synthesis of isoamyl acetate using membrane-immobilised lipase", *Enzyme and Microbial Technology*, **31**(6), pp.727-735, DOI: 10.1016/S0141-0229(02)00191-6.

- [8] A.K. Singh, M. Mukhopadhyay (2012), "Overview of fungal lipase: A review", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **166**(2), pp.486-520, DOI: 10.1007/s12010-011-9444-3.

- [9] M. Guncheva, D. Zhiryakova (2011), "Catalytic properties and potential applications of *Bacillus* lipases", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **68**(1), pp.1-21, DOI: 10.1016/j.molcatb.2010.09.002.

- [10] D.M. Lam, V.T. Ly (2012), "Study on *Bacillus* producing alkaline lipase isolated from mangroves", *Journal of Science and Technology*, **50**(2), pp.259-266, DOI: 10.15625/0866-708X/50/2/9495 (in Vietnamese).

- [11] T.D. Khoa, L.Q. Huy, N.D. Nghiep (2011), "Selection, production and characterization of *Bacillus* lipase", *Science and Technology Development Journal*, **14**(3), pp.64-72 (in Vietnamese).

- [12] T.T.B. Lan, N.P. Phi, P.N. Hoa (2012), "Research on lipases from *Candida rugosa* and *Porcine pancreas* catalysis of coconut oil transesterification reaction", *Can Tho University Journal of Science*, **23b**, pp.105-114 (in Vietnamese).

- [13] S. Verma, K.P. Sharma (2014), "Isolation, identification and characterization of lipase producing microorganisms from environment", *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, **7**(4), pp.219-222.

- [14] P. Boonmahome, W. Mongkolthanaruk (2013), "Lipase-producing bacterium and its enzyme characterization", *Journal of Life Sciences and Technologies*, **1**(4), pp.196-200.

- [15] G.E. Awad, H. Mostafa, E.N. Danial, et al. (2015), "Enhanced production of thermostable lipase from *Bacillus cereus* ASSCRC-P1 in waste frying oil-based medium using statistical experimental design", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **5**(9), pp.7-15, DOI: 10.7324/JAPS.2015.50902.

- [16] C.T. Hou, T.M. Johnston (1992), "Screening of lipase activities with cultures from the agricultural research service culture collection", *Journal of The American Oil Chemists' Society*, **69**(11), pp.1088-1097.

Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn sinh pectinase từ đất trồng và vỏ quả cà phê, ứng dụng trong lên men sản xuất cà phê

Nguyễn Thị Thu Huyền¹, Trịnh Thị Thu Thủy², Lê Thị Ngọc Thúy¹, Đặng Thảo Yến Linh³, Nguyễn Thị Thanh Thủy^{1*}

¹Khoa Công nghệ Thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

³Trung tâm Công nghệ Vật liệu, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6 Thanh Xuân Bắc, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 25/4/2023; ngày chuyển phản biện 28/4/2023; ngày nhận phản biện 20/5/2023; ngày chấp nhận đăng 25/5/2023

Tóm tắt:

Pectinase là nhóm enzyme thủy phân pectin, một loại polysaccharide có ở thành tế bào thực vật, tạo ra hợp chất phân tử thấp như galacturonic, galactose, arabinose, methanol... Pectinase được phép sử dụng trong thực phẩm do không ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp pectinase và xác định các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt độ pectinase của các chủng vi khuẩn, làm cơ sở cho nghiên cứu ứng dụng loại bỏ pectin trên lớp vỏ nhầy trong quá trình lên men sản xuất cà phê. 32 chủng vi khuẩn đã được phân lập từ các mẫu đất trồng cà phê và vỏ cà phê khô thu thập tại Tây Nguyên và Quảng Trị, trong đó 4 chủng có hoạt độ pectinase cao nhất là DA2.7; DA3.1; DA4.1 và VC1.1. Các chủng vi khuẩn đã tuyển chọn được định danh dựa trên trình tự gen mã hóa 16S rRNA, cụ thể: chủng DA2.7, DA3.1 tương đồng với *Calidifontibacillus erzurumensis*; chủng DA4.1 tương đồng với *Bacillus stercoris*; chủng VC1.1 tương đồng với *Bacillus subtilis*. Điều kiện lên men thích hợp cho chủng VC1.1 sinh pectinase là môi trường pH 5,0 ở 50°C trong 48 giờ. Pectinase thô được ứng dụng trong lên men cà phê thu được sản phẩm có hàm lượng chất khô hòa tan đạt 6,10°Brix và caffein đạt 0,6/100 mg.

Từ khóa: *Bacillus*, lên men cà phê, pectinase, phân lập vi khuẩn.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8, 2.10

Isolation and selection of pectinase-synthesising bacteria from soil and coffee husk for application in coffee fermentation

Thi Thu Huyen Nguyen¹, Thi Thu Thuy Trinh², Thi Ngoc Thuy Le¹, Thao Yen Linh Dang³, Thi Thanh Thuy Nguyen^{1*}

¹Faculty of Food Science and Technology, Vietnam National University of Agriculture, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

³Center for Advanced Materials Technology, National Center for Technological Progress, C6 Thanh Xuan Bac, Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 25 April 2023; revised 20 May 2023; accepted 25 May 2023

Abstract:

Pectinase is a group of enzymes that hydrolyse pectin, a polysaccharide found in plant cell walls, into low molecular compounds such as galacturonic acid, galactose, arabinose, methanol, etc. Pectinase can be used in foods as it does not affect human health. This study was conducted to isolate and select bacterial strains capable of pectinase biosynthesis and determine the factors affecting pectinase activity of bacterial strains as a basis for applied research to remove pectin during fermentation to produce coffee. 32 bacterial strains were isolated from samples of coffee soil and dried coffee pods collected in the Tay Nguyen and Quang Tri, of which the 4 strains with the highest pectinase activity were DA2.7; DA3.1; DA4.1 and VC1.1. Selected bacterial strains were identified to species based on 16S rRNA gene sequences, specifically: strains DA2.7, DA3.1 are homologous to species *Calidifontibacillus erzurumensis*; strain DA4.1 is homologous to the species *Bacillus stercoris*; strain VC1.1 is homologous to the species *Bacillus subtilis*. The suitable fermentation conditions for pectinase-producing strain VC1.1 is pH 5.0 at 50°C for 48 hours. Pectinase is applied in coffee fermentation to obtain a product with a soluble solids content of 6.10°Brix and caffeine of 0.6 mg/100 mg.

Keywords: *Bacillus*, bacteria isolation, coffee fermentation, pectinase.

Classification numbers: 1.6, 2.8, 2.10

*Tác giả liên hệ: Email: ntthuy@vnua.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Việt Nam là nước xuất khẩu cà phê đứng thứ hai trên thế giới, chỉ sau Brazil. Năm 2021, diện tích trồng cà phê của Việt Nam khoảng 710,59 nghìn ha, sản lượng đạt 1,816 triệu tấn/năm [1]. Phần vỏ chứa thịt quả chiếm 40-45% trọng lượng quả cà phê, hàng năm lượng vỏ bỏ đi khoảng 726.400 tấn [2]. Vỏ quả cà phê chứa nhiều đường, protein, xơ, polyphenol, pectin nên việc tận dụng để hình thành những sản phẩm mới như đồ uống sẽ giúp đa dạng hóa sản phẩm và giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

Trong vỏ cà phê, pectin chiếm tới 17-20% với hàm lượng cao nhất ở phần giữa và vách tế bào sơ cấp. Pectin có vai trò làm chậm hoạt động của enzyme phân giải tinh bột và đường, làm giảm sự dung nạp glucose, hạn chế tăng cân và tiểu đường; được sử dụng trong quá trình tạo gel, làm đông các sản phẩm mứt [3]. Bên cạnh những điểm có lợi, pectin cũng gây hạn chế trong quá trình thu nhận, lên men để sản xuất đồ uống từ cà phê do tính chất keo. Muốn giải quyết được vấn đề này, enzyme pectinase thường được sử dụng với các điều kiện nhiệt độ, pH phù hợp cho từng loại nguyên liệu.

Pectinase hiện đang được ứng dụng rộng rãi, đa dạng trong rất nhiều quy trình công nghiệp, điển hình như dệt may, chế biến sợi thực vật, sản xuất cà phê, chiết xuất dầu, xử lý nước thải, chế biến rau củ quả [4, 5]... Điểm nổi bật là pectinase được dùng không giới hạn trong thực phẩm do không ảnh hưởng sức khỏe con người [6].

Cà phê là thức uống được tiêu thụ nhiều thứ hai trên thế giới sau trà. Vì vậy, lợi ích sức khỏe và lợi ích kinh tế của cà phê cần được quan tâm nghiên cứu để nâng cao chất lượng và đa dạng sản phẩm. Pectinase được sử dụng để loại bỏ pectin khỏi hạt cà phê, do lớp vỏ chứa pectin sẽ khiến cà phê khi pha bị sệt, chất lượng cảm quan không được đảm bảo. Cà phê được lên men với các vi khuẩn phân giải pectin để loại bỏ lớp chất nhầy, từ đó đặc tính lên men được cải thiện [7].

Vi sinh vật được xem là nguồn nguyên liệu hiệu quả để sản xuất pectinase do thời gian sinh trưởng ngắn, hệ enzyme phong phú, dinh dưỡng nuôi vi sinh vật rẻ tiền, dễ kiếm [8]. Nhiều nghiên cứu về pectinase có nguồn gốc từ vi sinh vật đã được công bố nhưng chủ yếu từ nấm mốc, còn pectinase từ vi khuẩn vẫn hạn chế [9]. Mục đích nghiên cứu này là phân lập, tuyển chọn chủng vi khuẩn có hoạt tính phân giải pectin cao từ đất trồng cà phê và vỏ cà phê tại Tây Nguyên và Quảng Trị, thuộc nhóm an toàn có thể áp dụng trực tiếp xử lý vỏ nhầy trong quy trình sản xuất cà phê.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Bốn mẫu đất vườn trồng cà phê hữu cơ tại các vườn thuộc xã Ea Kao, Buôn Mê Thuột (ĐA1, ĐA2, ĐA3, ĐA4) và 1 mẫu vỏ quả cà phê arabica (VC1) thu thập tại Quảng Trị được sử dụng để phân lập vi khuẩn.

Hạt cà phê arabica được cung cấp từ Quảng Trị. Cà phê được thu hoạch từ tháng 9 đến tháng 11, sau đó được tách vỏ bằng phương thức tách khô. Yêu cầu không lẫn tạp chất, không bị ẩm mốc, không có mùi lạ.

2.2. Phương pháp phân lập

Vi khuẩn được phân lập trên môi trường xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí (PCA) cải tiến có bổ sung cơ chất pectin (pepton 5 g/l, cao nấm men 2,5 g/l, pectin 3 g/l, agar 16 g/l, pH 7,0). Chủng sau khi làm thuần được bảo quản trong ống thạch nghiêng [10].

2.3. Phương pháp xác định hoạt tính pectinase

Xác định khả năng sinh pectinase của các chủng vi khuẩn bằng cách nuôi cấy trên môi trường thạch dinh dưỡng (NA) cải tiến có bổ sung 5 g/l pectin (pepton 2 g/l, cao nấm men 2 g/l, cao thịt 1 g/l, NaCl 3 g/l, pectin 5 g/l, agar 16 g/l). Chủng vi khuẩn được cấy vạch trên môi trường thạch NA và tiến hành ủ ở 37°C trong 24 giờ. Khả năng sinh tổng hợp pectinase được đánh giá dựa vào kích thước vạch phân giải pectin (bao gồm cả vạch cấy) sau khi nhuộm bằng lugol [11].

Xác định hoạt độ pectinase từ các chủng vi khuẩn tuyển chọn bằng cách nuôi cấy chủng vi khuẩn trong môi trường NB cải tiến (pepton 2 g/l, cao nấm men 2 g/l, cao thịt 1 g/l, NaCl 3 g/l, pectin 5 g/l) [12]. Một đơn vị hoạt độ pectinase là lượng enzyme cần thiết để xúc tác chuyển hóa pectin tạo thành 1 μ mol galacturonic acid trong thời gian 1 phút, ở những điều kiện hoạt động thích hợp của enzyme [13].

Hoạt độ pectinase xác định bằng công thức:

$$H = \frac{X.f.1000}{600.t} \text{ (U/ml)}$$

trong đó, X: hàm lượng đường khử sau thủy phân (mg/ml); f: hệ số pha loãng; 1000: hệ số quy đổi; 600: khối lượng phân tử pectin; t: thời gian thủy phân (5 phút).

2.4. Định danh các chủng vi khuẩn dựa trên trình tự gen mã hóa 16S rRNA

Định danh tiến hành theo phương pháp của J. Marc và cs (2003) [14] và P. Filipe và cs (2008) [15]. Các chủng vi khuẩn tuyển chọn được tiến hành tách DNA tổng số. DNA tổng số của mỗi chủng vi khuẩn được sử dụng phản ứng PCR

với mỗi xuôi 27F: 5'AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3' và mỗi ngược 1492R: 5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3' [16]. Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được kiểm tra trên gel agarose 1%, sau đó được giải trình tự tại Hãng First-Base, Malaysia. Kết quả giải trình tự được so sánh trình tự tương đồng bằng công cụ BLAST trên ngân hàng gen NCBI.

2.5. Phương pháp xác định điều kiện lên men thu pectinase có hoạt độ cao

Chủng vi khuẩn được lên men trong môi trường chứa ri đường (dịch ri đường 20 g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g/l, pectin 2 g/l) để thu pectinase. Các yếu tố về pH, nhiệt độ và thời gian lên men sẽ được khảo sát tại các khoảng: pH: 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5 và 7,0; nhiệt độ: 37, 45, 50, 55 và 60°C và thời gian: 12, 24, 36, 48 và 60 giờ. Sau khi ủ xong toàn bộ dịch nuôi vi khuẩn được đem ly tâm 10.000 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Enzyme thô được thu nhận bằng cách lọc dịch nổi phía trên bằng màng lọc tiệt trùng có kích thước lỗ 0,2 μm để loại bỏ tất cả vi sinh vật còn sót lại trong môi trường. Phần nổi phía trên được thu thập như một nguồn enzyme thô [17]. Dịch enzyme thô được tiến hành xác định hoạt độ pectinase.

2.6. Phương pháp lên men hạt cà phê bằng enzyme pectinase thô

Hạt cà phê được xử lý bằng pectinase thô ở tỷ lệ 8% (xác định thông qua các thí nghiệm khảo sát). Đối chứng là mẫu không xử lý enzyme (đối chứng âm) và mẫu xử lý bằng pectinase thương mại Viscozyme L (đối chứng dương). Tất cả mẫu đối chứng và mẫu thử được ủ ở 35°C trong 32 giờ. Các mẫu sau lên men được tiến hành xác định hàm lượng tổng chất rắn hòa tan và caffeine.

Sau khi xử lý, hạt cà phê đã rửa sạch được sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 60°C cho đến khi đạt độ ẩm ban đầu (7,7%). Sau đó, hạt cà phê khô được rang ở nhiệt độ 240°C trong 15 phút và nghiền thành bột. 10 gram bột cà phê được cho vào cốc và thêm 70 ml nước đun sôi. Hỗn hợp được lắc với tốc độ 175 vòng/phút trong 10 phút. Sau khi các mẫu nguội đi, chúng được lọc bằng giấy lọc để lấy phần nổi phía trên. Cuối cùng, hàm lượng chất rắn hòa tan của dung dịch chiết được đo bằng khúc xạ kế.

Sau đó, cà phê bột của 3 mẫu (không xử lý men, lên men bằng pectinase thô và lên men bằng Viscozyme L) được xác định hàm lượng cafein theo TCVN 9723: 2013.

2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả thí nghiệm được phân tích ANOVA trên phần mềm Microsoft Excel để so sánh sự khác biệt trung bình giữa các lần lặp lại trong cùng thí nghiệm $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập, sàng lọc và định danh các chủng vi khuẩn sinh pectinase

Từ các mẫu đất trồng cà phê và vỏ cà phê thu thập tại Tây Nguyên và Quảng Trị, nghiên cứu đã phân lập được 32 chủng vi khuẩn, trong đó 26 chủng có khả năng sinh pectinase (bảng 1). Dựa trên kích thước vùng phân giải, nghiên cứu này đã lựa chọn được 9 chủng có vòng phân giải rộng nhất (kích thước lớn hơn 10 mm) là ĐA2.6, ĐA2.7, ĐA3.1, ĐA3.5, ĐA3.6, ĐA3.7, ĐA4.1, ĐA4.3, VC1.1.

Bảng 1. Khả năng sinh pectinase của các chủng vi khuẩn phân lập.

TT	Mẫu	Ký hiệu mẫu	Kích thước vùng phân giải (mm)	Hoạt độ (U/ml)
1		ĐA1.1	3,50±0,50	-
2		ĐA1.4	8,23±0,25	-
3	Đất trồng	ĐA1.5	1,27±0,21	-
4	Cà phê hữu cơ vườn 1	ĐA1.6	0	-
5		ĐA1.7	0	-
6		ĐA1.8	6,23±0,25	-
7		ĐA1.9	5,50±0,50	-
8		ĐA2.1	4,17±0,29	-
9		ĐA2.2	6,27±0,31	-
10	Đất trồng	ĐA2.3	7,17±0,29	-
11	Cà phê hữu cơ vườn 2	ĐA2.4	5,30±0,27	-
12		ĐA2.5	7,40±0,36	-
13		ĐA2.6	10,57±0,40	2,337±0,002
14		ĐA2.7	12,00±0,50	2,776±0,003
15		ĐA3.1	11,33±0,29	2,714±0,005
16	Đất trồng	ĐA3.2	6,67±1,53	-
17	Cà phê hữu cơ vườn 3	ĐA3.5	10,40±0,20	2,220±0,005
18		ĐA3.6	10,36±0,15	2,048±0,005
19		ĐA3.7	10,43±0,15	1,973±0,004
20		ĐA4.1	11,00±0,2	2,684±0,003
21		ĐA4.2	0	-
22		ĐA4.3	10,50±0,50	2,122±0,005
23	Đất trồng	ĐA4.4	6,33±1,53	-
24	Cà phê hữu cơ vườn 4	ĐA4.5	2,23±0,25	-
25		ĐA4.6	3,67±0,76	-
26		ĐA4.7	6,00±0,50	-
27		ĐA4.8	6,23±0,25	-
28		ĐA4.9	0	-
29		ĐA4.10	0	-
30	Vỏ cà phê khô	VC1.1	11,50±0,50	2,683±0,005
31		VC1.4	5,43±0,40	-
32		VC1.5	0	-

Đồng thời, nghiên cứu này đã xác định hoạt độ pectinase của dịch nuôi 9 chủng vi khuẩn trên, kết quả cho thấy, 4 chủng có hoạt độ pectinase cao nhất là ĐA2.7, ĐA3.1, ĐA4.1, VC1.1. So sánh với các công bố về pectinase của một số tác giả thì hoạt độ của 4 chủng trên còn tương đối thấp. Nghiên cứu của G. Tripathi và cs (2014) [18] thu được chủng *Bacillus subtilis* phân lập từ đất có hoạt độ 4,5 U/mg. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này hoạt độ pectinase mới xác định bước đầu để tuyển chọn sơ bộ các chủng có hoạt độ cao hơn, chưa tối ưu thành phần môi trường và điều kiện nuôi để nâng cao khả năng tổng hợp pectinase.

Để có thể ứng dụng các chủng vi khuẩn trên vào sản xuất thực tế, cả 4 chủng vi khuẩn đã tuyển chọn được định danh dựa trên trình tự gen mã hóa 16S rRNA, sau khi phân tích được so sánh với các trình tự gen tương đồng trên GenBank bằng chương trình BLAST SEARCH (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Kết quả được thể hiện trên bảng 2.

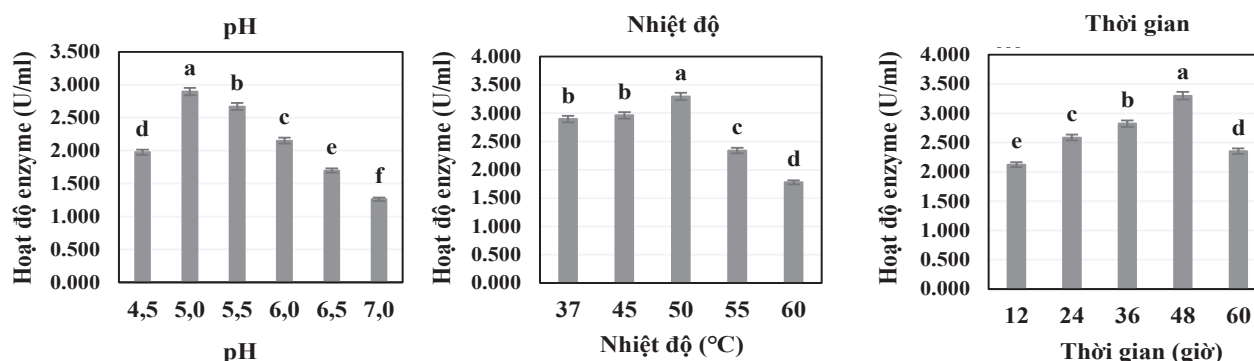
Bảng 2. Kết quả so sánh mức độ tương đồng của trình tự 16S rRNA của các chủng vi khuẩn với dữ liệu trên GenBank.

TT	Chủng vi khuẩn tuyển chọn	Tên chủng vi khuẩn trong cơ sở dữ liệu GenBank	Mã số GenBank	Mức độ tương đồng (%)
1	ĐA 2.7	<i>Calidifontibacillus erzurumensis</i> , strain P2	NR180225.1	99,93
		<i>Bacillus velezensis</i> , strain CBMB205	NR116240.1	99,85
2	ĐA 3.1	<i>Calidifontibacillus erzurumensis</i> , strain P2	NR180225.1	100
		<i>Bacillus velezensis</i> , strain CBMB205	NR116240.1	99,93
3	ĐA 4.1	<i>Bacillus stercoris</i> , strain GB21	MT214144.1	99,93
		<i>Bacillus subtilis</i> , strain IAM 12118	NR112116.2	99,86
4	VC1.1	<i>Bacillus subtilis</i> , strain HY2-62	CP110365.1	100
		<i>Bacillus cabrialesii</i> , strain TE3	NR180419.1	99,93

Sản phẩm PCR được tiến hành giải trình tự, phân tích, so sánh với dữ liệu trên GenBank cho thấy, chủng ĐA 2.7 có độ tương đồng 99,93% với *Calidifontibacillus erzurumensis*; ĐA3.1 có độ tương đồng 100% với *Calidifontibacillus erzurumensis*; chủng ĐA4.1 độ tương đồng 99,93% với *Bacillus stercoris* và chủng VC1.1 có độ tương đồng 100% với *Bacillus subtilis*. Trong số các chủng đã định tên, nhận thấy rằng *B. subtilis* là chủng đã được công nhận là an toàn (GRAS), được báo cáo là tạo ra bacteriocin như subtilisin để ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh liên quan đến vật nuôi, bao gồm cả *Salmonella enterica*, *Clostridium perfringens* và *Escherichia coli* [19-21]. *B. subtilis* là lợi khuẩn chịu được điều kiện môi trường khắc nghiệt, có khả năng sinh enzyme tốt nhất và được sản xuất thành chế phẩm trên quy mô công nghiệp, ứng dụng rộng rãi trong y học, nông nghiệp và công nghiệp thực phẩm. Vi khuẩn này được đánh giá an toàn và hiệu quả nhất để sử dụng trong ngành công nghệ sinh học sản xuất các amino acid quan trọng như: lysine, valine, tyrosine, threonine, aspartic... Trong y học, *B. subtilis* có đặc tính probiotic đã trở thành cái tên quen thuộc để tăng cường hệ tiêu hóa cho cả người và động vật, điều trị các chứng viêm ruột, đại tràng, chống tiêu chảy do lạm dụng kháng sinh hoặc loạn khuẩn đường ruột [22]. Đối với 3 chủng vi khuẩn còn lại được xác định thuộc loài *Calidifontibacillus erzurumensis* và *Bacillus stercoris*, đây là các loài vi khuẩn chưa có các ghi nhận về tính an toàn khi sử dụng cho người, do đó cần có thêm nhiều nghiên cứu trước khi ứng dụng. Do vậy, chủng VC1.1 tạm thời gọi là *B.subtilis* VC1.1 được lựa chọn để sử dụng cho nghiên cứu lên men cà phê.

3.2. Điều kiện lên men thích hợp cho chủng *B. subtilis* VC1.1 để thu pectinase

pH, nhiệt độ và thời gian là các yếu tố ảnh hưởng tới hoạt độ pectinase của chủng *B. subtilis* VC1.1 (hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của pH, nhiệt độ và thời gian đến quá trình lên men sản xuất pectinase của chủng vi khuẩn *B. subtilis* VC1.1

Kết quả nghiên cứu cho thấy, chủng *B. subtilis* VC1.1 có hoạt độ enzyme pectinase tăng khi môi trường nuôi cấy có pH từ 4,5 đến 5,0 và đạt cao nhất tại môi trường có pH là 5,0. Nghiên cứu của J. Prajapati và cs (2021) [23] cũng cho thấy, chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* BK-3 sinh enzyme pectinase có hoạt độ cao nhất ở pH 5,0 và nhiệt độ 50°C.

Chủng *B. subtilis* VC1.1 có hoạt độ pectinase tăng trong khoảng nhiệt độ 37-50°C; giá trị hoạt độ enzyme đạt cao nhất tại nhiệt độ 50°C. Các nghiên cứu khác cho thấy, nhiệt độ tối ưu của *B. subtilis* BK-3 là 50°C [23], hay *B. cereus* phân lập từ phế phụ phẩm nông nghiệp sinh tổng hợp enzyme pectinase tối ưu ở 50°C [24].

Nghiên cứu này cũng đã xác định được thời gian nuôi cấy thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp pectinase của chủng *B. subtilis* VC1.1 là 48 giờ. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy, thời gian nuôi cấy thích hợp cho sinh pectinase của chủng *B. stearothermophilus* và *B. cereus* phân lập từ nguồn phế phụ phẩm nông nghiệp là 36 giờ [24].

Như vậy, điều kiện thích hợp cho quá trình sinh tổng hợp pectinase của chủng vi khuẩn *B. subtilis* VC1.1 là ở pH 5,0, nhiệt độ 50°C và thời gian nuôi cấy 48 giờ.

3.3. Ứng dụng enzyme pectinase trong lên men cà phê

Sử dụng pectinase thô sản xuất bởi chủng *B. subtilis* VC1.1 lên men hạt cà phê. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng cà phê sau lên men trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Chất lượng của cà phê ở các điều kiện lên men khác nhau.

Loại enzyme	Hàm lượng chất khô hòa tan (°Brix)	Caffein (mg/100 mg)
Không dùng enzyme (ĐC-)	3,97±0,2 ^c	0,35±0,06 ^c
Pectinase thô	6,10±0,1 ^b	0,60±0,05 ^b
Viscozyme L (ĐC +)	7,53±0,1 ^a	0,84±0,08 ^a

Ghi chú: các chữ mũ khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác nhau là có ý nghĩa ở mức $\alpha=0,05$.

Kết quả cho thấy, hạt cà phê được lên men bằng enzyme (thô, thương mại) đều có hàm lượng chất khô hòa tan và hàm lượng caffein cao hơn so với cà phê không được lên men bằng enzyme. Kết quả này là do pectinase giúp phân giải pectin của hạt cà phê giải phóng chất rắn hòa tan và caffein, khiến hàm lượng hai chất này ở cà phê xử lý enzyme cao hơn so với cà phê không được xử lý. Viscozyme L cho hiệu quả xử lý hạt cà phê tốt hơn, bởi đây là một enzyme thương mại, trong thành phần không chỉ có pectinase mà còn có thêm cellulase, do vậy khi sử dụng enzyme này để lên men thì cả pectin và cellulose ở thành tế bào của hạt cà phê đều

bị phân giải, khiến hàm lượng chất khô hòa tan tổng số và caffein đều được giải phóng ra nhiều hơn. Tuy nhiên có thể thấy rằng, hiệu quả xử lý hạt cà phê của enzyme thô sản xuất với vi khuẩn *B. subtilis* VC1.1 trong nghiên cứu không thấp hơn quá nhiều so với enzyme thương mại, điều này cho thấy triển vọng ứng dụng của chủng vi khuẩn này trong quá trình lên men sản xuất cà phê, khi các yếu tố về điều kiện lên men được tối ưu và kiểm soát chặt chẽ hơn nữa.

4. Kết luận

Từ 5 mẫu đất và vỏ cà phê khô thu thập tại Tây Nguyên và Quảng Trị, nghiên cứu đã phân lập được 32 chủng vi khuẩn, trong đó đã tuyển chọn được 4 chủng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp pectinase cao. Các chủng sau đó đã được định danh dựa trên trình tự gen 16S rRNA, cho thấy chủng ĐA 2.7 và ĐA3.1 thuộc loài *Calidifontibacillus erzurumensis*; chủng ĐA4.1 thuộc loài *Bacillus stercoris* và chủng VC1.1 thuộc loài *Bacillus subtilis*. Sàng lọc được 1 chủng là *B. subtilis* VC1.1, có khả năng ứng dụng trong lên men sản xuất cà phê. Điều kiện lên men thích hợp cho quá trình sản xuất pectinase của chủng *B. subtilis* VC1.1 đã được xác định, hoạt độ enzyme pectinase cao nhất là 3,297 U/ml khi lên men chìm bằng ri đường ở pH 5,0, nhiệt độ 50°C và thời gian nuôi cấy 48 giờ. Pectinase thô sau đó được thử nghiệm ứng dụng trong lên men cà phê, sau lên men cà phê có hàm lượng chất khô hòa tan đạt 6,10°Brix và caffein đạt 0,6 mg/100 mg.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.T.T. Hien (2021), “Boosting Vietnam’s coffee exports to the EU under the EVFTA”, *Vietnam Trade and Industry Review*, **6**, pp.111-116 (in Vietnamese).
- [2] B.A. Vo, N.D. Luong (2010), “Study on receiving crude pectin from coffee pulp”, *Science & Technology Development*, **13**(2), pp.50-56 (in Vietnamese).
- [3] T.N. Hung (2019), “Using the viscous layer of coffee fruit to culture microorganism so as to receive enzyme pectinase for increasing transparency of wine”, *Thu Dau Mot University Journal of Science*, **1**(44), pp.34-43, DOI: 10.37550/tdmu.VJS/2020.01.011 (in Vietnamese).
- [4] S. Rebello, M. Anju, E.M. Aneesh, et al. (2017), “Recent advancements in the production and application of microbial pectinases: An overview”, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **16**, pp.381-394, DOI: 10.1007/s11157-017-9437-y
- [5] R. Singh, M. Kumar, A. Mittal, et al. (2016), “Microbial enzymes: Industrial progress in 21st century”, *Biotech*, **6**(2), DOI: 10.1007/s13205-016-0485-8.

- [6] T.Q. Dung, N.T.K. Co, N.T. Suong, et al. (2015), *Isolation and Screening of Aspergillus Niger Strains for Biosynthesis of Pectinase from Feels of Some Fruits: Banana, Apple, Mango, Dragon, and Carrot in Hue City*, The 6th National Scientific Conference on Ecology and Biological Resources, pp.1073-1077 (in Vietnamese).
- [7] N. Sharma, M. Rathore, M. Sharma, (2012), “Microbial pectinase: Sources, characterization and applications”, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **12**(1), pp.45-60, DOI: 10.1007/s11157-012-9276-9.
- [8] N.D. Luong, C. Cuong, N.A. Tuyet, et al. (2004), *Enzyme Technology*, Vietnam National University - Ho Chi Minh City Publishing House, 533pp (in Vietnamese).
- [9] P.T.N. Lan, N.T.B. Chau, N.T.M. Thu (2020), “Isolation and selection of pectinolytic bacterial strains from fruit peels”, *Hue University Journal of Science*, **17**(2), pp.83-90 (in Vietnamese).
- [10] N.X. Thanh, N. Duong, H. Hai (2007), *Soil Biology Textbook*, Education Publishing House, 269pp (in Vietnamese).
- [11] P.T.N. Lan, H.N. Thanh (2012), “Research on starch-degrading mold strains isolated from shrimp culture ponds at Sam - Chuon lagoon, Thua Thien Hue province”, *Hue University Journal of Science*, **73**(4), pp.147-156 (in Vietnamese).
- [12] G.L. Miller (1969), “Use of dinitrosilicylic acid reagent for determination of reducing sugar”, *Analytical 11-Chemistry*, **31**(3), pp.426-428, DOI: 10.1021/ac60147a030.
- [13] D.R. Motwani, V.C. Meshram, V.S. Jambhulkar (2013), “Partial characterization of pectinase produced by *Aspergillus niger* grown on wheat bran”, *International Journal of Scientific & Engineering Research*, **4**(12), pp.345-365.
- [14] J. Marc, C. Lemaire, V.V. Bagnis, et al. (2003), “Direct sequencing method for species identification of canned sardine and sardine-type products”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**(25), pp.7326-7332, DOI: 10.1021/jf034652t.
- [15] P. Filipe, C. Lemaire, V.V. Bagnis, et al. (2008), “Identification of species with DNA-based technology: Current progress and challenges”, *Recent Patents on DNA and Gene Sequences*, **2**(3), pp.187-200, DOI: 10.2174/187221508786241738.
- [16] D.J. Lane (1991), *16S/23S rRNA Sequencing, Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, John Wiley and Sons, pp.115-175.
- [17] N.Q. Duy, N.T.X. Quynh, T.T.T. Huong, et al. (2017), “Pectinase production by *Bacillus subtilis* on different fermentation modes and its application on coffee treatment”, *International Journal of Modern Engineering Research*, **7**(9), pp.50-55.
- [18] G. Tripathi, J. Zoya, Sushma, et al. (2014), “Pectinase production and purification from *Bacillus subtilis* isolated from soil”, *Advances in Applied Science Research*, **5**(1), pp.103-105.
- [19] R.M.L. Ragione, G. Casula, S.M. Cutting, et al. (2001), “*Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* O78:K80 in poultry”, *Vet Microbiol.*, **79**(2), pp.133-142, DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00350-3.
- [20] R.M.L. Ragione, M. J. Woodward (2003), “Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype enteritidis and clostridium perfringens in young chickens”, *Vet Microbiol.*, **94**(3), pp.245-256, DOI: 10.1016/S0378-1135(03)00077-4.
- [21] I.S. Khatri, T.N. Ramya, S. Subramanian (2016), “Complete genomes of *Bacillus coagulans* S-lac and *Bacillus subtilis* TO-A JPC, two phylogenetically distinct probiotics”, *PLOS ONE*, **11**(6), DOI: 10.1371/journal.pone.0156745.
- [22] G.Y. Yu, J.B. Sinclair, G.L. Hartman (2009), “Production of iturin a by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*”, *Soil Biology and Biochemistry*, **34**(7), pp.955-963, DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00027-5.
- [23] J. Prajapati, P. Dudhagara, K. Patel (2021), “Production of thermal and acid-stable pectinase from *Bacillus subtilis* strain BK-3: Optimization, characterization, and application for fruit juice clarification”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **35**, DOI: 10.1016/j.bcab.2021.102063.
- [24] N. Torimiro, R.E. Okonji (2013), “A comparative study of pectinolytic enzyme production by *Bacillus* species”, *African Journal of Biotechnology*, **12**(46), pp.6498-6503, DOI: 10.5897/AJB2013.12421.

Đánh giá biểu hiện của phân tử microRNA *osa-miR160a* trên các giống lúa chống chịu và mẫn cảm với nấm *Magnaporthe oryzae* gây bệnh đạo ôn

Nguyễn Bằng Phi^{1,2*}, Nguyễn Đoàn Nguyên Phương^{1,3}, Nguyễn Ngọc Bảo Châu⁴, Nguyễn Bảo Quốc^{1,5}

¹Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh, khu phố 6, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trường Đại học Thủ Dầu Một, 6 Trần Văn On, phường Phú Hoà, TP Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương, Việt Nam

³Viện Khoa học Sự sống Nano, Trường Đại học Kanazawa, Kakuma-machi, Kanazawa 920-1192, Nhật Bản

⁴Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh, 97 Võ Văn Tần, phường 6, quận 3, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁵Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường, Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh, khu phố 6, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 5/1/2023; ngày chuyển phản biện 9/1/2023; ngày nhận phản biện 9/2/2023; ngày chấp nhận đăng 1/3/2023

Tóm tắt:

Bệnh đạo ôn ở lúa do nấm *Magnaporthe oryzae* gây ra làm thiệt hại năng suất lúa mỗi năm đủ để nuôi sống 60 triệu người. Những nghiên cứu gần đây cho thấy, các phân tử microRNAs liên quan đến khả năng chống chịu với nấm *M. oryzae*. Trong đó, *osa-miR160* được báo cáo là có vai trò điều hòa tăng hiệu quả chống chịu nấm *M. oryzae* bằng cách kiểm soát các gen đáp ứng với auxin, *ARFs* (auxin response transcription factors) trên cây lúa. Trong nghiên cứu này, các tác giả phân tích và đánh giá mức độ tích lũy của *osa-miR160a* trên các giống lúa mẫn cảm và chống chịu với bệnh đạo ôn được trồng tại Việt Nam dựa trên kỹ thuật qRT-PCR. Mặc dù mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* có sự thay đổi khác nhau giữa các giống lúa tại các thời điểm sau khi nhiễm (hpi), nhưng chỉ tại thời điểm 24 hpi mới có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về biểu hiện của *osa-miR160a* giữa nhóm lúa kháng và nhóm lúa mẫn cảm với bệnh đạo ôn. Mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* ở thời điểm 24 hpi trên nhóm lúa kháng cao gấp 2,6 lần so với trên nhóm lúa mẫn cảm. Kết quả này cho thấy, *osa-miR160a* là một chỉ thị phân tử tiềm năng trong việc đánh giá khả năng chống chịu với nấm *M. oryzae* của các giống lúa trồng tại Việt Nam hiện nay.

Từ khóa: bệnh đạo ôn, *Magnaporthe oryzae*, microRNA, *osa-miR160a*, qRT-PCR.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.1, 4.6

Expression profile of microRNA *osa-miR160a* in *Magnaporthe oryzae* resistant and susceptible rice cultivars

Bang Phi Nguyen^{1,2*}, Doan Nguyen Phuong Nguyen^{1,3}, Ngoc Bao Chau Nguyen⁴, Bao Quoc Nguyen^{1,5}

¹Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Neighborhood 6, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Thu Dau Mot University, 6 Tran Van On Street, Phu Hoa Ward, Thu Dau Mot City, Binh Duong Province, Vietnam

³Nano Life Science Institute (WPI-NanoLSI), Kanazawa University, Kakuma-machi, Kanazawa 920-1192, Japan

⁴Faculty of Biotechnology, Ho Chi Minh City Open University, 97 Vo Van Tan Street, Ward 6, District 3, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁵Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Neighborhood 6, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 5 January 2023; revised 9 February 2023; accepted 1 March 2023

Abstract:

Rice blast is caused by the fungus *Magnaporthe oryzae* due to rice blast enough to feed 60 million people. Recent studies have shown that microRNAs are involved in the rice immunity against *M. oryzae*. In which, *osa-miR160* was reported to play a role in upregulating resistance to *M. oryzae* through the inhibition of auxin response transcription factors (*ARFs*) genes. In this study, we analysed and evaluated the expression level of *osa-miR160a* on blast-resistant and susceptible rice groups grown in Vietnam by the qRT-PCR method. Although the expression of *osa-miR160a* showed different levels of change in rice cultivars at different hours post-inoculation (hpi), only at 24 hpi was there a statistically significant difference in the *osa-miR160a* expression between blast-resistant and susceptible rice groups. The expression level of *osa-miR160a* at 24 post-inoculation (hpi) in the blast-resistant rice group was 2.6 times higher than in the susceptible group. The result showed that *osa-miR160a* would be a potential molecular marker in assessing the resistance against *M. oryzae* of different rice cultivars grown in Vietnam.

Keywords: *Magnaporthe oryzae*, microRNA, *osa-miR160a*, qRT-PCR, rice blast.

Classification numbers: 1.6, 4.1, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: phinb@tdmu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Bệnh đạo ôn trên lúa do nấm *M. oryzae* gây ra (nhiều tài liệu ghi nấm *Pyricularia grisea* gây bệnh đạo ôn). Ước tính sản lượng lúa bị thiệt hại do bệnh đạo ôn gây ra đủ để nuôi sống 60 triệu người [1]. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, microRNA (miRNA) tham gia vào các quá trình sinh lý, sinh hóa và miễn dịch ở cây lúa [2]. Hiện nay, có hơn 60 miRNAs ở cây lúa liên quan đến quá trình lây nhiễm của nấm *M. oryzae* đã được mô tả chức năng [3, 4]. Các miRNAs này được xếp thành 2 nhóm: điều hòa tăng và điều hòa giảm khả năng chống chịu với nấm *M. oryzae*. Trong đó, *osa-miR160* thuộc nhóm miRNA thúc đẩy tăng cường hiệu quả chống chịu nấm *M. oryzae* ở lúa [5]. *Osa-miR160* là một họ miRNA bảo tồn cao trên thực vật, có chức năng chính trong việc điều hòa họ gen *ARFs* ở cây trồng [6]. Trên lúa, sự tăng cường tích lũy của *osa-miR160* giúp đẩy mạnh khả năng kháng nấm *M. oryzae* bằng cách kiểm soát biểu hiện của các mRNA mục tiêu *ARF8*, *ARF10*, *ARF13*, *ARF18* và *ARF22* [3]. Mặt khác, các gen *ARFs* cũng tham gia vào con đường điều hòa sinh trưởng ở cây trồng liên quan đến tín hiệu auxin, vì vậy khi cây lúa có biểu hiện *osa-miR160* tăng quá mức thường mang các đặc điểm bất lợi như hạt nhỏ, lá xoắn và lùn [7]. *osa-miR160* có thể được tổng hợp từ 6 vị trí khác nhau trên hệ gen của cây lúa, tuy nhiên chỉ duy nhất 3 đồng dạng miRNA trưởng thành có biểu hiện là *osa-miR160a*, *osa-miR160e* và *osa-miR160f* [3].

Nghiên cứu của W. Liu và cs (2014) [1] cho thấy, sự gia tăng biểu hiện của *osa-miR160a* trên cây lúa thúc đẩy khả năng chống chịu với nấm *M. oryzae* bằng cách kích hoạt một số cơ chế như: tăng nồng độ H_2O_2 , tăng cường hoạt hóa các gen kháng *OsPR1*, *OsPR10*... Tuy vậy, tiềm năng ứng dụng giá trị biểu hiện của *osa-miR160a* như một công cụ phân loại trong sàng lọc các giống lúa chống chịu với nấm *M. oryzae* vẫn chưa đầy đủ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu mức độ tích lũy của *osa-miR160a* được đánh giá ở 10 giống lúa thuộc hai nhóm miễn cảm và chống chịu với nấm bệnh đạo ôn ở các hpi bằng phương pháp qRT-PCR. Các kết quả đạt được sẽ góp phần hỗ trợ cho các quy trình hiện tại trong công tác phân biệt và cải tiến giống lúa tại Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Các giống lúa, mẫu nấm đạo ôn và môi trường nuôi cấy

Trong nghiên cứu này, 10 giống lúa đã được lựa chọn, bao gồm 5 giống chống chịu và 5 giống miễn cảm với nấm *Magnaporthe oryzae* (bảng 1). Các giống lúa thuộc nhóm chống chịu hoặc miễn cảm với nấm *Magnaporthe oryzae* được lựa chọn dựa vào kết quả ở các nghiên cứu trước đây [8].

Thí nghiệm gây bệnh nhân tạo được tiến hành bằng mẫu nấm *Magnaporthe oryzae* LBT2, theo phương pháp đã được mô tả trước đó [8]. Mẫu nấm *M. oryzae* LBT2 được giữ trong môi trường PDA (potato dextrose agar) vài tháng cho thí nghiệm chủng bệnh.

Bảng 1. Khu vực thu mẫu và phân loại các nhóm lúa trong nghiên cứu.

Nhóm lúa	Tên giống	Phân loại	Vị trí thu nhận
Nhóm lúa kháng với nấm <i>M. oryzae</i>	RVT	Giống thơm	Đồng bằng sông Cửu Long
	ST5	Giống thơm	Đồng bằng sông Cửu Long
	IR 50404	Giống thường	Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (International Rice Research Institute -IRRI)
	OM9582	Giống thơm	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long
	Tè Tép	Giống thường	Đồng bằng sông Cửu Long
Nhóm lúa miễn cảm với nấm <i>M. oryzae</i>	Jasmine 85	Giống cao sản	Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (International Rice Research Institute -IRRI)
	OM4900	Giống lai	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long
	OM7347	Giống lai	Đồng bằng sông Cửu Long
	OM344	Giống cao sản	Viện lúa Đồng bằng sông Cửu Long
	OM576	Giống lai	Đồng bằng sông Cửu Long

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chiết xuất RNA: RNA tổng số (bao gồm miRNA) của mẫu lá nhiễm bệnh ở các thời điểm sau lây nhiễm khác nhau (0, 24, 48 và 72 hpi) được trích ly và thu nhận theo phương pháp Trizol (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ). Nồng độ RNA tổng số sau khi thu nhận được xác định bằng máy NanoDrop™ 1000 (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ). Nồng độ RNA trong mẫu được chuẩn hóa bằng DNaseI (Invitrogen, Hoa Kỳ). Cụ thể, 1 µg RNA tổng số được bổ sung với đệm DNase I 1X để đạt thể tích 50 µl, sau đó bổ sung DNase (200 U/ml) và ủ ở 37°C trong 10 phút. Phản ứng được bất hoạt bằng cách thêm EDTA (axit etylen diamine tetra acetic) 0,5 M, tiếp theo ủ ở 75°C trong 10 phút.

Phân tích mức độ biểu hiện của *osa-miR160a*: Mức độ biểu hiện tương đối của *osa-miR160a* được xác định bằng kỹ thuật qRT-PCR với kit SensiFAST SYBR No-ROX (Bioline, Anh) và các cặp primer đặc hiệu (*osa-miR160aF*: 5'GTGCCTGGCTCCCTGTATG3'; *osa-miR160aR*:

5'TTGCACGCCACCCAGTAG3') như trong mô tả của nghiên cứu trước đây [8]. Phản ứng Real-time PCR được tiến hành trên máy Mygo Pro (IT-IS Life Science Ltd, Vương quốc Anh) với chu trình: biến tính ban đầu ở 95°C trong 2 phút, 40 chu kỳ gồm biến tính ở 95°C trong 10 giây, bắt cặp ở 65°C trong 10 giây và kéo dài ở 72°C trong 20 giây, sau đó sản phẩm được bảo quản ở 10°C. Gen *OsUbi1* được sử dụng làm đối chứng nội vì có khả năng ổn định ở mọi tác động và trên các giống lúa khác nhau [8, 9]. Sự khác biệt trong mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* được ước lượng bằng phương pháp định lượng tương đối [10]. Trong đó, giá trị chu kỳ ngưỡng (Threshold cycle - Ct) là giá trị chu kỳ nhiệt khi hệ thống bắt đầu ghi nhận được tín hiệu phát ra từ phản ứng PCR vượt qua cường độ huỳnh quang nền. Do đó, giá trị Ct tương quan ngược với số lượng bản sao *osa-miR160a* trong mẫu ban đầu. Cụ thể, mẫu chứa càng ít bản sao *osa-miR160a* thì sẽ có Ct càng cao. Mức độ biểu hiện được đánh giá dựa trên giá trị $2^{-\Delta Ct}$ với $\Delta Ct = C_t$ của *osa-miR160a* - C_t của *OsUbi1*.

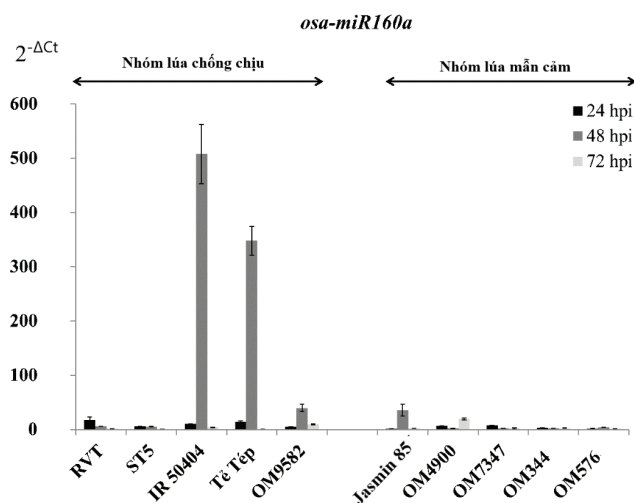
Phân tích thống kê: Giá trị nghiên cứu được trình bày dưới dạng trung bình (mean) $\pm$ độ lệch chuẩn. Phân tích dữ liệu biểu đồ boxplot được tiến hành bằng phương pháp kiểm định Tukey's test. Phân tích sự khác biệt giữa 2 nhóm lúa kháng và mẫn cảm dựa trên bác bỏ giả thuyết H_0 bằng phương pháp T-test ở mức độ thống kê $p < 0,05$. Công cụ thống kê được sử dụng là Microsoft Excel 2016 và Graphpad Prism 8.0.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* trên các giống lúa chống chịu và mẫn cảm với nấm *M. oryzae*

Mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* trên các giống lúa bị nhiễm nấm *Magnaporthe oryzae* được đánh giá bằng phản ứng qRT-PCR đối với mẫu lá lúa tại các thời điểm 24, 48 và 72 hpi. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, biểu hiện tăng của *osa-miR160a* được ghi nhận ở 3 giống lúa kháng (RVT, IR50404, Tè Tép) và (IR50404, Tè Tép, OM9582) ở thời điểm 24 và 48 hpi (hình 1).

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đây, trong đó sự biểu hiện của *osa-miR160a* được so sánh giữa giống lúa kháng (IRBLkm-Ts) và giống lúa mẫn cảm (LTH). Cụ thể, mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* trên IRBLkm-T cao gấp 4 lần so với giống LTH ở các thời điểm 12 và 24 hpi [5]. Biểu hiện của *osa-miR160a* liên quan đến sự kiểm soát các

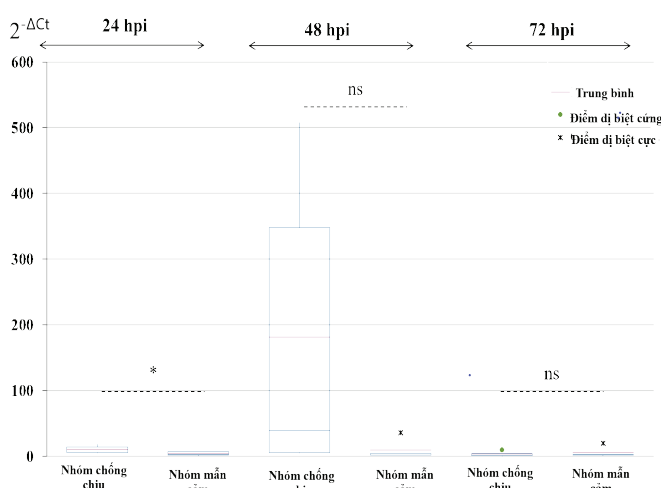


Hình 1. Sự biểu hiện của *osa-miR160a* trên các giống lúa nghiên cứu.

gen mã hóa nhân tố phiên mã đáp ứng auxin (*ARFs*) [7]. Các protein mã hóa bởi gen *ARFs* ở lúa có khả năng hoạt hóa hoặc ức chế biểu hiện của nhiều gen đáp ứng auxin thông qua việc tương tác với vùng điều hòa của yếu tố đáp ứng auxin (AuxRE) [7], trong đó, auxin là nhân tố chính tác động đến tính kháng nấm *M. oryzae* [5]. *Osa-miR160a* có khả năng kiểm soát 6/25 gen đích trong họ *ARFs* liên quan đến auxin [5]. Trong số đó, sự biểu hiện của *ARF10*, *ARF16* và *ARF17* được cho là có mối liên hệ với tính kháng của lúa [7, 11]. Tuy vậy, mức độ tích lũy của các gen còn lại là *ARF8*, *ARF18* và *ARF22* vẫn chưa được xác định là có mối liên hệ với khả năng chống chịu của cây lúa đối với sự xâm nhiễm của *Magnaporthe oryzae*. Do đó, sự biểu hiện của 3 gen này cần được đánh giá thêm vì sự tích lũy của chúng có thể thay đổi ở cả giống lúa kháng và giống lúa mẫn cảm. Sự dao động trong biểu hiện và mức độ tích lũy của các gen này cũng có thể dẫn đến sự thay đổi về khuynh hướng biểu hiện và tích lũy của *osa-miR160a* trên các giống khác nhau ở hai nhóm lúa nghiên cứu.

3.2. Giá trị chẩn đoán của *osa-miR160a* trên các giống lúa chống chịu và mẫn cảm với bệnh đạo ôn

Phân tích biểu đồ hộp các giá trị $2^{-\Delta Ct}$ của *osa-miR160a* được tiến hành trên cả hai nhóm lúa chống chịu và mẫn cảm với *Magnaporthe oryzae* tại các thời điểm 24, 48 và 72 hpi. Kết quả cho thấy, biểu hiện của *osa-miR160a* tăng tại thời điểm 24 hpi trên các giống lúa thuộc nhóm chống chịu ($p < 0,05$, hình 2). Mặt khác, không tồn tại khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm lúa nghiên cứu ở các thời điểm 48 và 72 hpi (hình 2).



Hình 2. Giá trị biểu hiện của *osa-miR160a* ở hai nhóm lúa nghiên cứu ở các thời điểm 24, 48 và 72 hpi sau lây nhiễm. Dấu * chỉ mức độ khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa 2 nhóm lúa ($p < 0,05$).

Chúng tôi cũng nhận thấy, sự gia tăng giá trị $2^{-\Delta C_t}$ của *osa-miR160a* trên các giống lúa chống chịu bệnh đạo ôn cao hơn 2,6 lần so với nhóm mẫn cảm với *Magnaporthe oryzae* (bảng 2).

Bảng 2. Giá trị biểu hiện $2^{-\Delta C_t}$ của các giống lúa trong nghiên cứu.

Giống lúa		24 hpi	48 hpi	72 hpi
Nhóm lúa chống chịu	RVT	17,87	5,96	1,08
	ST5	5,79	5,21	,54
	IR50404	10,16	507,61	3,84
	Tè tép	14,15	347,82	,89
	OM9582	4,63	39,65	9,89
Nhóm lúa mẫn cảm	Jasmine 85	1,12	35,83	2,18
	OM4900	7,06	1,92	19,46
	OM7347	7,48	2,16	2,06
	OM344	2,8	2,25	2,72
	OM576	1,76	4,21	1,16

Cụ thể, ở 24 hpi, giá trị $2^{-\Delta C_t}$ của *osa-miR160a* của các giống lúa chống chịu và mẫn cảm lần lượt là 10,52-17,87 và 4,04-7,48 (bảng 3).

Bảng 3. Mức độ biểu hiện $2^{-\Delta C_t}$ của *osa-miR160a* trên các nhóm lúa nghiên cứu ở 24 hpi.

Nhóm lúa	Số lượng	$2^{-\Delta C_t}$ trung bình	Giá trị tối thiểu	Q1	Trung vị	Q3	Giá trị tối đa
Chống chịu với <i>M. oryzae</i>	5	10,52	4,63	5,79	10,16	14,15	17,87
Mẫn cảm với <i>M. oryzae</i>	5	4,04	1,12	1,76	2,80	7,06	7,48

Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Y. Li và cs (2014) [5], trong đó chỉ ra sự khác biệt về mức độ tích lũy *osa-miR160a* giữa giống lúa chống chịu và mẫn cảm ở 24 hpi. Do vậy, việc xác định sự khác biệt ý nghĩa trong giá trị

biểu hiện của *osa-miR160a* trên hai nhóm lúa sẽ cung cấp kiến thức bổ ích, hỗ trợ chọn lọc và phân loại các giống lúa chống chịu hoặc mẫn cảm với *Magnaporthe oryzae* ở thời điểm 24 giờ sau lây nhiễm, góp phần vào công tác cải tiến giống tại Việt Nam.

4. Kết luận

Mức độ biểu hiện của *osa-miR160a* đã được xác định trên các giống lúa thuộc hai nhóm chống chịu và mẫn cảm với nấm *Magnaporthe oryzae*, tác nhân gây bệnh đạo ôn, tại các thời điểm 24, 48 và 72 hpi. Ở 24 hpi, biểu hiện của *osa-miR160a* ở nhóm lúa chống chịu cao hơn 2,6 lần so với nhóm lúa mẫn cảm. Điều này cho thấy, *osa-miR160a* hứa hẹn là một dấu ấn sinh học tiềm năng liên quan đến khả năng chống chịu với bệnh đạo ôn, là công cụ hữu ích trong công tác lai tạo và cải tiến các giống lúa tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] W. Liu, J. Liu, L. Triplett, et al. (2014), "Novel insights into rice innate immunity against bacterial and fungal pathogens", *Annual Review of Phytopathology*, **52**, pp.213-241, DOI: 10.1146/annurev-phyto-102313-045926.
- [2] J. Tang, C. Chu (2017), "MicroRNAs in crop improvement: Fine-tuners for complex traits", *Nature Plants*, **3**(7), pp.1-11, DOI: 10.1038/nplants.2017.77.
- [3] Y. Li, J. Jeyakumar, Q. Feng, et al. (2019), "The roles of rice microRNAs in rice - *Magnaporthe oryzae* interaction", *Phytopathology Research*, **1**(1), pp.33-35, DOI: 10.1186/s42483-019-0040-8.
- [4] S. Campo, F.S. Sanuy, R.C. Ramírez, et al. (2021), "A novel transposable element - derived microRNA participates in plant immunity to rice blast disease", *Plant Biotechnology Journal*, **19**(9), pp.1798-1811, DOI: 10.1111/pbi.13592.
- [5] Y. Li, Y. Lu, Y. Shi, et al. (2014), "Multiple rice microRNAs are involved in immunity against the blast fungus *Magnaporthe oryzae*", *Plant Physiology*, **164**(2), pp.1077-1092, DOI: 10.1104/pp.113.230052.
- [6] L. Wu, Q. Zhang, H. Zhou, et al. (2009), "Rice microRNA effector complexes and targets", *The Plant Cell*, **21**(11), pp.3421-3435, DOI: 10.1105/tpc.109.070938.
- [7] J. Huang, S. Kim, Y. Kim, et al. (2016), "Deregulation of the *OsmiR160* target gene *OsARF18* causes growth and developmental defects with an alteration of auxin signaling in rice", *Scientific Reports*, **6**(1), pp.1-14, DOI: 10.1038/srep34376.
- [8] N.B. Quoc, N.D.N. Phuong, H.T.T. Trang, et al. (2019), "Expression of *osa-miR7695* against the blast fungus *Magnaporthe oryzae* in Vietnamese rice cultivars", *European Journal of Plant Pathology*, **155**(1), pp.307-317, DOI: 10.1007/s10658-019-01772-5.
- [9] J. Bhattacharyya, A.H. Chowdhury, S. Ray, et al. (2012), "Native polyubiquitin promoter of rice provides increased constitutive expression in stable transgenic rice plants", *Plant Cell Reports*, **31**(2), pp.271-279, DOI: 10.1007/s00299-011-1161-4.
- [10] T.D. Schmittgen, K.J. Livak (2008), "Analyzing real-time PCR data by the comparative C_t method", *Nature Protocols*, **3**(6), pp.1101-1102, DOI: 10.1038/nprot.2008.73.
- [11] A.C. Mallory, B.J. Reinhart, M.W.J. Rhoades, et al. (2004), "MicroRNA control of PHABULOSA in leaf development: Importance of pairing to the microRNA 5' region", *The EMBO Journal*, **23**(16), pp.3356-3364, DOI: 10.1038/sj.emboj.7600340.

Tổng hợp vật liệu 2D-MXene-Ti₃C₂ bằng phương pháp ăn mòn chọn lọc MAX-Ti₃AlC₂ trong hydrogen fluoride

Cao Thị Hồng^{1,2}, Nguyễn Thị Thơm^{1*}, Phạm Thị Năm¹, Hoàng Thái Hà³, Đinh Thị Mai Thanh³, Trần Đại Lâm¹

¹Viện 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

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội, 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 1/6/2023; ngày chuyển phân biên 5/6/2023; ngày nhận phân biên 30/6/2023; ngày chấp nhận đăng 3/7/2023

Tóm tắt:

Vật liệu cấu trúc hai chiều mới - MXene là tên gọi của một số cacbua, nitrua hoặc cacbonitrua kim loại chuyển tiếp, có các tính chất độc đáo như mô đun Young cao, độ dẫn nhiệt, dẫn điện cao, bề mặt ưa nước, có khả năng hấp phụ cao và hấp phụ chọn lọc ion. Vật liệu này đang nhận được sự quan tâm nghiên cứu cho những ứng dụng rộng rãi trong tích trữ năng lượng, xúc tác, cảm biến, điện tử và xử lý môi trường. MXene thường được tổng hợp bằng ba phương pháp: ăn mòn, từ trên xuống và từ dưới lên. Trong đó, ăn mòn là phương pháp được sử dụng rộng rãi. Trong bài báo này, 2D-MXene-Ti₃C₂ được tổng hợp bằng phương pháp ăn mòn từ tiền chất MAX-Ti₃AlC₂ trong dung dịch HF. Ảnh hưởng của các thông số tổng hợp như nhiệt độ và thời gian tổng hợp đến các tính chất đặc trưng của vật liệu đã được khảo sát. Các kết quả thu được cho thấy, nồng độ HF 30%, nhiệt độ 35°C và thời gian 36 giờ là phù hợp để tổng hợp được 2D-MXene-Ti₃C₂ có sự tách lớp tốt. Sự ăn mòn chọn lọc nguyên tố Al được xác nhận từ kết quả gián đo nhiễu xạ tia X (EDX) với sự giảm 94,1% hàm lượng nhôm (từ 24,08 xuống còn 1,43%). Đồng thời, một cấu trúc phân lớp cũng được quan sát trên ảnh hiển vi điện tử quét (SEM).

Từ khóa: ăn mòn chọn lọc, MAX-Ti₃AlC₂, MXene-Ti₃C₂, tách lớp, vật liệu 2D.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.5

Synthesis of 2D-MXene-Ti₃C₂ by etching method from MAX-Ti₃AlC₂ in hydrogen fluoride solution

Thi Hong Cao^{1,2}, Thi Thom Nguyen^{1*}, Thi Nam Pham¹, Thai Ha Hoang³, Thi Mai Thanh Dinh³, Dai Lam Tran¹

¹Institute for Tropical Technology, 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 June 2023; revised 30 June 2023; accepted 3 July 2023

Abstract:

Novel materials of two-dimensional material - MXene are transition metal carbides, nitrides or carbonitrides, which have unique properties such as high Young's modulus, thermal conductivity, high electrical conductivity, hydrophilic surface, high adsorption capacity, and ion-selective adsorption. These materials are receiving research attention for applications in energy storage, catalysis, sensing, electronics and environmental remediation. MXene materials were usually synthesised by three methods, including etching, top-down and bottom-up. In which, etching is a common method that is used widely to synthesise MXene materials. In this article, 2D-MXene-Ti₃C₂ materials were synthesised by etching method from MAX-Ti₃AlC₂ in HF solution. The effects of synthesis parameters such as temperature and time on the characteristics of the materials were investigated. The obtained results show that the concentration of HF 30%, the temperature of 35°C and the time of 36 hours are suitable for synthesising 2D-MXene-Ti₃C₂ with good delamination. The Al elements were selected corrosion, which was confirmed by the results of energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) spectra with a decrease of 94.1% Al amount (from 24.08 to 1.43%). Simultaneously, a layered structure was observed on the scanning electron microscope (SEM) images of MXene materials.

Keywords: delamination, MAX-Ti₃AlC₂, MXene-Ti₃C₂, selective etching, 2D materials.

Classification numbers: 2.4, 2.5

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

1. Đặt vấn đề

Vùng Đồng bằng sông Cửu Long đang phải đối mặt với những thách thức lớn do biến đổi khí hậu và xâm nhập mặn, đặc biệt nguồn nước, an ninh lương thực. Việc phát triển các vật liệu và công nghệ tiên tiến ứng dụng trong xử lý nước mặn được xem là một trong những giải pháp hàng đầu giúp khu vực này ứng phó với tình trạng khan hiếm nước ngọt hiện nay.

Vật liệu 2D nhận được sự quan tâm kể từ năm 2004 khi các nhà khoa học khám phá ra graphene và sự tách lớp cũng như những ứng dụng của chúng [1]. Gần đây, một loại vật liệu mới là cacbua/nitrit kim loại chuyển tiếp hai chiều được gọi là Mxene [2], đã ngày càng thu hút sự chú ý vì tính độc đáo của chúng. Nhiều đặc tính nổi bật như mô đun Young cao, độ dẫn nhiệt/dẫn điện cao, bề mặt ưa nước, khả năng hấp phụ cao và hấp phụ chọn lọc ion nên chúng được ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực khác nhau như xúc tác, cảm biến sinh học và hóa học, siêu tụ điện, pin điện và hấp phụ [3-6].

Thông thường, MXene được tạo ra bằng cách ăn mòn có chọn lọc pha MAX [7], là một loại cacbua hoặc nitrua có công thức chung là $M_{n+1}AX_n$ ($n=1, 2, 3$), trong đó, M là kim loại chuyển tiếp, A thuộc nhóm IIIA hoặc IVA, X là C hoặc N [8, 9]. Trong pha MAX, liên kết M-A yếu hơn và có thể bị phá vỡ so với liên kết M-X [1, 10]. Do đó, MXene thường được tổng hợp thông qua việc loại bỏ các lớp liên kết yếu của nguyên tử A [11].

MXene thể hiện các tính chất khác nhau tùy thuộc vào điều kiện tổng hợp như kích thước và thành phần pha MAX, bản chất của chất ăn mòn, nồng độ chất ăn mòn, bản chất của dung môi, nhiệt độ tổng hợp, thời gian tổng hợp và thời gian siêu âm tách lớp... [12]. Tuy nhiên, các hạt MXene tổng hợp hầu hết được xếp chồng lên nhau tạo thành cấu trúc dạng tấm với kích thước lớn, điều này cản trở rất nhiều đến việc sử dụng đầy đủ các vật liệu này, dẫn đến hiệu quả hoạt động thấp [13]. Vì vậy, việc nghiên cứu tổng hợp ra các hạt nano MXene có cấu trúc tách lớp là một thách thức lớn.

Theo hiểu biết của chúng tôi, việc sử dụng HF là một lựa chọn tốt để tổng hợp MXene bằng phương pháp ăn mòn hóa học ướt vì khả năng phản ứng cao của nó. Hầu hết các kỹ thuật tổng hợp MXene bằng phương pháp này là ăn mòn chọn lọc nguyên tố "A" trong tiền chất MAX, được thực hiện bằng ít nhất ba bước chính: i) Xử lý MAX trong dung dịch chứa flo (như dung dịch HF hoặc hỗn hợp của muối florua và axit clohydric để tạo ra các hạt MXene xếp chồng lên nhau; ii) Sử dụng dung môi hữu cơ hoặc các cation để đan cài vào cấu trúc MXene, làm cho cấu trúc MXene phồng lên [14]; iii) Sử dụng sóng siêu âm để tách các lớp MXene.

Trong nghiên cứu này, vật liệu 2D-MXene- Ti_3C_2 đã được tổng hợp bằng phương pháp ăn mòn chọn lọc "etching" tiền chất MAX- Ti_3AlC_2 trong dung dịch HF. Ảnh hưởng của một số yếu tố như nhiệt độ và thời gian tổng hợp đến các tính chất đặc trưng của vật liệu 2D-MXene- Ti_3C_2 đã được nghiên cứu.

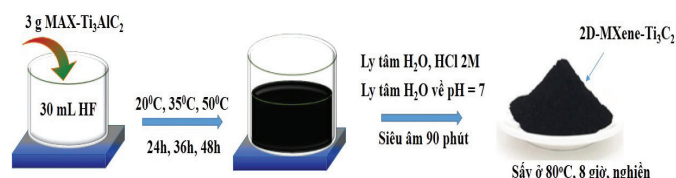
Vật liệu 2D-MXene- Ti_3C_2 tổng hợp được định hướng ứng dụng trong chế tạo điện cực composite xốp dẫn điện trên cơ sở carbon hoạt tính gáo dừa để xử lý nước nhiễm mặn tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long theo công nghệ điện dung khử ion (capacitive deionization - HCDI). Đây là một hướng nghiên cứu mới và tiềm năng có thể ứng dụng trong thực tiễn.

2. Thực nghiệm và phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất, thiết bị

Hóa chất MAX- Ti_3AlC_2 (98%, <200 μm), HF (48%) và HCl (37%) là sản phẩm của Hãng Sigma Aldrich (Hoa Kỳ). Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: cân phân tích 5 số Mettler Toledo (Đức), máy khuấy từ VELP (Ý), máy siêu âm S60H Elmasonic (Đức) và máy ly tâm Hermle Z366K (Đức).

2.2. Tổng hợp 2D-MXene- Ti_3C_2



Hình 1. Tổng hợp 2D-MXene- Ti_3C_2 bằng phương pháp etching trong dung dịch HF.

2D-MXene- Ti_3C_2 được tổng hợp bằng phương pháp ăn mòn chọn lọc "etching" từ tiền chất MAX- Ti_3AlC_2 trong dung dịch HF (hình 1). 3 g bột MAX- Ti_3AlC_2 được thêm vào 30 ml HF trong lọ nhựa PP dung tích 50 ml, sau đó đậy nắp lọ. Hỗn hợp này được đun cách thủy trên máy khuấy từ gia nhiệt với thời gian etching khác nhau (24, 36 và 48 giờ) ở nhiệt độ thay đổi (20, 35 và 50°C). Hỗn hợp được ly tâm rửa bằng nước cất với tốc độ 9000 vòng/phút trong 5 phút (3 lần), bằng dung dịch axit HCl 2 M (thực hiện 3 lần), sau đó ly tâm rửa bằng nước cất đến pH trung tính. Dung dịch chứa 2D-MXene- Ti_3C_2 được siêu âm 90 phút ở nhiệt độ phòng và ly tâm thu lấy chất rắn 2D-MXene- Ti_3C_2 . Mẫu 2D-MXene- Ti_3C_2 được sấy khô chân không ở 80°C trong 8 giờ, nghiền bằng cối mã não thu được dạng bột mịn màu đen.

2.3. Phân tích đặc trưng tính chất của MAX- Ti_3AlC_2 và 2D-MXene- Ti_3C_2

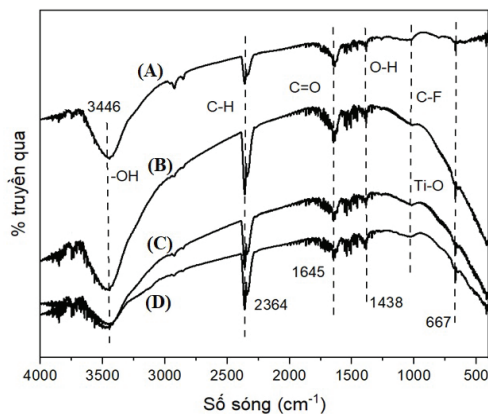
Các liên kết đặc trưng của MAX- Ti_3AlC_2 và MXene- Ti_3C_2 tổng hợp trong vùng bước sóng từ 600-4000 cm^{-1} được phân tích trên thiết bị NICOLET IS10 (Thermo Scientific, Mỹ). Hình thái học bề mặt và thành phần các nguyên tố của các vật liệu được phân tích bằng phương pháp SEM và phương pháp EDX sử dụng thiết bị Jeol 6490 JED 2300 (Jeol, Nhật Bản). Thành phần pha của MAX và MXene- Ti_3C_2 được phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) sử dụng bức xạ Cu K α ($\lambda=0,1546$ nm) ở 40 kV và 20 mA, bước quét 0,02°/s với 2 θ trong khoảng từ 5÷65°, được ghi trên thiết bị SIEMENS D5005 Bruker, Đức. Phổ Raman được sử dụng để xác định thành phần cấu trúc của vật liệu, được đo trên thiết bị quang phổ XploRA

PLUS confocal Raman microscope (Horiba, Nhật Bản). Diện tích bề mặt riêng được xác định dựa trên phương pháp đo đẳng nhiệt hấp phụ-khử hấp phụ khí N_2 ở 77K trên thiết bị TriStar II, Micromeritics, Hoa Kỳ.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ tổng hợp

Phổ FT-IR của MAX- Ti_3AlC_2 và MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở các nhiệt độ khác nhau 20°C, 35°C và 50°C được thể hiện trên hình 2. Nhìn chung, phổ IR của chúng đều có hình dạng tương tự nhau. Trên phổ quan sát thấy pic hấp thụ cực đại ở khoảng số sóng 3446 và 1438 cm^{-1} , được gán cho dao động của nhóm hydroxyl trong nước ẩm. Ngoài ra, pic ở 1645, 1097 và 667 cm^{-1} có thể được quy kết cho dao động biến dạng của liên kết C=O, Ti-O; C-F [15].

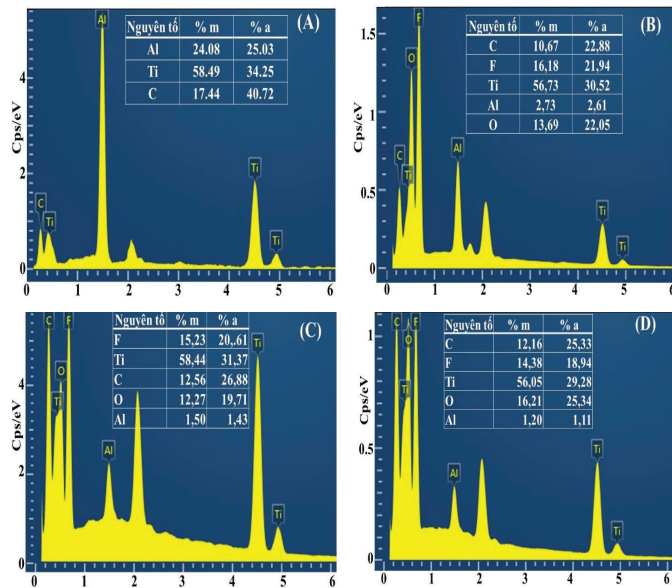


Hình 2. Phổ FT-IR của MAX- Ti_3AlC_2 (A) và 2D-MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở các nhiệt độ khác nhau: 20°C (B), 35°C (C) và 50°C (D) trong 48 giờ.

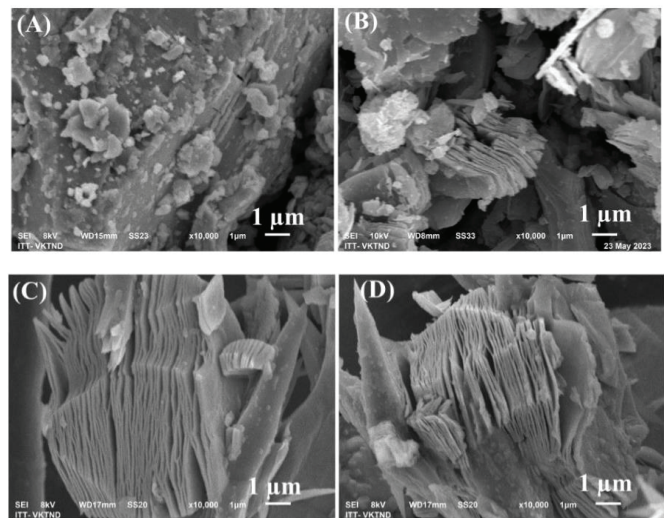
Thành phần các nguyên tố trong MAX- Ti_3AlC_2 và MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở nhiệt độ khác nhau, được phân tích sử dụng phương pháp EDX.

Trên hình 3A quan sát thấy, trên phổ EDX của MAX- Ti_3AlC_2 xuất hiện các pic đặc trưng cho nguyên tố Ti, C và Al với hàm lượng Al chiếm 24,08% theo khối lượng. Hàm lượng Al giảm đáng kể từ 24,08% xuống còn khoảng 1,1-2,6% sau quá trình ăn mòn được quan sát trong các mẫu MXene- Ti_3C_2 . Đây là kết quả của sự ăn mòn có chọn lọc nguyên tố Al, nó cho phép dự đoán về sự tách lớp trong cấu trúc của MXene (sẽ được quan sát bởi kết quả SEM bên dưới). Có thể thấy khi nhiệt độ tăng từ 20 lên 35°C, hàm lượng Al trong mẫu MXene giảm từ 2,73 xuống 1,50%. Tiếp tục tăng nhiệt độ phản ứng lên 50°C, hàm lượng Al giảm nhẹ từ 1,50 xuống 1,11% cho phép lựa chọn nhiệt độ 35°C là thích hợp để tổng hợp MXene. Ngoài ra, sự xuất hiện của O và F là kết quả của sự ăn mòn bởi HF.

SEM của MAX- Ti_3AlC_2 và 2D-MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở các nhiệt độ khác nhau được thể hiện trên hình 4. Ảnh SEM của MAX- Ti_3AlC_2 (hình 4A) có dạng hình tấm với cấu trúc có thể được phân lớp. Sau khi ăn mòn trong dung dịch HF, cấu trúc lớp được quan sát rất rõ. Đây là kết quả của sự ăn mòn có chọn lọc lớp nguyên tử Al xen giữa trong cấu trúc của MAX để tạo thành MXene. Luận giải này đã được chứng minh dựa trên kết quả đo EDX ở trên.



Hình 3. Phổ EDX của MAX- Ti_3AlC_2 (A) và 2D-MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở các nhiệt độ khác nhau: 20°C (B), 35°C (C) và 50°C (D) trong 48 giờ.

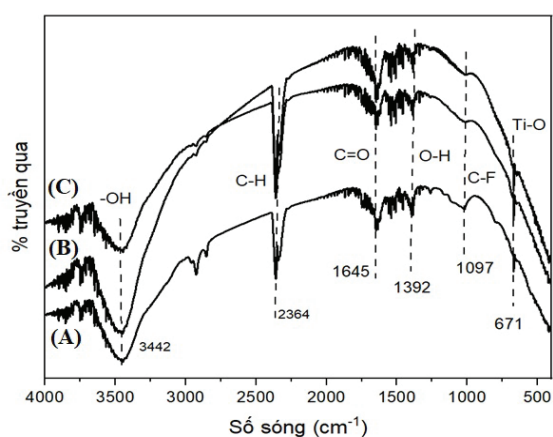


Hình 4. Ảnh SEM của MAX- Ti_3AlC_2 (A) và 2D-MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở các nhiệt độ khác nhau: 20°C (B), 35°C (C) và 50°C (D) trong 48 giờ.

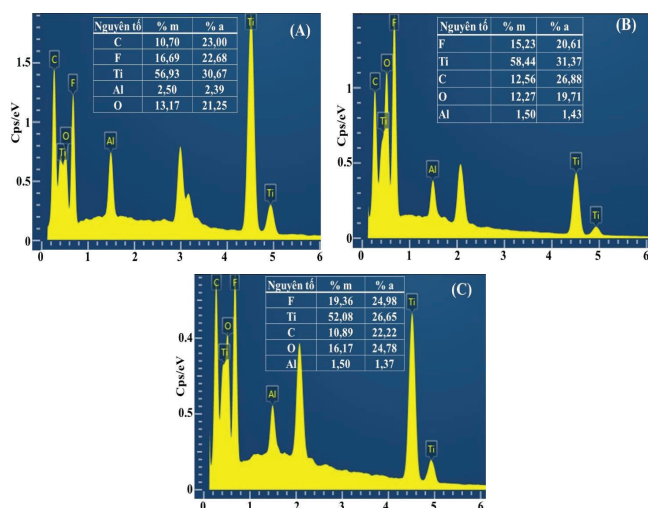
Từ kết quả EDX và ảnh SEM cho phép kết luận đã tổng hợp thành công vật liệu 2D-MXene- Ti_3C_2 bằng phương pháp ăn mòn MAX- Ti_3AlC_2 . Với cấu trúc tách lớp của 2D-MXene- Ti_3C_2 có thể dự đoán về sự tăng diện tích bề mặt riêng của các mẫu MXene so với mẫu MAX ban đầu. Kết quả về diện tích bề mặt riêng sẽ được minh chứng ở các nội dung nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của thời gian tổng hợp

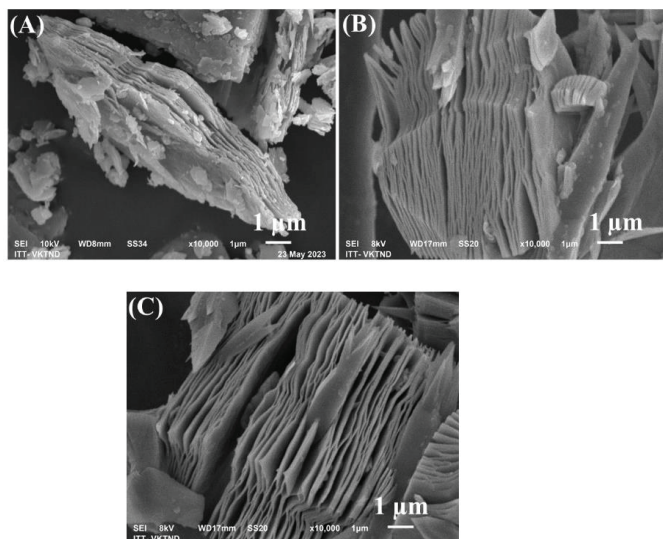
Phổ FT-IR của 2D-MXene- Ti_3C_2 tổng hợp ở 35°C với các thời gian khác nhau quan sát thấy các pic ở 3442, 1645, 1392, 1097 và 671 cm^{-1} có thể là do dao động làm các liên kết -OH, C=O, O-H, C-F và Ti-O kéo dài hơn nhưng vẫn phù hợp với các nghiên cứu trước đó [15] (hình 5).



Hình 5. Phổ FT-IR của 2D-MXene-Ti₃C₂ tổng hợp với các thời gian khác nhau: 24 giờ (A), 36 giờ (B) và 48 giờ (C).



Hình 6. Phổ EDX của các mẫu 2D-MXene-Ti₃C₂ tổng hợp với thời gian khác nhau: 24 giờ (A), 36 giờ (B) và 48 giờ (C).

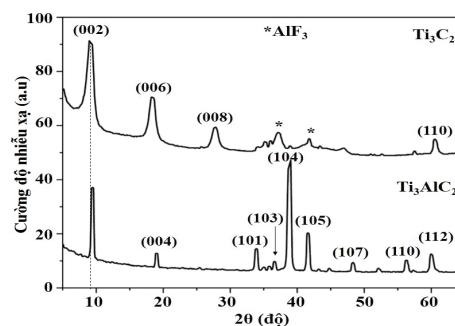


Hình 7. Ảnh SEM của 2D-MXene-Ti₃C₂ tổng hợp với thời gian khác nhau: 24 giờ (A), 36 giờ (B) và 48 giờ (C).

Thành phần các nguyên tố trong MXene tổng hợp ở thời gian khác nhau được thể hiện trên hình 6. Trên phổ EDX của các mẫu MXene tổng hợp ở các thời gian khác nhau quan sát thấy các pic đặc trưng cho Ti và C. Sự xuất hiện của O và F là kết quả của sự ăn mòn bởi HF. Hàm lượng nguyên tố Al giảm khi tăng thời gian tổng hợp từ 24 giờ lên 36 giờ (đạt 2,5 và 1,5% tương ứng). Tiếp tục tăng thời gian phản ứng lên 48 giờ, hàm lượng nhôm gần như không thay đổi. Ảnh SEM quan sát thấy sự tách lớp tốt của vật liệu sau quá trình ăn mòn (hình 7). Từ các kết quả này, chúng tôi lựa chọn thời gian 36 giờ là thích hợp để tổng hợp 2D-MXene-Ti₃C₂.

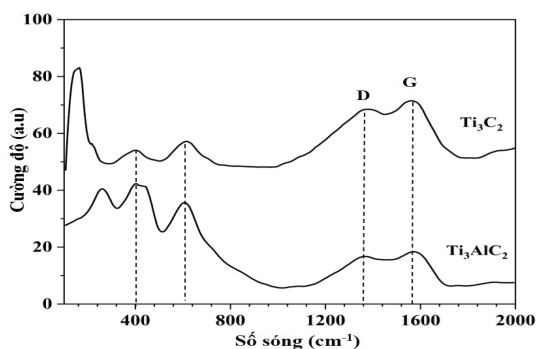
3.3. Đặc trưng của MAX-Ti₃AlC₂ và MXene-Ti₃C₂

Hình 8 trình bày giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu bột MAX-Ti₃AlC₂ và MXene-Ti₃C₂ được tổng hợp bằng phương pháp ăn mòn chọn lọc từ tiền chất MAX trong dung dịch axit HF. Các cực đại nhiễu xạ của vật liệu MAX được quan sát thấy ở $2\theta=9,5, 19, 34, 36,7, 38,9, 41,7, 48,3, 56,4, \text{ và } 60,1^\circ$. Trên giản đồ XRD của MXene-Ti₃C₂ do sự ăn mòn có chọn lọc của các lớp Al từ tiền chất MAX, các đỉnh đã có sự dịch chuyển các góc thấp hơn ($8,8^\circ$ và $18,2^\circ$). Sự dịch chuyển này dẫn tới khoảng cách d tăng lên (như được quan sát trong các ảnh SEM ở trên). Các sự gia tăng khoảng cách d là do sự mở rộng cấu trúc từ quá trình ăn mòn và sự thay thế đáng kể của Al bằng các nhóm kết thúc -F và -OH/=O. Hơn nữa, pic cực đại ở $2\theta=38,9^\circ$ gần như biến mất trong MXene-Ti₃C₂, xác nhận việc loại bỏ đáng kể các lớp Al khỏi Ti₃AlC₂. Đồng thời, một pic mới tại $27,7^\circ$ (008) được quan sát do sự hình thành của Ti₃C₂(OH)₂ [16]. Pic đặc trưng cho hợp chất AlF₃ tạo thành sau quá trình ăn mòn được ký hiệu bởi dấu (*) trên giản đồ. Kết quả này phù hợp với sự xuất hiện pic tương ứng cho nguyên tố F và O trong kết quả EDX ở trên.

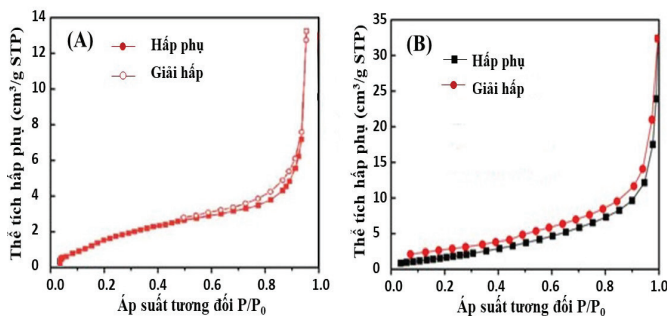


Hình 8. Giản đồ XRD của MAX-Ti₃AlC₂ và MXene-Ti₃C₂.

Phổ Raman của MAX-Ti₃AlC₂ (hình 9) quan sát thấy các đỉnh nằm ở khoảng số sóng 269, 423 và 613 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động của các nguyên tử Ti và Al [17]. Pic ở số sóng 269 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động của Al không được quan sát trên phổ của MXene-Ti₃C₂ do sự ăn mòn đáng kể của nguyên tử Al trong pha MAX. Ngoài ra, 2 đỉnh rộng khác được quan sát thấy trong khoảng 1000-1800 cm⁻¹ được gán cho dải D và G của carbon graphite. Cường độ hai dải này tăng trong mẫu MXene-Ti₃C₂ cho thấy các bề mặt đã tiếp xúc với nhiều carbon hơn, dự đoán về sự tăng cường đáng kể đặc tính truyền điện tích của lớp cacbua, thuận lợi cho việc cải thiện tính chất điện dung của vật liệu. Một pic với cường độ lớn ở số sóng khoảng 151 cm⁻¹ trên phổ của MXene-Ti₃C₂ có thể là do sự hình thành Ti₃C₂ bị oxy hóa [18].



Hình 9. Phổ Raman của MAX-Ti₃AlC₂ và MXene-Ti₃C₂.



Hình 10. Đường đẳng nhiệt hấp phụ N₂ của MAX-Ti₃AlC₂ (A) và 2D-MXene-Ti₃C₂ (B).

Bảng 1. Các thông số đặc trưng của MAX-Ti₃AlC₂ và 2D-MXene-Ti₃C₂.

Thông số	MAX-Ti ₃ AlC ₂	2D-MXene-Ti ₃ C ₂
Hình thái học bề mặt	Dạng hình tấm với cấu trúc có thể được phân lớp	Cấu trúc lớp
Hàm lượng Al (%m)	24,08	1,43
Thành phần pha	Ti ₃ AlC ₂	Ti ₃ C ₂ , AlF ₃ , Ti ₃ C ₂ (OH) ₂
Dao động đặc trưng	Ti, Al, carbon graphit	Ti, carbon graphit
Diện tích bề mặt riêng (m ² /g)	1,5981	9,3441
Thể tích vi mao quản (cm ³ /g)	0	0,000656
Tổng thể tích mao quản (cm ³ /g)	0,001094	0,00585
Độ rộng mao quản trung bình (nm)	2,3110	2,1954

Để minh chứng cho kết luận sự tách lớp trong cấu trúc của vật liệu MXene làm tăng diện tích bề mặt riêng của vật liệu so với tiền chất MAX, trong phần này phương pháp đẳng nhiệt hấp phụ N₂ theo phương pháp BET được sử dụng để xác định diện tích bề mặt riêng, kích thước lỗ xốp và thể tích lỗ xốp của vật liệu. Các thông số đặc trưng của vật liệu (diện tích bề mặt, tổng thể tích mao quản, đường kính mao quản) được trình bày trong hình 10 và bảng 1 cho thấy, diện tích bề mặt riêng của 2D-MXene-Ti₃C₂ tăng 5,8 lần so với vật liệu MAX (9,3441 và 1,5981 m²/g, tương ứng). Sự tăng diện tích bề mặt riêng theo BET được giải thích do quá trình ăn mòn trong dung dịch HF đã xảy ra ăn mòn có chọn lọc nguyên tố Al, làm cho cấu trúc vật liệu MXene có sự tách lớp, làm tăng độ xốp, tăng thể tích mao quản và vi mao quản của vật liệu.

4. Kết luận

Vật liệu 2D-MXene-Ti₃C₂ đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp ăn mòn chọn lọc từ tiền chất MAX-Ti₃AlC₂ trong dung dịch HF. Nghiên cứu này đã đưa ra được điều kiện thích hợp để tách lớp hiệu quả MXene-Ti₃C₂, sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian ăn

mòn đã được nghiên cứu. Bằng cách so sánh các tính chất của vật liệu tổng hợp được, chúng tôi đưa ra kết luận: nhiệt độ 35°C và thời gian 36 phút là tối ưu để thu được vật liệu MXene-Ti₃C₂ có sự tách lớp tốt.

LỜI CẢM ƠN

Nguyễn Thị Thơm được tài trợ bởi Chương trình Học bổng sau tiến sỹ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số: VINIF.2022.STS.44, đề tài cơ sở trẻ năm 2023 và được hỗ trợ bởi Bộ Khoa học và Công nghệ (ĐTĐLCN.66/22). Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Naguib, V.N. Mochalin, M.W. Barsoum, et al. (2014), "MXene: A new family of two-dimensional materials", *Advanced Materials*, **26**(7), pp.992-1005, DOI: 10.1002/adma.201304138.
- [2] Z. Otgonbayar, S. Yang, I.J. Kim, et al. (2023), "Recent advances in two-dimensional MXene for supercapacitor applications: Progress, challenges, and perspectives", *Nanomaterials*, **13**(5), pp.919-958, DOI: 10.3390/nano13050919.
- [3] Y. Wang, Z. Niu, Y. Dai, et al. (2023), "Two-dimensional nanomaterial MXenes for efficient gas separation: A review", *Nanoscale*, **15**, pp.4170-4194, DOI: 10.1039/D2NR06625D.
- [4] J. Chen, W. Fu, F.L. Jiang, et al. (2023), "Recent advances in 2D metal carbides and nitrides (MXenes): Synthesis and biological application", *Journal of Materials Chemistry B*, **11**, pp.702-715, DOI: 10.1039/D2TB01503J.
- [5] A.A.P.R. Perera, K.A.U. Madhushani, B.T. Punchihewa, et al. (2023), "MXene-based nanomaterials for multifunctional applications", *Materials*, **16**(3), pp.1138-1162, DOI: 10.3390/ma16031138.
- [6] N. Goel, A. Kushwaha, M. Kuma (2022), "Two-dimensional MXenes: Recent emerging applications", *RSC Advances*, **12**(39), pp.25172-25193, DOI: 10.1039/D2RA04354H.
- [7] M. Naguib, O. Mashtalir, J. Carle, et al. (2012), "Two-dimensional transition metal carbides", *ACS Nano*, **6**(2), pp.1322-1331, DOI: 10.1021/nn204153h.
- [8] P. Eklund, J. Rosen, P.O. Å. Persson (2017), "Layered ternary M_{n+1}AX_n phases and their 2D derivative MXene: An overview from a thin-film perspective", *Journal Physics D: Applied Physics*, **50**(11), pp.113001-113015, DOI: 10.1088/1361-6463/aa57bc.
- [9] V.M.N. Hong, H. Huang, K. Zhou, et al. (2017), "Recent progress in layered transition metal carbides and/or nitrides (MXenes) and their composites: Synthesis and applications", *Journal of Materials Chemistry A*, **5**, pp.3039-3068, DOI: 10.1039/C6TA06772G.
- [10] M. Khazaei, A. Ranjbar, K. Esfarjani, et al. (2018), "Insights into exfoliation possibility of MAX phases to MXenes", *Physical Chemistry Chemical Physics*, **20**, pp.8579-8592, DOI: 10.1039/C7CP08645H.
- [11] N.K. Chaudhari, H. Jin, B. Kim, et al. (2017), "MXene: An emerging two-dimensional material for future energy conversion and storage applications", *Journal of Materials Chemistry A*, **5**, pp.24564-24579, DOI: 10.1039/C7TA09094C.
- [12] M. Alhabeb, K. Maleski, B. Anasori, et al. (2017), "Guidelines for synthesis and processing of two-dimensional titanium carbide (Ti₃C₂T_x MXene)", *Chemistry of Materials*, **29**(18), pp.7633-7644, DOI: 10.1021/acs.chemmater.7b02847.
- [13] Y. Sun, H. Cheng, S. Gao, et al. (2012), "Freestanding tin disulfide single-layers realizing efficient visible-light water splitting", *Angewandte Chemie*, **51**(35), pp.8727-8731, DOI: 10.1002/ange.201204675.
- [14] J. Halim, M.R. Lukatskaya, K.M. Cook, et al. (2014), "Transparent conductive two-dimensional titanium carbide epitaxial thin films", *Chemical of Materials*, **26**(7), pp.2374-2381, DOI: 10.1021/cm500641a.
- [15] Q. Xue, H. Zhang, M. Zhu, et al. (2017), "Photoluminescent Ti₃C₂ MXene quantum dots for multicolor cellular imaging", *Advanced Materials*, **29**(15), pp.1604847-1604853, DOI: 10.1002/adma.201604847.
- [16] H. Wang, Y. Wu, J. Zhang, et al. (2015), "Enhancement of the electrical properties of MXene Ti₃C₂ nanosheets by post-treatments of alkalization and calcination", *Materials Letters*, **160**, pp.537-540, DOI: 10.1016/j.matlet.2015.08.046.
- [17] A. Sarycheva, Y. Gogotsi (2020), "Raman spectroscopy analysis of the structure and surface chemistry of Ti₃C₂T_x MXene", *Chemical of Materials*, **32**(8), pp.3480-3488, DOI: 10.1021/acs.chemmater.0c00359.
- [18] O. Kaipoldayev, Y. Mukhametkarimov, R. Nemkaeva, et al. (2017), "Studying of 2D titanium carbide structure by Raman spectroscopy after heat treatment in argon and hydrogen atmospheres", *Journal of Eurasian Chemistry Technology*, **19**(2), pp.197-200, DOI: 10.18321/ectj194.

Nghiên cứu tổng hợp xanh hóa nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth)

Nguyễn Quốc Trung^{1,2}, Nguyễn Anh Thu^{1,2}, Trịnh Thiên^{1,2}, Phạm Ngọc Thạch^{1,2,3}, Lê Hữu Thọ^{1,2,3*}, Võ Quốc Khương^{1,2*}

¹Khoa Hóa 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

³Phòng Thí nghiệm Phát hiện và Phát triển thuốc, 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 12/5/2023; ngày chuyển phản biện 16/5/2023; ngày nhận phản biện 26/5/2023; ngày chấp nhận đăng 11/6/2023

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, hạt nano bạc được tổng hợp xanh hóa với cao chiết cây Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth) có vai trò là tác nhân khử tiền chất bạc nitrate và polyvinyl pyrrolidone (PVP) là chất ổn định. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành và phát triển của hạt nano bao gồm nồng độ bạc nitrate, nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng được khảo sát với mục tiêu tạo ra hạt nano bạc có hình dạng và kích thước mong muốn. Điều kiện thích hợp để tổng hợp nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo bao gồm: nồng độ AgNO_3 0,030 M, nồng độ cao chiết là 2,50 mg/ml, thời gian phản ứng là 90 phút tại nhiệt độ phòng. Thông qua kết quả quang phổ - tử ngoại khả kiến (UV-Vis), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), kính hiển vi điện tử truyền qua phân giải cao (HR-TEM), kính hiển vi điện tử quét (SEM), phổ phân tán năng lượng tia X (EDS), tán xạ ánh sáng động (DLS) và thế zeta cho thấy đã tổng hợp thành công hạt nano bạc có dạng cầu, kích thước trung bình khoảng 47,1 nm. Nano bạc được tổng hợp từ cao chiết cây Cúc leo thân thiện với môi trường hứa hẹn sẽ mang lại nhiều tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

Từ khóa: *Mikania micrantha* Kunth, nano bạc, polyvinylpyrrolidone.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.9

Environmentally friendly synthesis of silver nanoparticles using *Mikania micrantha* Kunth extract

Quoc Trung Nguyen^{1,2}, Anh Thu Nguyen^{1,2}, Thien Trinh^{1,2}, Ngoc Thach Pham^{1,2,3}, Huu Tho Le^{1,2,3*}, Quoc Khuong Vo^{1,2*}

¹Faculty of Chemistry, 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

³Research Lab for Drug Discovery and Development, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 12 May 2023; revised 26 May 2023; accepted 11 June 2023

Abstract:

In this study, the synthesis of silver nanoparticles using a reduction method that incorporated *Mikania micrantha* Kunth extract as a natural reducing agent, alongside polyvinylpyrrolidone (PVP) for stabilisation purposes. Key factors that influence the size and morphology of the nanoparticles, including the concentrations of silver nitrate, extract concentration, and reaction time, were investigated with the goal of producing Ag nanoparticles with the desired shape and size. Optimal conditions for synthesising the silver nanoparticles from *Mikania micrantha* Kunth extract include using an AgNO_3 concentration of 0.030 M, an extract concentration of 2.50 mg/ml, and a reaction time of 90 minutes at room temperature. The results obtained from ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), transmission electron microscopy (TEM), high-resolution transmission electron microscopy (HR-TEM), scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), dynamic light scattering (DLS), and zeta potential analysis, silver nanoparticles were successfully produced with an average size of about 47.1 nm. The silver nanoparticles synthesised from *Mikania micrantha* Kunth are environmentally friendly and have promising applications for future developments in nanotechnology.

Keywords: *Mikania micrantha* Kunth, polyvinylpyrrolidone, silver nanoparticles.

Classification numbers: 2.4, 2.9

*Tác giả liên hệ: Email: lhtho@hcmus.edu.vn, vqkhuong@hcmus.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Công nghệ nano đã thu hút được nhiều sự quan tâm trong các lĩnh vực khoa học và công nghệ nhằm phát triển những vật liệu tiên tiến với đặc tính độc đáo [1]. Trong đó, nano bạc (AgNPs) được đặc biệt quan tâm nhờ sở hữu một số đặc tính vượt trội và ứng dụng đa dạng trong các lĩnh vực như điện tử, y học, xúc tác, sản xuất vải, lọc nước và kháng khuẩn [2-5]. Các phương pháp tổng hợp AgNPs bao gồm phương pháp vật lý và phương pháp hóa học. Các phương pháp vật lý đòi hỏi thiết bị phức tạp, chi phí vận hành cao và khó điều chỉnh kích thước hạt đồng đều. Các phương pháp khử hóa học thường được sử dụng phổ biến, tuy nhiên quy trình sử dụng các chất khử hóa học như sodium borohydride, hydrazine, hydroquinone trong dung môi hữu cơ độc hại làm hạn chế các ứng dụng của AgNPs trong lĩnh vực y sinh, gây tác động xấu đến môi trường và sức khỏe con người [6-8]. Do đó, việc tổng hợp xanh hóa nano bạc đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu.

Trong những năm gần đây, việc sử dụng các nguồn tài nguyên thiên nhiên, đặc biệt là cao chiết từ thực vật, tế bào vi sinh vật và các polyme sinh học đã phát triển như một giải pháp thay thế đầy hứa hẹn cho quá trình tổng hợp nano bạc [5]. Trong thực vật có một lượng lớn các hợp chất có hoạt tính sinh học như polyphenol và flavonoid, có đặc tính khử và khả năng ổn định tốt hạt nano tạo thành. Đồng thời, thực vật và chiết xuất của chúng an toàn để xử lý, ít độc hại và thân thiện với môi trường. Các hợp chất này có thể khử hiệu quả ion kim loại, kiểm soát sự phát triển cũng như độ ổn định của các hạt nano. Từ đó tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình tổng hợp AgNPs với kích thước, hình dạng và độ ổn định như mong muốn [9].

Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth) thuộc họ Cúc (Asteraceae), phân bố chủ yếu ở châu Âu, Ấn Độ, Đông Nam Á và các đảo thuộc khu vực châu Á - Thái Bình Dương [10]. Ở Việt Nam, cây Cúc leo được tìm thấy một số nơi như Tây Ninh, TP Hồ Chí Minh, Bình Dương và Kiên Giang [11]. Các nghiên cứu trước đây đã báo cáo về thành phần hóa học đa dạng gồm các hợp chất như polyphenol, flavonoid và terpenoid [12-14]. Thêm vào đó, cao chiết cây Cúc leo đã được báo cáo khả năng kháng oxy hóa, kháng khuẩn và điều trị ung thư [15]. Cúc leo hiện đang lan rộng và gây hại cho các loài sinh vật bản địa, gây mất cân bằng sinh thái trong vùng chúng xâm chiếm [16]. Do đó, nghiên cứu chiết tách các hợp chất và đánh giá khả năng tổng hợp nano bạc từ loài cây này là một hướng nghiên cứu tiềm năng, giúp tiết kiệm chi phí và nhằm khai thác một loài thực vật gây hại cho môi trường sinh thái. Nhóm nghiên cứu của A. Biswas và cs (2019) [16] đã thực hiện tổng hợp nano bạc thông qua cao

chiết nước cây Cúc leo ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ, không sử dụng chất hoạt động bề mặt, hạt nano thu được có độ đa phân tán rộng.

Nghiên cứu này khảo sát quá trình tổng hợp nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo, với mục tiêu cải thiện quy trình tổng hợp, tạo hạt nano bạc dạng cầu có kích thước nhỏ và độ ổn định cao. Cao chiết methanol cây Cúc leo được sử dụng là chất khử bạc nitrate và polyvinylpyrrolidone được sử dụng với vai trò là chất hoạt động bề mặt. Nồng độ bạc nitrate, nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng được khảo sát để tối ưu hóa quá trình tổng hợp. Các phương pháp như UV-Vis, TEM, HR-TEM, SEM, EDS, DLS và thế zeta đã được sử dụng để phân tích AgNPs. Hạt nano tạo thành trong phương pháp tổng hợp này có kích thước hạt tương đối nhỏ, cải thiện thời gian phản ứng và độ phân tán của hệ dung dịch keo.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Phần trên mặt đất cây Cúc leo được thu hái tại Dĩ An, Bình Dương vào tháng 6/2022. Mẫu tiêu bản được lưu giữ tại Bộ môn Hóa dược, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh (MDC9100). Bạc nitrate (AgNO_3 , 99,9%) được mua từ Merck (Đức). Polyvinylpyrrolidone (PVP, $M=30.000$ g/mol) có xuất xứ từ Sigma-Aldrich (Mỹ). Methanol (>99%) từ Scharlau (Thái Lan) và các hóa chất cần thiết khác với độ tinh khiết >99%.

2.2. Điều chế cao chiết cây Cúc leo

Phần trên mặt đất cây Cúc leo sau khi thu hái, được sấy khô ở 50°C cho đến khi khối lượng không đổi (độ ẩm <10%) và cắt nhỏ. Sau đó, 250 g Cúc leo được tiến hành chiết Soxhlet với dung môi methanol. Cao chiết thu được được cô quay chân không thu hồi dung môi và thu được cao chiết Cúc leo với độ ẩm 12,1%.

2.3. Định tính thành phần hóa học có trong cao chiết cây Cúc leo

Các thí nghiệm định tính các thành phần polyphenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, terpenoid và saponin được tiến hành theo “Kiểm nghiệm dược liệu” của N.T.T. Mai (2020) [17].

2.4. Tổng hợp nano bạc (AgNPs) từ cao chiết cây Cúc leo

Trong một quy trình điển hình, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (PVP) (1,0% w/v) được trộn với 2,0 ml dung dịch bạc nitrate AgNO_3 0,030 M. Đồng thời, cao

chiết cây Cúc leo được hòa tan trong nước khử ion ở nồng độ 2,00 mg/ml và điều chỉnh pH 9 bằng dung dịch NaOH 0,1 M. Sau đó, 8,0 ml dung dịch cao chiết trên được cho vào hỗn hợp trong khi khuấy từ với tốc độ 300 vòng/phút, tiếp tục khuấy thêm 30 phút để phản ứng xảy ra. Dung dịch chuyển dần từ vàng nhạt, đậm dần và sang vàng nâu. Nồng độ AgNO_3 , nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng được khảo sát với các điều kiện trong bảng 1.

Bảng 1. Yếu tố khảo sát quá trình tổng hợp AgNPs.

Yếu tố khảo sát	Nồng độ AgNO_3 (M)	Nồng độ cao chiết (mg/ml)	Thời gian phản ứng (phút)
Nồng độ AgNO_3	0,010; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030; 0,035	2,00	30
Nồng độ cao chiết	0,030	1,50; 1,75; 2,00; 2,25; 2,50; 2,75	30
Thời gian phản ứng	0,030	2,50	30, 60, 90, 120, 150

2.5. Phân tích đặc tính của AgNPs

Tính chất quang của dung dịch keo AgNPs: Quang phổ UV-Vis của dung dịch keo AgNPs được phân tích trên thiết bị UV-Vis NIR-V60 (Jasco, Nhật Bản). Phổ được quét trong khoảng bước sóng từ 350 đến 800 nm với tốc độ quét 200 nm/phút sử dụng cuvette thạch anh (độ rộng 1 cm).

Hình thái và kích thước hạt: Hình thái bề mặt hạt nano được quan sát bằng ảnh FE-SEM trên máy JEOL JSM-7600F (Mỹ) có tích hợp phổ tán sắc năng lượng EDS. Kích thước hạt được xác định bằng phần mềm ImageJ thông qua ảnh SEM. Phổ EDS được tiến hành để phân tích độ tinh khiết của sản phẩm AgNPs, mẫu được phân tích trên thiết bị JEOL JSM 7600F (Mỹ) tại thế hoạt động 30 kV.

Bên cạnh đó, kích thước của các hạt AgNPs được xác định bằng kỹ thuật tán xạ ánh sáng động (DLS), quá trình phân tích được thực hiện trên thiết bị Zetasizer SZ-100 (Horiba, Nhật Bản). Mẫu dung dịch keo AgNPs vừa tổng hợp được cho vào cuvette, tiến hành đo ở nhiệt độ 25°C, chế độ đo đa phân tán.

Phương pháp phân tích TEM được sử dụng để đánh giá hình thái hạt AgNPs, sử dụng thiết bị JEM-2100 (JEOL Ltd, Nhật Bản). Đầu tiên, dung dịch keo được phân tán trong ethanol được cho một lượng rất nhỏ lên trên lưới đồng phủ carbon (300 mắt lưới, Ted Pella, Inc., Redding, CA, Mỹ). Dung dịch được để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trước khi phân tích với kỹ thuật hiển vi điện tử. Phương pháp phân tích kính hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao (HR-TEM) được tiến hành trên JEOL ARM 200F (JEOL Ltd, Nhật Bản).

Thế zeta của dung dịch keo AgNPs: Thế zeta của dung dịch keo AgNPs được xác định ở khoảng nhiệt độ 25°C sử dụng thiết bị Zetasizer SZ-100 (Horiba, Nhật Bản). Cuvette 3 ml được sử dụng trong quá trình phân tích mẫu và quét ở thế điện cực 3,3 V.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Định tính thành phần hóa học có trong cao chiết cây Cúc leo

Phân tích định tính cao chiết cây Cúc leo được thực hiện nhằm nhận biết sự hiện diện của các nhóm chất polyphenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, terpenoid và saponin có trong cây Cúc leo. Như trong bảng 2, polyphenol, flavonoid, tanin, steroid và terpenoid là các nhóm chất có trong cao chiết cây Cúc leo, trong khi alkaloid và saponin không có.

Bảng 2. Kết quả định tính một số hợp chất tự nhiên có trong cao chiết cây Cúc leo.

Nhóm chất	Phương pháp	Hiện tượng	Kết quả
Polyphenol	Folin-Ciocalteu	Dung dịch màu xanh dương	+++
Flavonoid	$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	Kết tủa màu vàng	+++
Alkaloid	Dragendorff	Không hiện tượng	-
Tanin	FeCl_3	Kết tủa xanh dương	++
Steroid	Liebermann-Burchard	Dung dịch màu xanh dương	+++
Terpenoid	Salkowski	Vết nâu đỏ giữa 2 lớp dung dịch	+
Saponin	Tạo bọt	Không hiện tượng	-

Ghi chú: (-): Phản ứng âm tính; (+): Phản ứng dương tính; (++) : Phản ứng dương tính rõ; (+++) : Phản ứng dương tính rất rõ.

Công bố trước đây cho thấy, nhóm hợp chất polyphenol và flavonoid có các hoạt tính sinh học độc đáo như kháng khuẩn, kháng virus, kháng oxy hóa và kháng viêm. Đặc biệt, polyphenol có thể ức chế virus SARS-CoV-2 nhờ khả năng liên kết với các thụ thể trên bề mặt của virus [18, 19]. Tanin đã được chứng minh là có khả năng làm giảm tổn thương mô do thiếu máu cục bộ, ngăn ngừa cục máu đông, giảm cholesterol LDL (low-density lipoprotein) và tăng cholesterol HDL (high-density lipoprotein) [20]. Terpenoid có khả năng loại bỏ các gốc tự do và bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do stress oxy hóa. Quá trình này mang lại nhiều lợi ích khác nhau, bao gồm giảm nguy cơ mắc các bệnh mạn tính, chống ung thư, bảo vệ thần kinh và tim mạch [21]. Kết quả định tính cho thấy cây Cúc leo thu hái tại Việt Nam cũng có các nhóm chất tương tự với công bố trước đây [22]. Ngoài ra, các thành phần có trong cây Cúc leo như flavonoid, terpenoid và polyphenol có khả năng khử ion Ag^+ thành Ag^0 , do đó có thể được sử dụng để tổng hợp các hạt nano bạc (AgNPs) [23].

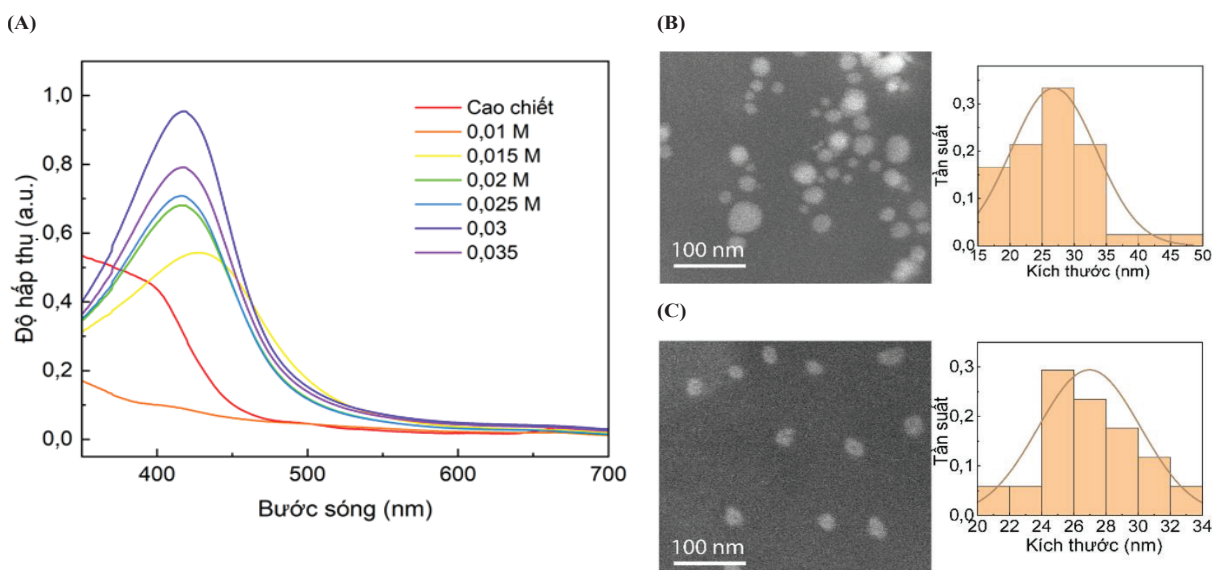
3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp AgNPs

Khảo sát ảnh hưởng nồng độ tiền chất AgNO_3 đến sự hình thành AgNPs: Nồng độ bạc nitrate đóng vai trò quan trọng trong sự hình thành hạt nano, do tiền chất đóng vai trò là nguồn cung cấp ion Ag^+ cho quá trình khử tạo hạt nano bạc, ảnh hưởng trực tiếp đến số lượng, kích thước, độ phân bố kích thước, và độ ổn định của hệ dung dịch keo. Để khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch AgNO_3 đến sự hình thành của các hạt AgNPs, các mẫu khác nhau được tổng hợp với nồng độ dung dịch AgNO_3 trong khoảng 0,010-0,035 M, thời gian phản ứng được giữ cố định trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, và nồng độ cao chiết cây Cúc leo trong nước là 2,00 mg/ml. Sự hình thành của dung dịch keo nano bạc được xác nhận thông qua quang phổ UV-Vis (hình 1A). Kết quả cho thấy, các mẫu dung dịch keo AgNPs được tổng hợp với nồng độ dung dịch AgNO_3 từ 0,015 đến 0,030 M xuất hiện đỉnh cộng hưởng plasmon bề mặt (SPR) tại 417 nm với cường độ hấp thụ tăng dần từ 0,68 đến 0,95 a.u.. Điều này dự đoán sự hình thành của các hạt nano bạc dạng cầu [24, 25] và độ hấp thụ tăng cho thấy lượng nano bạc tạo thành với hiệu suất cao nhất khi nồng độ Ag^+ sử dụng là 0,030 M. Khi nồng độ Ag^+ lên 0,035 M, cường độ đỉnh SPR tại 417 nm có sự giảm đáng kể còn 0,79 a.u., có thể giải thích là do ở nồng độ Ag^+ quá cao, không đủ lượng chất khử trong dung dịch để khử Ag^+ tạo thành các hạt nano bạc, từ

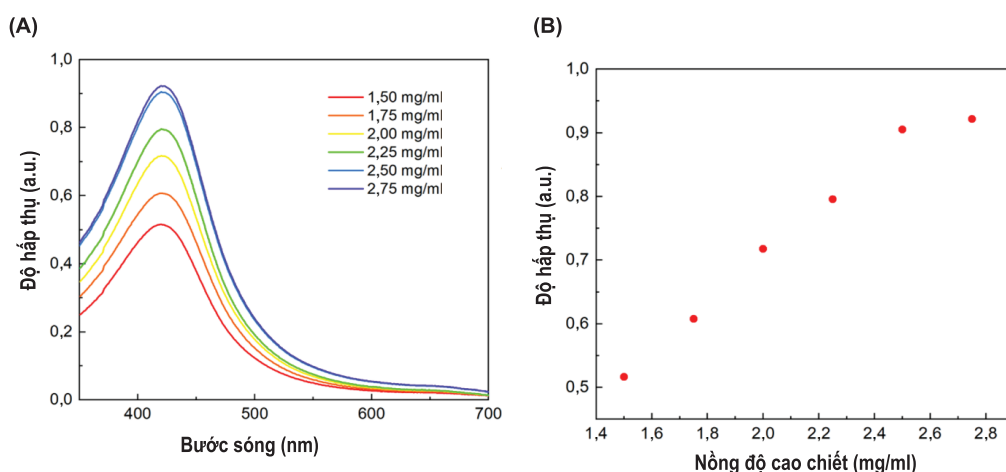
đó làm giảm sự hình thành của các hạt nano bạc. Ảnh SEM (hình 1B) của mẫu được tổng hợp với nồng độ Ag^+ 0,030 M xác nhận sự hình thành của dung dịch keo nano Ag dạng cầu với kích thước trung bình 26 ± 3 nm.

Mặt khác, tại nồng độ 0,015 M đỉnh SPR dịch chuyển đỏ sang vùng 427 nm, đỉnh hấp thụ không đối xứng và có cường độ tương đối thấp, điều này dự đoán rằng các hạt nano bạc hình thành với kích thước lớn hơn [26]. Kết quả SEM (hình 1C) tương ứng với nồng độ Ag^+ cho thấy, các hạt nano bạc hình thành với độ đa phân tán cao, kích thước trung bình khoảng 28 ± 7 nm. Khi nồng độ giảm xuống còn 0,01 M, hầu như không quan sát thấy đỉnh SPR trong vùng từ 300 đến 800 nm, cho thấy ở nồng độ ion Ag^+ thấp có thể dẫn đến số lượng nguyên tử Ag hình thành không đáng kể. Dựa vào kết quả quang phổ UV-Vis và ảnh SEM tương ứng có thể lựa chọn nồng độ AgNO_3 thích hợp là 0,03 M để thực hiện nghiên cứu khảo sát tiếp theo.

Ảnh hưởng nồng độ cao chiết đến sự hình thành của các hạt AgNPs: Trong quy trình tổng hợp, các thành phần trong cao chiết đóng vai trò chất khử giúp khử ion Ag^+ thành Ag^0 để hình thành các hạt nano bạc, đồng thời đóng vai trò chất bảo vệ giúp các hạt nano bạc ổn định trong dung dịch keo [23]. Chính vì vậy, để xác định nồng độ cao chiết thích hợp, các mẫu với nồng độ cao chiết thay đổi từ 1,50; 1,75; đến 2,75 mg/ml với điều kiện phản ứng như được mô tả trên bảng 1.



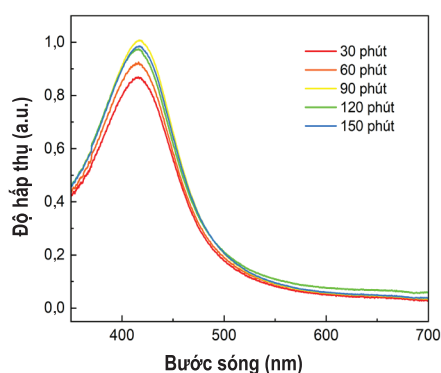
Hình 1. (A) Phổ tử ngoại khả kiến của các dung dịch keo AgNPs với nồng độ AgNO_3 thay đổi từ 0,010; 0,015 đến 0,035 M; ảnh kính hiển vi điện từ quét của AgNPs được tổng hợp ở nồng độ AgNO_3 0,015 M (B), nồng độ AgNO_3 0,030 M (C).



Hình 2. (A) Quang phổ hấp thụ từ ngoại khả kiến của các mẫu được tổng hợp với nồng độ cao chiết từ 1,50; 1,75; đến 2,50 mg/ml, nồng độ AgNO_3 0,030 M thời gian tổng hợp 30 phút, (B) Biểu đồ thể hiện độ hấp thụ cực đại theo nồng độ cao chiết.

Từ quang phổ UV-Vis (hình 2A), các mẫu cho thấy xuất hiện đỉnh SPR tại 419 nm và không có sự dịch chuyển khi tăng nồng độ cao chiết. Khi nồng độ cao chiết tăng dần từ 1,50 đến 2,50 mg/ml, cường độ hấp thụ tăng đáng kể. Có thể quan sát thấy, độ hấp thụ tăng tuyến tính với sự tăng nồng độ cao chiết (hình 2B). Điều này có thể giải thích do nồng độ cao chiết tăng cung cấp nồng độ chất khử lớn hơn để tạo ra nhiều hạt nano Ag hơn. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ cao chiết lên đến 2,75 mg/ml, cường độ hấp thụ không có sự thay đổi đáng kể, có thể do nồng độ cao chiết quá lớn trong khi lượng tiền chất AgNO_3 không đổi, quá trình khử tạo nano Ag đã chuyển toàn bộ lượng ion Ag^+ . Khi đó, không làm thay đổi đáng kể cường độ hấp thụ tại bước sóng tương ứng với plasmon bề mặt của hạt nano Ag. Do đó, nồng độ 2,50 mg/ml là nồng độ thích hợp cho quá trình tổng hợp AgNPs.

Ảnh hưởng thời gian phản ứng đến sự hình thành của các hạt AgNPs: Trong nghiên cứu tổng hợp hạt nano Ag



Hình 3. Quang phổ hấp thụ từ ngoại khả kiến của các mẫu tổng hợp với thời gian phản ứng từ 30 phút đến 150 phút, nồng độ cao chiết 2,50 mg/ml, nồng độ AgNO_3 0,030 M.

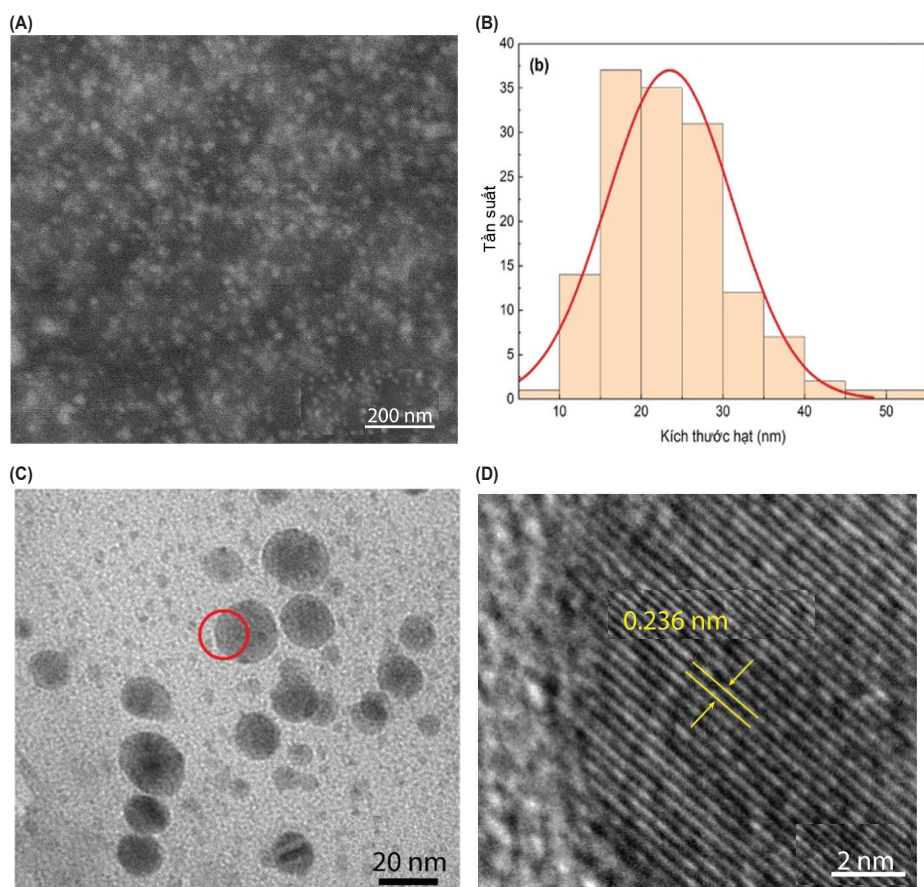
với cao chiết Cúc leo, nghiên cứu hướng đến cải thiện quy trình tổng hợp, giảm thời gian phản ứng và tăng hiệu quả tổng hợp hạt nano. Để khảo sát thời gian phản ứng thích hợp cho sự hình thành của dung dịch keo AgNPs, các mẫu với thời gian phản ứng khác nhau từ 30, 60, 90, 120 và 150 phút được tổng hợp. Trong đó, các điều kiện khác được giữ cố định với nồng độ dung dịch AgNO_3 0,030 M, nồng độ cao chiết cây Cúc leo là 2,50 mg/ml.

Kết quả được thể hiện thông qua quang phổ UV-Vis được trình bày ở hình 3 cho thấy các mẫu dung dịch keo nano bạc có đỉnh SPR nằm trong khoảng 416–418 nm và có độ hấp thụ cực đại tăng dần theo thời gian phản ứng từ 30 phút đến 90 phút ứng với nồng độ nano bạc tăng dần (hình 3). Tuy nhiên, sự thay đổi độ hấp thụ và dịch chuyển đỉnh từ 90 đến 150 phút là không đáng kể. Từ đó cho thấy thời gian tối ưu cho quá trình tổng hợp AgNPs với dịch chiết Cúc leo là 90 phút, sau thời gian này, phản ứng chuyển Ag^+ thành Ag^0 diễn ra không đáng kể.

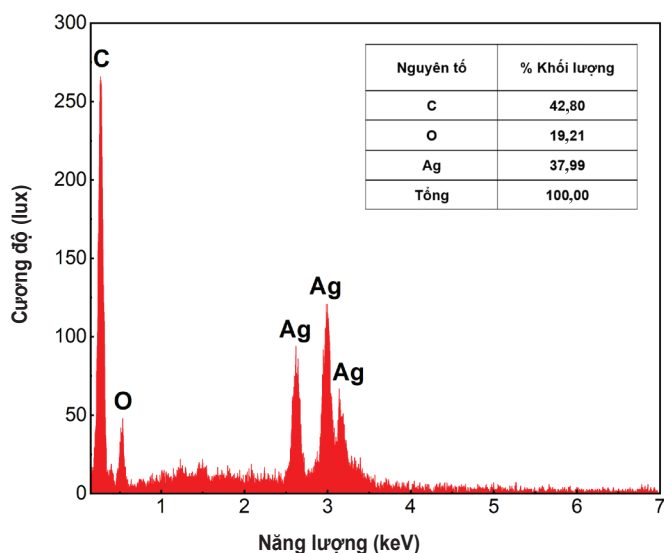
Từ kết quả thu được trong quá trình khảo sát các yếu tố ảnh hưởng, mẫu nano bạc được tổng hợp với điều kiện thích hợp bao gồm 2,0 ml AgNO_3 0,030 M, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (1,0 % w/v), 8,0 ml dịch chiết cây Cúc leo 2,50 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng. Hạt nano Ag được tổng hợp với điều kiện nêu trên được sử dụng cho các phương pháp phân tích hóa lý tiếp theo.

Hình dạng và kích thước nano bạc được quan sát thông qua ảnh SEM (hình 4A). Các hạt nano có dạng hình cầu, kích thước hạt trong khoảng với kích thước hạt trung bình là 24 ± 5 nm (hình 4B). Ngoài ra, hình thái của AgNPs còn được xác nhận thông qua ảnh TEM (hình 4C). Ảnh TEM độ phân giải cao (HR-TEM) được thể hiện trên hình 4D cho thấy khoảng cách giữa hai vân tinh thể là 0,236 nm tương ứng với mặt (111) của tinh thể nano bạc lập phương tâm diện [27]. Có thể thấy các hạt nano bạc hình thành có cấu trúc tinh thể cao.

Thành phần các nguyên tố có mặt trong mẫu nano bạc được đánh giá thông qua gián đồ EDS, được mô tả ở hình 5, cho thấy có sự xuất hiện của các đỉnh có giá trị từ 2,6 đến 3,2 keV, tương ứng với kim loại bạc. Hàm lượng nguyên tố Ag có trong mẫu chiếm tỷ lệ 37,99% về khối lượng. Ngoài



Hình 4. (A) Ảnh hiển vi điện tử quét (thang đo 200 nm), (B) Biểu đồ phân bố kích thước hạt, (C) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua, (D) Ảnh hiển vi điện tử truyền qua độ phân giải cao của mẫu AgNPs được tổng hợp ở điều kiện tối ưu.



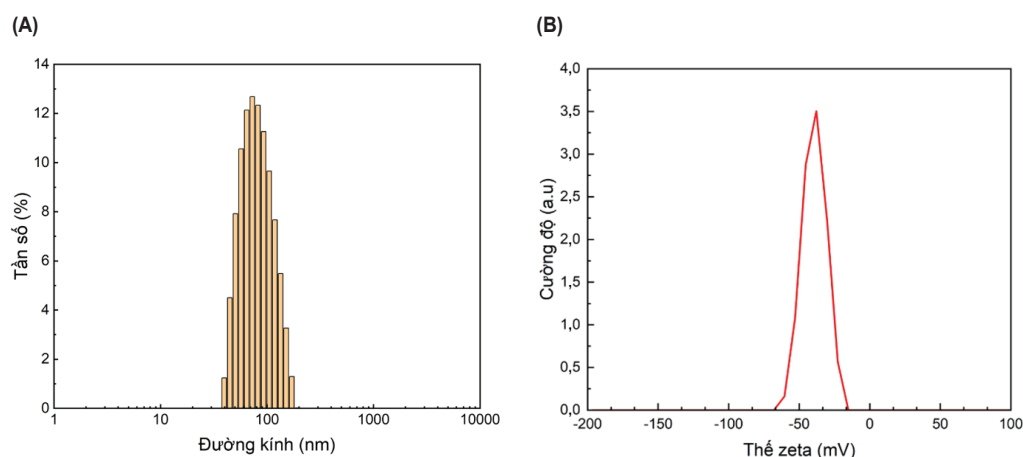
Hình 5. Giản đồ phân tán năng lượng tia X của mẫu AgNPs được tổng hợp với điều kiện 2,0 ml AgNO_3 0,030 M, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (1,0% w/v), 8,0 ml dịch chiết cây Cúc leo 2,50 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng.

ra, còn có sự xuất hiện đỉnh hấp thụ đặc trưng của các nguyên tố carbon và oxygen trong khoảng 0-0,5 keV. Điều này có thể dự đoán sự hiện diện của các hợp chất hữu cơ trong dịch chiết cúc leo và PVP trên bề mặt hạt nano bạc [28, 29].

Phương pháp phân tích tán xạ ánh sáng động (DLS) được dùng để đo kích thước thủy động lực học của các hạt bằng cách phân tích sự biến đổi của cường độ ánh sáng tán xạ dưới dạng một hàm của thời gian [30]. Đường kính hạt (nm) và chỉ số đa phân tán (PDI) là những tham số quan trọng trong việc đánh giá đặc tính của hạt nano [31, 32] đã được xác định thông qua phương pháp DLS. Giản đồ phân bố kích thước hạt của AgNPs được thể hiện trong hình 6A. Có thể thấy rằng, sự phân bố kích thước của AgNPs nằm trong khoảng từ 40 đến 190 nm. Kích thước hạt trung bình tính được là 47 nm với chỉ số PDI là 0,665, chứng tỏ kích thước hạt nano bạc tạo thành không đồng đều, phù hợp với kết quả ảnh SEM. Sự khác biệt về kích thước được phân tích từ ảnh SEM và kích thước thủy động lực học là do các lớp PVP và các hợp chất trong thành

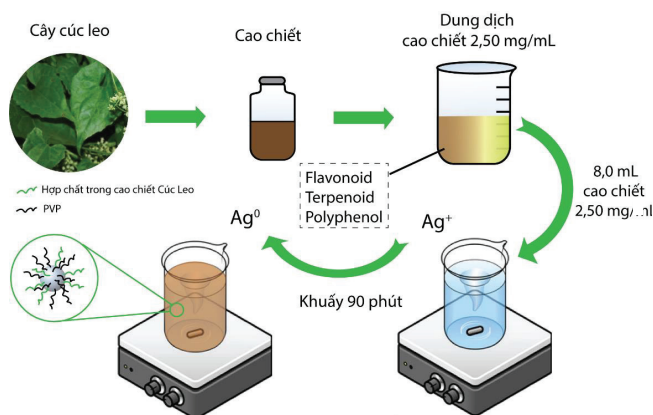
phần cao chiết hấp phụ trên bề mặt của hạt AgNPs, làm tăng đáng kể kích thước hạt khi xác định bằng DLS [30]. Ngoài ra, thế zeta của dung dịch keo AgNPs là -39,5 mV (hình 6B) cho thấy, sự tích điện âm của lớp phủ PVP trên bề mặt Ag [33]. Kết quả cho thấy, bề mặt của các hạt nano được tích điện âm nên dễ phân tán trong môi trường do lực đẩy tĩnh điện giữa các hạt [34, 35].

Nghiên cứu có nhiều cải tiến so với nghiên cứu của A. Biswas và cs (2019) [16] như sử dụng cao chiết methanol cây Cúc leo, chất bảo vệ là PVP giúp kiểm soát tốt hơn kích thước hạt nano tạo thành, phản ứng trong môi trường pH 9 giúp tăng khả năng khử của các hợp chất hữu cơ trong cao chiết, rút ngắn thời gian phản ứng trong 90 phút so với nghiên cứu trước đây (6 giờ). Một số công bố trước đây về thành phần hóa học của cao chiết cây Cúc leo cho thấy sự hiện diện của các hợp chất polyphenol [12], sesquiterpene lactone [36]. Polyphenol là chất khử mạnh với các nhóm hydroxyl có vai trò khử ion Ag^+ tạo thành nguyên tử Ag^0 ,



Hình 6. (A) Phân bố kích thước hạt và (B) thế zeta của AgNPs với điều kiện 2,0 ml AgNO_3 0,030 M, 14,0 ml dung dịch polyvinylpyrrolidone (1,0 % w/v), 8,0 ml dịch chiết cây Cúc leo 2,50 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng.

sau đó hình thành hạt nano bạc [32]. Bên cạnh đó, quá trình oxy hóa nhóm hydroxyl của polyphenol hay nhóm carbonyl có trong các hợp chất sesquiterpene lactone được tìm thấy trong cao chiết cây Cúc leo [13, 36] cũng có thể hoạt động với vai trò vừa là chất khử vừa là chất hoạt động bề mặt giúp cho các hạt nano ổn định trong dung dịch [31]. Nghiên cứu này thực hiện tổng hợp AgNPs tại pH 9, sự có mặt của các ion hydroxide (OH^-) có thể tăng cường khả năng khử của cao chiết, tạo điều kiện khử các ion Ag^+ thành AgNPs. Môi trường base đã được chứng minh là có lợi cho sự hình thành các hạt nano bạc đồng nhất và ổn định [30]. Sự hình thành của các hạt nano bạc có thể được mô tả trong hình 7.



Hình 7. Sơ đồ mô phỏng quy trình tổng hợp của dung dịch keo AgNPs từ cao chiết Cúc leo.

4. Kết luận

Các hạt nano bạc (AgNPs) được tổng hợp thành công từ cao chiết cây Cúc leo có dạng hình cầu, kích thước hạt trung bình khoảng 47,1 nm được đo bằng phương pháp DLS. Qua các thí nghiệm định tính, cao chiết cây Cúc leo thu hái tại Việt Nam có thành phần hóa học gồm nhóm polyphenol,

flavonoid, tanin, steroid và terpenoid. Đồng thời, sự ảnh hưởng của các yếu tố nồng độ AgNO_3 , nồng độ cao chiết và thời gian phản ứng đến sự hình thành của hạt nano bạc cũng được chứng minh. Các kết quả chỉ ra rằng, điều kiện thích hợp để tổng hợp AgNPs là AgNO_3 0,03 M, nồng độ cao chiết Cúc leo là 2,5 mg/ml, phản ứng trong 90 phút ở nhiệt độ phòng. Phương pháp tổng hợp AgNPs sử dụng cao chiết cây Cúc leo cho thấy khả

năng tổng hợp xanh hóa có thể thay thế cho các phương pháp tổng hợp khử hóa học truyền thống với nhiều loại hóa chất ảnh hưởng đến sức khỏe và môi trường, đem lại tiềm năng ứng dụng trong tương lai.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số U2022-13 và sự hỗ trợ về trang thiết bị, hóa chất của Phòng Thí nghiệm Hóa nano và Phòng Thí nghiệm Nghiên cứu phát hiện và Phát triển thuốc, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R.I. Barbhuiya, P. Singha, N. Asaithambi, et al. (2022), "Ultrasound-assisted rapid biological synthesis and characterization of silver nanoparticles using pomelo peel waste", *Food Chemistry*, **385**, DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132602.
- [2] M. Saravanan, A. Nanda (2010), "Extracellular synthesis of silver bionanoparticles from *Aspergillus clavatus* and its antimicrobial activity against MRSA and MRSE", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **77(2)**, pp.214-218, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2010.01.026.
- [3] M. Saravanan, A.K. Vemu, S.K. Barik (2011), "Rapid biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus megaterium* (NCIM 2326) and their antibacterial activity on multi drug resistant clinical pathogens", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **88(1)**, pp.325-331, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2011.07.009.
- [4] V. Kumar, S.C. Yadav, S.K. Yadav (2010), "*Syzygium cumini* leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization", *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **85(10)**, pp.1301-1309, DOI: 10.1002/jctb.2427.
- [5] L.P. Silva, I.G. Reis, C.C. Bonatto (2015), "Green synthesis of metal nanoparticles by plants: Current trends and challenges", *Green Processes for Nanotechnology: From Inorganic to Bioinspired Nanomaterials*, pp.259-275, DOI: 10.1007/978-3-319-15461-9_9.

- [6] K.C. Song, S.M. Lee, T.S. Park, et al. (2009), "Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method", *Korean Journal of Chemical Engineering*, **26**, pp.153-155, DOI: 10.1007/s11814-009-0024-y.
- [7] M.G. Guzmán, J. Dille, S. Godet (2009), "Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity", *International Journal of Chemical and Molecular Engineering*, **2(3)**, pp.104-111.
- [8] J. He, T. Kunitake, A. Nakao (2003), "Facile in situ synthesis of noble metal nanoparticles in porous cellulose fibres", *Chemistry of Materials*, **15(23)**, pp.4401-4406, DOI: 10.1021/cm034720r.
- [9] D. Bhattacharya, R.K. Gupta (2005), "Nanotechnology and potential of microorganisms" *Critical Reviews in Biotechnology*, **25(4)**, pp.199-204, DOI: 10.1080/07388550500361994.
- [10] B.O. Liu, J. Yan, W. Li, et al. (2020), "Mikania micrantha genome provides insights into the molecular mechanism of rapid growth", *Nature Communications*, **11(2020)**, DOI: 10.1038/s41467-019-13926-4.
- [11] T. Triet, N.P. Nga, N.T.L. Thi, et al. (2018), *Weed Species Common in Vietnam's Environment*, Vietnam National University - Ho Chi Minh City Publishing House, 81pp (in Vietnamese).
- [12] X. Wei, H. Huang, P. Wu, et al. (2004), "Phenolic constituents from *Mikania micrantha*", *Biochemical Systematics and Ecology*, **11(32)**, pp.1091-1096, DOI: 10.1016/j.bse.2004.04.013.
- [13] H. Huang, W. Ye, X. Wei, et al. (2008), "Allelopathic potential of sesquiterpene lactones and phenolic constituents from *Mikania micrantha* HBK", *Biochemical Systematics and Ecology*, **36(11)**, pp.867-871, DOI: 10.1016/j.bse.2008.09.004.
- [14] A. Li, X. Hou, Y. Wei (2018), "Fast screening of flavonoids from switchgrass and *Mikania micrantha* by liquid chromatography hybrid-ion trap time-of-flight mass spectrometry", *Analytical Methods*, **10(1)**, pp.109-122, DOI: 10.1039/C7AY02103H.
- [15] M.D. Day, D.R. Clements, C. Gile, et al. (2016), "Biology and impacts of Pacific Islands invasive species. 13. *Mikania micrantha* Kunth (Asteraceae)", *Pacific Science*, **70(3)**, pp.257-285, DOI: 10.2984/70.3.1.
- [16] A. Biswas, C. Vanlalveni, P.P. Adhikari, et al. (2019), "Biosynthesis, characterisation and antibacterial activity of *Mikania micrantha* leaf extract-mediated AgNPs", *Micro & Nano Letters*, **14(7)**, pp.799-803, DOI: 10.1049/mnl.2018.5661.
- [17] N.T.T. Mai (2020), *Testing Medicinal Herbs*, Vietnam National University - Ho Chi Minh City Publishing House, 175pp (in Vietnamese).
- [18] T. Mehany, I. Khalifa, H. Barakat, et al. (2021), "Polyphenols as promising biologically active substances for preventing SARS-CoV-2: A review with research evidence and underlying mechanisms", *Food Bioscience*, **40**, DOI: 10.1016/j.fbio.2021.100891.
- [19] W. Ngwa, R. Kumar, D. Thompson, et al. (2020), "Potential of flavonoid-inspired phytomedicines against COVID-19", *Molecules*, **25(11)**, DOI: 10.3390/molecules25112707.
- [20] V. Koleckar, K. Kubikova, Z. Rehakova, et al. (2008), "Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health", *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **8(5)**, pp.436-447, DOI: 10.2174/138955708784223486.
- [21] A. Masyita, R.M. Sari, A.D. Astuti, et al. (2022), "Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives", *Food Chemistry: X*, DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100217.
- [22] A. Zohmachhuana, M. Tlaisun, V. Mathipi, et al. (2022), "Suppression of the RAGE gene expression in RAW 264.7 murine leukemia cell line by ethyl acetate extract of *Mikania micrantha* (L.) Kunth", *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, **10(5)**, pp.107-114, DOI: 10.7324/JABB.2022.100513.
- [23] A. Rautela, J. Rani (2019), "Green synthesis of silver nanoparticles from *Tectona grandis* seeds extract: Characterization and mechanism of antimicrobial action on different microorganisms", *Journal of Analytical Science and Technology*, **10(1)**, pp.1-10, DOI: 10.1186/s40543-018-0163-z.
- [24] J.M. Ashraf, M.A. Ansari, H.M. Khan, et al. (2016), "Green synthesis of silver nanoparticles and characterization of their inhibitory effects on AGEs formation using biophysical techniques", *Scientific Reports*, **6(1)**, DOI: 10.1038/srep20414.
- [25] J. Venkatesan, S.K. Singh, S. Anil, et al. (2018), "Preparation, characterization and biological applications of biosynthesized silver nanoparticles with chitosan-fucoidan coating", *Molecules*, **23(6)**, DOI: 10.3390/molecules23061429.
- [26] S. Khorrami, A. Zarrabi, M. Khaleghi, et al. (2018), "Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties", *International Journal of Nanomedicine*, pp.8013-8024, DOI: 10.2147/IJN.S189295.
- [27] E.R. León, R.I. Palomares, R.E. Navarro, et al. (2013), "Synthesis of silver nanoparticles using reducing agents obtained from natural sources (*Rumex hymenosepalus* extracts)", *Nanoscale Research Letters*, **8**, pp.1-9, DOI: 10.1186/1556-276X-8-318.
- [28] R. Zein, I. Alghoraibi, C. Soukkaieh, et al. (2020), "In-vitro anticancer activity against Caco-2 cell line of colloidal nano silver synthesized using aqueous extract of *Eucalyptus Camaldulensis* leaves", *Heliyon*, **6(8)**, DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04594.
- [29] Y.S. Rao, V.S. Kotakadi, T.N.V.K.V. Prasad, et al. (2013), "Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from *Lakshmi tulasi* (*Ocimum sanctum*) leaf extract", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **103**, pp.156-159, DOI: 10.1016/j.saa.2012.11.028.
- [30] D.A. Selvan, D. Mahendiran, R.S. Kumar, et al. (2018), "Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies", *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **180**, pp.243-252, DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2018.02.014.
- [31] J. Stetefeld, S.A. McKenna, T.R. Patel, et al. (2016), "Dynamic light scattering: A practical guide and applications in biomedical sciences", *Biophysical Reviews*, **8**, pp.409-427, DOI: 10.1007/s12551-016-0218-6.
- [32] E.Y. Ahn, H. Jin, Y. Park, et al. (2019), "Assessing the antioxidant, cytotoxic, apoptotic and wound healing properties of silver nanoparticles green-synthesized by plant extracts", *Materials Science and Engineering: C*, **101**, pp.204-216, DOI: 10.1016/j.msec.2019.03.095.
- [33] C.S. Lopes, V.M. Lenart, R.F. Turchiello, et al. (2018), "Determination of the thermal diffusivity of plasmonic nanofluids containing PVP-coated Ag nanoparticles using mode-mismatched dual-beam thermal lens technique", *Advances in Condensed Matter Physics*, **2018**, pp.1-6, DOI: 10.1155/2018/3052793.
- [34] M. Danaei, M. Dehghankhold, S. Ataei, et al. (2018), "Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems", *Pharmaceutics*, **10(2)**, DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057.
- [35] K. Anandalakshmi, J. Venugobal, V.J.A.N. Ramasamy, et al. (2016), "Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using *Pedalius murex* leaf extract and their antibacterial activity", *Applied Nanoscience*, **6**, pp.399-408, DOI: 10.1007/s13204-015-0449-z.
- [36] P.P.H. But, Z.D. He, S.C. Ma, et al. (2009), "Antiviral constituents against respiratory viruses from *Mikania micrantha*", *Journal of Natural Products*, **72(5)**, pp.925-928, DOI: 10.1021/np800542t.

Nghiên cứu vi bao kháng thể IgY

Huỳnh Thành Đạt^{1*}, Trần Bích Lam²

¹Khoa Kỹ thuật - Công nghệ, Trường Đại học Văn Hiến, 613 Âu Cơ, phường Phú Trung, quận Tân Phú, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Kỹ thuật Hoá học, Trường Đại học Bách Khoa TP Hồ Chí Minh, 268 Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/3/2023; ngày chuyển phản biện 30/3/2023; ngày nhận phản biện 11/4/2023; ngày chấp nhận đăng 13/4/2023

Tóm tắt:

Kháng thể IgY đã được chứng minh có hiệu quả phòng chống và điều trị một số bệnh truyền nhiễm như cúm A, bệnh tay chân miệng... Vi bao chitosan-alginate được đánh giá là một phương pháp hiệu quả để đưa kháng thể IgY vào cơ thể qua đường ăn uống. Nghiên cứu vi bao kháng thể IgY đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các chất bao và điều kiện vi bao đến hiệu quả của quá trình vi bao kháng thể IgY kháng Enterovirus 71 (EV71) bao gồm: nồng độ sodium alginate, nồng độ chitosan, pH môi trường vi bao. Kết quả thí nghiệm đã đưa ra các thông số tối ưu nhằm tăng hiệu quả vi bao kháng thể IgY như sau: nồng độ sodium alginate 2,5% (w/v), nồng độ chitosan 0,2%, pH môi trường vi bao 3,5. Trong điều kiện tối ưu, hiệu quả vi bao đạt 63,93%. Chế phẩm vi bao sau sấy có hoạt tính kháng thể IgY kháng EV71 còn lại trong hạt vi bao đạt 35,01%. Độ ổn định của IgY trong môi trường mô phỏng dạ dày (SGF) đã được cải thiện đáng kể, khi được vi bao bằng chitosan-alginate, hoạt tính kháng thể của IgY được giữ lại đến 3 giờ trong SGF có pepsin. Kết quả chụp SEM cho thấy, kích thước hạt vi bao $\leq 10 \mu\text{m}$, cấu trúc hạt vi bao xốp, có rất nhiều hạt vi bao trong một hạt chế phẩm vi bao sau sấy tạo thành khối hạt vi bao.

Từ khóa: Enterovirus 71, hiệu quả vi bao, hoạt tính kháng thể IgY, kháng thể IgY, vi bao chitosan - alginate.

Chỉ số phân loại: 2.6, 2.8, 3.5

Research on microcapsules for IgY antibodies

Thanh Dat Huynh^{1*}, Bich Lam Tran²

¹Faculty of Engineering and Technology, Van Hien University, 613 Au Co Street, Phu Trung Ward, Tan Phu District, Ho Chi Minh City, Vietnam

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

Received 28 March 2023; revised 11 April 2023; accepted 13 April 2023

Abstract:

IgY antibodies have been shown to be effective in the prevention and treatment of some infectious diseases, such as influenza A and hand, foot and mouth disease (HFMD)... Chitosan-alginate microcapsules are considered an effective approach to delivering IgY into the body via the oral route. The research on IgY microcapsules for IgY antibodies investigated the effects of encapsulating agents and encapsulation conditions on the efficiency of the microcapsules process of IgY antibodies against Enterovirus 71 (EV71), including: alginate concentration, chitosan concentration, microcapsules environment pH. The results determined the optimal parameters to enhance the efficiency of microcapsules IgY, which are 2.5% (w/v) sodium alginate, 0.2% chitosan, and microcapsules environment pH 3.5. Under optimum conditions, IgY microcapsules efficiency was 63.93%. After freeze-dried microcapsules, the activity against EV71 in the microcapsules was 35.01%. The IgY stability in simulated gastric fluid (SGF) was significantly improved when encapsulated by chitosan-alginate microcapsules, and the activity of IgY was fully maintained for 3 hours in SGF with the appearance of pepsin. Scanning electron microscopy (SEM), results showed that the microcapsule particle size is $\leq 10 \mu\text{m}$, the microcapsule particle structure is porous, and there are many microcapsule particles in the microcapsule product after freeze-drying.

Keywords: chitosan-alginate microcapsules, Enterovirus 71, IgY activity, IgY antibodies, microcapsules efficiency.

Classification numbers: 2.6, 2.8, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: datht@vhu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Kháng thể IgY đã được chứng minh có hiệu quả phòng chống và điều trị một số bệnh truyền nhiễm như cúm A, bệnh tay chân miệng... Kháng thể IgY đã được ứng dụng trong lĩnh vực chăn nuôi thú y và phòng chữa bệnh cho người [1]. Năm 2002, Carlander sử dụng kháng thể IgY như công cụ phòng chống các bệnh nhiễm trùng ở bệnh nhân xơ gan. Kháng thể IgY có các đặc tính hóa sinh học rất phù hợp với việc điều trị miễn dịch thông qua đường miệng, tuy nhiên kháng thể IgY rất nhạy cảm với môi trường dịch vị dạ dày và hoạt tính kháng thể nhanh chóng mất đi trong SGF. Vì vậy, vi bao chitosan - alginate được đánh giá là một phương pháp hiệu quả để đưa kháng thể IgY vào cơ thể qua đường ăn uống [1, 2]. Ở nước ngoài, những năm gần đây, các tính chất của alginate và chitosan đã được ứng dụng trong sản xuất vi bao, mang các chất nhân khác nhau như peptides, protein và các loại thuốc để theo đường uống, chuyển đến dạ dày và đường ruột [1, 3, 4].

Tại Việt Nam, trước tình hình dịch cúm A và bệnh tay chân miệng đang diễn tiến hết sức phức tạp và hiện chưa có chưa có thuốc đặc trị hay vaccin phòng ngừa. Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh đã nghiên cứu và đạt được thành công trong việc hoàn thiện quy trình sản xuất kháng thể IgY kháng Enterovirus 71 (EV 71).

Nghiên cứu của chúng tôi: Vi bao kháng thể IgY kháng Enterovirus 71, được thực hiện nhằm tạo chế phẩm vi bao chứa kháng thể IgY sản xuất trong nước, để bổ sung qua đường ăn uống, phòng chống bệnh, giảm nguy cơ bùng phát của các bệnh truyền nhiễm, góp phần bảo vệ sức khỏe cho cộng đồng. Nội dung nghiên cứu gồm: Khảo sát ảnh hưởng của các chất bao và điều kiện vi bao đến hiệu quả của quá trình vi bao kháng thể IgY kháng EV71 trong khuôn gel chitosan-alginate; Khảo sát độ bền của chế phẩm vi bao với điều kiện mô phỏng môi trường trong dạ dày (simulated gastric fluid - SGF).

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Kháng thể IgY kháng Enterovirus 71 (EV 71) được cung cấp bởi Phòng Thí nghiệm Sinh học phân tử - Khoa Vi sinh Miễn Dịch, Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh.

Chất bao sử dụng bao gồm: Chitosan có độ deacetyl hóa 97,2%, do Công ty TNHH Hùng Tiến (Cần Thơ) sản xuất. Sodium alginate do Công ty HiMedia cung cấp.

Hóa chất sử dụng bao gồm: $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$, $CaCl_2$, Citrate buffer, Comassie protein assay reagent, enzyme Pepsin, Goat Anti-Chicken IgY, kháng nguyên EV71,

NaCl, $NaHCO_3$, NaOH, OPD (o-Phenylenediamine dihydrochloride), PBST (Phosphate Buffered Saline with 0,05% Tween 20), Tris - HCl ($C_4H_{11}NO_3$), KH_2PO_4 , H_2SO_4 .

2.2. Quy trình vi bao kháng thể IgY kháng EV71

Dung dịch kháng thể IgY được phối trộn với dung dịch sodium alginate ở các nồng độ khác nhau. Môi trường vi bao được chuẩn bị bằng cách hòa trộn dung dịch $CaCl_2$ 1,5% (w/v) với dung dịch Chitosan ở các nồng độ khác nhau. Hỗn hợp dung dịch sodium alginate/IgY được bơm nhỏ giọt bằng bơm tiêm có đường kính kim tiêm 0,6 mm, vào môi trường vi bao, lắc đều hỗn hợp và để hạt vi bao ổn định cấu trúc trong 1 giờ ở nhiệt độ 4-6°C, tỷ lệ thể tích dung dịch sodium alginate/IgY và môi trường vi bao là 1:20 [5, 6].

Hạt vi bao sau khi ổn định cấu trúc, tiến hành lọc qua vải lọc để thu hạt. Sau đó dùng nước cất để rửa hạt. Hạt vi bao sau lọc sẽ được tiến hành sấy thăng hoa bằng thiết bị FDU-2100 (Eyela, Nhật Bản) ở áp suất 3,6 Pa, nhiệt độ đông lạnh được điều chỉnh ở -30°C, thời gian sấy 16-17 giờ, để thu chế phẩm vi bao. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của các chất bao gồm: nồng độ sodium alginate (1,5, 2, 3,5, 3%w/v), nồng độ chitosan (0,15, 0,2, 0,25, 0,3%w/v) và pH môi trường vi bao (3, 3,5, 4, 5, 6) đến hiệu quả của quá trình vi bao kháng thể IgY kháng EV71 trong khuôn gel chitosan - alginate. Đồng thời, khảo sát độ bền của chế phẩm vi bao ở điều kiện mô phỏng môi trường trong dạ dày (simulated gastric fluid - SGF) và đánh giá hoạt tính của chế phẩm sau khi sấy thăng hoa thông qua hàm lượng kháng thể IgY, hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao.

2.3. Xác định hiệu quả vi bao (Encapsulation efficiency - EE%)

Cân 10 mg chế phẩm vi bao sau khi sấy cho vào 5 ml hỗn hợp phá hạt gồm: $NaHCO_3$ 0,2 M, $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ 0,06 M, pH 8,0. Khuấy mẫu liên tục trong 15-20 phút hoặc cho đến khi hạt vi bao được phá hủy hoàn toàn. Sau đó tiến hành ly tâm (8000 RCF, 4°C, 15 phút). Lấy phần dịch nước để đo mẫu. Mẫu được đo bằng phương pháp Bradford [6, 7].

$$EE (\%) = \frac{\text{Tổng lượng IgY trong hạt vi bao}}{\text{Lượng IgY ban đầu}} \times 100$$

2.4. Xác định độ bền của chế phẩm vi bao với điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày (Simulated gastric fluid - SGF)

Môi trường mô phỏng dạ dày bao gồm: 3,2 mg/ml enzyme Pepsin hòa tan trong NaCl 0,03 M, ở pH 1,2.

Cân 25 mg chế phẩm vi bao sau khi đã sấy thăng hoa cho vào 5 ml SGF, ủ ở 37°C, lắc liên tục (100 vòng/phút). Thí nghiệm được thực hiện trong tube ly tâm 15 ml.

Song song, thực hiện thí nghiệm cho dung dịch kháng thể IgY chưa vi bao như sau: Cho 0,15 ml dung dịch kháng thể IgY vào 5 ml SGF, ủ ở 37°C, lắc liên tục (100 vòng/ phút trong tube ly tâm 15 ml).

Tiến hành lấy 200 µl mẫu tại các thời điểm: 0, 0,5, 1, 2, 3, 4 giờ. Tại từng thời điểm sau khi lấy mẫu sẽ bổ sung lại vào mẫu dung dịch SGF bằng đúng lượng thể tích lấy mẫu ra.

Lượng mẫu tại từng thời điểm sau khi lấy sẽ được trung hòa bằng 200 µl dung dịch đệm Tris - HCl 2M (pH 8,0). Thử lại pH mẫu, đảm bảo pH được duy trì 7-8. Hoạt tính kháng thể IgY được đo bằng phương pháp ELISA. Độ bền của chế phẩm vi bao được tính dựa trên phần trăm hoạt tính kháng thể IgY giải phóng theo công thức [2, 6].

$$\% \text{ Hoạt tính IgY giải phóng} = \frac{\text{Hoạt tính IgY ban đầu} - \text{Hoạt tính IgY tại từng thời điểm}}{\text{Hoạt tính IgY ban đầu}} \times 100$$

2.5. Xác định hoạt tính kháng thể bằng phương pháp ELISA

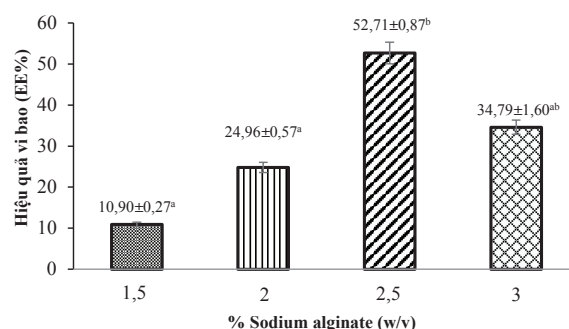
Hoạt tính kháng thể IgY trong mẫu được xác định bằng phương pháp ELISA gián tiếp. Phù giống với kháng nguyên Enterovirus 71 (100 µl/giếng) nồng độ 10 µg/ml và ủ đĩa qua đêm ở 4°C. Rửa đĩa 3 lần với PBST và khóa màng với 200µl dung dịch PBST + 10% skim milk, ủ ở 37°C trong 2 giờ. Sau khi rửa đĩa 3 lần với PBST ủ đĩa với kháng thể IgY mẫu (độ pha loãng từ 1:100 đến 1:10000) 100 µl/giếng, ủ ở 37°C trong 2 giờ. Tiếp tục rửa đĩa 3 lần với PBST và bổ sung 100 µl/giếng kháng thể IgY thứ cấp - cộng hợp HRP (Horseradish peroxidase) (độ pha loãng 1/4000), ủ ở 37°C, 1 giờ. Rửa đĩa 4 lần với PBST và bổ sung OPD 100 µl/giếng, ủ ở 37°C trong 20-30 phút. Để ngừng phản ứng, bổ sung H₂SO₄ 1,25M 100 µl/giếng [6]. Tiến hành đọc kết quả ở bước sóng 490 nm bằng máy đọc ELISA (Thermo Scientific, Mỹ).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ sodium alginate đến hiệu quả vi bao

Thí nghiệm khảo sát nồng độ sodium alginate được thực hiện theo quy trình vi bao kháng thể IgY. Trong đó, chất bao và môi trường vi bao được cố định: nồng độ chitosan: 0,2% (w/v), nồng độ CaCl₂: 1,5% (w/v), pH 4. Sodium alginate khảo sát ở các nồng độ: 1,5, 2, 2,5 và 3% (w/v). Sau đó, mẫu hạt vi bao được xử lý theo phương pháp xác định hiệu quả vi bao.

Ảnh hưởng của nồng độ sodium alginate đến hiệu quả vi bao được thể hiện ở hình 1.

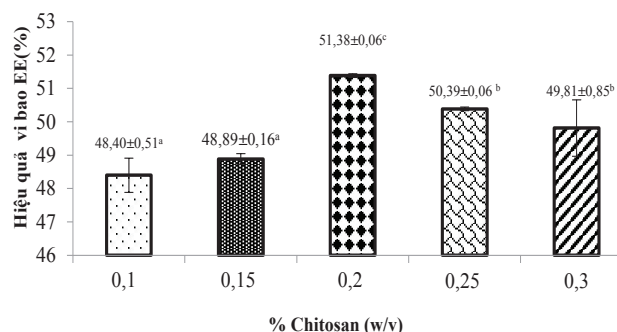


Hình 1. Ảnh hưởng của nồng độ sodium alginate đến hiệu quả vi bao. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n=3). Các chữ cái khác nhau ở cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê (p<0,05).

Hiệu quả vi bao được đánh giá thông qua tỷ lệ kháng thể IgY được giữ lại trong hạt. Theo đó, khi tăng nồng độ sodium alginate, hiệu quả vi bao có xu hướng tăng dần từ nồng độ sodium alginate 1,5 đến 2,5% (w/v). Hiệu quả vi bao đạt cao nhất 52,7% tại nồng độ sodium alginate 2,5% (w/v) nhưng giảm khi tiếp tục tăng nồng độ sodium alginate lên 3% (w/v). Theo K. Punyokun và cs (2015) [3], khi tăng nồng độ sodium alginate trên 2% (w/v) gây khó khăn cho việc tạo hạt do độ nhớt sodium alginate cao sẽ làm tắc nghẽn đầu phun tạo hạt. Thực nghiệm cho thấy, tại các nồng độ sodium alginate thấp hơn 2% (w/v), cấu trúc hạt không ổn định, có xu hướng tạo thành các mảnh vi bao nhỏ và không giữ được cấu trúc hạt khi tạo hạt. Ngược lại, khi tăng nồng độ alginate lớn hơn 2,5% (w/v), hạt vi bao có xu hướng kết dính lại và tạo thành các khối hạt lớn hơn.

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hiệu quả vi bao

Thí nghiệm khảo sát nồng độ chitosan được thực hiện theo quy trình vi bao kháng thể IgY. Trong đó, chất bao và môi trường vi bao được cố định: nồng độ sodium alginate: 2,5% (w/v), nồng độ CaCl₂: 1,5% (w/v), pH môi trường vi bao: 3,5. Khảo sát chitosan ở các nồng độ: 0,1, 0,15, 0,2, 0,25 và 0,3% (w/v). Mẫu hạt vi bao được xử lý theo phương pháp xác định hiệu quả vi bao.

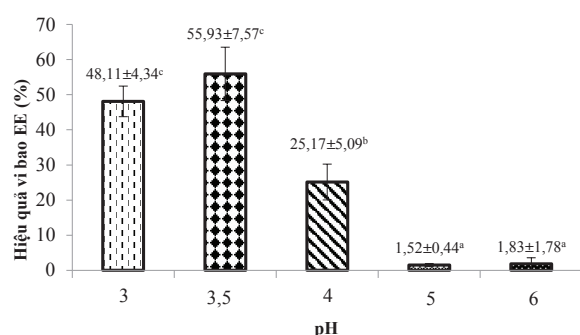


Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hiệu quả vi bao. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n=3). Các chữ cái khác nhau ở cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê (p<0,05).

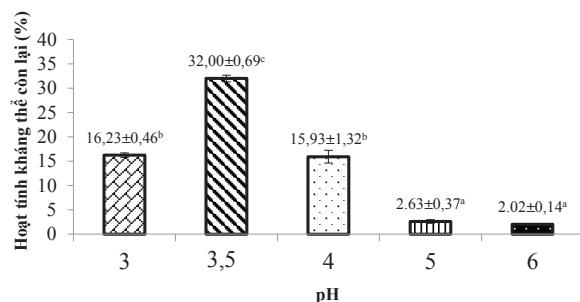
Hiệu quả vi bao (hình 2) đạt cao nhất tại nồng độ chitosan 0,2% (w/v) với khả năng giữ kháng thể IgY trong hạt đạt 51,4%. So sánh với một số nghiên cứu trước, theo X.Y. Li và cs (2009) [7] qua đánh giá khả năng tải IgY của hạt vi bao cho thấy, chitosan ở nồng độ từ 0,05 đến 0,1% (w/v) tăng tỷ lệ tải IgY từ 8 đến 13,3%. Nồng độ chitosan từ 0,2 đến 0,8% (w/v) làm tăng thêm khả năng tải IgY ở mức 19,7%. Tỷ lệ tải IgY tối đa (19,7%) đạt được ở 0,2% (w/v). Tiếp tục tăng nồng độ chitosan, tải IgY không tăng. Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ chitosan đến hiệu quả vi bao EE% trong quá trình bao gói cùng alginate cũng đã được các tác giả khác thực hiện để cải thiện hiệu quả vi bao EE% của dextran, ampicillin, albumin huyết thanh bò, và hemoglobin. Các kết quả này đều cho thấy, tỷ lệ tải IgY và EE% tăng khi tăng nồng độ chitosan là do sự hình thành màng vi bao có liên kết chặt chẽ làm ổn định, tăng liên kết trong mạng lưới gel ion và hạn chế tổn hao protein, khuếch tán trong suốt quá trình tạo hạt [7].

3.3. Khảo sát ảnh hưởng của pH môi trường vi bao đến khả năng vi bao

Thí nghiệm khảo sát pH môi trường vi bao được thực hiện theo quy trình vi bao kháng thể IgY. Trong đó, chất bao và môi trường vi bao được cố định: nồng độ chitosan: 0,2% (w/v), nồng độ sodium alginate: 2,5% (w/v), nồng độ CaCl_2 : 1,5% (w/v). pH môi trường vi bao khảo sát ở các giá



Hình 3. Ảnh hưởng của pH đến hiệu quả vi bao. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n=3). Các chữ cái khác nhau ở cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).



Hình 4. Ảnh hưởng của pH đến hoạt tính kháng thể IgY còn lại. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n=3). Các chữ cái khác nhau ở cột thể hiện sự khác biệt có nghĩa về mặt thống kê ($p < 0,05$).

trị: 3, 3,5, 4, 5, 6. Mẫu hạt vi bao được xử lý theo phương pháp xác định hiệu quả vi bao. Hiệu quả vi bao kháng thể IgY được đánh giá bằng phương pháp Bradford và hoạt tính kháng thể còn lại trong hạt vi bao được xác định bằng phương pháp ELISA.

Khả năng vi bao kháng thể IgY được đánh giá thông qua hiệu quả vi bao kháng thể IgY và hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao. Kết quả thí nghiệm như hình 3 và hình 4 cho thấy, khả năng vi bao kháng thể IgY đạt cao nhất tại pH 3,5, khi càng tăng giá trị pH hiệu quả vi bao có xu hướng giảm dần cả về nồng độ IgY và hoạt tính kháng thể. Tùy thuộc vào độ pH của môi trường vi bao mà dung dịch sodium alginate/IgY tạo hạt, mức độ ion hóa trên bề mặt của alginate thay đổi và tăng theo pH môi trường vi bao. Trong khoảng pH này (từ 3 đến 5), mức độ ion hóa chitosan không thay đổi đáng kể [8]. Tại pH 5,0, cả hai chất đa điện ly đạt mức độ ion hóa khoảng 70-80%, và do đó các polysaccharide này có thể duy trì cấu trúc bền vững hình thành mạng lưới liên kết dày đặc. Tại các pH >5,0, khả năng ion hóa của chitosan bị ức chế và chitosan có thể tạo thành một số kiểu vòng chuỗi [9]. Sự hình thành vòng chuỗi như vậy làm cho màng chitosan - alginate kém dày đặc và làm tăng khả năng IgY phóng thích ra ngoài môi trường. Tương tự, ở các giá trị pH vi bao thấp hơn 3,0, chitosan ion hóa hoàn toàn, trong khi alginate ở bề mặt hạt vi bao mang điện tích âm nhỏ vì khả năng ion hóa thấp và không thể liên kết chặt chẽ với chitosan do vậy màng vi bao được hình thành kém dày đặc.

Theo kết quả thực nghiệm này thì hiệu quả vi bao và khả năng vi bao kháng thể IgY đạt cao nhất tại pH 3,5, cho thấy ở pH này, trong quá trình tạo hạt vi bao, khi cho hỗn hợp IgY/sodium alginate vào môi trường vi bao chứa chitosan và CaCl_2 , các chất bao đã tạo lớp màng chitosan - alginate bảo vệ khá tốt kháng thể IgY nhờ vậy giảm thiểu ảnh hưởng của pH môi trường vi bao đến tính chất và hoạt tính của IgY.

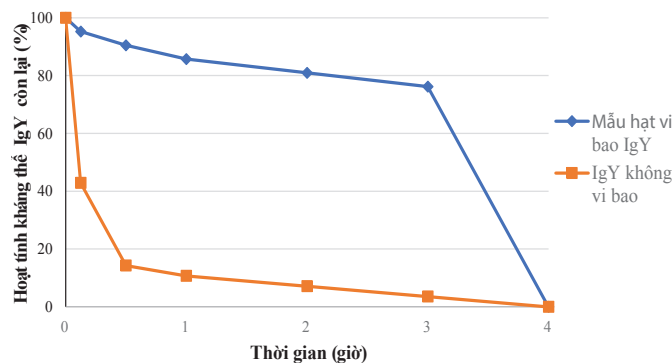
3.4. Khảo sát độ bền chế phẩm vi bao trong điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày

Thí nghiệm khảo sát độ bền của chế phẩm vi bao trong điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày được thực hiện theo điều kiện mô phỏng dạ dày có sử dụng enzyme pepsin như phương pháp xác định độ bền của chế phẩm vi bao với điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày.

Bảng 1. Hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong SGF.

Thời gian (giờ)	Hoạt tính IgY còn lại (%)	
	Mẫu hạt vi bao IgY	IgY không vi bao
0	100	100
0,125	95,24±0,56	42,86±0,81
0,5	90,48±0,71	14,29±1,06
1	85,71±0,31	10,71±0,74
2	80,95±0,92	7,14±1,41
3	76,19±0,87	3,57±0,68
4	0	0

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n=3).



Hình 5. Độ bền của chế phẩm vi bao trong điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày. Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± SD (n=3).

Điều kiện mô phỏng môi trường dạ dày (SGF) được sử dụng để đánh giá độ ổn định của chế phẩm vi bao kháng thể IgY *in vitro*. Theo kết quả như hình 5 và bảng 1, IgY không vi bao đã bị thủy phân dưới tác dụng của enzyme pepsin. Sau 1 giờ, trong SGF, chỉ còn 10,71% hoạt tính kháng thể IgY. Trong khi đó, độ ổn định của IgY trong SGF đã được cải thiện đáng kể khi được vi bao bằng màng chitosan - alginate. Hoạt tính kháng thể của IgY được vi bao, sau 3 giờ trong SGF vẫn còn 76,19%. Một số nghiên cứu trước đây cũng cho thấy điều tương tự. Theo M. Shimizu và cs (1988) [10] kháng thể IgY không được vi bao rất nhạy cảm với môi trường dịch vị dạ dày, và hoạt tính kháng thể nhanh chóng mất đi trong SGF, còn IgY trong chế phẩm vi bao giữ được hoạt tính sau 2 giờ ở SGF [10]. Chính màng interphase chitosan - alginate hoạt động như một hàng rào ngăn cản các ion hydrogen (H^+). Hơn nữa, hạt vi bao bằng chitosan - alginate còn cho thấy vai trò quan trọng trong việc bảo vệ kháng thể IgY khỏi quá trình thủy phân bởi pepsin trong dịch dạ dày. Theo X.Y. Li và cs (2007) [6], trong khoảng pH môi trường vi bao khảo sát từ pH 3 đến 6, kháng thể IgY khi được vi bao giữ được 61,36-74,61% hoạt tính sau 2 giờ trong môi trường mô phỏng dịch dạ dày (SGF).

3.5. Đánh giá hoạt tính của chế phẩm sau khi sấy thăng hoa

Chế phẩm vi bao sau khi sấy thăng hoa được tiến hành đánh giá thông qua hàm lượng kháng thể IgY và hoạt tính kháng thể IgY còn lại. Mẫu hạt vi bao được xử lý theo phương pháp xác định hiệu quả vi bao, đo mẫu bằng hai phương pháp: phương pháp Bradford và phương pháp ELISA. Hàm lượng kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao.

Mẫu	Nồng độ protein (mg/ml)	Thể tích mẫu (ml)	Nồng độ protein mẫu stock (mg/ml)	Hiệu quả vi bao (%)
1	1,70	5	12,95	65,52
2	1,66	5		64,09
3	1,61	5		62,17

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình (n=3).

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, hàm lượng kháng thể còn lại trong chế phẩm vi bao sau sấy thăng hoa đạt hiệu quả trung bình là 63,93%. Trong nghiên cứu của X.Y.Li và cs (2007) [6] hiệu quả vi bao đạt 73,93% tại pH 3,5.

Hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao.

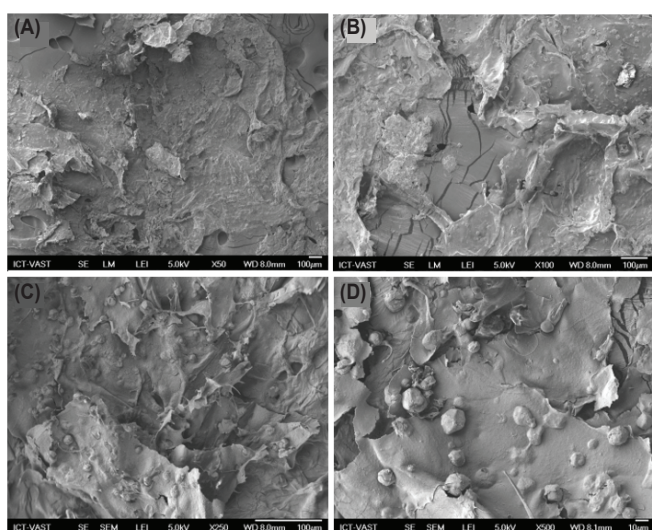
Mẫu	Hàm lượng IgY trong mẫu vi bao (mg/ml)	Hàm lượng IgY mẫu stock (mg/ml)	Hoạt tính kháng thể còn lại (%)
1	1,24		43,61
2	0,75	2,84	26,40
3	0,99		35,02

Dữ liệu được trình bày dưới dạng trung bình (n=3).

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong chế phẩm vi bao trung bình là 35,01%. Như vậy, trong 63,93% hàm lượng IgY được vi bao trong hạt thì có khoảng một nửa lượng kháng thể IgY còn hoạt tính trong hạt vi bao.

3.6. Cấu trúc hạt vi bao

Cấu trúc hình thái hạt vi bao kháng thể IgY được phóng đại trên ảnh kính hiển vi điện tử quét (Scanning electron microscopy - SEM) FSEM 7401F tại Phòng Thí nghiệm Hóa sinh, Viện Công nghệ Hóa học, số 1 Mạc Đĩnh Chi, TP Hồ Chí Minh.



Hình 6. Hình ảnh chụp SEM chế phẩm vi bao sau sấy thăng hoa. (A) Độ phóng đại X50; (B) Độ phóng đại X100; (C) Độ phóng đại X250; (D) Độ phóng đại X500.

Qua kết quả chụp SEM như hình 6 cho thấy, kích thước hạt vi bao $\leq 10 \mu\text{m}$. Có rất nhiều hạt vi bao trong một hạt chế phẩm vi bao sau sấy tạo thành khối hạt vi bao. Nhìn chung, cấu trúc hạt vi bao xốp, bề mặt khối hạt có các vết nứt gãy có thể do trong quá trình sấy thăng hoa, trải qua giai đoạn lạnh đông sâu ở nhiệt độ -30°C làm hình thành các tinh thể đá gây ảnh hưởng đến cấu trúc màng bao sau khi sấy thăng hoa.

Theo nghiên cứu của K. Punyokun và cs (2015) [3], đường kính trung bình của các hạt vi bao chitosan - alginate được đo bằng kính hiển vi soi ngược là từ $1.000-1.500 \mu\text{m}$. Tuy nhiên, kích thước hạt vi bao giảm xuống còn $100-200 \mu\text{m}$ khi được nạp khí $0,3 \text{ m}^3/\text{giờ}$ trong suốt quá trình tạo hạt vi bao.

W. Chen và cs (2013) [11] đã nghiên cứu vi bao kháng thể IgY bằng vật liệu vi bao sodium alginate và dầu đậu nành. Kết quả chụp SEM hạt vi bao alginate cho thấy, kích thước hạt vi bao khoảng $10 \mu\text{m}$. Các vết nứt gãy xuất hiện trên bề mặt do trong quá trình chuẩn bị mẫu khi đông lạnh hạt vi bao alginate trong nitơ lỏng và sau đó sấy khô dưới điều kiện áp suất chân không. Dựa trên các kết quả chụp SEM, các hạt vi bao có cấu trúc mạng lưới xốp, kích thước lỗ từ 5 đến 100 nm , với kích thước lỗ rỗng chiếm ưu thế từ 30 đến 50 nm .

4. Kết luận và kiến nghị

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các chất bao và điều kiện vi bao đến hiệu quả của quá trình vi bao kháng thể IgY kháng EV71 trong mạng gel chitosan - alginate. Kết quả nghiên cứu đã chọn được điều kiện vi bao kháng thể IgY kháng EV71, đạt hiệu quả cao nhất ở nồng độ sodium alginate $2,5\%$ (w/v), pH môi trường vi bao $3,5$, nồng độ chitosan $0,2\%$. Khi đó hàm lượng kháng thể IgY kháng EV71 được giữ lại trong chế phẩm vi bao đạt $63,93\%$ và hoạt tính kháng thể IgY kháng

EV71 còn lại trong chế phẩm vi bao: $35,01\%$. Kết quả khảo sát độ bền của chế phẩm vi bao ở điều kiện mô phỏng môi trường trong dạ dày (SGF) cho thấy, độ ổn định của IgY trong SGF đã được cải thiện đáng kể khi được vi bao bằng chitosan - alginate, hoạt tính kháng thể của IgY vẫn còn tới $76,19\%$ sau 3 giờ trong SGF. Cần có những nghiên cứu tiếp tục để tối ưu hóa quá trình vi bao kháng thể IgY kháng EV71 nhằm tăng hàm lượng kháng thể IgY và hoạt tính kháng thể IgY còn lại trong hạt vi bao.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi gửi lời cảm ơn chân thành đến PGS.TS Cao Thị Bảo Vân, ThS Phạm Thanh Hồng ở Phòng Thí nghiệm Sinh học phân tử - Khoa Vi sinh Miễn dịch, Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh đã cung cấp kháng thể và hỗ trợ phương tiện giúp chúng tôi thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] X.Y. Zhang, R.S.V. Pires, P.M. Morgan, et al. (2021), *IgY-Technology: Production and Application of Egg Yolk Antibodies*, Switzerland: Springer Cham, pp.162-165, DOI: 10.1007/978-3-030-72688-1.
- [2] P.L. Lam, R. Gambari (2014), "Advanced progress of microencapsulation technologies: *In vivo* and *in vitro* models for studying oral and transdermal drug deliveries", *Journal of Controlled Release*, **178**, pp.25-45, DOI: 10.1016/j.jconrel.2013.12.028.
- [3] K. Punyokun, R. Hongprayoon, P. Srisapoom, et al. (2015), "Influence of chitosan - alginate microcapsules containing anti-vibrio harveyi IgY in the gastrointestinal tract simulation", *Modern Applied Science*, **9**, pp.110-117, DOI: 10.5539/mas.v9n12p110.
- [4] A. Karim, A. Rehman, J. Feng, et al. (2022), "Alginate-based nanocarriers for the delivery and controlled-release of bioactive compounds", *Advances in Colloid and Interface Science*, **307**, DOI: 10.1016/j.cis.2022.102744.
- [5] R. Ghaffarian, EP. Herrero, H. Oh, et al. (2016), "Chitosan-alginate microcapsules provide gastric protection and intestinal release of ICAM-1-targeting nanocarriers, enabling GI targeting *in vivo*", *Advanced Functional Materials*, **26**, pp.3382-3392, DOI:10.1002/adfm.201600084.
- [6] X.Y. Li, L.J. Jin, T.A.M. Allister, et al. (2007), "Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY)", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, pp.2911-2917, DOI: 10.1021/jf062900q.
- [7] X.Y. Li, L.J. Jin, Y.N. Lu, et al. (2009), "Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY): Effects of chitosan concentration", *Humana Press*, **159**, pp.778-787, DOI: 10.1007/s12010-009-8628-6.
- [8] M.L. Huguet, E. Dellacherie (1996), "Calcium alginate beads coated with chitosan: Effect of the structure of encapsulated materials on their release", *Process Biochemistry*, **31**, pp.745-751, DOI: 10.1016/S0032-9592(96)00032-5.
- [9] K.Y. Lee, W.H. Park, W.S. Ha (1998), "Polyelectrolyte complexes of sodium alginate with chitosan or its derivatives for microcapsules", *Journal of Applied Polymer Science*, **63**, pp.425-432, DOI: 10.1002/(SICI)1097-4628(19970124)63:4%3C425::AID-APP3%3E3.0.CO;2-T.
- [10] M. Shimizu, R.C. Fitzsimmons, S. Nakai (1988), "Anti-*E.coli* Immunoglobulin Y isolated from egg yolk of immunized chickens as a potential food ingredient", *Journal of Food Science*, **53**, pp.1360-1368, DOI: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb09277.x.
- [11] W. Chen, J.H. Kim, D. Zhang, et al. (2013), "Microfluidic one - step synthesis of alginate microspheres immobilized with antibodies", *Journal of The Royal Society Interface*, **10**, pp.1-8, DOI: 10.1098/rsif.2013.0566.

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: khoahocvacongnghevietnam@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.
- Khí 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.

Phần 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 cuối phần ảnh 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 67 - Number 1 - January 2025

Ứng dụng học máy nhận dạng tướng đất đá khu vực bồn trũng An Châu.

Doan Ngoc San, Nguyễn Văn Thắng, Hoàng Hữu Hiệp, Nguyễn Anh Hào, Trần Thị Oanh, Nguyễn Thị Minh Hồng

Nghiên cứu khảo sát đặc trưng đo liều gamma của LiAlO_2 .

Nguyễn Thị Thu Hà, Trịnh Văn Giáp, Bùi Đức Kỳ

Nghiên cứu, thử nghiệm phương pháp đánh dấu để khảo sát giếng khai thác gas-lift.

Bùi Quang Trí, Lê Văn Sơn, Huỳnh Thị Thu Hương, Trần Trọng Hiệu, Đặng Nguyễn Thế Duy, Trần Văn Bá

Tác dụng của chiếu xạ chùm điện tử đến một số đặc tính của xanthan định hướng ứng dụng cho sản xuất phân bón lá.

Nguyễn Văn Bình, Trần Xuân An, Nguyễn Xuân Tùng, Hoàng Đăng Sáng, Trần Bằng Diệp, Trần Huyền Thanh, Hoàng Phương Thảo, Trần Minh Quỳnh

Tổng hợp vật liệu hỗn hợp Cu/C bằng nhiệt phân yếm khí Cu-MOF và ứng dụng làm xúc tác cho phản ứng phân hủy 4-nitrophenol.

Huỳnh Thái, Trần Ngọc Đan, Nguyễn Mộng Hoàng, Nguyễn Thị Tuyết Nhung

Xác định hàm lượng các nguyên tố kim loại trong mô thịt của một số loài cá phổ biến vùng cửa sông Bạch Đằng, Hải Phòng.

Phạm Thị Kha, Vũ Mạnh Hùng, Lê Văn Nam, Cao Thị Thu Trang, Trần Mạnh Hà

Phân lập và tuyển chọn nấm mốc có khả năng phân giải pectin từ vỏ cam sành (*Citrus sinensis*).

Huỳnh Xuân Phong, Dương Thị Ngọc Lan, Lưu Minh Châu, Bùi Hoàng Đăng Long, Nguyễn Ngọc Thanh, Hà Thanh Toàn

Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn sinh lipase từ nước thải nhà hàng.

Bạch Ngọc Minh, Nguyễn Thị Anh Thu, Nguyễn Thị Thanh Kiều, Huỳnh Hoàn Mỹ

Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn sinh pectinase từ đất trồng và vỏ quả cà phê ứng dụng trong lên men sản xuất cà phê.

Nguyễn Thị Thu Huyền, Trịnh Thị Thu Thủy, Lê Thị Ngọc Thủy, Đặng Thảo Yến Linh, Nguyễn Thị Thanh Thủy

Đánh giá biểu hiện của phân tử microRNA *osa-miR160a* trên các giống lúa chống chịu và miễn cảm với nấm *Magnaporthe oryzae* gây bệnh đạo ôn.

Nguyễn Bằng Phi, Nguyễn Đoàn Nguyên Phương, Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Nguyễn Bảo Quốc

Tổng hợp vật liệu 2D-MXene- Ti_3C_2 bằng phương pháp ăn mòn chọn lọc $\text{MAX-Ti}_3\text{AlC}_2$ trong hydrogen fluoride.

Cao Thị Hồng, Nguyễn Thị Thơm, Phạm Thị Năm, Hoàng Thái Hà, Đinh Thị Mai Thanh, Trần Đại Lâm

Nghiên cứu tổng hợp xanh hóa nano bạc từ cao chiết cây Cúc leo (*Mikania micrantha* Kunth).

Nguyễn Quốc Trung, Nguyễn Anh Thu, Trịnh Thiên, Phạm Ngọc Thạch, Lê Hữu Thọ, Võ Quốc Khương

Nghiên cứu vi bao kháng thể IgY.

Huỳnh Thành Đạt, Trần Bích Lam

1 Application of machine learning for facies recognition in An Chau basin.
Ngoc San Doan, Van Thang Nguyen, Huu Hiep Hoang, Anh Hao Nguyen, Thi Oanh Tran, Thi Minh Hong Nguyen

7 Study on gamma dosimetry characteristics of LiAlO_2 .
Thi Thu Ha Nguyen, Van Giap Trinh, Duc Ky Bui

12 The research and testing of the tracer method for surveying gas-lift wells.
Quang Tri Bui, Van Son Le, Thi Thu Huong Huynh, Trong Hieu Tran, Nguyen The Duy Dang, Van Ba Tran

20 Effect of electron beam irradiation on some characteristics of xanthan with emphasis on application in foliar fertiliser production.
Van Binh Nguyen, Xuan An Tran, Xuan Tung Nguyen, Dang Sang Hoang, Bang Diep Tran, Huyen Thanh Tran, Phuong Thao Hoang, Minh Quynh Tran

25 Synthesis of Cu/C composite materials by anaerobic pyrolysis of Cu-MOF and application as catalyst for the 4-nitrophenol decomposition reaction.
Thai Huynh, Ngoc Dan Tran, Mong Hoang Nguyen, Thi Tuyen Nhung Nguyen

31 Determination of metal popular fishes in Bach Dang estuary, Hai Phong city.
Thi Kha Pham, Manh Hung Vu, Van Nam Le, Thi Thu Trang Cao, Manh Ha Tran

40 Isolation and selection strains for degradation of pectin from orange peels (*Citrus sinensis*).
Xuan Phong Huynh, Thi Ngoc Lan Duong, Minh Chau Luu, Hoang Dang Long Bui, Ngoc Thanh Nguyen, Thanh Toan Ha

47 Isolation and selection of lipase-producing bacteria from restaurant wastewater.
Ngoc Minh Bach, Thi Anh Thu Nguyen, Thi Thanh Kieu Nguyen, Hoan My Huynh

52 Isolation and selection of pectinase-synthesising bacteria from soil and coffee husk for application in coffee fermentation.
Thi Thu Huyen Nguyen, Thi Thu Thuy Trinh, Thi Ngoc Thuy Le, Thao Yen Linh Dang, Thi Thanh Thuy Nguyen

58 Expression profile of microRNA *osa-miR160a* in *Magnaporthe oryzae* resistant and susceptible rice cultivars.
Bang Phi Nguyen, Doan Nguyen Phuong Nguyen, Ngoc Bao Chau Nguyen, Bao Quoc Nguyen

62 Synthesis of 2D-MXene- Ti_3C_2 by etching method from $\text{MAX-Ti}_3\text{AlC}_2$ in hydrogen fluoride solution.
Thi Hong Cao, Thi Thom Nguyen, Thi Nam Pham, Thai Ha Hoang, Thi Mai Thanh Dinh, Dai Lam Tran

67 Environmentally friendly synthesis of silver nanoparticles using *Mikania micrantha* Kunth extract.
Quoc Trung Nguyen, Anh Thu Nguyen, Thien Trinh, Ngoc Thach Pham, Huu Tho Le, Quoc Khuong Vo

75 Research on microcapsules for IgY antibodies.
Thanh Dat Huynh, Bich Lam Tran