

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

TẬP 67, SỐ 5, THÁNG 5 NĂM 2025
VOLUME 67, NUMBER 5, MAY 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 Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam

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

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

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

Mai Trong 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 Tuyen 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

Một phương pháp dựa trên mạng nơ-ron tích chập một chiều kết hợp tăng cường dữ liệu để khôi phục dữ liệu bị thiếu trong hệ thống giám sát sức khỏe kết cấu cầu

Trần Thế Hiệp*, Bùi Tiến Thành, Nguyễn Thạch Bích, Nguyễn Thị Thanh Yên

Khoa Công trình, Trường Đại học Giao thông Vận tải, 3 Cầu Giấy, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 16/4/2025; ngày chuyển phản biện 17/4/2025; ngày nhận phản biện 28/4/2025; ngày chấp nhận đăng 9/5/2025

Tóm tắt:

Bài báo đề xuất một phương pháp học sâu sử dụng mạng nơ-ron tích chập một chiều (1D CNN) để khôi phục dữ liệu dao động bị thiếu trong hệ thống giám sát sức khỏe kết cấu (SHM). Dữ liệu được thu thập từ mô hình cầu dây văng trong phòng thí nghiệm dưới dạng chuỗi thời gian đơn biến có các đoạn bị thiếu ngẫu nhiên. Để cải thiện khả năng học của mô hình và tính tổng quát, kỹ thuật tăng cường dữ liệu bằng nhiễu Gaussian được áp dụng trong quá trình huấn luyện. Mô hình được đánh giá bằng các chỉ số RMSE, MAE và hệ số tương quan R^2 . Kết quả nghiên cứu cho thấy, mô hình 1D CNN có khả năng trích xuất đặc trưng cục bộ vượt trội từ tín hiệu đầu vào, đồng thời có tốc độ huấn luyện nhanh, độ ổn định cao và kiến trúc gọn nhẹ, rất phù hợp với các ứng dụng trong môi trường thực tế. Đồng thời, việc bổ sung nhiễu Gaussian với độ lệch chuẩn hợp lý, giúp cải thiện đáng kể độ chính xác khôi phục so với mô hình không tăng cường dữ liệu. Phương pháp đề xuất cho thấy tiềm năng ứng dụng trong phục hồi dữ liệu bị mất hoặc hỏng trong các hệ thống SHM thực tế, góp phần nâng cao độ tin cậy của việc phân tích và chẩn đoán kết cấu.

Từ khóa: công trình cầu, dao động, giám sát sức khỏe kết cấu, khôi phục dữ liệu dao động, mạng nơ-ron tích chập một chiều, tăng cường dữ liệu.

Chỉ số phân loại: 1.2, 2.1

A one-dimensional convolutional neural network-based approach with data augmentation for missing data recovery in bridge SHM systems

The Hiep Tran*, Tien Thanh Bui, Thach Bich Nguyen, Thi Thanh Yen Nguyen

Faculty of Civil Engineering, University of Transport and Communications, 3 Cau Giay Street, Lang Thuong Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 16 April 2025; revised 28 April 2025; accepted 9 May 2025

Abstract:

This article proposes a deep learning approach that uses one-dimensional convolutional neural networks (1D CNN) to reconstruct missing vibration data in structural health monitoring (SHM) systems. The data were collected from a laboratory-scale cable-stayed bridge model, represented as univariate time series with randomly missing segments. In order to enhance the model's learning capability and generalisation, Gaussian noise-based data augmentation is applied during training. The models are evaluated using RMSE, MAE, and R^2 metrics. The research results show that the 1D CNN model demonstrates superior capability in extracting local features from input signals, while also offering fast training speed, high stability, and a lightweight architecture, making it highly suitable for real-world applications. In addition, incorporating Gaussian noise with an appropriate standard deviation can significantly improve the reconstruction accuracy compared to the non-augmented data model. The proposed method has demonstrated strong potential for recovering lost or corrupted data in practical SHM systems, thereby improving the reliability of structural analysis and diagnostics.

Keywords: bridge engineering, data augmentation, dynamic response, one-dimensional convolutional neural network, structural health monitoring, vibration data reconstruction.

Classification numbers: 1.2, 2.1

*Tác giả liên hệ: Email: tranthehiepp@utc.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Hệ thống giám sát sức khỏe công trình (SHM) đóng vai trò thiết yếu trong việc duy trì sự an toàn, độ tin cậy và hiệu quả khai thác lâu dài của các kết cấu hạ tầng quy mô lớn như cầu, đập, nhà cao tầng và các công trình dân dụng quan trọng khác [1]. Bằng cách tích hợp các cảm biến đo dao động, biến dạng, nhiệt độ hoặc nội lực, SHM cho phép thu thập và theo dõi liên tục các phản ứng của kết cấu trong suốt vòng đời vận hành. Nhờ đó, hệ thống hỗ trợ phát hiện sớm các biểu hiện hư hỏng tiềm tàng, đánh giá tuổi thọ còn lại và xây dựng kế hoạch bảo trì tối ưu để đảm bảo an toàn chịu lực, an toàn khai thác và tuổi thọ của công trình [2, 3].

Tuy nhiên, trong quá trình vận hành thực tiễn, dữ liệu thu thập từ hệ thống SHM thường đối mặt với các vấn đề mất mát do nhiều nguyên nhân như nhiễu tín hiệu, lỗi truyền tải hoặc hư hỏng cảm biến [4]. Những thiếu hụt này có thể làm giảm độ tin cậy trong phân tích đánh giá kết cấu và ảnh hưởng đến hiệu quả của các quyết định kỹ thuật. Do vậy, việc nghiên cứu các giải pháp phục hồi dữ liệu do bị mất trở nên cấp thiết nhằm đảm bảo tính đầy đủ và liên tục của thông tin phục vụ cho quá trình giám sát và phân tích kết cấu.

Các phương pháp truyền thống như phương pháp suy luận thống kê, phương pháp biểu diễn thưa... đã được sử dụng [5, 6]. Mặc dù có ưu điểm về tính đơn giản và hiệu quả tính toán, những phương pháp này thường hoặc phải giả định tính tuyến tính, hoặc sử dụng phân phối chuẩn trong dữ liệu - những giả định không phù hợp với bản chất phi tuyến, phức tạp và phụ thuộc thời gian của tín hiệu dao động trong các hệ thống SHM [7].

Để có cái nhìn tổng quan về các hướng tiếp cận đã được áp dụng cho bài toán phục hồi dữ liệu chuỗi thời gian, bảng 1 trình bày đặc điểm, dữ liệu sử dụng, phương pháp tiếp cận và hạn chế của một số phương pháp phổ biến, bao gồm cả các mô hình học máy truyền thống và mô hình học sâu.

Trong số các mô hình học sâu, mạng nơ-ron 1D CNN [8] nổi bật nhờ khả năng trích xuất đặc trưng cục bộ trong chuỗi thời gian và đã được áp dụng hiệu quả trong các nghiên cứu gần đây về khôi phục dữ liệu SHM. Nhiều nghiên cứu đã tập trung vào việc sử dụng CNN để phục hồi dữ liệu tại những vị trí bị mất. B.K. Oh và cs (2020) [9] cũng như P. Moeinifard và cs (2021) [10] đã đề xuất các mô hình CNN sử dụng dữ liệu từ các cảm biến ổn định để dự đoán giá trị tại các cảm biến bị lỗi.

Một hướng tiếp cận khác là khai thác mối quan hệ phi tuyến giữa các phản ứng kết cấu nhằm phục vụ cho mục tiêu khôi phục dữ liệu. P. Ni và cs (2022) [11] đề xuất phương

Bảng 1. So sánh các phương pháp học máy trong bài toán dự đoán và khôi phục dữ liệu chuỗi thời gian.

Phương pháp	Đặc điểm chính	Loại dữ liệu thường sử dụng	Cách tiếp cận	Hạn chế
Hồi quy tuyến tính (Linear Regression)	Đơn giản, dễ triển khai, dễ giải thích	Dữ liệu tuyến tính, ít nhiễu	Ước lượng tuyến tính giữa các điểm dữ liệu theo thời gian	Không mô hình hóa được mối quan hệ phi tuyến và chuỗi dài
Hồi quy sử dụng thuật toán tăng cường độ dốc cực đại (XGBRegressor)	Tăng cường cây quyết định, hạn chế quá khớp hiệu quả	Dữ liệu phi tuyến, có nhiễu	Tăng cường cây quyết định dựa trên biểu đồ tàn suất	Không tận dụng được đặc trưng tuần tự của chuỗi
Hồi quy sử dụng thuật toán tăng cường độ dốc nhẹ (LGBMRegressor)	Tối ưu tốc độ và bộ nhớ tốt hơn XGB	Dữ liệu lớn, giàu đặc trưng	Tăng cường cây quyết định dựa trên biểu đồ tàn suất	Thiếu khả năng học đặc trưng thời gian sâu
Mạng nơ-ron nhân tạo (ANN hoặc MLP)	Học được các quan hệ phi tuyến phức tạp	Dữ liệu phi tuyến, tín hiệu cảm biến	Mạng kết nối đầy đủ, học lan truyền ngược	Thiếu khả năng ghi nhớ thứ tự thời gian
Mạng nơ-ron hồi tiếp (RNN)	Có khả năng ghi nhớ trạng thái quá khứ ngắn hạn	Chuỗi thời gian	Mạng hồi tiếp với bộ nhớ trạng thái	Khó huấn luyện khi độ dài chuỗi lớn, do gặp phải vấn đề tiêu biến đạo hàm lan truyền ngược (vanishing gradient)
Mạng nơ-ron tích chập một chiều (1D CNN)	Mạng tích chập một chiều, trích xuất đặc trưng cục bộ trong chuỗi	Chuỗi thời gian liên tục	Áp dụng các kernel tích chập để học mẫu lặp theo thời gian	Mạnh trong trích xuất đặc trưng cục bộ của chuỗi thời gian, đặc biệt hiệu quả với dữ liệu dao động

pháp đo gián tiếp độ võng bằng cách sử dụng CNN để học ánh xạ giữa các phản ứng kết cấu khác và độ võng cần dự đoán. Y. Li và cs (2022) [12] phát triển một mô hình học sâu dựa trên kiến trúc mã hóa - giải mã tự động (autoencoder), kết hợp với các kết nối bỏ qua (skip connections) để tái tạo phản ứng toàn trường của kết cấu.

Từ góc độ tối ưu kiến trúc mạng, G. Fan và cs (2021a) [13] đề xuất mô hình CNN với kết nối dày đặc kết hợp với kỹ thuật biến đổi điểm ảnh phụ (sub-pixel transformation) và dropout, giúp nâng cao hiệu suất truyền gradient, đồng thời giảm độ phức tạp tính toán. Một số nghiên cứu khác, chẳng hạn như G. Fan và cs (2021b) [14], áp dụng mạng CNN tiến truyền hoàn toàn (fully feedforward CNN) với các kết nối dư để phục hồi dữ liệu đo bị mất. N.T.C Nhung và cs (2024) [15] đã nghiên cứu phục hồi dữ liệu cảm biến trong giám sát sức khỏe kết cấu ứng dụng học mạng nơ-ron

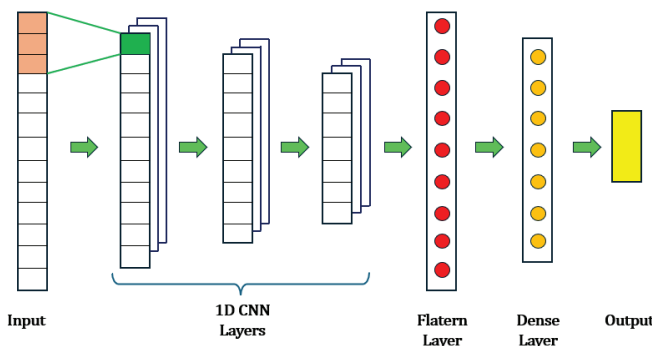
tích chập kết hợp mạng nơ-ron hồi quy. L.V. Vu và cs (2024) [16] đã nghiên cứu khôi phục dữ liệu cho hệ thống giám sát sức khỏe công trình cầu sử dụng mô hình mạng tích chập đồ thị và mạng bộ nhớ ngắn dài hạn.

Mặc dù một số nghiên cứu trước đây đã sử dụng 1D CNN để phục hồi dữ liệu đo bị thiếu trong hệ thống SHM, hầu hết các công trình này tập trung vào việc khai thác mối quan hệ giữa các cảm biến trong điều kiện dữ liệu khá sạch, ít nhiễu và thường chưa chú trọng nhiều đến khả năng tổng quát hóa của mô hình trong bối cảnh dữ liệu thực tế phức tạp. Bên cạnh đó, quy trình xử lý dữ liệu đầu vào và chiến lược huấn luyện vẫn còn tương đối đơn giản, chưa khai thác triệt để các kỹ thuật hỗ trợ như tăng cường dữ liệu.

Trong nghiên cứu này, một hướng tiếp cận mới được xây dựng dựa trên việc kết hợp mô hình 1D CNN với chiến lược tăng cường dữ liệu nhằm nâng cao khả năng phục hồi dữ liệu đo dao động bị thiếu trong môi trường thực tế - nơi dữ liệu có thể bị nhiễu, mất mát liên tục hoặc không đều. Khác với các nghiên cứu trước đây, phương pháp được đề xuất được áp dụng cho mô hình cầu dây văng trong phòng thí nghiệm, trong đó dữ liệu đo được chủ động làm nhiễu để mô phỏng điều kiện đo thực tế của công trình cầu thật. Hướng tiếp cận này cho phép đánh giá hiệu quả phục hồi của mô hình một cách thực tiễn và có kiểm soát, góp phần nâng cao độ tin cậy của hệ thống SHM trong điều kiện vận hành thực tế, đồng thời đảm bảo khả năng áp dụng rộng rãi cho các kết cấu và môi trường đo khác nhau.

2. Phương pháp nghiên cứu đề xuất

Mạng nơ-ron tích chập một chiều là một trong những kiến trúc mạng học sâu mạnh mẽ và phổ biến trong việc xử lý dữ liệu chuỗi thời gian. Trong bối cảnh giám sát sức khỏe kết cấu, nơi các tín hiệu dao động được thu thập từ các cảm biến để đánh giá tình trạng của kết cấu, mô hình 1D CNN đặc biệt hiệu quả nhờ khả năng trích xuất đặc trưng cục bộ từ chuỗi tín hiệu và thực hiện việc phục hồi dữ liệu bị thiếu với tốc độ huấn luyện cao.



Hình 1. Cấu trúc mô hình 1D CNN.

Mô hình được đề xuất (hình 1) trong nghiên cứu này được thiết kế với ba tầng 1D CNN liên tiếp, sử dụng số lượng bộ lọc giảm dần từ 128 đến 64 và 32, tất cả đều sử dụng hàm kích hoạt ReLU và đệm theo tính chất nguyên nhân (padding 'causal') nhằm bảo toàn cấu trúc thời gian của chuỗi tín hiệu. Trong nghiên cứu này, chuẩn hóa theo lô (Batch normalization) được áp dụng giữa các tầng 1D CNN để ổn định phân phối đầu ra trung gian, kết hợp với kỹ thuật loại bỏ ngẫu nhiên (Dropout) với tỷ lệ 0,2 nhằm hạn chế quá khớp (overfitting). Cuối cùng, đầu ra được làm phẳng và đưa qua một lớp hoàn toàn kết nối (Dense) để dự đoán trực tiếp các bước tín hiệu tiếp theo. Cấu trúc tổng quát như sau:

Conv1D(128 filters, kernel size=3, activation=ReLU) → BatchNorm → Dropout(0.2)

Conv1D(64 filters, kernel size=3, activation=ReLU) → BatchNorm → Dropout(0.2)

Conv1D(32 filters, kernel size=3, activation=ReLU) → BatchNorm → Dropout(0.2)

Flatten → Dense(output_steps)

Mô hình được huấn luyện bằng thuật toán tối ưu Adam với tốc độ học (learning rate) được thiết lập là 0,001, cùng hàm mất mát là sai số bình phương trung bình (MSE). Kỹ thuật dừng sớm (early stopping) được áp dụng nhằm ngăn ngừa hiện tượng quá khớp, với tham số patience = 10. Theo đó, quá trình huấn luyện sẽ tự động dừng nếu hiệu suất trên tập xác thực không được cải thiện sau 10 vòng huấn luyện (epoch) liên tiếp, đồng thời khôi phục lại các trọng số tối ưu đạt được trước đó. Kích thước batch trong quá trình huấn luyện được đặt là 64, trong khi số epoch tối đa thiết lập là 1000, cho phép mô hình có đủ khả năng học nếu cần nhưng vẫn đảm bảo dừng sớm khi cần thiết để tránh quá khớp (overfitting).

Các siêu tham số được lựa chọn thông qua quá trình tinh chỉnh có kiểm soát, kết hợp giữa tham khảo các nghiên cứu liên quan trong lĩnh vực SHM và thực nghiệm trên nhiều cấu hình khác nhau. Việc lựa chọn cuối cùng dựa trên hiệu quả dự đoán của mô hình trên tập kiểm tra và tập xác thực, được đánh giá thông qua các chỉ số định lượng gồm RMSE, MAE và R^2 . Đáng chú ý, các giá trị RMSE, MAE và R^2 được trình bày trong bài là giá trị trung bình thu được từ 6 lần huấn luyện độc lập cho mỗi mô hình, nhằm đảm bảo tính ổn định và độ tin cậy trong đánh giá hiệu suất của phương pháp đề xuất.

Mô hình 1D CNN được xây dựng dựa trên nguyên lý tích chập, trong đó tín hiệu đầu vào được "lọc" thông qua các bộ lọc (kernels) có kích thước cố định. Đối với dữ liệu chuỗi thời gian một chiều, tín hiệu đầu vào $x = [x_1, x_2, \dots, x_T]$

có thể là một dãy các giá trị dao động tại các thời điểm khác nhau và mỗi bộ lọc sẽ trượt qua chuỗi tín hiệu để tính toán đặc trưng tại các vị trí khác nhau trong chuỗi.

Công thức tính đầu ra y_t của phép tích chập tại vị trí t là:

$$y_t = (x * w)_t = \sum_{i=0}^{k-1} w_i \cdot x_{t+i} \quad (1)$$

trong đó: x là tín hiệu đầu vào, w_i là trọng số của bộ lọc tại vị trí i , và k là chiều dài của bộ lọc, $x_{(t+i)}$ là giá trị tín hiệu tại vị trí $t+i$ trong chuỗi tín hiệu. Sau khi tính toán phép tích chập, đầu ra sẽ được chuyển qua một hàm kích hoạt phi tuyến (như ReLU), giúp tăng khả năng học các mối quan hệ phi tuyến trong dữ liệu.

$$ReLU(y_t) = \max(0, y_t) \quad (2)$$

Các lớp tích chập có thể xếp chồng để học đặc trưng ở nhiều mức độ. Để tăng độ ổn định và tốc độ hội tụ, mô hình áp dụng chuẩn hóa theo lô (Batch normalization) sau mỗi lớp tích chập một chiều (Conv1D), giúp ổn định phân phối đầu ra và giảm hiện tượng mất/bùng nổ gradient (vanishing/exploding gradient). Đồng thời, loại bỏ ngẫu nhiên (Dropout) với tỷ lệ 0,2 cũng được sử dụng nhằm giảm quá khớp (overfitting) bằng cách vô hiệu hóa ngẫu nhiên một phần các đơn vị (neurons) trong khi huấn luyện. Sự kết hợp giữa Conv1D, Batch normalization và Dropout giúp mô hình vừa học đặc trưng hiệu quả, vừa đảm bảo khả năng khái quát tốt.

Trong bài toán phục hồi dữ liệu dao động bị thiếu trong hệ thống SHM, 1D CNN đóng vai trò như một công cụ trích xuất đặc trưng mạnh mẽ từ chuỗi tín hiệu không đầy đủ. Mô hình học cách nhận diện các mẫu dao động ngắn hạn và mối quan hệ lân cận trong chuỗi quan sát, từ đó dự đoán chính xác các giá trị bị mất dựa trên các đặc trưng đã học.

Phương pháp được đề xuất có một số ưu điểm nổi bật khi so sánh với các phương pháp truyền thống và kiến trúc học sâu hiện nay, cụ thể:

So với LSTM (Long short-term memory) và GRU (Gated recurrent unit) truyền thống: Dù LSTM và GRU là các mô hình hiệu quả cho chuỗi thời gian, chúng đòi hỏi số lượng tham số lớn và dễ gặp hiện tượng suy giảm gradient khi độ dài chuỗi tăng. 1D CNN tận dụng khả năng trích xuất đặc trưng cục bộ nhanh chóng, số tham số ít hơn, huấn luyện nhanh hơn và đặc biệt phù hợp với dữ liệu SHM - nơi nhiều và mất mát dữ liệu chủ yếu xảy ra ở quy mô cục bộ.

So với Autoencoder: Autoencoder có xu hướng học biểu diễn tổng thể toàn chuỗi, nên khó nắm bắt biến động ngắn

hạn - vốn là đặc trưng của dữ liệu cảm biến bị thiếu cục bộ. Trong khi đó, mô hình 1D CNN trong nghiên cứu này được thiết kế để tập trung vào các vùng lân cận khu vực thiếu hụt, nhờ đó khôi phục tín hiệu một cách chi tiết và chính xác hơn.

So với các kiến trúc CNN khác: Các nghiên cứu trước chủ yếu sử dụng CNN cho bài toán phân loại trạng thái kết cấu hoặc phát hiện bất thường. Cho đến nay, vẫn còn hạn chế các nghiên cứu sử dụng CNN thuần 1D để xử lý trực tiếp bài toán tái tạo dữ liệu thiếu theo dạng chuỗi thời gian liên tục, đặc biệt trong bối cảnh dự báo ngắn hạn như được đề xuất trong nghiên cứu này.

Về chiến lược kết hợp nhiễu Gaussian: Việc thêm nhiễu Gaussian vào dữ liệu huấn luyện giúp mô hình học được sự biến thiên tự nhiên của tín hiệu cảm biến trong môi trường thực tế, nhờ đó tăng khả năng tổng quát hóa và giảm hiện tượng quá khớp. Điều này đặc biệt quan trọng trong SHM, nơi tín hiệu thường chịu ảnh hưởng từ nhiều nguồn nhiễu không kiểm soát. Độ lệch chuẩn của nhiễu được lựa chọn và điều chỉnh thông qua thực nghiệm, từ đó tối ưu hiệu quả khôi phục dữ liệu bị thiếu.

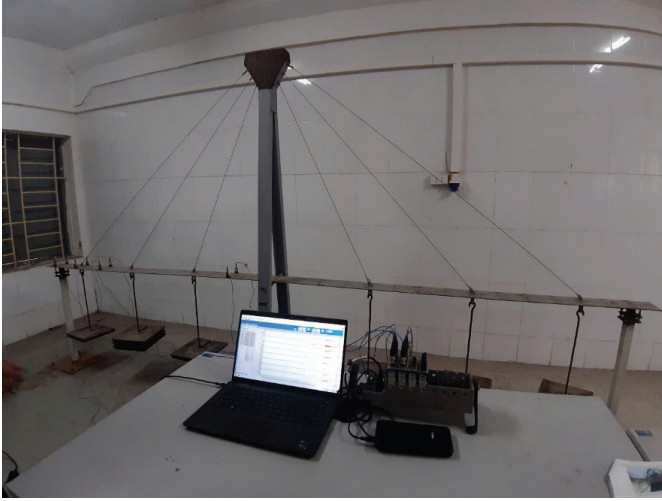
Nghiên cứu này đề xuất một hướng tiếp cận hiệu quả cho bài toán phục hồi dữ liệu dao động bị thiếu trong SHM, với kiến trúc 1D CNN tối ưu cho việc khai thác đặc trưng cục bộ của tín hiệu, kết hợp với chiến lược tăng cường dữ liệu bằng nhiễu Gaussian. Phương pháp vừa đảm bảo tính hiệu quả về dự đoán, vừa phù hợp thực tiễn với đặc thù của dữ liệu SHM - vốn nhiều nhiễu và thiếu dữ liệu cục bộ.

3. Kiểm tra và đánh giá hiệu suất

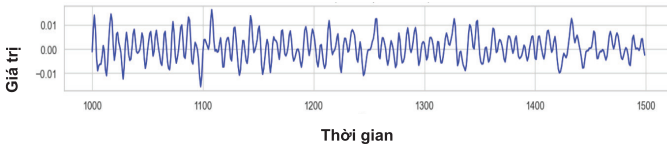
Trong nghiên cứu này, mô hình 1D CNN được áp dụng để khôi phục dữ liệu đo bị thiếu từ mô hình cầu trong phòng thí nghiệm. Huấn luyện mô hình được thực hiện trên máy tính chạy Windows 10, sử dụng CPU Intel Core i7-12700F và GPU RTX 3060 (12 GB). Mô hình được xây dựng bằng Python 3.10 với các thư viện Keras và TensorFlow.

3.1. Mô hình cầu và dữ liệu đo

Một mô hình cầu dây văng dài 3,5 m được xây dựng tại Phòng Thí nghiệm DX, Trường Đại học Giao thông Vận tải (hình 2), để đánh giá hiệu quả mô hình 1D CNN trong khôi phục dữ liệu. Dầm chính của cầu có tiết diện hình chữ nhật với kích thước 0,12×0,005 m. Tháp cầu được thiết kế theo dạng chữ “A” với chiều cao đạt 1,6 m và được liên kết cứng với nền móng thông qua các bu lông có đường kính 10 mm. Hai đầu của dầm chính được gối đỡ bằng các liên kết dạng lò xo và được cố định xuống nền bằng các trụ cầu. Các trụ



Hình 2. Mô hình cầu trong phòng thí nghiệm.



Hình 3. Một phần của gia tốc (m/s²) đo được trong phòng thí nghiệm.

cầu cũng được liên kết cứng với nền móng thông qua các bu lông có đường kính 10 mm. Các cảm biến gia tốc PCB-353B34 được lắp đặt để ghi nhận dao động (hình 3), dữ liệu thu bằng hệ CompactDAQ với module NI-9234, kích thích dao động bằng búa tay và xử lý qua MATLAB/LABVIEW.

Nhằm tăng tính phong phú cho tập dữ liệu huấn luyện và nâng cao khả năng khái quát của mô hình, nghiên cứu áp dụng kỹ thuật tăng cường dữ liệu bằng cách bổ sung nhiễu Gaussian. Cụ thể, độ lệch chuẩn của dữ liệu gốc được sử dụng để điều chỉnh cường độ nhiễu. Nhiễu được tạo ra từ phân phối chuẩn, sau đó được cộng trực tiếp vào tín hiệu đầu vào để tạo thành dữ liệu tăng cường.

Phương pháp này giúp tái hiện các điều kiện đo đạc trong thực tế, nơi dữ liệu thường bị ảnh hưởng bởi nhiễu ngẫu nhiên và sai số từ thiết bị cảm biến. Việc huấn luyện mô hình với dữ liệu có nhiễu giúp hệ thống học được các đặc trưng ổn định và ít bị ảnh hưởng bởi nhiễu loạn, từ đó cải thiện độ chính xác và độ tin cậy trong các tác vụ dự báo chuỗi thời gian trong môi trường thực tế.

Xét tín hiệu gốc $x = [x_1, x_2, \dots, x_n]$, ký hiệu $\epsilon \sim N(0, \sigma^2)$ là nhiễu Gaussian có trung bình bằng 0. Trong đó, độ lệch chuẩn σ của nhiễu được xác định theo mức độ biến động của tín hiệu ban đầu, được thiết lập theo tỷ lệ như sau:

$$\sigma = a \times std(x) \quad (3)$$

Độ lệch chuẩn của tín hiệu gốc được tính như sau:

$$std(x) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (4)$$

trong đó: a là mức độ nhiễu, $\bar{x}$ là giá trị trung bình của tín hiệu. Tín hiệu sau khi được tăng cường, ký hiệu x' được xác định như sau:

$$x' = x + \epsilon \quad (5)$$

Sau khi được tăng cường bằng cách bổ sung nhiễu, tập dữ liệu dao động được sử dụng để huấn luyện mô hình nhằm tăng khả năng thích ứng với môi trường có nhiễu và tính bất định cao. Dữ liệu này được chia thành ba phần riêng biệt: tập huấn luyện, tập xác thực và tập kiểm tra, theo tỷ lệ lần lượt là 70, 15 và 15%. Trong mỗi tập, dữ liệu tiếp tục được xử lý để tách thành hai thành phần: đầu vào X và nhãn mục tiêu y , phục vụ cho bài toán khôi phục dữ liệu dao động.

3.2. Đánh giá hiệu suất mô hình

Trong nghiên cứu này, một mô hình 1D CNN được xây dựng nhằm giải quyết bài toán khôi phục dữ liệu dao động bị thiếu, thu thập từ mô hình cầu dây văng quy mô phòng thí nghiệm. Để đánh giá hiệu suất dự đoán của mô hình một cách định lượng, ba chỉ số phổ biến được sử dụng để đo lường độ sai lệch giữa giá trị dự đoán $\hat{y}_i$ và giá trị quan sát thực tế y_i . Các chỉ số này được định nghĩa như sau:

Sai số căn bậc hai trung bình (RMSE):

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (6)$$

Sai số tuyệt đối trung bình (MAE):

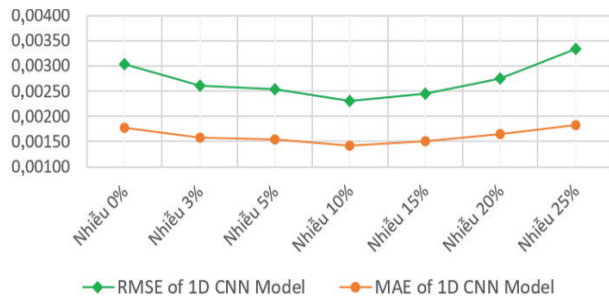
$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |y_i - \hat{y}_i| \quad (7)$$

Hệ số xác định (R^2)

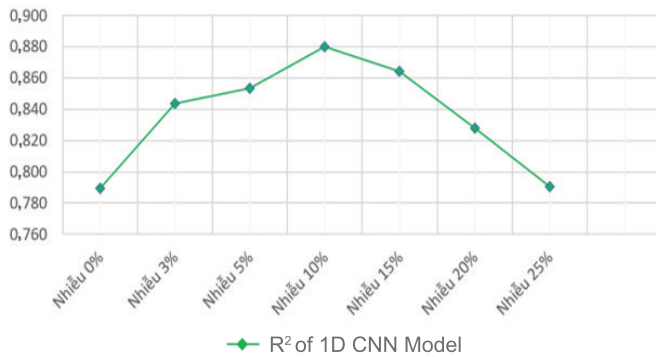
$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (8)$$

trong đó: $\bar{y}$ là giá trị trung bình của các quan sát thực tế và n là số lượng mẫu. Giá trị RMSE và MAE càng thấp cho thấy mô hình dự đoán càng chính xác. Trong khi đó, hệ số R^2 càng cao cho thấy mô hình phù hợp tốt hơn với dữ liệu thực tế.

Để đánh giá tác động của dữ liệu huấn luyện được tăng cường bằng nhiễu đến hiệu suất của mô hình, các mô hình đã được huấn luyện với dữ liệu được bổ sung nhiễu Gaussian ở nhiều mức độ khác nhau: 0, 3, 5, 10, 15, 20 và 25% độ lệch chuẩn. Hiệu suất của các mô hình được so sánh thông qua ba chỉ số: RMSE, MAE và hệ số xác định R^2 , được thể hiện trong các biểu đồ ở hình 4, 5 và bảng 2.



Hình 4. So sánh RMSE và MAE giữa các mô hình có mức độ nhiễu khác nhau.



Hình 5. So sánh R² giữa các mô hình có mức độ nhiễu khác nhau.

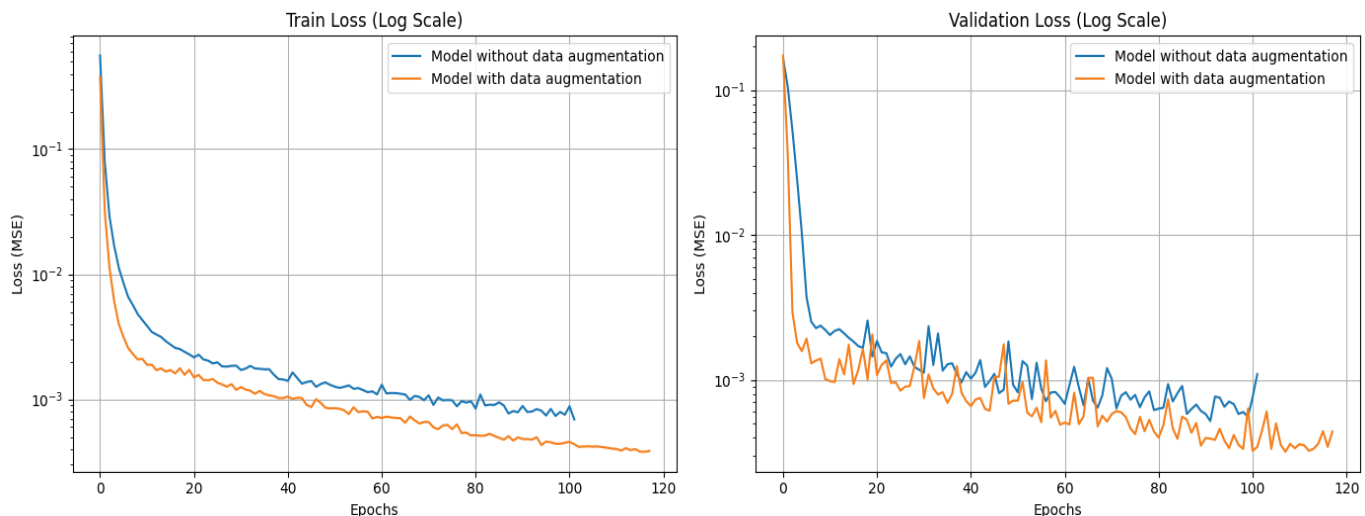
Bảng 2. Tổng hợp kết quả các chỉ số đánh giá các mô hình với mức độ nhiễu Gaussian khác nhau.

Chỉ số đánh giá	Mức độ tăng cường dữ liệu bằng bổ sung nhiễu Gaussian						
	0%	3%	5%	10%	15%	20%	25%
RMSE	0,00304	0,00262	0,00254	0,00231	0,00246	0,00275	0,00335
MAE	0,00178	0,00157	0,00153	0,00141	0,00150	0,00166	0,00182
R ²	0,7897	0,8436	0,8534	0,8798	0,8642	0,8278	0,7907

Hình 4 và bảng 2 cho thấy, mô hình đạt RMSE=0,00304 với dữ liệu gốc (0% nhiễu). Đáng chú ý, khi áp dụng nhiễu nhẹ (3-10%), hiệu suất được cải thiện rõ rệt, với RMSE thấp nhất là 0,00231 và MAE thấp nhất là 0,00141 tại mức nhiễu 10%. Hình 5 và bảng 2 cho thấy, chỉ số R² cũng tăng từ 0,7897 (0% nhiễu) lên 0,8798 (10% nhiễu), cho thấy khả năng khái quát hóa được cải thiện. Tuy nhiên, khi mức nhiễu vượt quá 15%, các chỉ số hiệu suất bắt đầu suy giảm. Kết quả này cho thấy, việc tăng cường dữ liệu bằng nhiễu Gaussian ở mức vừa phải giúp cải thiện độ chính xác và tính ổn định của mô hình, trong khi nhiễu quá lớn gây hiệu ứng ngược. Những phát hiện này có ý nghĩa thực tiễn quan trọng đối với các hệ thống giám sát sức khỏe kết cấu cầu, nơi dữ liệu thu nhận từ cảm biến thường không tránh khỏi bị ảnh hưởng bởi nhiễu và sai số đo lường. Việc lựa chọn mức tăng cường phù hợp là cần thiết để cân bằng giữa tính kháng nhiễu và độ ổn định trong quá trình huấn luyện mô hình học sâu.

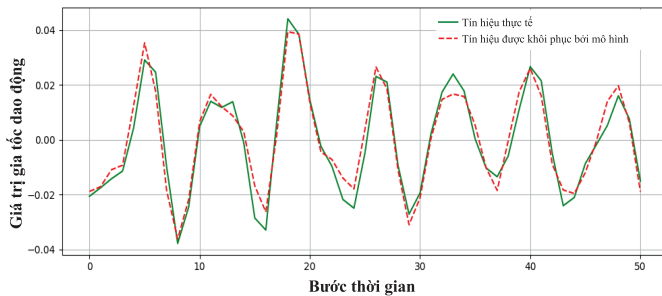
Đường cong mất mát huấn luyện và xác thực, được đo bằng sai số bình phương trung bình (MSE) của hai mô hình không có và có tăng cường dữ liệu bằng nhiễu 10% độ lệch chuẩn, được trình bày trong hình 6.

Như thể hiện trong hình 6, mô hình đề xuất 1D CNN có tăng cường dữ liệu cho kết quả vượt trội hơn so với mô hình không có tăng cường dữ liệu ở cả giai đoạn huấn luyện và kiểm tra. Mô hình đạt giá trị mất mát thấp hơn, hội tụ nhanh hơn và duy trì độ ổn định huấn luyện cao hơn. Cần lưu ý rằng, số epochs huấn luyện khác nhau giữa các mô hình do áp dụng kỹ thuật dừng sớm (early stopping), nhằm dừng huấn luyện khi mất mát kiểm tra không còn cải thiện, từ đó đảm bảo mỗi mô hình được huấn luyện với số epochs tối ưu và tránh hiện tượng quá khớp.

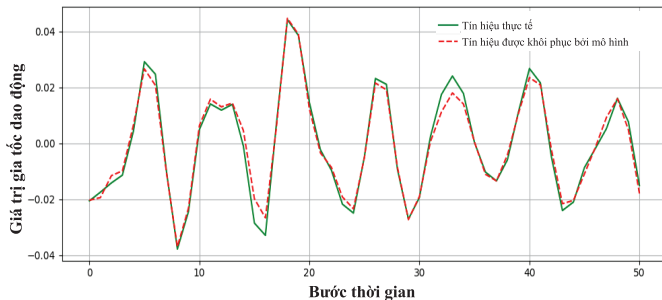


Hình 6. Mất mát MSE trong quá trình huấn luyện trên tập dữ liệu huấn luyện (training) và tập dữ liệu xác thực (validation).

Hình 7 và hình 8 trình bày sự so sánh kết quả khôi phục tín hiệu dao động giữa mô hình 1D CNN trong hai trường hợp: có và không áp dụng kỹ thuật tăng cường dữ liệu. Trục hoành biểu thị các bước thời gian, trong khi trục tung thể hiện giá trị gia tốc dao động (m/s^2). Đường màu xanh nét liền đại diện cho tín hiệu thực tế (Actual), còn đường màu đỏ nét đứt là tín hiệu được khôi phục bởi mô hình (Reconstructed). Cùng một tập dữ liệu được sử dụng trong cả hai trường hợp nhằm đảm bảo tính nhất quán và khả năng so sánh trực quan giữa các kết quả.



Hình 7. Tín hiệu dao động thực tế (Actual) và tín hiệu khôi phục (Reconstructed) sử dụng mô hình 1D CNN (không có tăng cường dữ liệu).



Hình 8. Tín hiệu dao động thực tế (Actual) và tín hiệu khôi phục (Reconstructed) sử dụng mô hình 1D CNN (có tăng cường dữ liệu).

Bảng 3. So sánh hiệu suất mô hình đề xuất 1D CNN với các phương pháp hồi quy và học sâu.

Mô hình đánh giá	Ký hiệu	RMSE	MAE	R^2
LinearRegression	A	0,002660	0,001552	0,816325
XGBRegressor	B	0,003213	0,001632	0,766892
LGBMRegressor	C	0,002894	0,001561	0,812039
MLP (or Dense)	D	0,002717	0,001498	0,833750
RNN	E	0,002677	0,001571	0,838667
Mô hình đề xuất 1D CNN	F	0,002310	0,001414	0,879782
So sánh 1D CNN với LinearRegression	(F-A)/A	-13,1%	-8,9%	7,8%
So sánh 1D CNN với XGBRegressor	(F-B)/B	-28,1%	-13,4%	14,7%
So sánh 1D CNN với LGBMRegressor	(F-C)/C	-20,2%	-9,5%	8,3%
So sánh 1D CNN với MLP	(F-D)/D	-15,0%	-5,6%	5,5%
So sánh 1D CNN với RNN	(F-E)/E	-13,7%	-10,0%	4,9%

Kết quả cho thấy, cả hai mô hình đều có thể xấp xỉ hợp lý tín hiệu đo được. Tuy nhiên, mô hình đề xuất 1D CNN có tăng cường dữ liệu thể hiện sự phù hợp vượt trội với tín hiệu thực so với mô hình không có tăng cường dữ liệu. Cụ thể, mô hình này khôi phục chính xác hơn cả biên độ lẫn dạng sóng của tín hiệu dao động.

Bảng 3 trình bày kết quả đánh giá hiệu suất của mô hình 1D CNN đề xuất so với các mô hình hồi quy và học sâu, gồm: Linear Regression (hồi quy tuyến tính), XGBRegressor (thuật toán hồi quy XGBoost - Tăng cường độ dốc cực đại), LGBMRegressor (thuật toán hồi quy LightGBM - Tăng cường độ dốc nhẹ), MLP (Mạng nơ-ron truyền thẳng nhiều lớp) và RNN (Mạng nơ-ron hồi tiếp) trên tập kiểm tra. Kết quả cho thấy, mô hình đề xuất 1D CNN đạt giá trị RMSE, MAE thấp nhất và hệ số xác định R^2 cao nhất (RMSE=0,002310, MAE=0,001414, R^2 =0,879782), cho thấy độ chính xác và khả năng tổng quát vượt trội. Cụ thể, so với Linear Regression, 1D CNN giúp giảm RMSE và MAE lần lượt 13,1 và 8,9%, đồng thời cải thiện R^2 thêm 7,8%. Mô hình cũng cho thấy, mức cải thiện đáng kể so với các thuật toán học máy như XGBRegressor và LGBMRegressor, cũng như các mô hình học sâu như MLP và RNN. Đặc biệt, khi so với RNN - một mô hình phổ biến trong xử lý chuỗi thời gian - 1D CNN vẫn cho kết quả tốt hơn với RMSE giảm 13,7% và R^2 tăng 4,9%. Những kết quả này khẳng định tính hiệu quả của mô hình đề xuất 1D CNN và tăng cường dữ liệu trong bài toán khôi phục dữ liệu dao động trong hệ thống SHM.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã chứng minh rằng việc áp dụng mạng nơ-ron tích chập một chiều là một hướng tiếp cận hiệu quả và phù hợp cho bài toán khôi phục dữ liệu dao động theo chuỗi thời gian trong các hệ thống giám sát sức khỏe kết cấu. Mô hình 1D CNN cho thấy, khả năng trích xuất đặc trưng cục bộ vượt trội từ tín hiệu đầu vào, đồng thời có tốc độ huấn luyện nhanh, độ ổn định cao và kiến trúc gọn nhẹ - rất phù hợp với các ứng dụng trong môi trường thực tế, nơi dữ liệu thường bị gián đoạn hoặc nhiễu loạn.

Về mặt học thuật, nghiên cứu đã đóng góp một quy trình xây dựng mô hình học sâu chuyên biệt cho bài toán khôi phục dữ liệu mất mát trong SHM, đồng thời làm rõ hiệu quả của việc tăng cường dữ liệu bằng nhiễu Gaussian. Cụ thể, kết quả cho thấy, việc bổ sung nhiễu với mức hợp lý có thể cải thiện đáng kể hiệu suất dự đoán và khả năng khái quát hóa của mô hình, từ đó nâng cao độ tin cậy trong môi trường dữ liệu thực.

Về mặt hạn chế, nghiên cứu này mới chỉ được thực hiện trên dữ liệu dao động thu thập từ mô hình cầu trong phòng thí nghiệm và chưa xem xét trường hợp sử dụng thông tin từ nhiều cảm biến khác nhau để hỗ trợ khôi phục dữ liệu bị thiếu của một cảm biến cụ thể.

Trong tương lai, các hướng nghiên cứu mở rộng có thể bao gồm:

- (1) Triển khai và đánh giá mô hình trên dữ liệu thực địa từ các công trình ngoài thực tế;
- (2) Mở rộng sang các loại công trình khác như đập thủy điện, nhà cao tầng hoặc công trình công nghiệp;
- (3) Tích hợp thông tin từ nhiều loại cảm biến khác nhau để cải thiện độ chính xác và khả năng thích ứng của mô hình trong điều kiện giám sát đa chiều.

Ngoài ra, việc kết hợp 1D CNN với các kiến trúc tiên tiến khác như encoder-decoder hoặc attention mechanism cũng là một hướng nghiên cứu hứa hẹn nhằm nâng cao hiệu quả khôi phục dữ liệu trong các hệ thống SHM phức tạp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Giao thông Vận tải trong đề tài mã số T2025-CT-018. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V.G.M. Annamdas, S. Bhalla, C.K. Soh (2017), “Applications of structural health monitoring technology in Asia”, *Structural Health Monitoring*, **16**(3), pp.324-346, DOI: 10.1177/1475921716653278.
- [2] C.R. Farrar, K. Worden (2007), “An introduction to structural health monitoring”, *Philosophical Transactions of The Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, **365**(1851), pp.303-315, DOI: 10.1098/rsta.2006.1928.
- [3] J.P. Lynch, K.J. Loh (2006), “A summary review of wireless sensors and sensor networks for structural health monitoring”, *Shock and Vibration Digest*, **38**(2), pp.91-128, DOI: 10.1177/0583102406061499.
- [4] H. Li, J. Ou (2016), “The state of the art in structural health monitoring of cable-stayed bridges”, *J. Civil Struct. Health Monit.*, **6**, pp.43-67, DOI: 10.1007/s13349-015-0115-x.
- [5] Y. Bao, H. Li, X. Sun, et al. (2013), “Compressive sampling-based data loss recovery for wireless sensor networks used in civil structural health monitoring”, *Struct. Health Monit.*, **12**(1), pp.78-95, DOI: 10.1177/1475921712462936.

- [6] V.S.G. Thadikemalla, A.S. Gandhi (2018), “A data loss recovery technique using compressive sensing for structural health monitoring applications”, *KSCE J. Civ. Eng.*, **22**, pp.5084-5093, DOI: 10.1007/s12205-017-2070-z.
- [7] R.M.C. Bastos, M.A.T. Figueiredo (2017), “Reconstruction of missing data in structural health monitoring using Kalman filters and EM algorithms”, *Mechanical Systems and Signal Processing*, **85**, pp.829-845, DOI: 10.1016/j.ymssp.2016.09.025.
- [8] Y. LeCun, L. Bottou, Y. Bengio, et al. (1998), “Gradient-based learning applied to document recognition”, *Proceedings of The IEEE*, **86**(11), pp.2278-2324, DOI: 10.1109/5.726791.
- [9] B.K. Oh, B. Glisic, Y. Kim, et al. (2020), “Convolutional neural network-based data recovery method for structural health monitoring”, *Struct. Health. Monit.*, **19**(6), pp.1821-1838, DOI: 10.1177/1475921719897571.
- [10] P. Moeinifard, M.S. Rajabi, M. Bitaraf (2021), “Lost vibration test data recovery using convolutional neural network: A case study”, *AUT Journal of Civil Engineering*, **5**(4), pp.701-714, DOI: 10.22060/ajce.2022.20641.5773.
- [11] P. Ni, Y. Li, L. Sun, et al. (2022), “Traffic-induced bridge displacement reconstruction using a physics-informed convolutional neural network”, *Comput. Struct.*, **271**, DOI: 10.1016/j.compstruc.2022.106863.
- [12] Y. Li, P. Ni, L. Sun, et al. (2022), “A convolutional neural network-based full-field response reconstruction framework with multitype inputs and outputs”, *Struct. Control. Health Monit.*, **29**(7), DOI: 10.1002/stc.2961.
- [13] G. Fan, J. Li, H. Hao (2021a), “Dynamic response reconstruction for structural health monitoring using densely connected convolutional networks”, *Struct. Health. Monit.*, **20**(4), pp.1373-1391, DOI: 10.1177/1475921720916881.
- [14] G. Fan, J. Li, H. Hao (2021b), “Using deep learning technique for recovering the lost measurement data”, *EASEC16: Proceedings of The 16th East Asian-Pacific Conference on Structural Engineering and Construction*, pp.229-237, DOI: 10.1007/978-981-15-8079-6_22.
- [15] N.T.C. Nhung, T.Q. Minh (2024), “Recovery of sensor data in supervising of structure strength using integrated neuron networks combined with regressive neuron networks”, *Journal of Transport Technology*, **9**, pp.39-42 (in Vietnamese).
- [16] L.V. Vu, N.D. Luong, T.T. Hiep, et al. (2024), “Data recovery in bridge structural health monitoring systems using a hybrid graph convolutional network and long short-term memory model”, *Transport and Communications Science Journal*, **75**(9), pp.2385-2399, DOI: 10.47869/tcsj.75.9.12 (in Vietnamese).

Mối liên hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và tính chất áp điện của hệ vật liệu $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Zr}_{0.1}\text{Ti}_{0.9}\text{O}_3$

Nguyễn Văn Khiển¹, Vũ Thị Kim Liên^{2,3}, Chu Thị Anh Xuân¹, Lô Thị Huế¹, Phạm Hoài Linh⁴,
Nguyễn Thị Ngọc Anh⁴, Nguyễn Văn Quang⁵, Nguyễn Văn Đăng¹, Lê Tiến Hà^{1*}

¹Trường Đại học Khoa học, Đại học Thái Nguyên, phường Tân Thịnh, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

²Viện Nghiên cứu Lý thuyết và Ứng dụng, Đại học Duy Tân, 1 Phùng Chí Kiên, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

³Khoa Khoa học Tự nhiên, Đại học Duy Tân, 254 Nguyễn Văn Linh, phường Thạc Gián, quận Thanh Khê, TP Đà Nẵng, Việt Nam

⁴Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

⁵Khoa Hoá học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2, 32 Nguyễn Văn Linh, phường Xuân Hòa, TP Phúc Yên, tỉnh Vĩnh Phúc, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/4/2023; ngày chuyển phản biện 7/4/2023; ngày nhận phản biện 29/4/2023; ngày chấp nhận đăng 3/5/2023

Tóm tắt:

Hệ vật liệu $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Zr}_{0.1}\text{Ti}_{0.9}\text{O}_3$ (BCZT) (với $x=0,075-0,175$) được chế tạo bằng phương pháp phản ứng rắn ở nhiệt độ nung thiêu kết 1450°C trong 4 giờ. Kết quả phân tích cấu trúc bằng giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) cho thấy, trong hệ vật liệu cùng tồn tại các cấu trúc pha khác nhau của BCTZ điển hình. Khi tỷ lệ pha tạp Ca tăng trên 17,5% thì xuất hiện thêm pha cấu trúc CaTiO_3 trong mẫu vật liệu. Kết quả phân tích trở kháng vào tần số trong phạm vi 100-2,5 MHz ở nhiệt độ phòng và thời gian phục hồi điện môi đối với tất cả các mẫu ở dạng hình đĩa và hình trụ cho thấy trở kháng, thời gian phục hồi điện môi có xu hướng giảm khi tỷ lệ Ca tăng lên. Kết quả này cho thấy, sự thay thế của ion Ca^{2+} vào vị trí Ba^{2+} ảnh hưởng đáng kể đến thời gian phục hồi điện môi và tính chất áp điện của các mẫu BCZT. Các đặc tính áp điện đã được cải thiện và tối ưu hóa ở nồng độ pha tạp 15% Ca, trong đó thời gian phục hồi điện môi có giá trị nhỏ nhất. Mối quan hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và tính chất áp điện được phát hiện có liên quan đến sự cùng tồn tại của các pha cấu trúc trong vùng biên pha hình thái được chứng minh bằng kết quả XRD.

Từ khóa: giản đồ nhiễu xạ tia X, thời gian phục hồi điện môi, tính chất áp điện.

Chỉ số phân loại: 1.3, 1.4, 2.5

Correlation between dielectric relaxation time and piezoelectric property in $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Zr}_{0.1}\text{Ti}_{0.9}\text{O}_3$

Van Khiem Nguyen¹, Thi Kim Lien Vu^{2,3}, Thi Anh Xuan Chu¹, Thi Hue Lo¹, Hoai Linh Pham⁴,
Thi Ngoc Anh Nguyen⁴, Van Quang Nguyen⁵, Van Dang Nguyen¹, Tien Ha Le^{1*}

¹Institute of Science and Technology, University of Science, Thai Nguyen University,
Tan Thinh Ward, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

²Institute of Theoretical and Applied Research, Duy Tan University, 1 Phung Chi Kien Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

³Faculty of Natural Sciences, Duy Tan University, 254 Nguyen Van Linh Street, Thac Gian Ward, Thanh Khe District, Da Nang City, Vietnam

⁴Institute of Materials Science, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

⁵Hanoi Pedagogical University 2, 32 Nguyen Van Linh Street, Xuan Hoa Ward, Phuc Yen City, Vinh Phuc Province, Vietnam

Received 4 April 2023; revised 29 April 2023; accepted 3 May 2023

Abstract:

The $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Zr}_{0.1}\text{Ti}_{0.9}\text{O}_3$ (BCZT) material system (with $x=0.075-0.175$) was fabricated by the solid-state reaction method at a sintering temperature of 1450°C for 4 hours. The results of structural analysis by X-ray diffraction (XRD) showed that different phase structures of typical BCTZ materials coexist in the material system. When the Ca doping ratio increased above 17.5%, an additional CaTiO_3 structural phase appeared in the material sample. The results of impedance analysis at frequencies in the range of 100-2.5 MHz at room temperature and dielectric relaxation time for all samples in both disc and cylindrical shapes showed that the impedance and dielectric relaxation time tended to decrease as the Ca ratio increased. These results showed that substituting Ca^{2+} ions in place of Ba^{2+} ions significantly affected the dielectric relaxation time and piezoelectric properties of BCZT samples. The piezoelectric properties were improved and optimised at 15% Ca doping concentration, where the dielectric relaxation time had the smallest value. The relationship between the dielectric relaxation time and piezoelectric properties was found to be related to the coexistence of structural phases in the morphological phase boundary region as demonstrated by XRD results.

Keywords: dielectric relaxation time, piezoelectric property, X-ray diffraction.

Classification numbers: 1.3, 1.4, 2.5

*Tác giả liên hệ: Email: halt@tus.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Tính chất áp điện lớn của hệ vật liệu $\text{Pb}(\text{Zr}_{12-x}\text{Ti}_x)\text{O}_3$ (PZT) tìm thấy ở quanh nồng độ $x=0,45-0,48$ được cho là có sự xuất hiện của biên pha hình thái (MPB), trong đó hai pha sắt điện có cấu trúc tứ diện và mặt thoi cùng tồn tại [1, 2]. Giản đồ pha của PZT được đưa ra bởi B. Jaffe và cs (1971) [1] đã được chấp nhận rộng rãi trong nhiều năm cho thấy, MPB ở tỷ lệ nguyên tử $\text{Zr}/\text{Ti} \sim 53/47$ trong khoảng nhiệt độ phòng ($10-370^\circ\text{C}$). Sau đó, B. Noheda và cs (1999) [2], sử dụng nhiễu xạ điện tử độ phân giải cao đã phát hiện ra sự tồn tại của pha đơn tà trong hợp chất PZT tại MPB ứng với thành phần $x=0,48$. Sau đó, sự tồn tại của pha đơn tà đã được chứng minh trong một số hợp chất có nồng độ pha tạp gần MPB [3, 4]. Người ta đã chỉ ra rằng, việc tăng cường các tính chất áp điện khi trong vật liệu tồn tại MPB, trong đó có sự chuyển pha cấu trúc giữa pha tứ diện và pha mặt thoi thông qua pha đơn tà. Do trong cấu trúc đơn tà không có trục đối xứng, các vector phân cực sắt điện có thể quay dễ dàng giữa các trục phân cực của các pha tứ diện và mặt thoi [1]. Mô hình này đã cung cấp một lời giải thích sâu sắc cho các đặc tính áp điện nổi bật trong PZT [2, 3], BZT-xBCT [5-8], BST-xBCT [9], BNT-BT-BKT [10] và KNN [11].

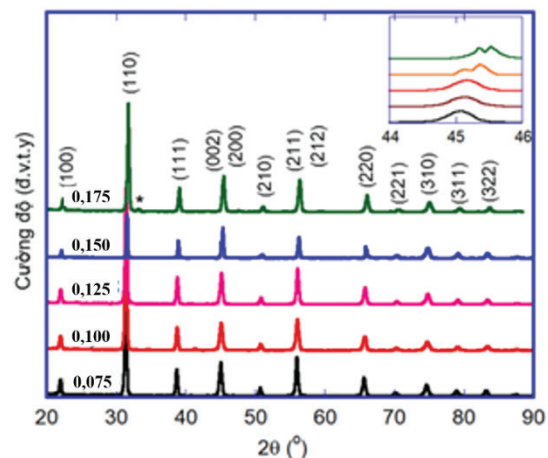
Trong vùng MPB, do sự cùng tồn tại của các pha cấu trúc khác nhau, cấu trúc tinh thể xoắn và biến dạng có thể xảy ra, dẫn đến rối loạn cục bộ. Rối loạn cục bộ và cạnh tranh pha trong MPB có thể làm thay đổi hình dạng của miền sắt điện, từ đó có thể làm thay đổi tính linh hoạt của vách domain sắt điện, ảnh hưởng đến đáp ứng điện môi và thời gian phục hồi điện môi của vật liệu. Trong nghiên cứu trước đây [12, 13], chúng tôi đã tìm hiểu mối quan hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và tính chất áp điện trong hợp chất của BaTiO_3 pha tạp Ca (BCT). Trong BCT, thời gian phục hồi điện môi giảm khi nồng độ Ca lên tới 14,8%, sau đó tăng lên khi nồng độ BCT cao hơn, trong khi hằng số áp điện d_{33} thể hiện xu hướng ngược lại và đạt cực đại ở nồng độ Ca 14,8%. Sự phụ thuộc của thời gian phục hồi điện môi vào nồng độ Ca được suy đoán là kết quả của sự biến dạng mạng cục bộ gây ra bởi sự biến đổi cấu trúc phụ thuộc vào nồng độ Ca [13]. Do đó, mối quan hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và các thông số áp điện có thể được quy cho sự cạnh tranh pha trong BCT. Mối tương quan này trong hệ thống áp điện đơn lẻ có thể được áp dụng trong các hệ thống áp điện phức tạp khác. Theo hiểu biết của chúng tôi, loại mối quan hệ này vẫn chưa được nghiên cứu và báo cáo

đầy đủ. Do đó, để hiểu rõ hơn về mối quan hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và tính chất áp điện, chúng tôi đã nghiên cứu các tính chất này trong hệ vật liệu BCZT với x thay đổi quanh giá trị lớn nhất của tham số áp điện d_{33} sau nghiên cứu trước đây của chúng tôi [13]. Như mong đợi, kết quả cho thấy mối quan hệ tương tự như thu được trong hệ BCT. Kết quả của chúng tôi gợi ý một phương pháp thuận tiện mới để ước tính các đặc tính áp điện của vật liệu áp điện.

2. Thực nghiệm

Hệ vật liệu BCZT được chế tạo bằng phương pháp phản ứng pha rắn. Hoá chất ban đầu được sử dụng của Hãng Merck, gồm BaCO_3 , CaCO_3 và TiO_2 , có độ sạch 99,9%. Các hoá chất được cân theo đúng hợp phần và nghiền trộn trong dung môi cồn, sau đó nung sơ bộ ở 1200°C và nung thiêu kết ở 1450°C trong 4 giờ. Sau đó, mẫu được xử lý để đem đi đo và khảo sát cấu trúc cũng như các tính chất của vật liệu. Cấu trúc tinh thể của vật liệu được nghiên cứu dựa trên máy đo XRD (D5000-SIEMENS) với bức xạ $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda=1,5406 \text{ \AA}$). Tính chất điện môi và phổ cộng hưởng trở kháng được đo trong dải tần từ 0 đến 11 MHz bằng máy phân tích trở kháng HP 4192A và LCR 3532 Hioki. Các tham số áp điện được tính toán trên phổ trở kháng cộng hưởng sử dụng tiêu chuẩn áp điện IEEE 176-1987.

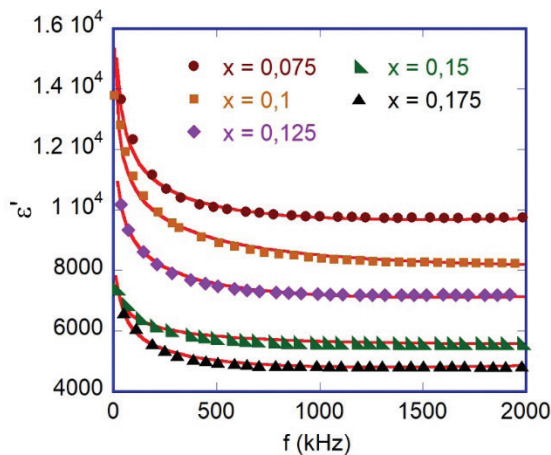
3. Kết quả và bàn luận



Hình 1. Giản đồ nhiễu xạ tia X của hệ mẫu $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Zr}_{0.1}\text{Ti}_{0.9}\text{O}_3$.

Hình 1 là giản đồ nhiễu xạ XRD của hệ mẫu BCZT đã chế tạo được. Kết quả XRD cho thấy, khi nồng độ $x \leq 0,15$ tất cả các đỉnh đều đặc trưng cho cấu trúc perovskite đa tinh thể điển hình của hệ mẫu BCZT, không có bất kỳ pha tạp chất thứ cấp nào. Điều này chứng tỏ, khi nồng độ $x \leq 0,15$ Ca đã

thay thế cho Ba trong mạng nền của vật liệu. Khi nồng độ Ca tăng lên đến 0,175 thì xuất hiện thêm pha CaTiO_3 được đánh dấu (*) trên giản đồ. Giản đồ XRD còn cho thấy, khi tăng dần nồng độ Ca thay thế cho Ba có sự tách đỉnh nhiễu xạ (thể hiện trên hình phóng to ứng với góc 2θ từ 44 đến 46°). Sự tách các đỉnh nhiễu xạ có thể gợi ý rằng, có nhiều loại cấu trúc tinh thể cùng tồn tại trong mẫu này. Chúng có thể là các pha hình thoi, tứ diện và tam tà trong vùng MPB như đã báo cáo trong các công trình khác [4, 5]. Điều này cho thấy, Ca đã thay thế thành công cho Ba và sự chuyển pha cấu trúc này là do bán kính ion của Ca^{2+} nhỏ hơn so với của Ba^{2+} (bán kính của Ca^{2+} và Ba^{2+} lần lượt là 0,1 và 0,135 nm [14]). Bên cạnh đó, hiệu ứng kích thước hạt có thể gây ra sự cùng tồn tại của nhiều pha cấu trúc khác nhau trong vật liệu, chẳng hạn như hợp chất BaTiO_3 , với kích thước hạt trung bình trong khoảng 0,1-1,0 μm [9, 10, 12, 15-19]. Sự chuyển tiếp pha cấu trúc từ trực thoi sang tứ giác ở nhiệt độ khoảng 24°C cũng đã được quan sát thấy trong các mẫu gốm BaTiO_3 với kích thước hạt vài μm [15, 19].



Hình 2. Sự phụ thuộc hằng số điện môi vào tần số của hệ mẫu $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{Zr}_{0,1}\text{Ti}_{0,9}\text{O}_3$ (các điểm chấm) và đường làm khớp theo công thức Debye (đường nét liền).

Tính chất điện môi của hệ BCZT phụ thuộc vào tần số được thể hiện trên hình 2. Để tính thời gian phục hồi điện môi, chúng tôi sử dụng công thức Debye:

$$\epsilon^* = \epsilon_\infty + (\epsilon_s - \epsilon_\infty) / [1 + (j\omega\tau)^{1-\beta}]$$

trong đó: ϵ^* là hằng số điện môi phức; ϵ_s và ϵ_∞ lần lượt là hằng số điện môi tĩnh và hằng số điện môi ở tần số cao; j là tham số phức; ω là tần số; τ là thời gian phục hồi điện môi và $0 \leq \beta < 1$ là tham số thực nghiệm liên quan đến hàm phân bố của thời gian phục hồi đã được chấp nhận lần đầu tiên

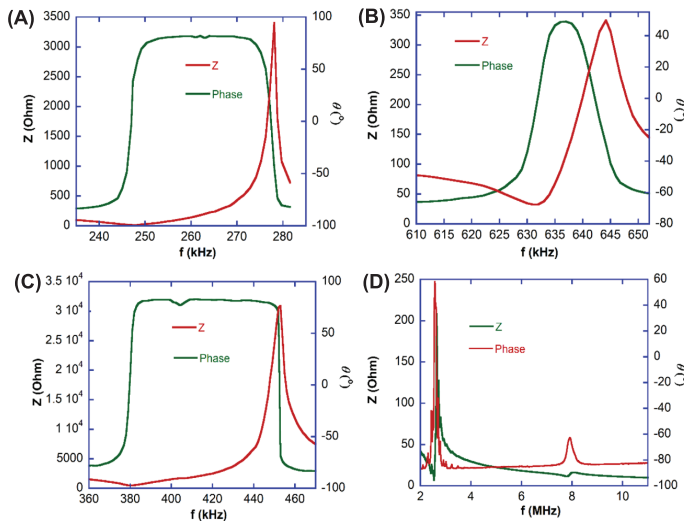
bởi K.S. Cole và cs (1941) [20]. Các đường làm khớp với dữ liệu thực nghiệm cũng được thể hiện trong hình 2, các thông số làm khớp được liệt kê trong bảng 1.

Bảng 1. Các thông số làm khớp theo tần số điện môi phụ thuộc vào tần số.

Mẫu	ϵ_∞	$\epsilon_s - \epsilon_\infty$	τ (s)	β
x=0,075	1015,655	624,9524	0,0085304	0,22551
x=0,1	859,7143	581,2143	0,0077210	0,22566
x=0,125	745,369	383,8452	0,0072954	0,22546
x=0,15	6515,295	2468,759	0,0071819	0,22591
x=0,175	639,619	408,8929	0,0085913	0,22554

Kết quả thu được cho thấy, thời gian phục hồi điện môi giảm khi tăng nồng độ Ca và đạt giá trị tối thiểu 0,0071819 ở nồng độ Ca là 0,15. Điều này có thể được giải thích là do bán kính của Ca^{2+} nhỏ hơn so với bán kính của Ba^{2+} nên Ca^{2+} linh động hơn và dễ dịch chuyển khỏi điểm mạng tinh thể của nó theo nhiều hướng khác nhau, dẫn đến giảm thời gian phục hồi điện môi. Hơn nữa, việc BCT có thể dẫn đến các rối loạn ở quy mô nguyên tử và thay đổi hình dạng miền sắt điện ở các ranh giới pha, điều này được chứng minh là rất quan trọng đối với phản ứng điện môi và áp điện lớn [21]. Tại nồng độ Ca 0,15, cực đại nhiễu xạ (002) được chia thành nhiều đỉnh riêng biệt, ngụ ý ba điểm chuyển pha trong MPB. Sự cạnh tranh pha tại MPB có thể gây ra sự triệt tiêu tính dị hướng phân cực và làm cho các thành miền linh hoạt hơn [21]. Các yếu tố này có thể góp phần làm giảm thời gian phục hồi với hàm lượng Ca lên tới 0,15. Thời gian phục hồi điện môi sau đó tăng lên với nồng độ BCT cao hơn. Hiện tượng này có thể bắt nguồn từ sự biến dạng mạng gây ra bởi sự thay thế Ba bằng Ca trong vật liệu, cũng như sự gia tăng số lượng khuyết tật điểm. Khi nồng độ Ca tăng đến ngưỡng tới hạn thì có thể xảy ra sự biến đổi cấu trúc (ví dụ: pha CaTiO_3 xuất hiện ở nồng độ x=0,175). Sự biến dạng và biến đổi mạng tinh thể của cấu trúc có thể làm tăng số lượng các tâm ghim như khuyết tật, vùng điện tích không gian tại ranh giới hạt, ảnh hưởng đến momen lưỡng cực và điều khiển tương tác lưỡng cực-lưỡng cực, do đó dẫn đến tăng thời gian phục hồi [22-25].

Để tính được các thông số áp điện, sự phụ thuộc tần số của tổng trở vào pha của nó đã được nghiên cứu trên cả mẫu hình đĩa và hình trụ, như được trình bày trong hình 3. Các thông số áp điện được tính toán bằng cách sử dụng tiêu chuẩn IEEE 176-1987.



Hình 3. Phổ dao động theo phương bán kính tần số cơ bản (A) và hài bậc hai (B), chiều dài thanh (C) và chiều dày đĩa (D) của mẫu $x=0,15$ đại diện.

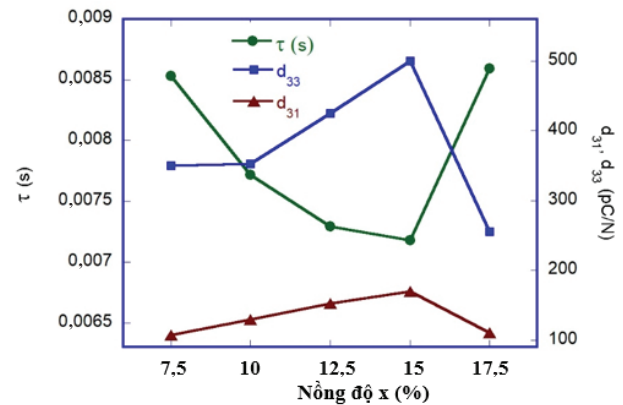
Kết quả tính toán các thông số áp điện được liệt kê trong bảng 2.

Bảng 2. Thông số áp điện của hệ vật liệu $Ba_{1-x}Ca_xZr_{0,1}Ti_{0,9}O_3$.

Mẫu	$x=0,075$	$x=0,1$	$x=0,125$	$x=0,15$	$x=0,175$
k_p	0,36	0,41	0,47	0,49	0,31
k_{33}	0,42	0,46	0,51	0,61	0,33
Q_m	198,3	170,4	151,2	124,4	159,8
k_{31}	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2
d_{31} (pC/N)	107,7	127,9	153	169,9	110,7
d_{33} (pC/N)	350,04	352,43	474,41	500,17	255,62
g_{31} (10^{-3} Vm/N)	4,4	5,1	5,9	6,0	3,9
g_{33} (10^{-3} Vm/N)	6,39	6,9	8,87	9,79	4,9

Kết quả thu được cho thấy, hằng số điện cơ và hằng số áp điện tăng theo nồng độ Ca, đạt cực đại ở nồng độ Ca là 15%, sau đó giảm khi nồng độ BCT tăng. Các giá trị thu được tối đa của d_{33} và k_{33} lần lượt là 500,17 pC/N và 0,61. Hằng số áp điện cao nhất thu được ứng với $x=0,15$ có thể là do sự cạnh tranh giữa các pha sắt điện. Như đã đề cập ở trên, MPB tại điểm ba chuyển pha có khả năng tồn tại ở nồng độ Ca là 0,15. Sự chuyển đổi giữa các pha sắt điện tại MPB dẫn đến sự mất ổn định của trạng thái phân cực. Do đó, vector phân cực có thể quay dễ dàng theo các hướng của ứng suất cơ học bên ngoài hoặc điện trường, dẫn đến hằng số áp điện cao và hằng số điện môi cao. W. Liu và cs (2009) [5] đã chỉ ra rằng, quá trình chuyển pha tại điểm ba là quá trình chuyển đổi liên tục và năng lượng tự do của thành phần MPB là đẳng hướng, không phụ thuộc vào hướng phân cực. Nói cách khác, tính dị hướng phân cực tại MPB bị biến mất

và vector phân cực có thể quay mà không có rào cản năng lượng. Ngay cả trong trường hợp không lý tưởng, không phải là điểm ba chuyển pha, tính bất đẳng hướng phân cực trong MPB giữa tứ giác và tứ diện là rất yếu, dẫn đến một rào cản năng lượng thấp đối với sự quay phân cực cho phép phản ứng áp điện và điện môi cao.



Hình 4. Sự phụ thuộc thời gian phục hồi điện môi và các thông số áp điện vào nồng độ của hệ mẫu $Ba_{1-x}Ca_xZr_{0,1}Ti_{0,9}O_3$.

Hình 4 mô tả mối quan hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và các hằng số áp điện d_{33} và d_{31} được tính ở trên. Cả thời gian phục hồi điện môi và hằng số áp điện đều thể hiện sự phụ thuộc không đơn điệu với nồng độ Ca. Trong khi thời gian phục hồi điện môi giảm xuống, giá trị tối thiểu ở nồng độ Ca là 15% trước khi tăng trở lại, các hằng số áp điện d_{33} và d_{31} tăng lên giá trị tối đa tại điểm tối thiểu của thời gian phục hồi điện môi trước khi giảm. Như đã bàn luận ở trên, cả diễn biến của thời gian phục hồi điện môi và hằng số áp điện với nồng độ Ca dường như liên quan đến sự cạnh tranh pha tại MPB. Bất đẳng hướng phân cực thấp và làm biến đổi vách domain sắt điện đi đối với nhau trong MPB [5], dẫn đến giảm thời gian phục hồi điện môi và tăng cường hằng số áp điện. Đặc biệt ở nồng độ Ca là 15%, điểm tới hạn có thể tồn tại loại chuyển ba pha tại MPB, sự biến mất của tính dị hướng phân cực và không có rào cản năng lượng đối với sự quay phân cực có thể tạo ra hằng số áp điện cực đại. Đồng thời, sự quay phân cực cục bộ cũng có thể làm cho vách miền domain mềm hơn [5, 21], dẫn đến thời gian phục hồi điện môi tối thiểu. Do đó, tại điểm có giá trị thời gian phục hồi điện môi nhỏ nhất có khả năng thu được giá trị cực đại của hằng số áp điện. Trong thực tế, thời gian phục hồi có thể được ước tính dễ dàng hơn hằng số áp điện, mối tương quan giữa thời gian phục hồi điện môi và các tham số áp điện có thể gợi ý một phương pháp mới để dự đoán tính chất và chất lượng của vật liệu áp điện.

4. Kết luận

Nghiên cứu chế tạo thành công hệ vật liệu BCZT bằng phương pháp phản ứng pha rắn. Sự thay thế Ca cho Ba ảnh hưởng đến cấu trúc pha, tính chất điện môi và áp điện của vật liệu. Các thông số áp điện d_{33} và k_{33} được tăng cường đáng kể và đạt giá trị tối đa lần lượt là 500,17 pC/N và 0,61 ứng với nồng độ $x=0,15$. Trong khi đó, thời gian phục hồi điện môi giảm theo nồng độ Ca và sau đó đạt giá trị cực tiểu ở cùng nồng độ Ca có hằng số áp điện cực đại. Hiện tượng này có thể được giải thích bằng sự cạnh tranh pha và sự quay phân cực trong MPB. Nghiên cứu này đi tiên phong trong xác định mối quan hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và hằng số áp điện lớn trong hệ vật liệu. Mối tương quan này có thể được áp dụng để dự đoán tính chất áp điện của vật liệu. Các nghiên cứu sâu hơn về các hệ áp điện nói chung sẽ được thực hiện trong tương lai để làm rõ mối quan hệ này.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo được hỗ trợ kinh phí bởi đề tài do Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) quản lý, mã số 103.02-2020.34. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Jaffe, W. Cook, H. Jaffe (1971), *Piezoelectric Ceramics*, Academic, NY, DOI: 10.1016/B978-0-12-379550-2.X5001-7.
- [2] B. Noheda, D.E. Cox, G. Shirane, et al. (1999), "A monoclinic ferroelectric phase in the $\text{Pb}(\text{Zr}_{1-x}\text{Ti}_x)\text{O}_3$ solid solution", *Appl. Phys. Lett.*, **74**(14), pp.2059-2061, DOI: 10.1063/1.123756.
- [3] B. Noheda, D.E. Cox, G. Shirane, et al. (2001), "Polarization rotation via a monoclinic phase in the piezoelectric $92\%\text{PbZn}_{1/3}\text{Nb}_{2/3}\text{O}_3$ - $8\%\text{PbTiO}_3$ ", *Phys. Rev. Lett.*, **86**(17), pp.3891-3894, DOI: 10.1103/PhysRevLett.86.3891.
- [4] D. Xue, Y. Zhou, H. Bao, et al. (2011a), "Elastic, piezoelectric, and dielectric properties of $\text{Ba}(\text{Zr}_{0.2}\text{Ti}_{0.8})\text{O}_3$ - $50(\text{Ba}_{0.7}\text{Ca}_{0.3})\text{TiO}_3$ Pb-free ceramic at the morphotropic phase boundary", *J. Appl. Phys.*, **109**(5), DOI: 10.1063/1.3549173.
- [5] W. Liu, X. Ren (2009), "Large piezoelectric effect in Pb-free ceramics", *Phys. Rev. Lett.*, **103**, DOI: 10.1103/PhysRevLett.103.257602.
- [6] J. Gao, D. Xue, Y. Wang, et al. (2011), "Microstructure basis for strong piezoelectricity in Pb-free $\text{Ba}(\text{Zr}_{0.2}\text{Ti}_{0.8})\text{O}_3$ -($\text{Ba}_{0.7}\text{Ca}_{0.3}$) TiO_3 ceramics", *Appl. Phys. Lett.*, **99**(9), DOI: 10.1063/1.3629784.
- [7] D. Xue, J. Gao, Y. Zhou, et al. (2015), "Phase transitions and phase diagram of $\text{Ba}(\text{Zr}_{0.2}\text{Ti}_{0.8})\text{O}_3$ - $x(\text{Ba}_{0.7}\text{Ca}_{0.3})\text{TiO}_3$ Pb-free system by anelastic measurement", *J. Appl. Phys.*, **117**(12), DOI: 10.1063/1.4916713.
- [8] M. Yao, Y. Pu, Z. Gao, et al. (2016), "Low-temperature sintering, structure transition and dielectrical properties of $\text{Ba}_{0.85}\text{Ca}_{0.15}\text{Ti}_{0.9}\text{Zr}_{0.1}\text{O}_3$ with $\text{Na}_{0.5}\text{Bi}_{0.5}\text{TiO}_3$ addition", *Ceram. Int.*, **42**, pp.10922-10928, DOI: 10.1016/J.CERAMINT.2016.03.226.
- [9] D. Xue, Y. Zhou, H. Bao, et al. (2011b), "Large piezoelectric effect in Pb-free $\text{Ba}(\text{Ti},\text{Sn})\text{O}_3$ - $x(\text{Ba},\text{Ca})\text{TiO}_3$ ceramics", *Appl. Phys. Lett.*, **99**, DOI: 10.1063/1.3640214.
- [10] J.F. Trelcat, C. Courtois, M. Rguiti, et al. (2012), "Morphotropic phase boundary in the BNT-BT-BKT system", *Ceram. Int.*, **38**(4), pp.2823-2827, DOI: 10.1016/j.ceramint.2011.11.053.
- [11] Y. Guo, K.I. Kakimoto, H. Ohsato (2004), "Phase transitional behavior and piezoelectric properties of $(\text{Na}_{0.5}\text{K}_{0.5})\text{NbO}_3$ - LiNbO_3 ceramics", *Appl. Phys. Lett.*, **85**, pp.4121-4123, DOI: 10.1063/1.1813636.
- [12] L.V. Hong, N.V. Khien, T.V. Chuong (2015), "Dielectric relaxation of $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{TiO}_3$ ", *Mater. Trans.*, **56**, pp.1374-1377, DOI: 10.2320/matertrans.MA201543.
- [13] V.K. Nguyen, T.H.P. Le, T.K.C. Tran, et al. (2017), "Influence of Ca substitution on piezoelectric properties of $\text{Ba}_{1-x}\text{Ca}_x\text{TiO}_3$ ", *J. Electron. Mater.*, **46**, pp.3603-3609.
- [14] R.D. Shannon (1976), "Revised ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides", *Acta Cryst.*, **32**(5), pp.751-767, DOI: 10.1107/S0567739476001551.
- [15] D. McCauley, R.E. Newnham, C.A. Randall (1998), "Intrinsic size effects in a barium titanate glass-ceramic", *J. Am. Ceram. Soc.*, **81**(4), pp.979-987, DOI: 10.1111/j.1151-2916.1998.tb02435.x.
- [16] P. Zheng, J.L. Zhang, Y.Q. Tan, et al. (2012), "Grain-size effects on dielectric and piezoelectric properties of poled BaTiO_3 ceramics", *Acta Mater.*, **60**(13-14), pp.5022-5030, DOI: 10.1016/j.actamat.2012.06.015.
- [17] T. Karaki, S. Maruyama, R. Chikazawa, et al. (2012), "Modified BaTiO_3 piezoelectric ceramics with Bi_2O_3 - Li_2O additive", *Ferroelectrics*, **439**(1), pp.83-87, DOI: 10.1080/00150193.2012.741933.
- [18] R. Tazaki, D. Fu, M. Itoh, et al. (2009), "Lattice distortion under an electric field in BaTiO_3 piezoelectric single crystal", *J. Phys. Condens. Matter.*, **21**(21), DOI: 10.1088/0953-8984/21/21/215903.
- [19] R. Sonia, K. Patel, P. Kumar, et al. (2012), "Low temperature synthesis and dielectric, ferroelectric and piezoelectric study of microwave sintered BaTiO_3 ceramics", *Ceram. Int.*, **38**(2), pp.1585-1589, DOI: 10.1016/j.ceramint.2011.09.045.
- [20] K.S. Cole, R.H. Cole (1941), "Dispersion and absorption in dielectrics I. Alternating current characteristics", *J. Chem. Phys.*, **9**, pp.341-351, DOI: 10.1063/1.1750906.
- [21] Y. Tomita, T. Kato (2013), "Relaxor behavior and morphotropic phase boundary in a simple model", *J. Phys. Soc. Japan.*, **82**, pp.1-5, DOI: 10.7566/JPSJ.82.063002.
- [22] X.X. Huang, T.F. Zhang, X.G. Tang, et al. (2016), "Dielectric relaxation and pinning phenomenon of $(\text{Sr},\text{Pb})\text{TiO}_3$ ceramics for dielectric tunable device application", *Sci. Rep.*, **6**, DOI: 10.1038/srep31960.
- [23] D. Adamchuk R. Grigalaitis, S. Svirskas, et al. (2019), "Distribution of relaxation tie in relaxor ferroelectric $\text{Ba}(\text{Ti}_{0.8}\text{Ce}_{0.2})\text{O}_3$ ", *Ferroelectrics*, **553**, pp.103-110, DOI: 10.1080/00150193.2019.1683502.
- [24] S.Y. Chen, H. Mana-ay, K.C. Feng, et al. (2024), "High-performance electric energy storage in BiFeO_3 - $\text{Ba}(\text{Ti}_{0.8}\text{Zr}_{0.2})\text{O}_3$ relaxor ferroelectric ceramics", *Ceram. Int.*, **50**(24), pp.54047-54056, DOI: 10.1016/j.ceramint.2024.10.262.
- [25] M. Tihtih, J.E.F.M. Ibrahim, M.A. Basyooniet, et al. (2023), "Development of Yttrium-doped BaTiO_3 for next-generation multilayer ceramic capacitors", *ACS Omega*, **8**(9), pp.8448-8460, DOI: 10.1021/acsomega.2c07497.

Nghiên cứu khả năng phân tán mangan dioxit trong hệ polyvinyl alcohol và đánh giá khả năng hấp phụ photphat của vật liệu

Lê Mạnh Cường*

Khoa Vật liệu Xây dựng, Trường Đại học Xây dựng Hà Nội, 55 Giải Phóng, phường Đồng Tâm, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/10/2024; ngày chuyển phản biện 29/10/2024; ngày nhận phản biện 17/12/2024; ngày chấp nhận đăng 3/2/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu tập trung vào việc cải thiện độ ổn định và hiệu quả hấp phụ của vật liệu MnO_2 kích thước nano trong môi trường ethanol/nước thông qua việc bổ sung polyvinyl alcohol (PVA). Trong khi MnO_2 có xu hướng bị kết tụ và lắng sau 30 ngày trong dung môi ethanol/nước, việc thêm PVA đã tạo ra một hệ ổn định về mặt nhiệt động học, đồng thời tăng khả năng bám dính của vật liệu lên bề mặt nền. Bằng cách sử dụng các phương pháp phân tích hóa học như độ dẫn điện và độ nhớt, kết hợp với kỹ thuật kính hiển vi quang học và hiển vi điện tử truyền qua (TEM), cơ chế tương tác giữa MnO_2 và hệ PVA - nước - ethanol đã được làm rõ. Điều này góp phần làm nổi bật vai trò của PVA trong việc duy trì độ ổn định keo và thúc đẩy sự phân bố hạt đồng đều. Kết quả cho thấy, vật liệu MnO_2 -PVA có khả năng hấp phụ photphat tối đa đạt 50 mg/g, cao hơn 2,4 mg/g so với vật liệu không chứa PVA. Kết quả này mở ra tiềm năng ứng dụng vật liệu MnO_2 -PVA trong xử lý nước ô nhiễm chứa photphat.

Từ khóa: hấp phụ, nano- MnO_2 , phân tán, photphat, polyvinyl alcohol.

Chỉ số phân loại: 1.4, 2.7, 2.9

Study on the dispersibility of manganese dioxide in the polyvinyl alcohol system and evaluation of the material's phosphate adsorption capacity

Manh Cuong Le*

Faculty of Civil Materials, Hanoi University of Civil Engineering, 55 Giai Phong Street, Dong Tam Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

Received 28 October 2024; revised 17 December 2024; accepted 3 February 2025

Abstract:

This study focuses on investigating the stabilisation and functional enhancement of MnO_2 nanoparticles in an ethanol/water mixture through the incorporation of polyvinyl alcohol (PVA). While MnO_2 has a tendency to particle aggregation and sedimentation after 30 days in ethanol/water-based solutions, the addition of PVA created a thermodynamically stable system, as well as improved adhesion to substrate surfaces. By using chemical analysis methods such as measurements of electrical conductivity and viscosity, combined with optical microscopy and transmission electron microscopy (TEM) techniques, the interaction mechanisms between MnO_2 and the PVA - water - ethanol system were clarified. This contributes to highlighting the role of PVA in maintaining colloidal stability and promoting uniform particle distribution. The results show that the MnO_2 -PVA material achieved a maximum adsorption capacity of 50 mg/g, representing a significant improvement of 2.4 mg/g compared to the unmodified sample. The findings suggest that PVA is an effective additive for enhancing both the stability and functional performance of MnO_2 -PVA materials for polluted water treatment.

Keywords: adsorption, dispersion, nano- MnO_2 , phosphate, polyvinyl alcohol.

Classification numbers: 1.4, 2.7, 2.9

*Email: cuonglm@huce.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Trong những thập niên qua, MnO_2 được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực như điện hóa, hấp phụ, xúc tác và oxy hóa. Nhiều nghiên cứu tập trung vào khả năng hấp phụ của MnO_2 đối với các cation và anion gây ô nhiễm trong môi trường nước. Các tài liệu cho thấy MnO_2 có khả năng hấp phụ mạnh các ion kim loại nặng như Pb^{2+} , Cd^{2+} , và Hg^{2+} [1-5], các anion như asenat [6] và photphat [3, 5, 7]. Điều này làm cho MnO_2 trở thành một vật liệu tiềm năng trong xử lý ô nhiễm nước.

Theo nghiên cứu của V. Valeika và cs (2006) [8], MnO_2 không chỉ hoạt động như một vật liệu hấp phụ mà còn có khả năng xúc tác trong quá trình oxy hóa. Cụ thể, khí cacbon monoxit (CO) bị hấp phụ trên bề mặt MnO_2 và được oxy hóa thành CO_2 . Ở nhiệt độ 25°C , khoảng 8,66 cc CO được hấp phụ trên mỗi gram MnO_2 , chứng tỏ khả năng ứng dụng trong xử lý khí thải. Ngoài ra, MnO_2 cũng đã được nghiên cứu trong việc hấp phụ và xử lý các khí độc hại khác như H_2S , benzen, phenol.

Trong lĩnh vực xúc tác, MnO_2 được sử dụng làm chất xúc tác chọn lọc và xúc tác quang cho nhiều phản ứng xử lý môi trường [9-11]. Nghiên cứu chỉ ra rằng oxy nguyên tử được hình thành trên bề mặt MnO_2 , đóng vai trò quan trọng trong phản ứng oxy hóa này. Điều này mở ra tiềm năng sử dụng MnO_2 trong xử lý khí thải công nghiệp và làm sạch môi trường [12, 13].

Về mặt tổng hợp, MnO_2 có thể được điều chế thông qua hai phương pháp chính: điện phân và hóa học [7, 12, 14, 15]. Trong phương pháp hóa học, có thể sử dụng phương pháp ướt hoặc khô. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu tập trung điều chế MnO_2 nano từ KMnO_4 và H_2O_2 trong hệ PVA - nước - ethanol. Việc sử dụng PVA giúp cải thiện sự phân tán của các hạt MnO_2 nano, đồng thời tạo ra hệ thống ổn định về mặt nhiệt động lực học.

Để đánh giá hiệu quả của vật liệu, nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát khả năng hấp phụ photphat của MnO_2 nano khi không có PVA làm chất phân tán. Kết quả nghiên cứu được thực hiện thông qua phương pháp đo độ dẫn điện, độ nhớt, phân bố kích thước hạt của MnO_2 trong hệ PVA - nước - ethanol. Kết quả này làm sáng tỏ cơ chế tương tác của MnO_2 trong hệ phân tán, cũng như khẳng định vai trò quan trọng của PVA trong việc cải thiện hiệu suất hấp phụ của vật liệu.

Những nghiên cứu bổ sung, bao gồm: ứng dụng của MnO_2 trong lưu trữ năng lượng, xúc tác quang hóa, xử lý nước thải tiếp tục củng cố vị thế của MnO_2 như một vật liệu đa chức năng có giá trị trong các lĩnh vực công nghệ và môi trường.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

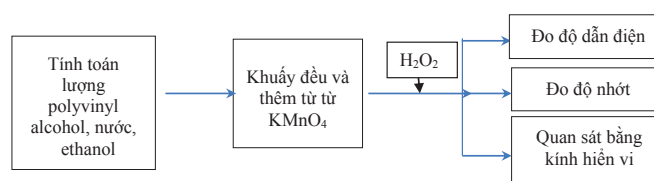
2.1. Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: Là loại hoá chất tinh khiết dùng thí nghiệm: KMnO_4 , H_2O_2 , cồn etylic 90° ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) và nước cất.

Thiết bị: Máy khuấy cơ, máy đo độ dẫn điện nhãn hiệu Oakton pH/CON 510 với khoảng đo từ 0,00-199,9 mS, độ chính xác $\pm 1\%$ FS; máy đo độ nhớt rung chấn A&D SV-100, độ chính xác cao, độ lặp lại 1%; kính hiển vi Motic B1-220E với độ phóng đại 10, 40, 100 lần; cân phân tích JJ300, độ chính xác 0,001 g; TEM; tủ sấy và một số các dụng cụ, thiết bị khác.

2.2. Quy trình thí nghiệm

Quy trình thí nghiệm được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Quy trình thí nghiệm áp dụng trong nghiên cứu.

Tính toán lượng PVA cố định, nước và ethanol theo các tỷ lệ cho trước (tính theo khối lượng) với tổng khối lượng giữ không đổi là 100 g, sau đó được khuấy đều với tốc độ 6000 vòng/phút, và cho thêm KMnO_4 đã định trước vào hệ. Tiếp tục khuấy đều, cho từ từ H_2O_2 (lượng đã tính toán trước để phản ứng vừa đủ với KMnO_4) đến khi có màu nâu đen là được. Sản phẩm thu được tiến hành xác định cấu trúc, tính chất bằng các phương pháp đo độ nhớt, độ dẫn điện, TEM.

2.3. Các phương pháp xác định hàm lượng photphat

Nồng độ PO_4^{3-} được xác định theo TCVN 6202:2008. Phản ứng giữa ion octophosphat và một dung dịch axit chứa molipdat và ion antimon tạo ra phức chất antimon phosphomolipdat. Khử phức chất bằng axit ascorbic tạo thành phức chất molipden màu xanh đậm. Đo độ hấp thụ màu của phức chất ở bước sóng 880 nm để xác định nồng độ ion photphat trong dung dịch [1].

2.4. Nghiên cứu khả năng hấp phụ photphat của vật liệu

Xác định dung lượng hấp phụ cực đại photphat trên vật liệu được tiến hành theo phương pháp tĩnh, dùng máy lắc, nồng độ ban đầu của photphat thay đổi từ 1 đến 200 mg/l, khối lượng vật liệu là 1 g, pH 7, ở nhiệt độ phòng khoảng 25°C. Nồng độ PO_4^{3-} được xác định theo TCVN 6202:2008.

Đánh giá khả năng hấp phụ của vật liệu bằng phương trình đẳng nhiệt Langmuir:

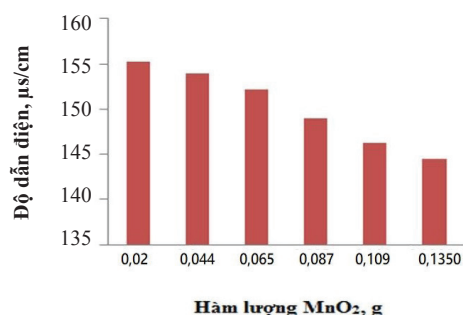
$$\frac{C_1}{C_s - b \cdot C_m} = \frac{1}{C_m} + \frac{C_1}{C_m} \quad (1)$$

trong đó: C_m : Dung lượng hấp phụ cực đại (mg/g); C_s , C_1 : Dung lượng hấp phụ và nồng độ dung dịch tại thời điểm cân bằng; b: Hệ số của phương trình Langmuir (được xác định từ thực nghiệm). Đường biểu diễn C_1/C_s phụ thuộc vào C_1 là đường thẳng có độ dốc $1/C_m$ và cắt trục tung tại $1/b \cdot C_m$.

3. Kết quả và bàn luận

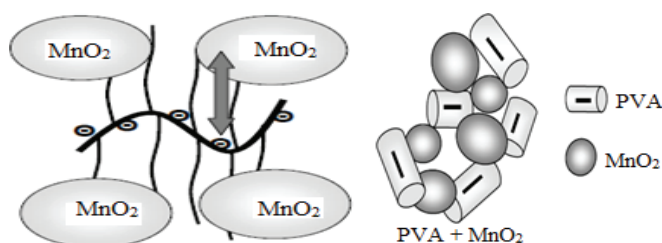
3.1. Ảnh hưởng của MnO_2 đến độ dẫn điện của hệ polyvinyl alcohol - nước - ethanol

Khảo sát sự phân tán của MnO_2 tạo thành trong hệ chứa PVA - nước - ethanol với tỷ lệ cho trước (tính theo khối lượng). Lượng KMnO_4 0,25 M thay đổi từ 1, 2, 3, 4, 5, 6 ml. Ảnh hưởng của hàm lượng MnO_2 đến độ dẫn điện được trình bày trên hình 2.



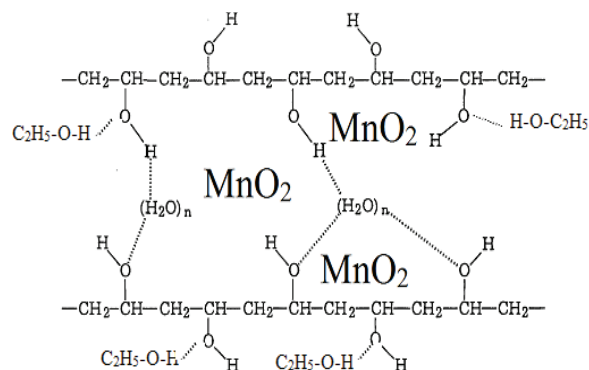
Hình 2. Ảnh hưởng của hàm lượng MnO_2 đến độ dẫn điện của hệ.

Kết quả cho thấy, ở tất cả các mẫu từ 1 đến 6 khi tăng dần khối lượng MnO_2 tạo thành (từ 0,02 đến 0,1305 g) thì độ dẫn điện giảm dần. Điều này có thể do tương tác tĩnh điện và hiệu ứng cản trở không gian giữa MnO_2 với PVA [9, 12, 15]. Sự phân tán MnO_2 trong hệ với sự tương tác khác nhau được mô tả ở hình 3.



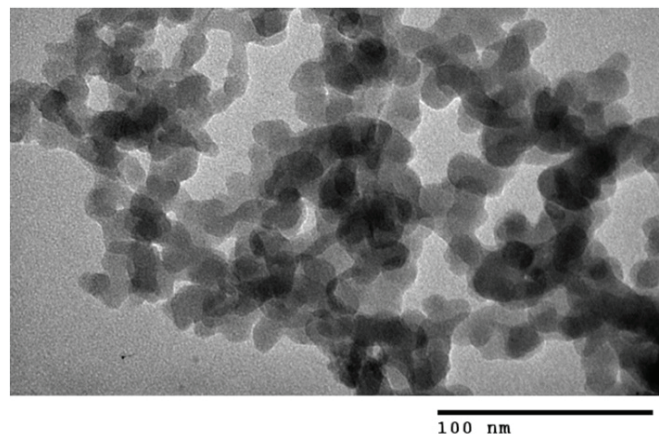
Hình 3. Tương tác tĩnh điện MnO_2 và polyvinyl alcohol.

Trên bề mặt các tiểu phân MnO_2 nano mang điện dương [6], sự tương tác tĩnh điện trái dấu dẫn đến các hạt MnO_2 bị hấp phụ trên bề mặt PVA theo tương tác tĩnh điện hoặc cũng có thể các hạt MnO_2 nằm trong các hốc trống được tạo bởi liên kết hydro giữa nước và PVA như hình 4.



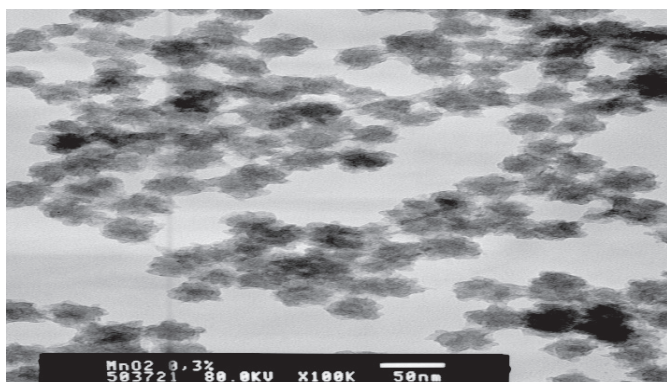
Hình 4. Tương tác không gian MnO_2 và polyvinyl alcohol.

Tiến hành chụp ảnh TEM của hệ keo MnO_2 tại Viện Vệ sinh Dịch tễ trung ương, kết quả được trình bày ở các hình 5 và 6.



Hình 5. Ảnh kính hiển vi điện từ truyền qua của mẫu có polyvinyl alcohol, phóng đại 100.000 lần.

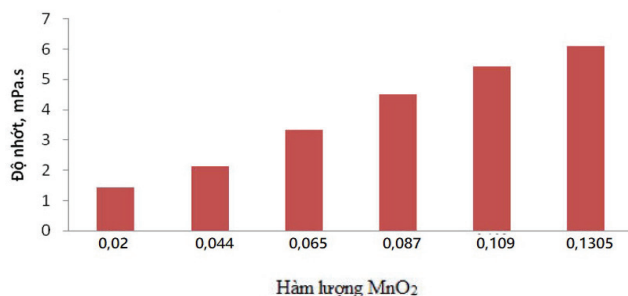
Từ ảnh TEM cho thấy, các hạt MnO_2 có kích cỡ nanomet bám trên các chuỗi mạch PVA tạo thành những mạch xoắn dài. Điều này khác hẳn so với mẫu tổng hợp trước đó khi không có PVA (hình 6).



Hình 6. Ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua khi không có polyvinyl alcohol với độ phóng đại 100.000 lần.

3.2. Ảnh hưởng của MnO_2 đến độ nhớt của hệ polyvinyl alcohol - nước - ethanol

Tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của MnO_2 đến độ nhớt của hệ PVA - nước - ethanol cho thấy rằng, khi lượng MnO_2 tăng từ 0,02 đến 0,13 g (tương ứng với tỷ lệ $KMnO_4$ tăng từ 1 đến 6 ml), độ nhớt tăng gần 25%. Kết quả được trình bày trên hình 7.



Hình 7. Ảnh hưởng của hàm lượng MnO_2 đến độ nhớt của hệ.

Điều này được giải thích bằng sự hình thành lớp polyme bao quanh hạt MnO_2 , làm tăng độ cản trở không gian trong hệ. Theo K.M. Parida và cs (1981) [12], polyme PVA có khả năng tăng độ nhớt khi tương tác với oxit kim loại như MnO_2 . Ngoài ra, S.P. Mishra và cs (2027) [6] cũng nhận định rằng, độ nhớt tăng khi hệ oxit hydrat được phân tán tốt trong dung dịch, điều này giảm sự chuyển động tự do của ion [6]. Trong nghiên cứu này, độ nhớt cao nhất được quan sát là 6,5 mPa.s với tỷ lệ $KMnO_4$ cao nhất. Kết quả TEM ở các hình 5 và 6 cho thấy rằng, MnO_2 phân tán đồng đều trong polyme nhờ vai trò của PVA. M.I. Zaman và cs (2029) [14] khẳng định rằng, polyme tăng tính ổn định làm hạn chế tình trạng vón cục, giúp duy trì độ nhớt đồng nhất trong hệ.

Quá trình thí nghiệm cũng cho thấy, tỷ lệ nước/ethanol phù hợp là 1/2. Lượng MnO_2 nano phân tán tối đa trong hệ 100 g là 0,1305 g.

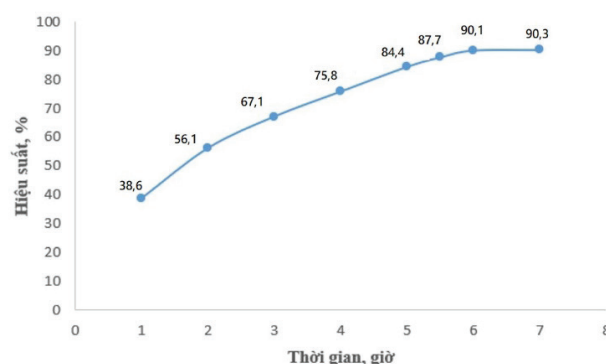
3.3. Khảo sát khả năng hấp phụ photphat của vật liệu

Xác định thời gian cân bằng hấp phụ photphat: Nồng độ đầu vào: 10 mg/l; khối lượng vật liệu: 1 g; thể tích dung dịch hấp phụ: 100 ml; thời gian hấp phụ: 1, 2, 3, 4, 5, 5,5, 6, 7 giờ. Kết quả khảo sát thời gian cân bằng hấp phụ của vật liệu thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát thời gian cân bằng hấp phụ của vật liệu.

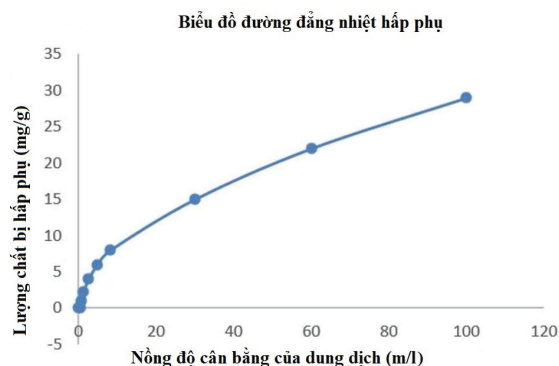
Thời gian (giờ)	1	2	3	4	5	5,5	6	7
Hiệu suất hấp thụ (%)	38,6	56,1	67,1	75,8	84,4	87,7	90,1	90,3

Từ đồ thị hình 8 có thể thấy, đến khoảng thời gian 6 giờ thì khả năng hấp phụ của vật liệu gần như đạt cân bằng. Vậy thời gian đạt cân bằng hấp phụ của vật liệu là 6 giờ.

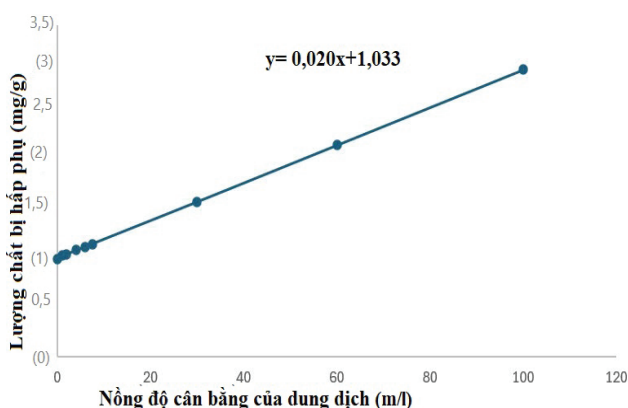


Hình 8. Đồ thị biểu diễn thời gian cân bằng hấp phụ của vật liệu.

Xác định tải trọng hấp phụ cực đại photphat của vật liệu: Kết quả các hình 9, 10 cho thấy, tải trọng hấp phụ cực đại ion photphat của vật liệu là 50,00 mg/g. Tải trọng này cao hơn 2,4 mg/g so với mẫu vật liệu không sử dụng phân tán PVA [2]. Điều này có thể do khi sử dụng PVA các hạt MnO_2 nano được phân tán đồng đều trên vật liệu này và không bị vón cục, dẫn đến tăng khả năng hấp phụ PO_4^{3-} của vật liệu hấp phụ.



Hình 9. Đường cong hấp phụ của vật liệu.



Hình 10. Đường xác định tải trọng hấp phụ của vật liệu.

4. Kết luận

Các kết luận chính của nghiên cứu như sau: Đã tổng hợp được MnO_2 kích thước 15 nm (có PVA) và 30 nm (không có PVA). PVA có vai trò làm phân tán các hạt MnO_2 nano gắn lên mạch polyme hoặc cũng có thể nằm trong các hốc trống được tạo bởi PVA - nước - ethanol. Hàm lượng MnO_2 tối đa có thể phân tán là 0,1305 g trong hệ 100 g hỗn hợp PVA - nước - ethanol; tạo được vật liệu có tải trọng hấp phụ ion photphat cao, cụ thể là 50 mg/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L.M. Cuong, N.T. Uyen, N.T.T. Phuong (2013), "Synthesis and evaluation of arsenic (III) removal ability of nanometer-sized MnO_2 -based material on silicagel, pyrolusite", *Journal of Chemistry*, **51(3AB)**, pp.311-314.
- [2] L.M. Cuong, T.T.M. Nguyet, D.T.T. Ha, et al. (2020), "Synthesis and evaluation of phosphate and chromate adsorption capacity of nanosized manganese dioxide on silica gel substrate", *Journal of Analytical Chemistry, Physics and Biology*, **25(4)**, pp.120-125.
- [3] S. Ling, R. Yuan, Y. Chai, et al. (2009), "Study on immunosensor based on gold nanoparticles/chitosan and MnO_2 nanoparticles composite membrane/Prussian blue modified gold electrode", *Bioprocess Biosyst. Eng.*, **32(3)**, pp.407-414, DOI: 10.1007/s00449-008-0260-2.
- [4] T. Takamatsu, M. Kawashima, M. Koyama (1985), "The role of Mn^{2+} -rich hydrous manganese oxide in the accumulation of arsenic in lake-sediments", *Water Res.*, **19(8)**, pp.1029-1032, DOI: 10.1016/0043-1354(85)90372-0.
- [5] M. Kawashima, Y. Tainaka, T. Hori, et al. (1986), "Phosphate adsorption onto hydrous manganese (IV) oxide in the presence of divalent-cations", *Water Res.*, **20(4)**, pp.471-475, DOI: 10.1016/0043-1354(86)90195-8.

[6] S.P. Mishra, Vijaya (2007), "Removal behavior of hydrous manganese oxide and hydrous stannic oxide for Cs (I) ions from aqueous solutions", *Sep. Purif. Technol.*, **54(1)**, pp.10-17, DOI: 10.1016/j.seppur.2006.08.018.

[7] S.S. Tripathy, J.L. Bersillon, K. Gopal (2006), "Adsorption of Cd^{2+} on hydrous manganese dioxide from aqueous solutions", *Desalination*, **194 (1-3)**, pp.11-21, DOI: 10.1016/j.desal.2005.10.023.

[8] V. Valeika, K. Beleška, V. Valeikienė (2006), "Oxidation of sulphides in tannery wastewater by use of manganese (IV) oxide", *Polish J. of Environ. Stud.*, **15(4)**, pp.623-629.

[9] 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.

[10] J. Huang, L. Peng, G. Zeng, et al. (2014), "Evaluation of micellar enhanced ultrafiltration for removing methylene blue and cadmium ion simultaneously with mixed surfactants", *Separation and Purification Technology*, **125**, pp.83-89, DOI: 10.1016/j.seppur.2014.01.020.

[11] Y. Wang, X. Zhang, X. He, et al. (2014), "In situ synthesis of MnO_2 coated cellulose nanofibers hybrid for effective removal of methylene blue", *Carbohydrate Polymers*, **110**, pp.302-308, DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.04.008.

[12] K.M. Parida, S.B. Kanungo, B.R. Sant (1981), "Studies on MnO_2 chemical-composition, microstructure and other characteristics of some synthetic MnO_2 of various crystalline modifications", *Electrochim. Acta*, **26(3)**, pp.435-443, DOI: 10.1016/0013-4686(81)85033-5.

[13] D.M. Robinson, Y.B. Go, M. Mui, et al. (2013), "Photochemical water oxidation by crystalline polymorphs of manganese oxides: Structural requirements for catalysis", *Journal of The American Chemical Society*, **135(9)**, pp.3494-3501, DOI: 10.1021/ja310286h.

[14] M.I. Zaman, S. Mustafa, S. Khan, et al. (2009), "Effect of phosphate complexation on Cd^{2+} sorption by manganese dioxide (beta- MnO_2)", *J. Colloid Interface Sci.*, **330(1)**, pp.9-19, DOI: 10.1016/j.jcis.2008.10.053.

[15] T.H. Le, T.H.A. Ngo, V.T. Doan, et al. (2019), "Preparation of manganese dioxide nanoparticles on laterite for methylene blue degradation", *Journal of Chemistry*, **2019**, DOI: 10.1155/2019/1602752.

Tổng hợp acetaminophen trực tiếp từ chất đầu dạng muối *p*-aminophenol hydrochloride và natri acetat ứng dụng trong công nghiệp dược

Đinh Ngọc Minh, Trương Thanh Tùng*

Khoa Dược, Đại học Phenikaa, đường Tố Hữu, phường Yên Nghĩa, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/5/2022; ngày chuyển phản biện 13/5/2022; ngày nhận phản biện 28/6/2022; ngày chấp nhận đăng 5/7/2022

Tóm tắt:

Phương pháp tổng hợp thuốc acetaminophen thông thường yêu cầu hai bước: đầu tiên, *p*-aminophenol hydrochloride được chuyển thành dạng amin tự do *p*-aminophenol; sau đó, phản ứng với anhydrid acetic dưới điều kiện acid hoặc kiềm ở nhiệt độ cao để thu được sản phẩm acetaminophen. Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo một bước tổng hợp trực tiếp thuốc acetaminophen từ dạng muối *p*-aminophenol hydrochloride và dạng muối natri acetat. Nhiều tác nhân bắt cặp đã được thử nghiệm về hiệu quả xúc tác phản ứng. Kết quả cho thấy, các tác nhân bắt cặp 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate (HATU) và *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC.HCl) trong hệ dung môi H₂O/ACN cho hiệu quả phản ứng tốt nhất với hiệu suất 87-89%. Phản ứng được thử nghiệm cho quy mô 500 g với hiệu suất đạt 84-90%. Quá trình chuyển hoá này cho thấy một phương pháp tổng hợp mới, chưa từng được công bố trước đây. Phương pháp tổng hợp này mở ra một hướng ứng dụng mới trong công nghiệp sản xuất dược phẩm tại Việt Nam.

Từ khóa: acetaminophen, hoạt hóa, *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride, phản ứng amid hóa, tổng hợp dược chất, 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate.

Chỉ số phân loại: 1.4, 3.4

Direct synthesis of acetaminophen from *p*-aminophenol hydrochloride and sodium acetate for pharmaceutical applications

Ngoc Minh Dinh, Thanh Tung Truong*

Faculty of Pharmacy, Phenikaa University, To Huu Street, Yen Nghia Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

Received 10 May 2022; revised 28 June 2022; accepted 5 July 2022

Abstract:

The common strategy for the synthesis of acetaminophen typically requires two steps: firstly, *p*-aminophenol hydrochloride is converted into its free amine form as *p*-aminophenol; subsequently, it is reacted with acetic anhydride under basic or acidic conditions at high temperature to afford the final product. In this study, we report a one-step method for the direct synthesis of acetaminophen from *p*-aminophenol hydrochloride and sodium acetate, without the need to isolate the free amine. Several coupling reagents were evaluated for effectiveness in promoting the reaction. The results showed that the coupling agents 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate (HATU) and *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC.HCl) in H₂O/ACN solvent system, were identified as the most effective, affording acetaminophen in yields of 87-89%. This transformation represents a new synthetic approach that has not been previously reported. Furthermore, the scalability of the reaction was demonstrated with up to 500 g of starting material, achieving an overall yield of 84-90%. This method holds high potential for application in the Vietnamese pharmaceutical industry.

Keywords: acetaminophen, activation, amide reaction, drug synthesis, *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimide hydrochloride, 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate.

Classification numbers: 1.4, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: tung.truongthanh@phenikaa-uni.edu.vn

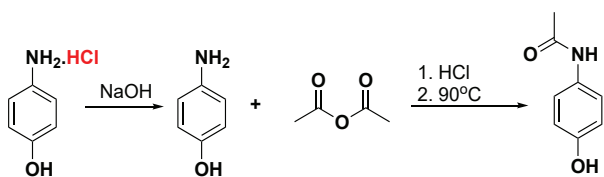
1. Đặt vấn đề

Quá trình tổng hợp nguyên liệu hoá dược làm thuốc hiện nay vẫn sử dụng nhiều điều kiện khắc nghiệt như: dung môi hữu cơ làm môi trường phản ứng, nhiệt độ cao, sử dụng các acid hoặc base hữu cơ. Điều này dẫn đến những tác hại cho môi trường khi các chất thải là dung môi độc hại được thải loại sau quá trình sản xuất, tăng giá thành cho các công đoạn sản xuất khi phải đun nóng hỗn hợp ở nhiệt độ cao. Đồng thời, việc sử dụng các acid và base đậm đặc có thể tiềm ẩn nhiều rủi ro trong quy mô công nghiệp. Các nhà khoa học trên thế giới đã và đang nỗ lực phát triển các phản ứng hoá học mới sử dụng dung môi là nước, diễn ra ở nhiệt độ thường nhằm giảm thiểu tác động tới môi trường, tiết kiệm chi phí và an toàn hơn. Đặc biệt, rút ngắn các bước phản ứng tổng hợp thuốc để đem lại hiệu quả kinh tế cao hơn [1].

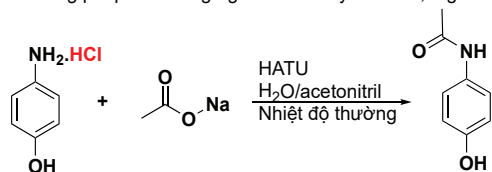
Acetaminophen là một trong những thuốc không kê đơn được sử dụng phổ biến nhất hiện nay tại Việt Nam và trên thế giới [2]. Trong quy trình tổng hợp acetaminophen, nhiều giai đoạn, các nhà sản xuất phải sử dụng *p*-aminophenol hydrochloride sau đó chuyển sang dạng base của *p*-aminophenol bằng phản ứng kiềm hoá (do dạng base dễ bị phân hủy) [3]. Sau đó, sử dụng phản ứng acyl hoá nhóm amin (NH_2) của *p*-aminophenol dạng base bằng anhydrid acetic trong môi trường kiềm hoặc acid hydrochloric đậm đặc ở nhiệt độ cao ($>90^\circ\text{C}$) (hình 1). Quá trình tổng hợp sử dụng *p*-aminophenol base ở quy mô công nghiệp gây nhiều khó khăn do *p*-aminophenol không bền nên dễ biến màu và tạo ra nhiều tạp chất. Do đó, phương pháp tổng hợp sử dụng các chất đầu bền vững hơn ở dạng muối là hết sức cần thiết [3].

Trong nghiên cứu này, các tác giả báo cáo phương pháp tổng hợp mới, một bước, chưa từng được công bố trước đây. Phương pháp gồm một bước phản ứng, sử dụng các nguyên liệu trực tiếp là muối *p*-aminophenol hydrochloride và muối natri acetat, đặc biệt phản ứng diễn ra trong môi trường hỗn hợp dung môi nước và acetonitril ở nhiệt độ thường, tinh chế đơn giản mà chưa từng được công bố trước đây (hình 1).

Phương pháp truyền thống: 2 bước, nhiều giai đoạn, nhiệt độ cao



Phương pháp mới trong nghiên cứu này: 1 bước, 1 giai đoạn, nhiệt độ thường



Hình 1. Phương pháp truyền thống và phương pháp của nghiên cứu này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu và thiết bị

Hoá chất được mua từ các nhà cung cấp bao gồm: Sigma Aldrich, Alfa Aesar, dung môi Deajung Hàn Quốc với độ tinh khiết trên 98% theo nhà cung cấp và được sử dụng trực tiếp không tinh chế thêm. Phản ứng được theo dõi bởi sắc ký lớp mỏng sử dụng bản mỏng Merck Kieselgel 60F254 (Singapore) và quan sát dưới đèn UV hoặc hiện màu bởi dung dịch thuốc thử KMnO_4 , ninhydrin. Phổ cộng hưởng từ được ghi trên máy Bruker Avance 500 MHz với chất chuẩn nội TMS được thực hiện tại Viện Hoá học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Phổ khối được đo trên máy LC-TOF/MS Agilent theo phương pháp ion hoá phun mù điện tử (ESI). Thiết bị sắc ký HPLC Agilent 1260 Infinity, cột sắc ký: C18 3,5 μm , 4,6*100 mm, hãng sản xuất: Agilent, Mỹ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phản ứng tổng hợp một bước trực tiếp từ muối được khảo sát theo sơ đồ trên hình 1.

Phương pháp tiến hành chung như sau: Cho hỗn hợp gồm muối natri acetat (0,282 g), muối *p*-aminophenol hydrochloride (0,500 g), tác nhân bắt cặp (g) (tỷ lệ 1:1:1 theo số mol) vào bình cầu đáy tròn dung tích 100 ml. Trộn đều hỗn hợp thu được và cho vào 10 ml hỗn hợp dung môi H_2O /acetonitril (tỷ lệ theo bảng 1) vào bình phản ứng. Hỗn hợp thu được đem khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau khi phản ứng kết thúc, sản phẩm được chiết 3 lần với tổng 150 ml ethyl acetat (50 ml mỗi lần), rửa lại lần lượt với 10 ml dung dịch 5% NaHSO_4 và dung dịch 5% NaHCO_3 . Lọc dung môi được loại bỏ bằng phương pháp cô quay dưới áp suất giảm thu được sản phẩm tinh khiết mà không cần tinh chế thêm. Các tác nhân bắt cặp được khảo sát bao gồm HATU, EDC.HCl, CDI (1,1'-Carbonyldiimidazol), HBTU (3-[Bis(dimethylamino)methyl]methyl-3H-benzotriazol-1-oxide hexafluorophosphate), T3P (Propanephosphonic acid anhydride).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả

Trong nghiên cứu này, dạng muối *p*-aminophenol hydrochloride được sử dụng trực tiếp cùng với muối natri acetat trong hỗn hợp dung môi H_2O /acetonitril mà không phải trải qua quá trình acid hay base hoá nào (nhằm giải phóng dạng tự do). Các tác nhân bắt cặp được khảo sát với các tỷ lệ dung môi khác nhau, kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Khảo sát các điều kiện phản ứng tiêu biểu.

STT	Dung môi	Tác nhân bắt cặp	Hiệu suất (%)*
1	ACN/H ₂ O (5:1)	HATU	89,2
2	ACN/H ₂ O (3:1)	HATU	79,3
3	ACN/H ₂ O (1:1)	HATU	62,6
4	ACN	HATU	31,9
5	H ₂ O	HATU	44,2
6	ACN/H ₂ O (1:1)	EDC.HCl	87,1
7	ACN	EDC.HCl	55,4
8	H ₂ O	EDC.HCl	50,7
9	ACN	CDI**	30,4
10	ACN	HBTU	30,8
11	ACN/H ₂ O (1:2)	HBTU	10,0
12	ACN	T3P**	11,5
13	Aceton/H ₂ O (1:2)	EDC.HCl	51,3
14	DMSO/H ₂ O (1:2)	EDC.HCl	61,6
15	DMF/H ₂ O (1:2)	EDC.HCl	66,8

*: Hiệu suất trung bình của 3 lần thí nghiệm; **: Tác nhân bắt cặp không bền trong nước; ACN: Acetonitrile; DMSO: Dimethylsulfoxide; DMF: Dimethylformamide.

Bảng 2. Nâng quy mô tổng hợp acetaminophen.

Thí nghiệm	Quy mô (g)	Dung môi	Tác nhân bắt cặp	Hiệu suất (%)*
1	1	ACN/H ₂ O (1:5)	HATU	90,2
2	10	ACN/H ₂ O (1:5)	HATU	88,1
3	100	ACN/H ₂ O (1:5)	HATU	87,8
4	300	ACN/H ₂ O (1:5)	HATU	84,3
5	500	ACN/H ₂ O (1:5)	HATU	84,8
6	1	ACN/H ₂ O (1:1)	EDC.HCl	86,1
7	10	ACN/H ₂ O (1:1)	EDC.HCl	85,4
8	100	ACN/H ₂ O (1:1)	EDC.HCl	87,2
9	300	ACN/H ₂ O (1:1)	EDC.HCl	85,9
10	500	ACN/H ₂ O (1:1)	EDC.HCl	86,5

*: Hiệu suất trung bình của 3 lần thí nghiệm.

Xác định cấu trúc của thuốc acetaminophen tổng hợp được: tinh thể trắng, nhiệt độ nóng chảy 169,2-179,1°C. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ=9,79 (s, 1H, NH), 9,25 (s, 1H, OH), 7,41-7,44 (m, 2H, H-Phenyl), 6,76-6,79 (m, 2H, H-Phenyl), 2,05 (s, 3H, CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ=168,3 (C=O); 153,8; 131,4; 121,7(2C); 115,6(2C); 24,1(CH₃). LCMS (ESI) m/z [M+H]⁺ tìm thấy 152,0. HRMS (ESI) m/z [M+H]⁺ tính cho C₈H₁₀NO₂⁺ 152,0712, tìm thấy 152,0712.

3.2. Bàn luận

Kết quả cho thấy, điều kiện phản ứng sử dụng dung môi H₂O/ACN tỷ lệ 5:1 với tác nhân bắt cặp HATU cho kết quả ấn tượng với hiệu suất cao nhất 89,2% (hàng 1, bảng 1), bên cạnh đó dung môi H₂O/ACN tỷ lệ 1:1 với tác nhân bắt cặp EDC.HCl cho kết quả hiệu suất 87,1% (hàng 6, bảng 1). Chúng tôi quyết định lựa chọn điều kiện này cho tổng hợp quy mô lớn hơn của acetaminophen như trình bày ở bảng 2.

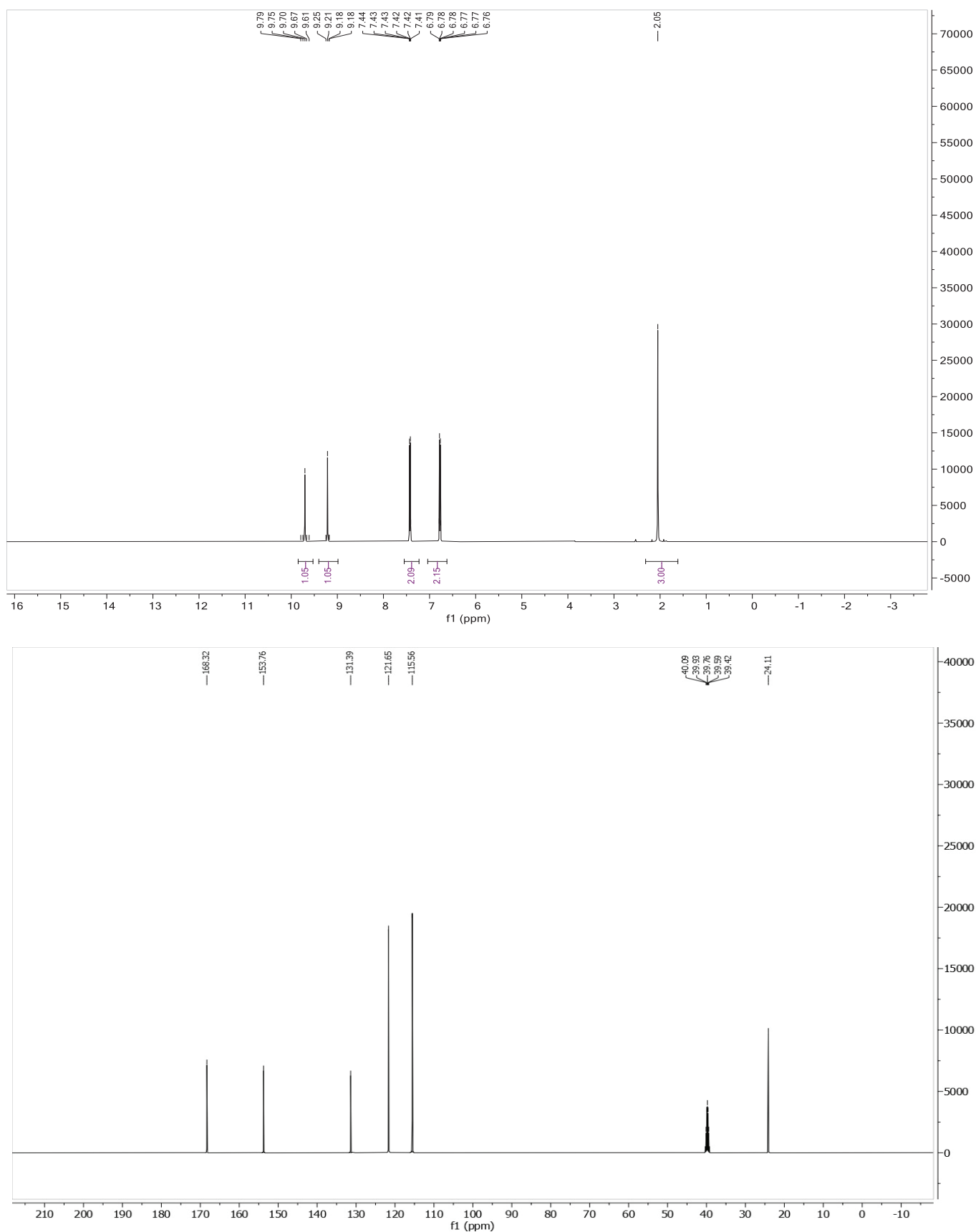
Acetaminophen tổng hợp được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ khối và phổ cộng hưởng từ được trình bày trên các hình 2 và 3.

Phản ứng tổng hợp acetaminophen đã được tiến hành thành công từ muối *p*-aminophenol hydrochloride và muối natri acetat với các tác nhân bắt cặp và dung môi khác nhau như liệt kê ở bảng 1. Phản ứng không cần sử dụng các muối base bậc 4 như trong các điều kiện phản ứng hình thành liên kết amid đã được biết tới [4]. Về mặt tác nhân bắt cặp, HATU và EDC.HCl cho hiệu suất cao nhất tương ứng là 89,2% (hàng 1, bảng 1) và 87,1% (hàng 6, bảng 1). Các tác nhân bắt cặp khác cho hiệu suất trung bình và thấp. Trong trường hợp của CDI (hàng 9, bảng 1) và T3P (hàng 12, bảng 1) là hai tác nhân bắt cặp kém bền trong nước, phản ứng phải tiến hành ở 100% ACN với hiệu suất thấp. Điều này có thể được giải thích bởi khả năng tan kém của hai chất đầu *p*-aminophenol hydrochloride và natri acetat dạng muối trong dung môi ACN. Mặc dù tính chất và cấu trúc của HATU và HBTU là tương tự nhau (hình 4), nhưng hiệu suất của việc sử dụng HBTU là thấp hơn nhiều so với HATU trong cả điều kiện có hoặc không có nước (hàng 10, 11, bảng 1).

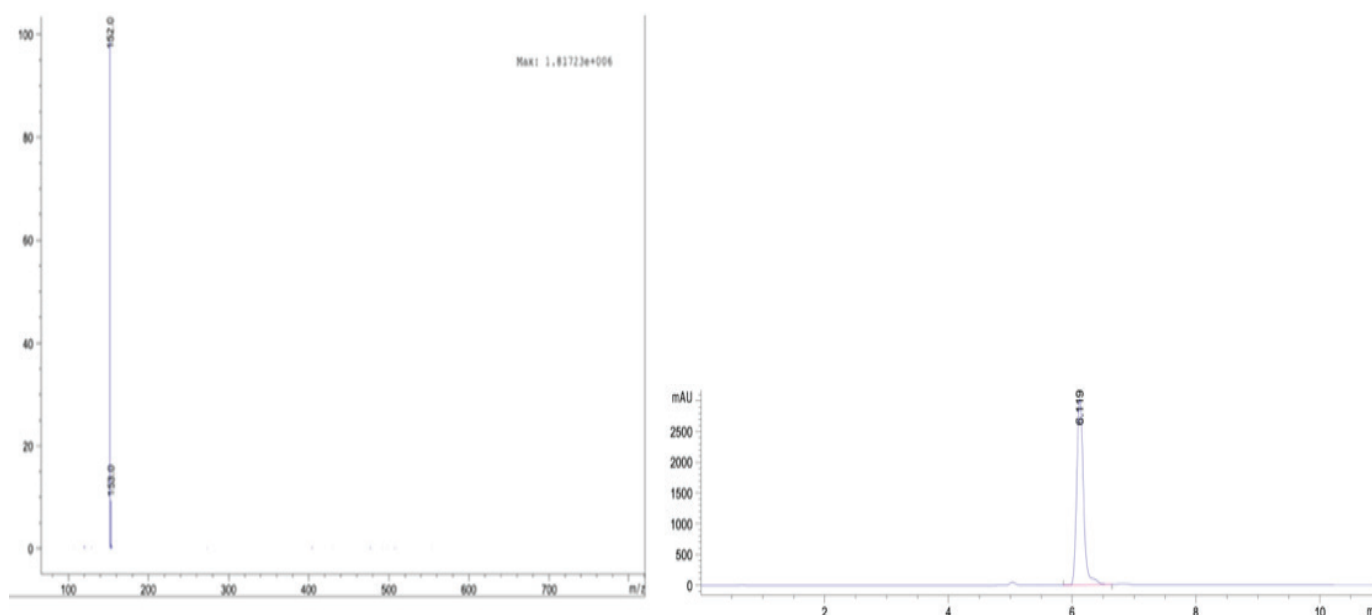
Về điều kiện dung môi, kết quả nghiên cứu cho thấy sự có mặt của nước đóng vai trò quan trọng cho hiệu suất của phản ứng. Tỷ lệ cao nhất của nước được sử dụng là 50% trong trường hợp của EDC.HCl. Điều này có thể được giải thích bởi các chất tham gia phản ứng là dạng muối, việc có mặt của nước hoà tan các chất là cần thiết để phản ứng diễn ra. Hỗn hợp dung môi acetonitril (ACN) và nước là tốt nhất cho phản ứng, các hỗn hợp dung môi khác với nước như DMSO, aceton, DMF đều cho hiệu suất thấp.

Do các chất tham gia phản ứng đều ở dạng muối không tan trong dung môi hữu cơ, nên quá trình tinh chế rất đơn giản chỉ cần sử dụng phương pháp chiết bằng dung môi hữu cơ thông dụng như ethyl acetat.

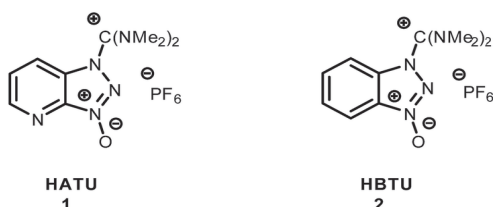
Thử nghiệm nâng quy mô tổng hợp với hai tác nhân bắt cặp tốt nhất HATU và EDC.HCl cho thấy, hiệu suất tương đối ổn định và tương đương nhau khi nâng quy mô từ 1 đến 500 g. Tuy nhiên, EDC.HCl cho hiệu suất ổn định hơn so với HATU trong các quy mô.



Hình 2. Phổ ¹H NMR (trên) và ¹³C NMR (dưới) của acetaminophen tổng hợp được.



Hình 3. Phổ khối và sắc ký lỏng hiệu năng cao của acetaminophen tổng hợp được.



Hình 4. Cấu tạo của 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate và 3-[Bis(dimethylamino)methylumyl]-3H-benzotriazol-1-oxide hexafluorophosphate.

Cụ thể, HATU cho hiệu suất có xu hướng giảm dần từ 90,2% (quy mô 1 g) xuống 84,8% (quy mô 500 g). Trong khi đó, hiệu suất gần như ổn định ở mức 85-86% khi sử dụng EDC.HCl. Tuy nhiên, sự khác biệt nhỏ về hiệu suất ở quy mô 300 và 500 g khi sử dụng HATU vẫn cho thấy tác nhân bất cập này có tiềm năng trong quy mô công nghiệp. Xét về mặt giá thành và độ bền, EDC.HCl là ứng viên tiềm năng hơn HATU cho áp dụng quy mô công nghiệp sản xuất nguyên liệu hoá dược.

4. Kết luận

Chúng tôi đã lần đầu tiên tổng hợp thành công acetaminophen trực tiếp từ muối *p*-aminophenol hydrochloride và muối natri acetat trong hỗn hợp dung môi nước và acetonitril. Hai tác nhân bất cập tìm được là HATU và EDC.HCl, trong đó, EDC.HCl cho hiệu suất ổn định hơn ở quy mô từ 1 đến 500 g. Phản ứng diễn ra một bước, trong môi trường nước và không sử dụng các amin bậc 4 trong quá trình phản ứng và chưa từng được công bố trước đây. Dù acetaminophen là đối tượng chính của nghiên cứu này, tuy nhiên phản ứng có thể được phát triển rộng hơn cho các

loại thuốc khác nhau chứa liên kết amid [5]. Tóm lại, kết quả của nghiên cứu mở ra một hướng tổng hợp công nghiệp mới cho acetaminophen trong môi trường hỗn hợp nước và acetonitril. Một số điều kiện của phản ứng cần nghiên cứu tối ưu hoá sâu hơn như: giảm tỷ lệ tác nhân bất cập, sử dụng hoàn toàn môi trường nước, thay thế HATU bằng các tác nhân thân thiện hơn, không chứa phospho... sẽ được tiến hành và công bố trong thời gian tới. Bên cạnh đó, phản ứng này sẽ là cơ sở để phát triển các phản ứng mới ứng dụng trong tổng hợp công nghiệp các thuốc chứa liên kết amid trong phân tử nhằm rút ngắn bước phản ứng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Phenikaa, Đại học Phenikaa. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.C. Bryan, P.J. Dunn, D. Entwistle, et al. (2018), "Key green chemistry research areas from a pharmaceutical manufacturers' perspective revisited", *Green Chem.*, **20**, pp.5082-5103, DOI: 10.1039/C8GC01276H.
- [2] R.A. Mitchell, S. Rathi, M. Dahiya, et al. (2020), "Public awareness of acetaminophen and risks of drug induced liver injury: Results of a large outpatient clinic survey", *PLOS ONE*, **15**(3), DOI: 10.1371/journal.pone.0229070.
- [3] C. Dias, E. Valente, L. Constantino (2016), "Synthesis of paracetamol by acetylation", *Comprehensive Organic Chemistry Experiments for The Laboratory Classroom*, Royal Society of Chemistry, pp.129-132, DOI: 10.1039/9781849739634-00129.
- [4] V.R. Pattabiraman, J.W. Bode (2011), "Rethinking amide bond synthesis", *Nature*, **480**(7378), pp.471-479, DOI: 10.1038/nature10702.
- [5] T.T. Tung, J. Nielsen (2021), "Amide bond formation in aqueous solution: Direct coupling of metal carboxylate salts with ammonium salts at room temperature", *Organic & Biomolecular Chemistry*, **19**(46), pp.10073-10080, DOI: 10.1039/D1OB02064A.

Phân lập, tuyển chọn chủng *Lactobacillus* ứng dụng cho lên men sữa chua đậu xanh

Nguyễn Thị Mai Hương*, Phạm Thị Thu Hoài

Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp, 456 Minh Khai, phường Vĩnh Tuy, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 12/10/2024; ngày chuyển phản biện 15/10/2024; ngày nhận phản biện 6/11/2024; ngày chấp nhận đăng 9/11/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm mục đích phân lập và sàng lọc chủng vi khuẩn *Lactobacillus* từ các sản phẩm lên men để ứng dụng trong quy trình sản xuất sữa chua đậu xanh. Kết quả từ 10 nguồn phân lập đã thu được 19 khuẩn lạc vi khuẩn lactic trên môi trường nuôi cấy vi khuẩn chuyên biệt (MRS), trong đó 7 chủng được sơ tuyển dựa trên các tiêu chí: gram dương, catalase âm tính, có khả năng phân hủy CaCO_3 , không có khả năng di động, hình thái tế bào dạng que hoặc cầu và khả năng tạo axit lactic mạnh (15,60-17,67 g/l). Sau khi đánh giá hoạt tính probiotic, hai chủng DC1 và KC2 đã được lựa chọn nhờ khả năng tạo enzyme protease, amylase và ức chế vi khuẩn gây bệnh. Điều kiện phát triển tối ưu cho hai chủng này là môi trường MRS với pH 6,5, nhiệt độ 37°C, thời gian nuôi cấy 24 giờ và tốc độ lắc 200 vòng/phút. Ngoài ra, chủng KC2 sử dụng nguồn carbon thay thế là saccarose, trong khi DC1 giữ nguyên nguồn carbon và nitơ ban đầu. Kết quả thử nghiệm bước đầu chỉ ra rằng, chủng KC2 có tiềm năng lớn trong việc lên men sữa chua đậu xanh, đáp ứng tốt cho sản xuất thực tiễn.

Từ khóa: đậu xanh, *Lactobacillus*, lên men, probiotic, sữa chua đậu xanh.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8, 2.10

Isolation and selection of *Lactobacillus* strains for fermentation of mung bean yoghurt

Thi Mai Huong Nguyen*, Thi Thu Hoai Pham

Faculty of Food Technology, University of Economics - Technology for Industries, 456 Minh Khai Street, Vinh Tuy Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

Received 12 October 2024; revised 6 November 2024; accepted 9 November 2024

Abstract:

This study aims to isolate and screen *Lactobacillus* strains from fermented products for application in the production of mung bean yoghurt. The results from 10 isolation sources yielded 19 lactic acid bacterial colonies on De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) medium, of which seven strains were pre-selected based on criteria such as gram-positive, catalase-negative, ability to degrade CaCO_3 , non-motile, rod- or coccus-shaped cell morphology, and strong lactic acid production (15.60-17.67 g/l). After evaluating their probiotic activity, two strains, DC1 and KC2, were selected due to their ability to produce protease and amylase enzymes and inhibit pathogenic bacteria. The optimal growth conditions for these strains were MRS medium with a pH of 6.5, a temperature of 37°C, an incubation time of 24 hours, and a shaking speed of 200 rpm. Additionally, strain KC2 utilised sucrose as an alternative carbon source, whereas DC1 maintained the original carbon and nitrogen sources. Preliminary testing results indicated that strain KC2 has great potential for fermenting mung bean yoghurt, making it a promising candidate for practical production.

Keywords: fermentation, *Lactobacillus*, mung bean, mung bean yoghurt, probiotic.

Classification numbers: 1.6, 2.8, 2.10

*Tác giả liên hệ: Email: ntmhuong@uneti.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Sữa chua là một sản phẩm lên men phổ biến, nổi tiếng với nhiều lợi ích sức khỏe, bao gồm khả năng hỗ trợ giảm huyết áp [1], hỗ trợ điều trị đái tháo đường và chống ung thư [2]. Trong quy trình sản xuất sữa chua truyền thống, hai chủng vi khuẩn lactic *Lactobacillus bulgaricus* và *Streptococcus thermophilus* được sử dụng phổ biến trong công nghiệp để tạo ra các sản phẩm sữa chua truyền thống [3].

Tuy nhiên, hiện nay theo xu hướng các sản phẩm sữa chua không chỉ dừng lại ở những dòng truyền thống mà còn mở rộng sang các sản phẩm chức năng, đặc biệt là sữa chua bổ sung probiotic. Probiotic là các vi sinh vật sống và khi được sử dụng với liều lượng hợp lý, chúng có thể mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe người tiêu dùng [4]. Việc bổ sung này không chỉ nâng cao chất lượng và giá trị dinh dưỡng của sản phẩm mà còn góp phần cải thiện hệ tiêu hóa và tăng cường hệ miễn dịch.

Mặc dù việc sử dụng các chủng vi khuẩn khởi động truyền thống trong quá trình lên men sữa chua có thể đảm bảo tính ổn định của sản phẩm nhưng lại hạn chế về mặt cảm quan [5]. Điều này tạo ra nhu cầu khám phá và ứng dụng các loài vi khuẩn mới, đặc biệt là *Lactobacillus*, nhằm phát triển các sản phẩm sữa chua với hương vị phong phú và giá trị chức năng cao hơn.

Nghiên cứu về phân lập các chủng *Lactobacillus* từ nguồn lên men truyền thống tại Việt Nam và trên thế giới đã ghi nhận nhiều tiềm năng ứng dụng trong sản xuất sữa chua. Các chủng *Lactobacillus* được phân lập chủ yếu từ các sản phẩm lên men như sữa chua, thực phẩm lên men từ rau củ và thịt truyền thống [6]. Tại Việt Nam, nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các chủng *Lactobacillus* được phân lập từ các loại sữa chua truyền thống có khả năng acid hóa tốt và kháng khuẩn, góp phần nâng cao chất lượng sản phẩm cuối cùng [7]. Trên thế giới, *Lactobacillus* cũng đã được chứng minh là có khả năng chịu đựng các điều kiện khó khăn trong quá trình lên men. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, ứng dụng các chủng này không chỉ cải thiện hương vị mà còn gia tăng giá trị dinh dưỡng cho sản phẩm. D.D. Pan và cs (2014) [8] đã chứng minh rằng, *Lactobacillus pentosus* giúp tạo ra hương vị đặc biệt cho sữa chua thông qua khả năng tạo ra nhiều hợp chất hữu cơ dễ bay hơi trong quá trình lên men. Các nghiên cứu đã cho thấy, *Lactobacillus fermentum* được phân lập từ thực phẩm lên men như dưa cải và kim chi, có khả năng sản xuất gamma aminobutyric acid (GABA) cao, từ đó tăng cường giá trị dinh dưỡng cho sản phẩm [9]. Việc tối ưu hóa

quy trình lên men bằng các chủng *Lactobacillus* phù hợp từ nguồn lên men truyền thống có thể mang lại những sản phẩm sữa chua chất lượng cao hơn, giàu probiotic và có lợi cho sức khỏe.

Đậu xanh là một nguồn thực phẩm giàu dinh dưỡng với hàm lượng protein và chất xơ cao, cùng với các loại vitamin và khoáng chất phong phú, có thể trở thành nguồn nguyên liệu tiềm năng cho quá trình lên men lactic. Đặc biệt, việc sử dụng đậu xanh để lên men lactic không chỉ giúp gia tăng giá trị dinh dưỡng mà còn mở ra triển vọng cho các sản phẩm từ thực vật thay thế sữa chua từ sữa động vật. Tiềm năng thành công của việc lên men lactic từ đậu xanh là rất lớn, đặc biệt trong bối cảnh người tiêu dùng ngày càng quan tâm đến các sản phẩm từ thực vật và lợi ích sức khỏe của chúng [10].

Vì vậy, để sản xuất sữa chua từ đậu xanh, việc phân lập và sàng lọc thêm các chủng *Lactobacillus* có khả năng lên men hiệu quả là rất quan trọng. Những chủng vi khuẩn này không chỉ giúp nâng cao hương vị mà còn mang lại nhiều lợi ích sức khỏe cho người sử dụng.

Ngoài ra, gần đây *Lactobacillus* đã được phân loại lại thành nhiều chi mới, nhằm phân loại một cách chính xác hơn dựa trên sự khác biệt về đặc điểm di truyền và sinh lý học. Việc phân loại lại này mở rộng khả năng nghiên cứu và ứng dụng của từng chi cụ thể trong công nghệ thực phẩm và sức khỏe. Những chi mới này có thể đem đến các đặc tính lên men khác biệt, tạo cơ hội mới cho việc phát triển các sản phẩm sữa chua từ đậu xanh và các nguyên liệu thực vật khác.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và môi trường nuôi cấy

Sung muối, dưa muối, đậu tương, đậu xanh lên men, đậu xanh + đường lên men, đậu xanh + muối lên men, sữa chua, sữa chua uống probi, sữa chua uống yakult và kim chi thu mua tại các chợ, siêu thị trên địa bàn TP Hà Nội được sử dụng là nguồn phân lập vi sinh vật.

Chủng vi khuẩn kiểm định bao gồm *Salmonella* sp., *Escherichia coli* và *Staphylococcus* cung cấp bởi Khoa Tài nguyên và Môi trường, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Sữa là sữa bò tươi nguyên chất 100% của Công ty Cổ phần Sữa Ba Vì.

Hạt đậu xanh PMT được sản xuất bởi Công ty TNHH Thương mại Dịch vụ Phú Minh Tâm.

Đường: Đường kính trắng, có dạng tinh thể màu trắng tinh khiết, sản xuất tại Công ty Cổ phần Đường Quảng Ngãi, nhãn hiệu Select.

Chủng vi khuẩn lactic thương mại *Lactobacillus* YC35 của Công ty Daniso, Pháp.

Môi trường MRS để nuôi cấy và phân lập vi khuẩn với thành phần (g/l): glucose (20 g), peptone (10 g), cao thịt (10 g), cao nấm men (5 g), CaCO_3 (5 g), tween 80 (1 g), diamoniumcitrat (2 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,58 g), $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,28 g), K_2HPO_4 (2 g), thạch (15 g), nước cất [11].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập các chủng vi khuẩn Lactobacillus từ thực phẩm lên men: Mẫu dịch lên men (ml) được pha loãng với nước cất vô trùng theo tỷ lệ 10:90 và sau đó thực hiện pha loãng tuần tự. Từ dung dịch đã được pha loãng, lấy 0,1 ml và nhỏ đều lên đĩa thạch có chứa môi trường MRS, sau đó trang đều bề mặt cho đến khi khô. Mẫu được ủ ở 37°C trong 24 đến 48 giờ. Quá trình cấy truyền được thực hiện nhiều lần để đảm bảo thu được các khuẩn lạc đồng nhất trên mỗi đĩa petri [12].

Xác định các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa: Tế bào vi khuẩn được nhận diện bằng kính hiển vi với vật kính 100X. Các đặc điểm sinh lý, sinh hóa của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm gram, xác định khả năng phân giải CaCO_3 , thử nghiệm catalase và xác định khả năng di động.

Tuyển chọn chủng vi khuẩn Lactobacillus: Khả năng sinh axit lactic: Tiến hành nuôi cấy các chủng vi khuẩn phân lập được trong môi trường MRS lỏng. Sau đó, sử dụng phương pháp chuẩn độ Therner xác định hàm lượng axit tạo ra. Từ đó, xác định ra các chủng sinh axit cao nhất.

Khả năng tạo enzyme ngoại bào được xác định bằng phương pháp đục lỗ thạch [12]. Các chủng vi khuẩn lactic được hoạt hóa trong môi trường MRS lỏng và nuôi trong 48 giờ ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, dịch nuôi được ly tâm ở tốc độ 6.000 vòng/phút trong 30 phút ở nhiệt độ 4°C để thu lấy dịch nổi. Đục lỗ có đường kính 5 mm trên đĩa thạch môi trường. Mỗi lỗ thạch được nhỏ 0,1 ml dịch nổi và để ở 4°C trong 2 giờ để dịch thấm vào thạch. Tiếp theo, đĩa thạch được ủ ở 37°C trong 48 giờ để cơ chất quanh lỗ thạch bị phân giải. Hoạt tính enzyme được đánh giá bằng cách đo đường kính vùng phân giải cơ chất quanh lỗ thạch, theo công thức D-d, trong đó D là đường kính vùng phân giải và d là đường kính lỗ thạch (5 mm).

Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh được thực hiện thông qua phương pháp khuếch tán thạch của M.A. Herreros và cs (2005) [13]. Các chủng nghiên cứu được nuôi trong môi trường MRS lỏng ở 30°C trong khoảng 18-20 giờ. Vi khuẩn kiểm định được nuôi trong môi trường LB lỏng ở 30°C. Mật độ vi khuẩn gây bệnh được điều chỉnh đến 10^8 CFU/ml (McFarland 0,5) và 30 μl dịch vi khuẩn được trải đều lên toàn bộ bề mặt đĩa thạch. Lỗ thạch được khoan và dịch ly tâm đã chỉnh pH được nhỏ vào các lỗ này, sau đó giữ ở 4°C trong 4 giờ để dịch khuếch tán. Đĩa thạch sau đó được ủ ở 30°C trong 24 giờ. Khả năng kháng khuẩn được xác định dựa trên vòng ức chế quanh lỗ thạch, hoạt tính kháng khuẩn của các chủng vi sinh vật được tính theo công thức $\Delta D = D-d$, trong đó D là đường kính vòng kháng khuẩn và d là đường kính lỗ thạch.

Xác định điều kiện nuôi cấy chủng vi khuẩn Lactobacillus thích hợp: Chủng *Lactobacillus* đã sàng lọc sẽ được nuôi cấy tĩnh trong môi trường MRS lỏng đến khi mật độ đạt 10^8 CFU/ml. Các yếu tố về nguồn dinh dưỡng, pH, nhiệt độ, thời gian, tốc độ lắc và tỷ lệ tiếp giống sẽ được khảo sát tại các khoảng cụ thể như sau:

- Nguồn dinh dưỡng: Hàm lượng các thành phần trong môi trường nuôi cấy MRS đã được trình bày ở phần 2.1. Trong thí nghiệm này, các nguồn cung cấp nitơ và carbon khác sẽ được khảo sát để tìm nguồn dinh dưỡng phù hợp nhất. Hàm lượng nitơ và carbon lần lượt là 10 và 20 g (tương đương môi trường MRS chuẩn).

- + Nguồn nitơ: peptone, CNM, cao thịt, tryptone.

- + Nguồn carbon: glucose, saccharose, lactose, fructose.

- pH: 4, 5, 6, 7 và 8.

- Nhiệt độ: 25, 30, 35, 40, 45°C.

- Thời gian: Sau 8 giờ nuôi cấy lấy mẫu xác định mật độ quang để lập đường cong sinh trưởng từ đó xác định thời gian nuôi cấy thích hợp.

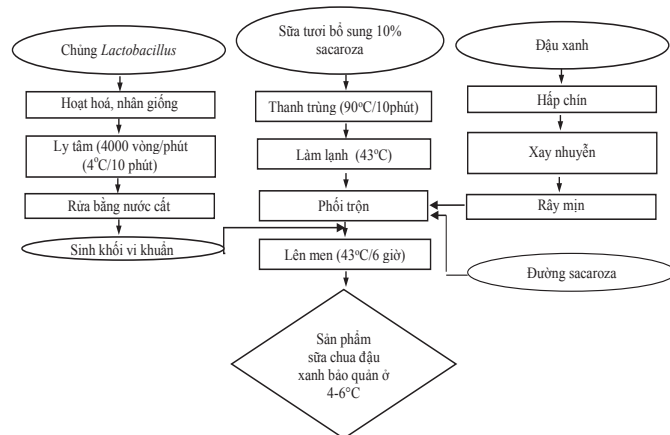
- Tốc độ lắc: 150, 200, 250 vòng/phút.

- Tỷ lệ tiếp giống: 3, 5, 7, 10, 12%.

Chỉ tiêu theo dõi của các thí nghiệm: mật độ vi khuẩn, khả năng sinh axit lactic.

Thử nghiệm sản xuất sữa chua đậu xanh từ chủng Lactobacillus: Sữa tươi được thanh trùng ở 90°C trong 10 phút để loại bỏ các vi sinh vật gây hại. Sau đó, sữa được làm nguội xuống 43°C để bắt đầu quá trình lên men. Đồng thời,

đậu xanh được hấp chín, nghiền nhuyễn và bổ sung vào sữa với tỷ lệ 10% (w/v), tương ứng 100 g đậu xanh cho mỗi 1 lít sữa. Quá trình nghiền nhuyễn giúp đậu xanh dễ dàng hoà quyện vào sữa, tạo độ sánh mịn và cung cấp thêm chất dinh dưỡng như protein và chất xơ. Sau khi hỗn hợp sữa và đậu xanh được chuẩn bị, chủng vi khuẩn *Lactobacillus* đã phân lập được bổ sung vào hỗn hợp. Quá trình lên men diễn ra ở nhiệt độ 43°C trong 6 giờ. Trong thời gian này, vi khuẩn sẽ chuyển đổi đường thành axit lactic, làm đông đặc hỗn hợp và tạo độ chua cho sữa chua. Khi quá trình lên men hoàn tất, sữa chua đậu xanh được làm nguội và bảo quản ở nhiệt độ 4-6°C để duy trì chất lượng và ngăn chặn sự phát triển của vi sinh vật không mong muốn (hình 1). Sản phẩm cuối cùng mong muốn có cấu trúc đặc, mịn và có hương vị hài hòa giữa vị chua nhẹ và vị bùi của đậu xanh. Chất lượng cảm quan và hóa lý của sữa được đánh giá để lựa chọn công thức phù hợp.



Hình 1. Quy trình dự kiến sản xuất sữa chua đậu xanh.

Phương pháp phân tích: Hàm lượng protein xác định theo TCVN 8099-1:2015 - Sữa và sản phẩm sữa - xác định hàm lượng nitơ - phần 1: nguyên tắc Kjeldahl và tính protein thô; hàm lượng chất khô hòa tan tổng số được xác định theo TCVN 7771:2007; hàm lượng axit hữu cơ tổng số được xác định theo TCVN 5483:1991.

Phương pháp đánh giá cảm quan: Mẫu sản phẩm sữa chua đậu xanh sẽ được đánh giá cảm quan theo thang điểm 9 Hedonic. Số lượng thành viên đánh giá là 12 người ở các độ tuổi và giới tính khác nhau, đã được đào tạo về phương pháp đánh giá cảm quan thực phẩm. Các mẫu sữa chua được mã hóa trước khi đưa cho các thành viên. Thang điểm 1-9 được mô tả như sau: điểm 1: cực kỳ không thích; điểm 2: rất không thích; điểm 3: không thích; điểm 4: tương đối không thích; điểm 5: không thích cũng không ghét; điểm 6: tương đối thích; điểm 7: thích; điểm 8: rất thích; điểm 9: cực kỳ thích.

Phương pháp xử lý số liệu: Kết quả là số liệu trung bình 3 lần phân tích lặp lại và độ lệch chuẩn. Sự khác biệt của giá trị trung bình giữa các công thức được đánh giá nhờ ANOVA, so sánh Tukey ($p \leq 0,05$).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập chủng vi khuẩn *Lactobacillus*

Từ các mẫu thực phẩm lên men đã phân lập được 19 khuẩn lạc vi khuẩn nghi ngờ là chủng *Lactobacillus*, kết quả xác định một số đặc điểm sinh lý và khả năng sinh axit lactic của các chủng được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân lập và xác định đặc điểm sinh lý của các chủng vi khuẩn.

TT	Mẫu	Ký hiệu chủng	Hình thái tế bào	Gram	Khả năng phân giải CaCO_3	Catalase	Khả năng di động	Hàm lượng axit (g/l)
1	Cà pháo muối	CP1	Hình cầu, xếp chuỗi	+	+	-	-	-
2		CP2	Hình cầu, đơn lẻ	+	+	-	-	-
3		DC1	Que ngắn, kết đôi	+	+	-	-	17,67
4	Dưa chua	DC2	Que ngắn, đơn lẻ	+	+	-	-	6,70
5		DC3	Que dài, đơn lẻ	+	+	-	-	6,02
6	Đậu tương	DT1	Que ngắn, đơn lẻ, xếp chuỗi	+	+	-	-	12,94
7		DT2	Cầu, đơn	+	+	-	-	-
8	Đậu xanh	DX1	Que ngắn, đơn lẻ	+	+	-	-	16,92
9	lên men	DX2	Que ngắn, kết đôi	+	+	-	-	9,16
10	Đậu xanh+đường	DD1	Que ngắn, đơn lẻ, xếp chuỗi	+	+	-	-	18,50
11	lên men	DD2	Que dài, xếp chuỗi	+	+	+	-	9,01
12	Đậu xanh+muối	DM1	Cầu, đơn	+	+	-	-	-
13	lên men	DM2	Que dài, kết đôi	+	+	-	-	10,21
14	Sữa chua	SC	Cầu, xếp chuỗi	+	+	-	-	-
15	Sữa chua uống Probi	PB	Que ngắn, kết đôi	+	+	-	-	15,60
16	Sữa chua uống Yakult	YK	Que ngắn, đơn	+	+	-	-	16,92
17		KC1	Que dài, đơn	+	+	-	-	12,18
18	Kim chi	KC2	Que ngắn, xếp chuỗi	+	+	-	-	16,80
19		KC3	Que dài, kết đôi	+	+	-	-	15,66

Ghi chú: (+) có khả năng; (-) không có khả năng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, có 14 chủng vi khuẩn phân lập được có hình thái tế bào dạng que và hầu hết đều không có khả năng di động. Đây là những đặc điểm sinh học quan trọng để định hướng sàng lọc các chủng thuộc chi *Lactobacillus*. Đáng chú ý, tất cả 14 chủng này đều có

khả năng sinh axit lactic, với nồng độ dao động từ 6,02 đến 18,50 g/l. Trong số đó, chủng DC3 có khả năng sinh axit thấp nhất (6,02 g/l), trong khi chủng DD1 có khả năng sinh axit lactic cao nhất 18,50 g/l. Những kết quả này tương đồng với nghiên cứu trước đây về hàm lượng axit lactic do các chủng *Lactobacillus* sinh ra [14].

Tiếp theo, đặc điểm probiotic bao gồm: khả năng sinh enzyme ngoại bào và khả năng kháng các vi sinh vật gây bệnh của 7 chủng có khả năng sinh axit lactic cao nhất sẽ được xác định để lựa chọn ra những chủng phù hợp nhất sử dụng cho lên men sữa chua đậu xanh. Kết quả được trình bày trong các phần tiếp theo.

3.2. Xác định hoạt tính probiotic của các chủng tuyển chọn

Khả năng sinh enzyme ngoại bào: Sữa chua đậu xanh chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như tinh bột, protein từ các loại hạt, vậy để vi khuẩn sinh trưởng và lên men tốt trong môi trường sữa hạt đòi hỏi vi khuẩn cần có khả năng sinh một số enzyme ngoại bào như protease (phân giải protein) và amylase (phân giải tinh bột). Kết quả xác định khả năng sinh enzyme ngoại bào của 7 chủng vi sinh vật phân lập được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng *Lactobacillus*.

STT	Ký hiệu chủng	Hoạt tính enzyme (D-d, mm)	
		Phân giải protein	Phân giải tinh bột
1	DC1	5,28	-
2	DX1	3,17	2,97
3	DD1	3,62	4,20
4	KC2	8,23	5,40
5	KC3	2,20	-
6	YK	5,33	-
7	PB	4,12	-

Ghi chú: D: Đường kính phân giải; d: Đường kính lỗ thạch; (-): Không thể hiện hoạt tính.

Kết quả từ bảng 2 cho thấy, cả 7 chủng *Lactobacillus* phân lập được đều thể hiện khả năng sinh enzyme protease với đường kính phân giải từ 2,20 đến 8,23 mm và có 3 chủng sinh enzyme amylase là DX1, DD1, KC2 với đường kính vòng phân giải dao động từ 2,97 đến 5,40 mm. Trong đó, chủng KC2 có hoạt tính hai loại enzyme mạnh. Kết quả về khả năng phân giải protein tương tự với nghiên cứu khả năng sinh enzyme ngoại bào của N.T.T. Huynh và cs (2019) [15].

Khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh: Khả năng kháng các vi sinh vật gây bệnh của các chủng vi khuẩn phân lập được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh của các chủng *Lactobacillus*.

STT	Chủng	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)		
		<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>
1	DC1	7,50	8,33	14,75
2	DX1	3,10	6,17	-
3	DD1	3,63	5,73	13,67
4	KC2	6,27	6,63	17,17
5	KC3	4,17	5,17	-
6	YK	3,17	7,17	8,83
7	PB	4,70	3,67	11,50

Ghi chú: (-): Không thể hiện hoạt tính.

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, cả 7 chủng vi khuẩn phân lập đều tạo vòng vô khuẩn khi tương tác với *E. coli*, với đường kính vô khuẩn từ 3,10-7,50 mm. Hai chủng DC1 và KC2 có khả năng kháng *E. coli* mạnh nhất, đạt đường kính vô khuẩn lần lượt là 7,50 và 6,27 mm, trong khi chủng DX1 có khả năng kháng yếu nhất (3,10 mm). Theo quy ước của A.B. Galindo (2004) [16], cả 7 chủng đều kháng *E. coli*, trong đó 5 chủng (DX1, DD1, KC3, YK, PB) có mức kháng yếu (đường kính vô khuẩn 1-5 mm), còn 2 chủng (DC1, KC2) kháng ở mức trung bình (đường kính vô khuẩn 6-20 mm).

Đối với *Staphylococcus*, 5/7 chủng có khả năng đối kháng, với đường kính vô khuẩn 8,83-17,17 mm. Chủng KC2 thể hiện khả năng kháng tốt nhất với đường kính vô khuẩn 17,17 mm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu về khả năng kháng *Staphylococcus* của các chủng *Lactobacillus* trong sữa chua truyền thống Ma-rốc (đường kính vô khuẩn ≥ 6 mm) [17].

Ngoài ra, tất cả các chủng vi khuẩn phân lập đều kháng *Salmonella*, với đường kính vô khuẩn 3,67-8,33 mm và chủng DC1 có đường kính vô khuẩn lớn nhất là 8,33 mm. Các nghiên cứu trước đây cũng đã ghi nhận nhiều loài *Lactobacillus* có khả năng tạo ra protein diệt khuẩn mạnh như nghiên cứu của Q.K. Hoang và cs (2011) [18] về hoạt tính kháng khuẩn của các chủng *Lactobacillus*.

Như vậy, trong số 19 chủng vi khuẩn phân lập được từ 10 nguồn lên men khác nhau, chúng tôi chọn được 2 chủng vi khuẩn thuộc chi *Lactobacillus* là DC1 và KC2 có khả năng sinh axit lactic cao và đặc tính probiotic phù hợp sử dụng để lên men sữa chua đậu xanh. Kết quả xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp để nhân giống 2 chủng này được trình bày trong các phần kế tiếp.

3.3. Xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp

Thành phần môi trường: Ảnh hưởng của thành phần môi trường đến khả năng sinh trưởng và khả năng sinh axit trong môi trường nuôi cấy của hai chủng được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của thành phần môi trường nuôi cấy đến khả năng lên men và mật độ tế bào của hai chủng DC1 và KC2.

Chủng	Yếu tố	Mật độ vi khuẩn (10^8 CFU/ml)	Hàm lượng axit (g/l)
DC1	Đối chứng	MRS (glucose hoặc peptone)	7,17
		Saccharose	5,97
	Nguồn C	Lactose	2,83
		Fructose	1,89
		CNM	5,565
	Nguồn N	Cao thịt	7,315
		Tryptone	3,38
	Đối chứng	MRS (glucose hoặc peptone)	10,15
KC2	Đối chứng	MRS (glucose hoặc peptone)	10,15
		Saccharose	10,7
	Nguồn C	Lactose	5,655
		Fructose	1,71
		CNM	5,95
	Nguồn N	Cao thịt	4,355
		Tryptone	2,695
	Đối chứng	MRS (glucose hoặc peptone)	16,62

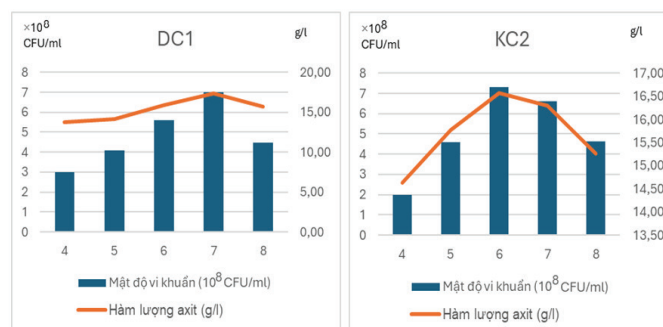
Các nguồn carbon khác nhau đã được sử dụng để nuôi cấy hai chủng DC1 và KC2, bao gồm glucose (MRS chuẩn), saccharose, lactose và fructose. Trong đó, MRS chuẩn là nguồn carbon tốt nhất, với hàm lượng axit tạo thành ở DC1 và KC2 lần lượt là 17,30 và 16,62 g/l, mật độ vi khuẩn đạt $7,17 \times 10^8$ và $10,15 \times 10^8$ CFU/ml.

Tuy nhiên, ở chủng KC2, môi trường saccharose thay thế tạo ra mật độ vi khuẩn cao hơn so với MRS chuẩn, đạt $10,7 \times 10^8$ CFU/ml, trong khi hàm lượng axit lactic giảm không đáng kể so với MRS chuẩn.

Hầu hết các môi trường nuôi vi khuẩn lactic thường được bổ sung nguồn nitơ, yếu tố quan trọng cho việc sản xuất sinh khối. Khi thay thế các nguồn nitơ hữu cơ trong MRS bằng cao nấm men, cao thịt và tryptone, mật độ tế bào và hàm lượng axit của cả hai chủng DC1 và KC2 giảm dần theo thứ tự: peptone > cao nấm men > cao thịt > tryptone.

Như vậy, sau quá trình khảo sát, chúng tôi đã chọn môi trường MRS chuẩn cho DC1 và môi trường MRS thay thế saccharose cho KC2 để áp dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

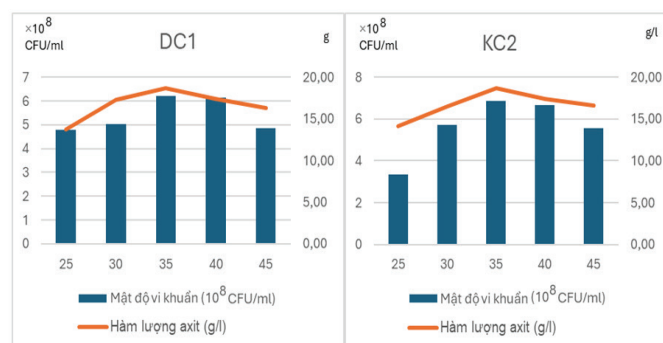
pH: pH đóng vai trò quan trọng đối với sinh khối và sản phẩm bacteriocin của vi khuẩn lactic vì quá trình tổng hợp, hấp phụ và phân hủy protein đều phụ thuộc vào pH. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng của hai chủng DC1 và KC2 được thể hiện trên hình 2.



Hình 2. Ảnh hưởng của pH đến khả năng lên men và mật độ tế bào của hai chủng DC1 và KC2.

Chủng DC1 sinh trưởng tốt trong khoảng pH 5-8, với mật độ vi khuẩn tăng từ pH 5-7 và giảm từ pH 7-8, đạt cao nhất ở pH 6-7. Tại pH 7, mật độ tế bào đạt $6,985 \times 10^8$ CFU/ml và hàm lượng axit 17,39 g/l, cho thấy khả năng chịu pH thấp tốt. Chủng KC2 cũng đạt mật độ vi khuẩn và hàm lượng axit cao nhất ở pH 6-7, với mật độ tế bào $7,3 \times 10^8$ CFU/ml và hàm lượng axit 16,57 g/l ở pH 6. Do đó, pH 6,5 được chọn để nuôi cấy cả hai chủng. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của G. Enan và cs (2006) [19] về *L. plantarum* ở pH 6,5 là điều kiện tối ưu cho sinh khối và hợp chất kháng khuẩn.

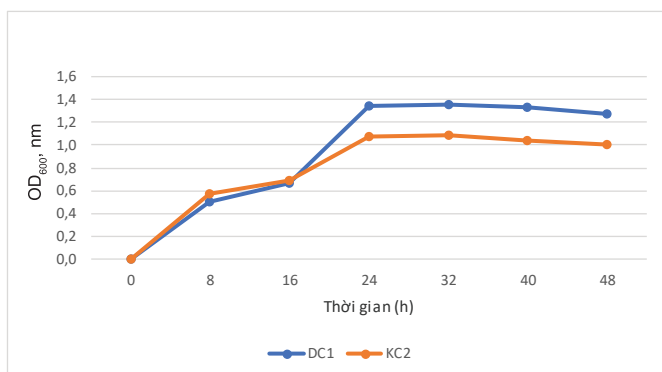
Nhiệt độ: Tiến hành nuôi cấy hai chủng DC1 và KC2 trong môi trường MRS tại các nhiệt độ 25, 30, 35, 40 và 45°C. Khả năng sinh trưởng của hai chủng ở các nhiệt độ khác nhau thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng lên men và mật độ tế bào của hai chủng DC1 và KC2.

Mật độ vi khuẩn và hàm lượng axit tăng khi nhiệt độ đạt đến 40°C, với giá trị cao nhất quan sát được trong khoảng 35-40°C. Quá 40°C nhiệt độ ảnh hưởng xấu đến sinh trưởng vì hầu hết vi khuẩn lactic ưa trung bình, phát triển tối ưu ở 35-40°C và các hoạt động trao đổi chất, bao gồm sản xuất bacteriocin, cũng diễn ra trong khoảng nhiệt độ này. Nhiệt độ 37°C được chọn để nuôi cấy cả hai chủng trong các nghiên cứu tiếp theo.

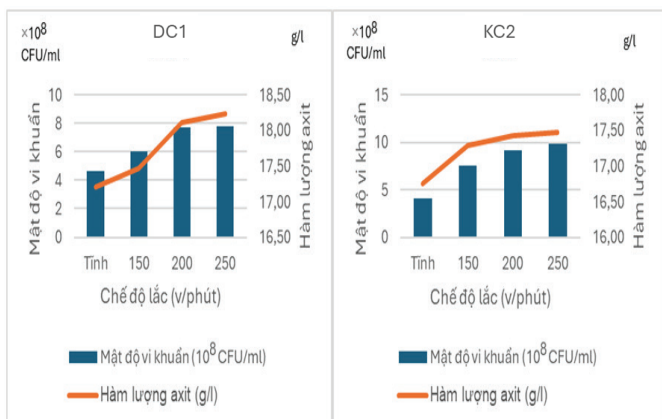
Thời gian: Để thu được hàm lượng sinh khối tối đa, cần xác định được thời gian lên men hiệu quả. Đường cong sinh trưởng của hai chủng DC1 và KC2 được thể hiện trong hình 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng sinh trưởng của hai chủng DC1 và KC2.

Dựa trên kết quả hình 4, thời gian nuôi cấy tối ưu là 24-32 giờ. Với DC1, mật độ tế bào cao nhất đạt OD₆₀₀=1,34 nm sau 24 giờ, kèm theo hàm lượng axit cao nhất. Mặc dù KC2 có OD cao hơn sau 32 giờ so với 24 giờ, sự chênh lệch này không đáng kể. Do đó, để rút ngắn thời gian lên men, cả hai chủng sẽ được nuôi cấy trong 24 giờ.

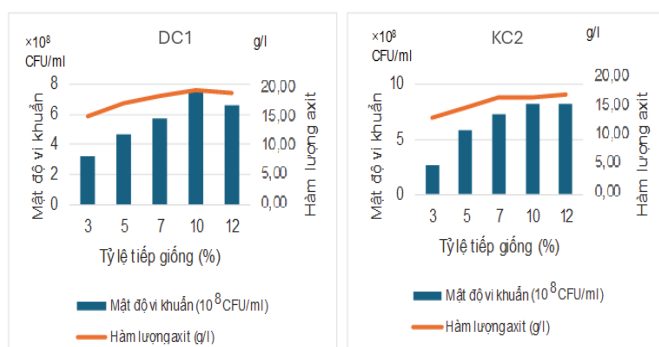
Tốc độ lắc: Tốc độ lắc có tác dụng đảo trộn môi trường và phân tán đều dinh dưỡng, làm tăng khả năng hấp thụ dinh dưỡng của tế bào (hình 5). Hình 5 cho thấy ảnh hưởng của tốc độ lắc đến sinh trưởng của hai chủng DC1 và KC2.



Hình 5. Ảnh hưởng của tốc độ lắc đến khả năng lên men và mật độ tế bào của hai chủng DC1 và KC2.

Kết quả cho thấy, mật độ vi khuẩn và hàm lượng axit trong môi trường nuôi cấy tăng dần khi tăng tốc độ lắc. Trong trường hợp nuôi cấy tĩnh, vi khuẩn vẫn phát triển nhưng phát triển kém hơn so với nuôi lắc. Tốc độ lắc thích hợp cho cả hai chủng DC1 và KC2 là 200 vòng/phút.

Tỷ lệ tiếp giống ảnh hưởng rất nhiều đến thời gian nuôi cấy và hiệu quả kinh tế. Một tỷ lệ tiếp giống thích hợp sẽ rút ngắn được thời gian nuôi cấy, tạo được lượng sinh khối lớn. Ảnh hưởng này được thể hiện trong hình 6.



Hình 6. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống đến khả năng lên men và mật độ tế bào của hai chủng DC1 và KC2.

Tỷ lệ tiếp giống và hàm lượng axit có mối quan hệ tỷ lệ thuận. Đối với chủng DC1, khi tỷ lệ tiếp giống vượt quá 10%, mật độ vi khuẩn giảm, có khả năng do tác động ức chế sinh trưởng từ nồng độ giống quá cao. Do đó, tỷ lệ tiếp giống 10% được xác định là tối ưu cho DC1. Đối với chủng KC2, mật độ vi khuẩn và hàm lượng axit tiếp tục tăng theo tỷ lệ tiếp giống nhưng sự khác biệt giữa tỷ lệ 10 và 12% là không đáng kể. Để đạt hiệu quả kinh tế và tối ưu sử dụng giống, tỷ lệ tiếp giống 10% được lựa chọn cho KC2.

3.4. Ứng dụng lên men sữa chua đậu xanh

Sữa chua đậu xanh được sản xuất theo quy trình như hình 1 ở trên. Sau khi chuẩn bị xong bố trí 3 công thức thí nghiệm bao gồm: ĐC (đối chứng): Sử dụng chủng vi khuẩn thương mại; CT1 (công thức 1): Sử dụng chủng DC1 và CT2 (công thức 2): Sử dụng chủng KC2. Kết quả được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Chất lượng cảm quan của sữa chua đậu xanh.

Mẫu	Màu sắc	Mùi	Vị	Trạng thái
ĐC	5,15 ^c	4,98 ^c	5,16 ^c	5,98 ^c
CT1	4,23 ^d	4,25 ^d	4,04 ^d	4,73 ^d
CT2	5,81 ^a	5,29 ^a	5,64 ^a	6,95 ^a

Các số liệu theo cột có chữ cái khác nhau là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$); ĐC: Sử dụng chủng thương mại; CT1: Sử dụng chủng *Lactobacillus* DC1; CT2: *Lactobacillus* KC2.

Công thức ĐC sử dụng giống thương mại YC35 với tỷ lệ bổ sung 0,02%, cho ra sản phẩm sữa chua có chất lượng cảm quan tốt, mang hương vị đặc trưng hài hòa của sữa chua kết hợp với đậu xanh. Công thức CT1, sử dụng chủng *Lactobacillus* DC1, mặc dù tạo ra axit lactic, nhưng không đạt được hương vị và cấu trúc mong muốn. Ngược lại, CT2 sử dụng chủng *Lactobacillus* KC2 đã cho ra sản phẩm sữa chua ổn định nhất trong các công thức, với hương vị dễ chịu và trạng thái đồng mịn hấp dẫn. Sản phẩm sữa chua CT2 được phân tích đánh giá thêm một số chỉ tiêu hóa lý cơ bản để so sánh với công thức ĐC. Kết quả thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Một số chỉ tiêu hóa lý của sữa chua công thức 2 và đối chứng.

Chỉ tiêu	CT2	ĐC
Hàm lượng protein (%)	3,5±0,1	3,2±0,1
TSS (°Bx)	12,0±0,2	12,5±0,2
Hàm lượng axit tổng số (%)	1,1±0,05	1,0±0,05

Kết quả phân tích hóa lý cho thấy, sữa chua CT2 có một số ưu điểm nổi bật so với sữa chua ĐC, phù hợp với kết quả đánh giá cảm quan. Chất khô hòa tan tổng số (TSS) của CT2 thấp hơn một chút (12,0±0,2 °Brix so với 12,5±0,2 °Brix), cho thấy sản phẩm có độ ngọt dịu và hương vị hài hòa, phù hợp với đánh giá cảm quan về hương vị. Hàm lượng axit hữu cơ tổng số cao hơn (1,1±0,05% so với 1,0±0,05%) tạo độ chua cân đối, tạo cảm giác tươi mát, được đánh giá tích cực hơn trong cảm quan. Các chỉ tiêu này góp phần khẳng định sự phù hợp của chủng *Lactobacillus* mới trong sản xuất sữa chua đậu xanh chất lượng cao.

4. Kết luận

Từ 10 nguồn phân lập, đã thu được 19 khuẩn lạc vi khuẩn lactic, trong đó 7 chủng có khả năng sinh axit cao nhất (15,60-17,67 g/l) được tuyển chọn. Đáng chú ý, hai chủng *Lactobacillus* DC1 và KC2 thể hiện hoạt tính enzyme protease, amylase, cùng khả năng kháng vi sinh vật gây bệnh vượt trội. Điều kiện nuôi cấy tối ưu cho hai chủng này bao gồm: môi trường MRS chuẩn với pH 6,5, nhiệt độ 37°C, thời gian 24 giờ, tốc độ lắc 200 vòng/phút, nguồn nitơ và carbon giữ nguyên đối với DC1, trong khi nguồn carbon của KC2 được thay thế bằng saccarose. Thử nghiệm lên men sữa chua đậu xanh cho thấy, sản phẩm từ chủng KC2 đạt chất lượng cảm quan và hóa lý tốt, thể hiện tiềm năng ứng dụng trong sản xuất quy mô lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] L.B. Barrientos, A.H. Mendoza, M.T. Llanez, et al. (2016), "Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food", *Journal of Dairy Science*, **99**(6), pp.4099-4110, DOI: 10.3168/jds.2015-10054.

[2] M. Ayyash, A.S.A. Dhaheri, S.A. Mahadin, et al. (2018), "In vitro investigation of anticancer, antihypertensive, antidiabetic, and antioxidant activities of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk", *Journal of Dairy Science*, **101**(2), pp.900-911, DOI: 10.3168/jds.2017-13400.

[3] L.H. Jimenez, I. Guillouard, E. Guedon, et al. (2009), "Postgenomic analysis of *Streptococcus thermophilus* cocultivated in milk with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: Involvement of nitrogen, purine, and iron metabolism", *Applied and Environmental Microbiology*, **75**(7), pp.2062-2073, DOI: 10.1128/aem.01984-08.

[4] A.N. Hassan, R. Ipsen, T. Jansen, et al. (2003), "Microstructure and rheology of yoghurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharide", *Journal of Dairy Science*, **86**(5), pp.1632-1638, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73748-5.

[5] X. Ao, X. Zhang, X.L. Shi, et al. (2012), "Identification of lactic acid bacteria in traditional fermented yak milk and evaluation of their application in fermented milk products", *Journal of Dairy Science*, **95**(3), pp.1073-1084, DOI: 10.3168/jds.2011-4224.

[6] K. Çakmakoglu, S. Vurmaz, M. Bezirci, et al. (2023), "Isolation and characterization of yogurt starter cultures from traditional yogurts and growth kinetics of selected cultures under lab-scale fermentation", *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, **53**(4), DOI: 10.1080/10826068.2022.2098325.

[7] B.N. Ong, T.D. Lam, T.L. Le, et al. (2020), "Isolation, identification and evaluation of lactic acid synthesis of bacteria in traditional fermented products in Vietnam", *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, **991**(1), DOI: 10.1088/1757-899X/991/1/012059.

[8] D.D. Pan, Z. Wu, T. Peng, et al. (2014), "Volatile organic compounds profile during milk fermentation by *Lactobacillus pentosus* and correlations between volatiles flavor and carbohydrate metabolism", *Journal of Dairy Science*, **97**(2), pp.624-631, DOI: 10.3168/jds.2013-7131.

[9] C.T. Phuc, D.T. Vinh, T.K. My, et al. (2021), "Study on conditions for gamma butyric acid (GABA) production in *Lactobacillus fermentum* A01 isolated from human", *Research Journal of Pharmacy and Technology*, **14**(4), pp.2188-2190.

[10] S.M.N. Sudhakaran, D.S. Bukkan (2021), "A review on nutritional composition, antinutritional components and health benefits of green gram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)", *Journal of Food Biochemistry*, **45**(6), DOI: 10.1111/jfbc.13743.

[11] R.D. Ayivi, S.A. Ibrahim, A.I. Krastanov, et al. (2022), "Nitrogen source: An effective component for the growth and viability of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*", *Journal of Dairy Research*, **89**(3), pp.316-322, DOI: 10.1017/S0022029922000541.

[12] Q.H. Vu, T.Y. Vu, T.T.T. Nguyen (2022), "Isolation and selection of lactic acid bacteria for probiotic beverage production from ginger", *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, **20**(12), pp.1581-1590 (in Vietnamese).

[13] M.A. Herreros, H. Sandoval, L. Gonzalez, et al. (2005), "Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese)", *Food Microbiol.*, **22**(5), pp.455-459, DOI: 10.1016/j.fm.2004.11.007.

[14] M.D. Linh, D.M. Phuong, P.T. Tuyet, et al. (2008), "Biological characteristics of lactic acid bacterial strains isolated from Hanoi area", *Journal of Science - Vietnam National University - Hanoi*, **24**, pp.211-226 (in Vietnamese).

[15] N.T.T. Huynh, L.H.D. Nguyen, T.T.S. Pham (2019), "Isolation and selection of probiotic potential *Lactobacillus* strains from taro (*Colocasia esculenta* (L.) Shott)", *CTU Journal of Science*, **55**(1), pp.15-23 (in Vietnamese).

[16] A.B. Galindo (2004), *Lactobacillus Plantarum 44A as a Live Feed Supplement for Freshwater Fish*, Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, ISBN 90-5808-943-6.

[17] J. Naoual, A. Benjouad, M. Bouksaim (2011), "Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from known popular traditional Moroccan dairy products", *Microbiology Research Journal International*, **1**(4), pp.79-94, DOI: 10.9734/BMRJ/2011/438.

[18] Q.K. Hoang, T.L.T. Pham (2011), "Isolation, classification and identification of potential probiotic *Lactobacillus* strains from infant faeces", *Science and Technology Development Journal*, **14**(1), pp.1-8 (in Vietnamese).

[19] G. Enan, A. Alamri (2006), "Novel plantricin UG1 production by *Lactobacillus plantarum* UG1 in enriched whey permeate in batch fermentation process", *The Journal of Food, Agriculture and Environment*, **4**(2), pp.84-88.

Bước đầu nghiên cứu khảo sát một số đặc tính của chủng *Bacillus subtilis* bản địa, phân lập từ người Việt Nam khỏe mạnh ứng dụng trong sản xuất chế phẩm probiotic

Đào Gia Bách^{1*}, Đoàn Thị Thùy Linh², Lưu Thị Thủy Ngân², Dương Hưng Thịnh², Nguyễn Vũ Trung³, Lê Thị Hội^{1*}

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

²Công ty Cổ phần Kỹ nguyên Công nghệ Eramic, xã Ngọc Hòa, huyện Chương Mỹ, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh, 167 Pasteur, phường Võ Thị Sáu, quận 3, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/11/2024; ngày chuyển phân biện 2/12/2024; ngày nhận phân biện 30/12/2024; ngày chấp nhận đăng 6/1/2025

Tóm tắt:

Khái niệm về probiotic hiện nay ngày càng phổ biến nhờ vào các nghiên cứu ứng dụng và sự đa dạng của các chế phẩm probiotic. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu tiến hành nuôi cấy phân lập và định danh các chủng *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) từ mẫu phân người khỏe mạnh và đánh giá một số đặc tính probiotic của chủng thu được. Các thử nghiệm đánh giá được thực hiện dựa trên hướng dẫn GRAS (Generally Recognised as Safe) của Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA). Đây là tiêu chuẩn quan trọng được các công ty thực phẩm và dược phẩm sử dụng để đánh giá đặc tính probiotic cũng như tính an toàn của vi khuẩn, bao gồm khả năng gây tan máu, độ nhạy cảm với kháng sinh, khả năng chịu axit dạ dày và muối mật. Kết quả nghiên cứu đã tuyển chọn được một chủng *B. subtilis* không gây tan máu, được đặt tên là *B. subtilis* Eramic26 (Eramic26). Chủng này có hình thái khuẩn lạc hoàn toàn khác biệt so với các chủng *B. subtilis* gây tan máu. Ngoài ra, chúng tôi cũng đánh giá tính nhạy cảm của chủng với các loại kháng sinh thường sử dụng ở người, khả năng sống sót và tồn tại trong môi trường hệ tiêu hóa. Kết quả cho thấy, chủng Eramic26 có khả năng thích nghi tốt với hệ tiêu hóa con người, không kháng lại các kháng sinh quan trọng và đạt tiêu chuẩn an toàn theo hướng dẫn GRAS.

Từ khóa: *B. subtilis*, Eramic26, hệ tiêu hóa, kháng sinh, men vi sinh.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8, 3.5

Preliminary investigation on some characteristics of indigenous *B. subtilis* strains isolated from healthy Vietnamese for application in probiotic production

Gia Bach Dao^{1*}, Thi Thuy Linh Doan², Thi Thuy Ngan Luu², Hung Thinh Duong², Vu Trung Nguyen³, Thi Hoi Le^{1*}

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

²Eramic Technology JSC, Ngọc Hoa Commune, Chuong My District, Hanoi, Vietnam

³Pasteur Institute Ho Chi Minh City, 167 Pasteur Street, Vo Thi Sau Ward, District 3, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 28 November 2024; revised 30 December 2024; accepted 6 January 2025

Abstract:

The concept of probiotics is becoming increasingly widespread today due to applied research and the diversity of probiotic products. In this study, we cultured, isolated, and identified *B. subtilis* strains from stool samples of healthy individuals and evaluated the probiotic properties of the obtained strains. The evaluation experiments were conducted based on the Generally Recognised As Safe (GRAS) guidelines of the U.S. Food and Drug Administration (FDA). This is an important standard used by food and pharmaceutical companies to assess the probiotic characteristics and safety of bacterial strains, including hemolytic activity, antibiotic susceptibility, tolerance to gastric acid, and bile salts. Study results selected a non-hemolytic *B. subtilis* strain, designated as *B. subtilis* Eramic26 (Eramic26). This strain exhibited completely distinct colony morphology compared to hemolytic *B. subtilis* strains. Additionally, we assessed its susceptibility to commonly used antibiotics in humans, its survival and persistence in the human gastrointestinal tract: The results showed that Eramic26 adapts well to the human digestive system, does not exhibit resistance to critical antibiotics, and meets the safety standards according to the GRAS guidelines.

Keywords: antibiotic, *B. subtilis*, digestive system, Eramic26, probiotic.

Classification numbers: 1.6, 2.8, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: daogiabachlabmb@gmail.com; lethihoi@hmu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và Tổ chức Nông Lương của Liên hợp quốc (FAO), probiotic được định nghĩa là những vi sinh vật sống, có các đặc tính an toàn khi đưa vào cơ thể với liều lượng thích hợp, sẽ mang lại những hiệu quả tích cực đối với sức khỏe của vật chủ [1, 2]. Trong khoảng hai thập kỷ gần đây, mối quan tâm và nhu cầu sử dụng probiotic của người tiêu dùng ngày càng cao, từ đó góp phần thúc đẩy mạnh mẽ các hoạt động nghiên cứu liên quan đến lĩnh vực này [3]. Đối với người, những vi khuẩn này thường được bổ sung nhằm cân bằng hệ vi sinh vật bên trong đường ruột, cải thiện sức khỏe và tăng cường miễn dịch. *B. subtilis* là những tế bào hình que, thường có chiều dài khoảng 2-4 micromet và chiều rộng khoảng 0,25-1 micromet, tồn tại đơn lẻ hoặc xếp thành chuỗi, có khả năng di động và sinh bào tử hình elip ở trong trạng thái “ngủ đông” giúp cho chúng sống sót trong các điều kiện môi trường khắc nghiệt. GRAS (Generally Recognised as Safe) là một chứng nhận tiêu chuẩn của Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) áp dụng cho các chất phụ gia thực phẩm và vi sinh vật được công nhận là an toàn cho con người trước khi được đưa vào sản phẩm, thực phẩm sử dụng cho người [4, 5]. Các sản phẩm probiotic đạt chất lượng cần tuân thủ các yêu cầu khắt khe về lựa chọn chủng giống vi sinh vật, môi trường nuôi cấy, quy trình lên men... Hiện nay, tại Việt Nam, hầu hết các chủng vi sinh vật được nghiên cứu ứng dụng trong thực phẩm, sản xuất probiotic đều chưa được đánh giá một cách đầy đủ các đặc tính theo các tiêu chuẩn của GRAS. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu bước đầu khảo sát và đánh giá một số đặc tính probiotic của chủng Eramic26 bản địa, phân lập từ người Việt Nam khỏe mạnh theo các tiêu chuẩn và hướng dẫn của GRAS.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Mẫu phân của người trưởng thành khỏe mạnh, không sử dụng kháng sinh và các chế phẩm probiotic tối thiểu trong vòng 1 tháng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiêu chuẩn lựa chọn mẫu: Người cho mẫu là người trưởng thành khỏe mạnh, không mắc các bệnh lý về đường tiêu hóa, không sử dụng kháng sinh hay các chế phẩm probiotic tối thiểu trong vòng 1 tháng. Mẫu phân sau khi lấy

được chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 2 giờ ở điều kiện nhiệt độ thường hoặc phải được bảo quản ở nhiệt độ 4-8°C không quá 12 giờ.

Nuôi cấy và phân lập vi khuẩn: Lấy 1 g phân cho vào ống falcon có chứa 9 ml đệm PBS 1x vô trùng, lắc đều, xử lý nhiệt ở 80°C trong 30 phút. Mẫu được pha loãng đến nồng độ 10^{-3} và được trải trên đĩa môi trường nuôi cấy giàu dinh dưỡng (LB) pH 7. Các khuẩn lạc nghi ngờ có đặc điểm như: màu trắng đục, dạng hình tròn, rìa răng cưa, không đều được cấy chuyển sang các đĩa LB pH 7 khác cho đến khi chỉ xuất hiện một loại khuẩn lạc thuần nhất nhằm mục đích định danh sau đó.

Chủng vi khuẩn sau khi phân lập được lưu giữ trong ống Eppendorf có chứa 1 ml glycerol 20%, bảo quản trong tủ -80°C.

Định danh vi khuẩn: Các chủng vi khuẩn sau khi phân lập được tiến hành định danh trên hệ thống định danh vi sinh MALDI-TOF. Các chủng vi khuẩn cho kết quả định danh là *B. subtilis* sẽ được giữ trong ống eppendorf chứa glycerol 20% ở -80°C sẵn sàng cho các thử nghiệm tiếp theo.

Đánh giá khả năng gây tan máu: Khả năng tan máu của vi khuẩn được tiến hành bằng cách sử dụng môi trường thạch Columbia chứa 5-7% máu cừu. Sau 24 giờ ủ ở 37°C, hoạt tính tan máu của chủng được đánh giá và phân loại dựa trên sự ly giải hồng cầu trong môi trường xung quanh khuẩn lạc. Tan máu alpha (α), beta (β), gamma (γ) xuất hiện dưới dạng màu xanh lục, trong và không có vùng rõ ràng xung quanh các khuẩn lạc tương ứng. Chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 được sử dụng để làm đối chứng dương [6]. Các chủng tan máu gamma (γ) được coi là an toàn.

Thử nghiệm mức độ nhạy cảm với kháng sinh: Mức độ nhạy cảm của chủng vi khuẩn được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán đĩa Kirby Bauer theo hướng dẫn GRAS [7] đối chiếu dựa trên tiêu chuẩn của Viện Chuẩn hóa các phòng thí nghiệm vi sinh lâm sàng (CLSI) 2021 [8]. 9 loại kháng sinh được thử nghiệm là các khoanh giấy chứa gentamycin 10 μ g, clindamycin 2 μ g, chloramphenicol 30 μ g, erythromycin 15 μ g, rifampicin 5 μ g, vancomycin 30 μ g, tetracycline 30 μ g, linezolid 30 μ g, ciprofloxacin 5 μ g. Kết quả được phiên giải theo tiêu chuẩn CLSI M100, 2021 đối với *Staphylococcus* spp. và GRAS Notice No 1131 đối với *B. subtilis* BS50 [7-9].

Thử nghiệm khả năng chịu muối mật và axit dạ dày: Quy trình đánh giá khả năng chịu muối mật và axit dạ dày được tiến hành theo hướng dẫn GRAS [7]. Vi khuẩn được

cấy trên đĩa môi trường DSM, ủ ở 37°C trong 24 giờ. Lấy 1 khuẩn lạc hoà vào 2 ml môi trường LB lỏng, ủ ở 37°C trong 6 giờ. Sau đó, chuyển 200 µl dịch đó vào ống nghiệm mới có chứa 2 ml môi trường sinh bào từ DSM, ủ qua đêm ở 37°C trong máy lắc. Sau 24 giờ, tiến nhuộm, soi mẫu dưới kính hiển vi để kiểm tra sự có mặt của bào tử. Sau đó, dịch nuôi cấy được xử lý nhiệt ở 65°C trong 45 phút để diệt các tế bào sinh dưỡng còn lại trong dịch nuôi nhằm thu được dịch bào tử. Sau đó, chuyển 100 µl dung dịch bào tử này vào ống nghiệm có chứa 10 ml một trong các loại dung dịch thử sau, ủ ở 37°C trong vòng 3 giờ.

- Nước muối 0,2% (2 mg NaCl/1 ml H₂O).
- Muối mật 0,2% (1 mg sodium cholate + 1 mg sodium deoxycholate/1 ml nước muối 0,2%).
- Dịch ruột mô phỏng (SIF) (1 mg pancreatin/1 ml nước muối 0,2%).
- Dịch dạ dày mô phỏng (SGF) (3,5 mg pepsin/1 ml nước muối 0,2%), pH được điều chỉnh về các mức 2, 3, 4 bằng axit HCl.

Các mẫu thử được tiến hành lấy mẫu tại các thời điểm 0, 1 và 3 giờ để đánh giá khả năng sống sót của bào tử (tiến hành pha loãng và cấy đếm trên đĩa thạch DSM, mỗi nồng độ pha loãng được cấy trải trên 2 đĩa môi trường DSM).

Chỉ số theo dõi là tỷ lệ sống tương đối được tính toán theo tỷ lệ phần trăm của số lượng bào tử sau khi phát triển so với số lượng bào tử ban đầu theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{số lượng bào tử sau khi phát triển}}{\text{số lượng bào tử ban đầu}} \times 100\%$$

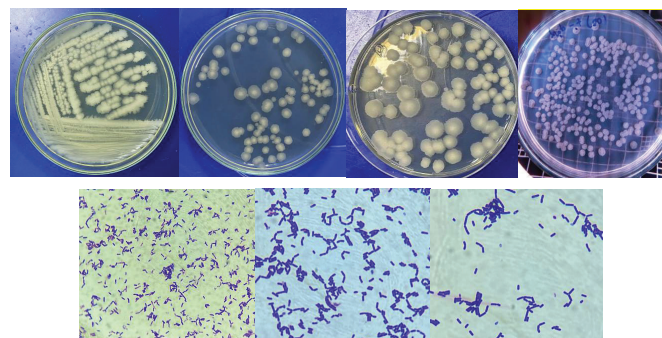
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Nuôi cấy, phân lập và định danh chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis*

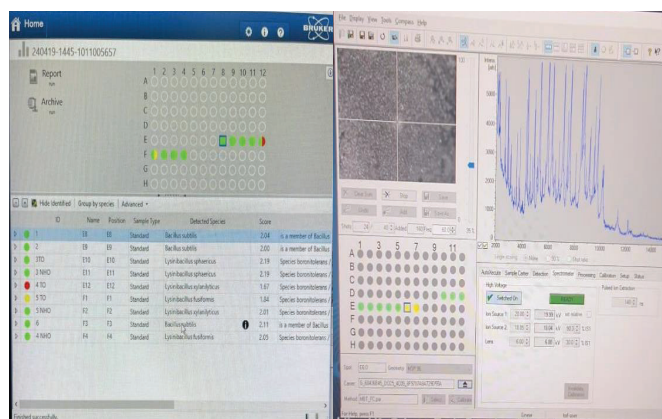
B. subtilis có thể phân lập được từ mẫu phân của người, nhưng khả năng phân lập không cao như ở các nguồn khác như đất hoặc phân động vật vì chúng thường là vi khuẩn có trong môi trường tự nhiên và không phải là một phần ưu thế trong hệ vi sinh vật đường ruột của người. Tuy nhiên, nếu điều kiện nuôi cấy phù hợp, khả năng phân lập được vi khuẩn này từ mẫu phân người sẽ cao hơn. Việc phân lập thành công vi khuẩn thường phụ thuộc vào phương pháp nuôi cấy và môi trường sử dụng.

Tổng số 30 mẫu phân thu thập được từ người khỏe mạnh, đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn, nhóm nghiên cứu tiến hành nuôi cấy, phân lập và chọn ra các chủng vi khuẩn có

đặc điểm hình thái khuẩn lạc nghi ngờ *B. subtilis* như có màu trắng đục, dạng hình tròn, rìa không đều dạng răng cưa (hình 1). Các chủng này được làm sạch và định danh trên hệ thống định danh vi sinh MALDI-TOF (hình 2).



Hình 1. Khuẩn lạc vi khuẩn *Bacillus subtilis*.



Hình 2. Hình ảnh kết quả định danh trên hệ thống vi sinh MALDI-TOF.

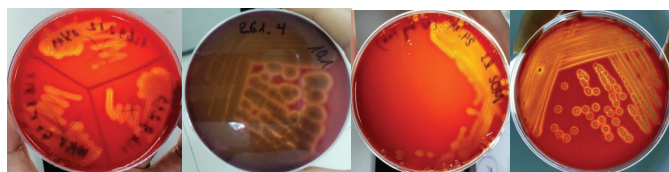
Từ 30 mẫu phân, nhóm nghiên cứu phân lập được 102 chủng *Bacillus*, trong đó có *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. flexus*, *B. pumilus*, *B. soralis*, *B. licheniformis* và *B. subtilis*. Trong 102 chủng *Bacillus* này, chúng tôi định danh được 8 chủng *B. subtilis*. Các chủng *B. subtilis* phân lập được lưu giữ ở -80°C sẵn sàng cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Đánh giá khả năng tan máu

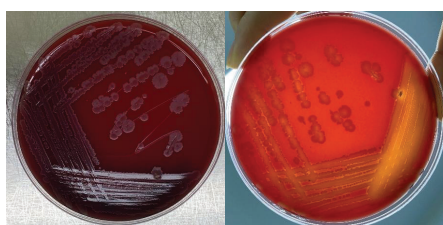
Cơ quan An toàn Thực phẩm châu Âu (EFSA) đưa ra khuyến cáo bắt buộc phải thử nghiệm hoạt tính tan máu để đảm bảo rằng, chủng vi khuẩn không có khả năng gây tan máu ngay cả khi chủng vi khuẩn ấy đã được công nhận GRAS Notices hay QPS (Qualified Presumption of Safety) [9, 10]. Biểu hiện của hoạt động tan máu là một yếu tố độc lực cơ bản phải được khảo sát để đảm bảo tính an toàn của chủng trước khi thực hiện các thử nghiệm đặc tính probiotic khác. Các chủng thể hiện hoạt động tan máu được coi là

không an toàn và không được ứng dụng vào sản phẩm dành cho con người cũng như động vật cho tới khi yếu tố này được loại bỏ, chỉnh sửa hoặc được xác nhận không gây hại cho vật chủ. Trong thử nghiệm này, chúng tôi sử dụng chủng *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 để làm chứng dương.

Nghiên cứu tiến hành đánh giá khả năng gây tan máu của 8 chủng *B. subtilis* đã được định danh bằng hệ thống định danh vi sinh MALDI-TOF. Kết quả có 7 chủng *B. subtilis* phân lập được gây tan máu, tất cả các chủng *B. subtilis* này đều có hình thái khuẩn lạc đặc trưng của *B. subtilis*, khuẩn lạc đặc trưng hình vành khăn (hình 3) và chỉ có duy nhất một chủng *B. subtilis* không gây tan máu, hình thái khuẩn lạc của chủng này khác biệt hoàn toàn so với chủng gây tan máu (hình 4, 5). Chủng này được nhóm nghiên cứu đặt tên là Eramic26. Hình thái của chủng này cũng tương tự như hình thái của chủng *B. subtilis* SG188 được báo cáo trong hướng dẫn GRAS [7].



Hình 3. Hình ảnh tan máu của một số chủng *Bacillus subtilis* phân lập được.



Hình 4. Hình ảnh không gây tan máu của chủng *Bacillus subtilis* Eramic26.



Hình 5. Hình thái khuẩn lạc của chủng *Bacillus subtilis* Eramic26.

Khả năng gây tan máu của *B. subtilis* có thể được giải thích qua hai yếu tố chính. Thứ nhất, một số chủng tiết ra enzyme hemolysin, một loại protein có khả năng ly giải màng tế bào hồng cầu. Hemolysin có thể gây hại cho mô người khi vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể, đặc biệt là trong

trường hợp nhiễm khuẩn. Thứ hai, *B. subtilis* có khả năng sản xuất nhiều loại enzyme ngoại bào khác nhau, giúp chúng cạnh tranh trong môi trường sống. Một số enzyme này có khả năng làm hư hại màng tế bào khác, dẫn đến hiện tượng tan máu khi vi khuẩn sinh trưởng trong môi trường giàu chất dinh dưỡng như môi trường máu.

Trong nghiên cứu đặc tính các chủng probiotic, tiêu chí an toàn là yếu tố quan trọng hàng đầu. Vì vậy, với các chủng *B. subtilis* được lựa chọn cho mục đích sử dụng trong thực phẩm, việc kiểm tra khả năng gây tan máu là một bước bắt buộc. Chủng gây tan máu thường bị loại trừ vì có nguy cơ cao đối với người dùng, nhất là ở những người có hệ miễn dịch suy yếu. Bên cạnh đó, các tiêu chuẩn an toàn như GRAS của FDA cũng yêu cầu phải kiểm tra khả năng này để đảm bảo không có tác động tiêu cực khi sử dụng chế phẩm probiotic chứa *B. subtilis*.

Kết quả này cho thấy, việc phân lập được một chủng *B. subtilis* có đặc tính không gây tan máu là vô cùng khó khăn. Những chủng gây tan máu là những chủng tiềm ẩn nguy cơ đối với sức khỏe con người, đặc biệt khi được ứng dụng trong thực phẩm hay dược phẩm.

3.3. Đánh giá mức độ nhạy cảm với kháng sinh

Thử nghiệm mức độ nhạy cảm với kháng sinh phải được thực hiện tiếp theo vì mục đích an toàn của chủng. Thử nghiệm này được thực hiện theo GRAS Notices [7] sử dụng phương pháp khuếch tán đĩa Kirby Bauer dựa trên tiêu chuẩn CLSI 2021 [8] với 9 loại kháng sinh. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả đánh giá độ nhạy cảm với kháng sinh.

Tên kháng sinh	Đường kính vùng ức chế (mm)				
	S	I	R	Eramic26	
Gentamycin 10 µg	≥15	13-14	≤12	26	S
Clindamycin 2 µg	≥21	15-20	≤14	6	R
Chloramphenicol 30 µg	≥18	13-17	≤12	26	S
Erythromycin 15 µg	≥23	14-22	≤13	26	S
Rifampicin 5 µg	≥20	17-19	≤16	19	I
Vancomycin 30 µg	≥17	15-16	≤14	22	S
Tetracycline 30 µg	≥19	15-18	≤14	26	S
Linezolid 30 µg	≥21	--	≤20	30	S
Ciprofloxacin 5 µg	≥21	16-20	≤15	32	S

S: nhạy cảm, I: trung gian, R: kháng.

Kết quả bảng 1 chỉ ra rằng, chủng Eramic26 được thử nghiệm nhạy cảm với hầu hết các loại kháng sinh. Chủng này không tìm thấy khoảng tham chiếu đối với kháng sinh ampicilin sulbactam, trung gian với rifampicin và kháng clindamycin. Tuy nhiên, khả năng đề kháng với một loại kháng sinh nhất định có thể là vốn có của một loài hoặc một chi vi khuẩn. Điều này cũng được quy định chặt chẽ bởi EFSA và GRAS [9, 10]. Hơn nữa, tình trạng kháng kháng sinh ở mức vừa phải có thể được coi là một đặc điểm tích cực, như những trường hợp điều trị sử dụng kết hợp probiotic và kháng sinh. Hơn nữa, nếu chế phẩm sinh học được đánh giá nhạy cảm với tất cả các loại kháng sinh, khả năng sống sót và tồn tại của chúng có thể sẽ bị tác động, can thiệp và mất hiệu lực [11].

3.4. Đánh giá khả năng chịu muối mật và axit dạ dày

Theo X.X. Zhou và cs (2007) [12], vi sinh vật probiotic chỉ phát huy được tác dụng có lợi lên vật chủ khi chúng định cư và tồn tại được trong hệ tiêu hóa, đây là môi trường chứa thành phần muối mật và axit, những yếu tố chính ức chế sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Nghiên cứu của H. Kumura và cs (2004) [13] đã chỉ ra rằng, đặc tính probiotic của vi sinh vật được thể hiện sau khi chúng có thể tồn tại và thích nghi khoảng 3 giờ trong hệ tiêu hóa. Đây chính là thời gian thức ăn lưu hành trong ruột non. Bên cạnh đó, chủng có tiềm năng probiotic phải có khả năng chịu pH thấp mới có thể giúp chúng vượt qua hàng rào pH bên trong dạ dày. Dải pH khảo sát được thực hiện theo hướng dẫn GRAS [7] với 3 mức độ lần lượt là pH 2, 3, 4 và thời gian 3 giờ cũng là giới hạn quyết định sàng lọc của chúng. Kết quả thử nghiệm khả năng chịu muối mật và axit dạ dày được trình bày tại bảng 2.

Bảng 2. Thử nghiệm khả năng chịu muối mật và axit dạ dày.

Dịch mô phỏng	Chủng Eramic26 (Đơn vị CFU)			Tỷ lệ sống sót sau 1 giờ (%)	Tỷ lệ sống sót sau 3 giờ (%)
	0 giờ	1 giờ	3 giờ		
Nước muối 0,2%	3,45x10 ⁷	3,34x10 ⁷	3,75x10 ⁷	97	109
Muối mật 0,2%	3,45x10 ⁷	3,56x10 ⁷	3,68x10 ⁷	103	107
Mô phỏng dịch ruột	3,45x10 ⁷	3,23x10 ⁷	3,01x10 ⁷	94	87
Mô phỏng dịch dạ dày pH 2	3,45x10 ⁷	2,17x10 ⁷	3,05x10 ⁷	63	9
Mô phỏng dịch dạ dày pH 3	3,45x10 ⁷	2,42x10 ⁷	4,00x10 ⁷	70	12
Mô phỏng dịch dạ dày pH 4	3,45x10 ⁷	3,46x10 ⁷	3,70x10 ⁷	100	107

Kết quả bảng 2 cho thấy, chủng Eramic26 trong môi trường nước muối 0,2% và muối mật 0,2% đều có tỷ lệ sống sót rất cao. Kết quả thể hiện rằng, chủng này hoàn toàn có thể tồn tại và phát triển tốt trong hệ tiêu hóa. Trên thực tế, trong quá trình làm thí nghiệm, nhóm nghiên cứu quan sát kết quả ở 2 mốc thời gian là sau 1 và 3 giờ. Ở lần quan sát đầu tiên sau 1 giờ, mật độ vi sinh vật tăng lên rất chậm, gần như không đáng kể trong môi trường muối mật, lần lượt là 97% ở môi trường nước muối 0,2% và 103% trong môi trường muối mật 0,2%. Sau 3 giờ, mật độ vi sinh vật tăng lên một cách nhanh chóng, lần lượt là 109 và 107% ở môi trường nước muối và muối mật. Kết quả tương tự được giải thích bởi Q.D. Tinh và cs (2013) [14] khi nghiên cứu về vi khuẩn probiotic. Theo đó, thời gian đầu mật độ vi sinh vật tăng lên rất chậm, đây là giai đoạn mà vi khuẩn thích nghi với môi trường có muối mật. Muối mật tác động đến tế bào vi sinh vật làm hạn chế sự phát triển của chúng. Tuy nhiên, sau đó tốc độ phát triển của vi sinh vật tăng lên rất nhanh do một số protein và enzyme trên màng tế bào vi khuẩn có khả năng trung hòa tác động của muối mật bằng cách cắt đứt liên kết N-actyl giữa gốc steroid và chuỗi amino axit bên của axit mật. Ngoài ra, chủng Eramic26 có khả năng thích nghi và sống sót trong môi trường mô phỏng dịch ruột với tỷ lệ là 87%. Đối với thử nghiệm mô phỏng dịch dạ dày ở pH thấp, tại mức pH 2 và 3, chủng vẫn có thể tồn tại, song tỷ lệ sống sót ở điều kiện này là rất thấp chỉ khoảng 9-12%. Trong khi đó, kết quả ở mức pH 4 lại cho thấy khả năng thích nghi và phát triển rất mạnh mẽ của chủng khi qua 1 giờ tỷ lệ sống sót của chủng gần như tuyệt đối và sau 3 giờ chúng có thể thích nghi và phát triển với tỷ lệ 107%. Tuy nhiên, khi dạ dày đang trong trạng thái nghỉ ngơi, mức pH ổn định thường được duy trì ở mức pH 4 và pH dạ dày hầu như chỉ giảm xuống mức pH 2 hoặc 3 khi đang trong quá trình tiêu hóa thức ăn. Qua thử nghiệm này, nhóm nghiên cứu đánh giá chủng Eramic26 có khả năng thích nghi, phát triển tốt và hoàn toàn tồn tại được bên trong môi trường khắc nghiệt của hệ tiêu hóa.

4. Kết luận

Sau khi tiến hành nuôi cấy, phân lập trên 30 mẫu phân của người khỏe mạnh và tiến hành định danh các chủng vi khuẩn nghi ngờ trên hệ thống định danh vi sinh MALDI-TOF, nhóm nghiên cứu thu được 8 chủng *B. subtilis* trong 102 chủng *Bacillus* spp. Qua thử nghiệm đặc tính gây tan

máu ban đầu, chúng tôi chọn ra được một chủng *B. subtilis* không gây tan máu và đặt tên cho chủng là *B. subtilis* Eramic26 để tiếp tục tiến hành thử nghiệm các đặc tính probiotic như mức độ nhạy cảm với kháng sinh hay khả năng chịu axit dạ dày và muối mật. Kết quả cho thấy, chủng Eramic26 không gây tan máu, có khả năng thích nghi và tồn tại tốt trong hệ tiêu hóa con người, đáp ứng tiêu chuẩn an toàn GRAS. Chủng này đủ điều kiện tiếp tục cho các thử nghiệm đặc tính probiotic khác trước khi được đưa vào ứng dụng và phát triển các chế phẩm probiotic sử dụng cho người.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Công ty Cổ phần Kỹ nguyên Công nghệ Eramic. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization (2001), *Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*, <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/8b1233c6-f928-4ff0-85e1-78b2e27c6e4e/content>, accessed 8 October 2024.
- [2] C. Hill, F. Guarner, G. Reid, et al. (2014), "Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic", *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **11**(8), pp.506-514, DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66.
- [3] I. Jankovic, W. Sybesma, P. Phothisirath, et al. (2010), "Application of probiotics in food products-challenges and new approaches", *Curr. Opin. Biotechnol.*, **21**(2), pp.175-181, DOI: 10.1016/j.copbio.2010.03.009.
- [4] G.A. Burdock, I.G. Carabin (2004), "Generally recognized as safe (GRAS): History and description", *Toxicology Letters*, **150**(1), pp.3-18, DOI: 10.1016/j.toxlet.2003.07.004.
- [5] J.L. Frestedt (2018), *Foods, Food Additives, and Generally Regarded as Safe (GRAS) Food Assessments*, Food Control and Biosecurity, pp.543-565, DOI: 10.1016/b978-0-12-811445-2.00016-7.
- [6] N.P. Mangia, L. Saliba, P. Deiana (2019), "Functional and safety characterisation of autochthonous *Lactobacillus paracasei* FS103 isolated from sheep cheese and its survival in sheep and cow fermented milks during cold storage", *Annals of Microbiology*, **69**, pp.161-170, DOI: 10.1007/s13213-018-1416-1.
- [7] Generally Recognised As Safe (2023), *GRAS Notices No 1131*, <https://www.hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?id=1131&set=GRASNotices>, accessed 20 October 2023.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute (2021), *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, pp.36-46.
- [9] European Food Safety Authority (2012), "Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance", *EFSA Journal*, **10**(6), DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2740.
- [10] European Food Safety Authority (2014), "Guidance on the assessment of the toxigenic potential of *Bacillus* species used in animal nutrition", *EFSA Journal*, **12**(5), DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3665.
- [11] G.H. Choi, J.I.I. Fugaban, C.M. Dioso, et al. (2021), "Selection of bacteriocinogenic *Bacillus* spp. from traditional fermented Korean food products with additional beneficial properties", *Fermentation*, **7**(4), DOI: 10.3390/fermentation7040271.
- [12] X.X. Zhou, Y.J. Pan, Y.B. Wang, et al. (2007), "In vitro assessment of gastrointestinal viability of two photosynthetic bacteria, *Rhodospseudomonas palustris* and *Rhodobacter sphaeroides*", *Journal of Zhejiang University Science B*, **8**(9), pp.686-692, DOI: 10.1631/jzus.2007.B0686.
- [13] H. Kumura, Y. Tanoue, M. Tsukahara, et al. (2004), "Screening of dairy yeast strains for probiotic applications", *Journal of Dairy Science*, **87**(12), pp.4050-4056, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73546-8.
- [14] Q.D. Tinh, T.T. Trung, N.N. Duy, et al. (2013), "Survey of some probiotic activity of traditional passionfruit-kefir and *Lactobacillus casei* VTCC 186-supplemented passionfruit-kefir", *Science and Technology Development*, **16**(3), pp.40-47 (in Vietnamese).

Khảo sát hoạt tính enzyme tyrosinase ngoại bào của vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* và sàng lọc khả năng ức chế enzyme của một số dịch chiết thực vật

Nguyễn Đức Bách^{1,2*}, Phí Thị Cẩm Miên^{1,2}, Trần Thị Phương Thảo², Nguyễn Thị Thu Hoa²,
Trần Thị Oanh³, Tô Thị Mai Hương⁴, Trần Ngọc Hùng⁵

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

²Viện Nghiên cứu Vi tảo và Dược Mỹ phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Nghiên cứu và Phát triển sản phẩm thiên nhiên (IRDOP), 12 Phùng Khoang, phường Phùng Khoang, quận Nam Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

⁴Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội (USTH), 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

⁵Viện Nghiên cứu Rau quả, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/7/2023; ngày chuyển phản biện 19/7/2023; ngày nhận phản biện 10/8/2023; ngày chấp nhận đăng 15/8/2023

Tóm tắt:

Enzyme tyrosinase ngoại bào của vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* được tinh sạch một phần bằng kết tủa phân đoạn ammonium sulfate kết hợp với màng Amicon để cô đặc loại muối và các phân tử <10 kDa. Ở phân đoạn ammonium sulfate 80% bão hoà, enzyme tyrosinase của *R. solanacearum* biểu hiện hoạt tính mạnh nhất với hoạt tính monophenolase và diphenolase khi oxy hoá 2 cơ chất L-tyrosine và L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA). So với enzyme tyrosinase của nấm mốc *Agaricus bisporus*, hoạt độ và tốc độ V_{max} của enzyme này từ *R. solanacearum* đạt tương ứng 89,5 và 86,7%. Giá trị IC_{50} của axit kojic với tyrosinase của *A. bisporus* trong phản ứng với L-tyrosine và L-DOPA tương ứng là 0,0139 và 0,0128 mM và của *R. solanacearum* tương ứng là 0,0181 và 0,0191 mM. Zerumbone từ gừng gió và các phân đoạn flavonoid từ lá mít, hoa hòe và đại kê đều ức chế hoạt tính của cả 2 enzyme. Phân đoạn flavonoid từ lá mít có hiệu quả ức chế bằng 81,76% ở ngưỡng nồng độ 0,1 mg/ml, ($p < 0,05$). Kết quả nghiên cứu ban đầu cho thấy, enzyme tyrosinase ngoại bào của vi khuẩn *R. solanacearum* có thể ứng dụng để sàng lọc các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế enzyme tyrosinase.

Từ khoá: *Agaricus bisporus*, flavonoid, hoạt tính ức chế tyrosinase, *Ralstonia solanacearum*, tyrosinase, zerumbone.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8, 4.6

Investigation of extracellular tyrosinase isolated from *Ralstonia solanacearum* and screening of tyrosinase inhibitors from some plant extracts

Duc Bach Nguyen^{1,2*}, Thi Cam Mien Phi^{1,2}, Thi Phuong Thao Tran²,
Thi Thu Hoa Nguyen², Thi Oanh Tran³, Thi Mai Huong To⁴, Ngoc Hung Tran⁵

¹Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

²Institute of Microalgae and Pharmacocosmetics, Vietnam National University of Agriculture, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

³Institute for Research and Development of Organic Products, 12 Phung Khoang Street, Phung Khoang Ward, Nam Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

⁴University of Science and Technology of Hanoi, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

⁵Fruit and Vegetable Research Institute, Vietnam National University of Agriculture, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

Received 17 July 2023; revised 10 August 2023; accepted 15 August 2023

Abstract:

The crude extracellular tyrosinase enzyme of *Ralstonia solanacearum* is partially purified by fraction precipitation with ammonium sulfate and combined with Amicon membranes to concentrate and remove salts and molecules <10 kDa. At the fraction of 80% saturation, the tyrosinase enzyme of *R. solanacearum* exhibited the strongest activity with both oxidative activities of monophenolase and diphenolase in the reaction with 2 substrates L-tyrosine and L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA). Compared with the tyrosinase of the fungus *Agaricus bisporus*, the activity and V_{max} of *R. solanacearum* reached 89.5 and 86.7%, respectively. The IC_{50} values of kojic acid with tyrosinase of *A. bisporus* in reaction with L-tyrosine and L-DOPA were 0.0139 and 0.0128 mM respectively and of *R. solanacearum* were 0.0181 and 0.0191 mM respectively. Zerumbone from *Zingiber zerumbet* and flavonoid fractions from *Artocarpus heterophyllus* leaves, *Styphnolobium japonicum*, and *Cirsium japonicum* inhibited the activity of both enzymes. The flavonoid fraction from leaves of *A. heterophyllus* showed higher enzyme inhibition activity than that of *S. japonicum* and *C. japonicum*. Compared to kojic acid, the flavonoid fraction of leaves of *A. heterophyllus* showed an inhibitory effect of 81.76% at a concentration of 0.1 mg/ml ($p < 0.05$). The initial results show that the extracellular tyrosinase of *R. solanacearum* can be applied to screen for natural compounds inhibiting tyrosinase enzymes.

Keywords: *Agaricus bisporus*, flavonoid, *Ralstonia solanacearum*, tyrosinase, tyrosinase inhibition, zerumbone.

Classification numbers: 1.6, 2.8, 4.6

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

1. Đặt vấn đề

Melanin là sắc tố có mặt ở thực vật, nấm và động vật có vú, được tổng hợp thông qua con đường sinh tổng hợp melanin xúc tác bởi enzyme tyrosinase [1]. Ở người và động vật có vú, melanin quyết định sắc tố da, lông, tóc và mắt, đồng thời đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ da khỏi những tác hại của tia phóng xạ, gốc tự do, các độc tố và hoá chất độc hại [1]. Tuy nhiên, khi melanin được tích lũy quá nhiều hoặc rối loạn quá trình tổng hợp có thể gây ra những bệnh về da như nám da, tàn nhang, đồi mồi, làm ảnh hưởng đến thẩm mỹ và tâm lý, đặc biệt đối với phụ nữ [2]. Tyrosinase (E.C. 1.14.18.1) là một enzyme chứa đồng (Cu) xúc tác phản ứng oxy hoá các hợp chất phenol thành các quinone khi có mặt oxy nguyên tử [3]. Trong con đường sinh tổng hợp melanin, enzyme tyrosinase xúc tác 2 phản ứng đầu tiên: (i) hydroxyl hoá L-tyrosine bởi hoạt tính monophenolase và (ii) oxy hoá L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) thành o-dopaquinone bởi hoạt tính diphenolase. Sau đó, o-dopaquinone được chuyển hoá thành các dạng melanin khác nhau bởi các phản ứng không cần enzyme xúc tác [4].

Do enzyme tyrosinase xúc tác bước đầu tiên và quyết định tốc độ phản ứng chuyển hoá nên khi ức chế hoạt tính của enzyme này sẽ làm giảm tổng hợp sắc tố melanin [5-7]. Đến nay, nhiều nghiên cứu sàng lọc các hợp chất có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase để phát triển mỹ phẩm làm sáng da và điều trị các bệnh rối loạn tổng hợp sắc tố da đã được nghiên cứu [2, 8]. Chẳng hạn, hydroquinone là chất ức chế tyrosinase đã được sử dụng trong các sản phẩm làm trắng sáng da nhưng gây nhiều tác dụng phụ như kích ứng, gây viêm da, rối loạn sắc tố da nên đã dần bị hạn chế và cấm [9]. Nhằm phát triển các sản phẩm chăm sóc và làm sáng da an toàn và hiệu quả, nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới sàng lọc các hoạt chất ức chế enzyme tyrosinase mới từ nấm, vi khuẩn và thực vật [8].

Để sàng lọc các hợp chất ức chế enzyme tyrosinase, cần phải có enzyme với hoạt tính xúc tác mạnh, ổn định, bền pH và nhiệt độ nhưng phải có đặc điểm tương tự như enzyme tyrosinase của người. Việc nuôi cấy tế bào hắc tố da và biểu mô sắc tố võng mạc của người hoặc động vật có vú để tách chiết thu enzyme tyrosinase rất phức tạp [10]. Đến nay, enzyme tyrosinase sử dụng phổ biến trong nghiên cứu được tách chiết từ loài nấm mỡ *Agaricus bisporus* do có mức tương đồng nhất định với enzyme tyrosinase từ động vật có vú và người [11]. Mặc dù enzyme tyrosinase từ nấm mỡ *A. bisporus* đã được thương mại hoá nhưng chỉ được dùng ở quy mô thí nghiệm do giá cao vì quá trình tinh sạch enzyme này khó khăn do kém bền nhiệt và pH, đồng thời hoạt tính giảm nhanh trong thời gian bảo quản [12, 13]. Ngoài ra, việc sử dụng enzyme tyrosinase từ nấm *A. bisporus* để sàng lọc các hợp chất ức chế tyrosinase còn hạn chế do một số vị trí chức năng (motif/domain) của enzyme này khác với enzyme tyrosinase của người [11]. Do hướng tiếp cận bằng công nghệ protein enzyme tái tổ hợp vẫn còn hạn chế [10], nên

những nỗ lực nhằm tìm kiếm các nguồn enzyme tyrosinase mới trong tự nhiên vẫn được quan tâm làm cơ sở để sàng lọc các hợp chất mới. Đến nay, một số nghiên cứu thử nghiệm khai thác enzyme tyrosinase từ các nguồn khác nhau đã được thực hiện trên các đối tượng vi khuẩn [14-18].

Theo hướng tiếp cận trên, nghiên cứu này khảo sát hoạt tính của enzyme tyrosinase ngoại bào từ vi khuẩn *R. solanacearum* nhằm tìm kiếm thêm nguồn enzyme tyrosinase mới, đồng thời sử dụng một số hợp chất và phân đoạn flavonoid từ thực vật để thử nghiệm và đánh giá khả năng ức chế hoạt tính của enzyme này nhằm sàng lọc các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế enzyme tyrosinase ứng dụng trong lĩnh vực dược và mỹ phẩm.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

L-tyrosine được mua từ Hãng Sigma Aldrich (Hoa Kỳ), 3,4-dihydroxy-l-phenylalanine (L-DOPA), axit kojic được mua từ Hãng Acros Organics (Hoa Kỳ). Enzyme tyrosinase từ nấm mỡ *Agaricus bisporus* (T3824-25KU, Sigma-Aldrich) có hàm lượng ≥ 1000 unit/mg protein. Enzyme được hoà tan trong dung dịch đệm phosphate 0,5 M, pH 6,5 ở nồng độ 2500 unit/ml và chia thành các ống nhỏ, bảo quản ở -40°C . Trước khi sử dụng, enzyme tyrosinase từ nấm mỡ *A. bisporus* được pha loãng tiếp bằng đệm phosphate loãng đạt nồng độ 500 unit/ml. Trong mỗi phản ứng, enzyme tyrosinase từ nấm mỡ *A. bisporus* được sử dụng ở mức 50 unit/phản ứng (tương đương 0,05 mg protein). Dung dịch L-tyrosine và L-DOPA được pha bằng nước khử ion nồng độ 10 mM ngay trước khi thí nghiệm. Các hoá chất khác được sử dụng ở mức sạch phân tích.

Chủng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh được phân lập và đánh giá lây nhiễm nhân tạo được cung cấp bởi Viện Nghiên cứu Rau quả để nghiên cứu khả năng tổng hợp enzyme tyrosinase ngoại bào.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nuôi cấy vi khuẩn và thu enzyme ngoại bào: Các chủng vi khuẩn được nuôi trong môi trường triphenyl tetrazolium chloride (TZC) cải tiến của A. Kelman (1954) [19] (g/l): casein thủy phân (10), peptone (10), glucose (10), agar (17) TZC (0,05), pH 7,0. Để kiểm tra chủng có khả năng sinh tyrosinase, L-tyrosine được bổ sung vào đĩa với hàm lượng L-tyrosine (0,4 g/l) và ủ ở 25°C [20]. Sau thời gian ủ, các khuẩn lạc chuyển thành màu nâu sẫm trên đĩa môi trường chứa L-tyrosine sẽ được lựa chọn là chủng có khả năng sinh tyrosinase mạnh để tiếp tục nuôi lỏng thu enzyme ngoại bào. Trong 1 lít môi trường chứa glucose 8 g, peptone 10 g, tryptone 10 g, NaCl 0,5 g lắc ở 37°C ở tốc độ lắc 200 vòng/phút. Sau 18 giờ ủ, dịch vi khuẩn được chuyển sang môi trường mới chứa (g/l) casein thủy phân (10), K_2HPO_4 (0,5), MgSO_4 (0,25) và L-tyrosine (0,5), CuSO_4 (100 μM) ủ ở 37°C , lắc 200 vòng/phút [18].

Dịch enzyme thô ngoại bào được thực hiện theo quy trình cải tiến dựa theo mô tả của E. Valipour và cs (2016) [18]. Khi mật độ tế bào đạt OD₅₂₀ khoảng 1,2, dịch huyền phù vi khuẩn được ly tâm ở tốc độ 6.000 g trong 10 phút ở 4°C. Sau khi loại bỏ cặn, dịch trong tiếp tục được ly tâm ở tốc độ 10.000 g trong 15 phút ở 4°C. Dịch enzyme thô sau khi ly tâm được bổ sung đệm phosphate nồng độ 1,0 M, pH 6,5 theo tỷ lệ 19:1 (v/v) để tạo thành dung dịch có nồng độ 0,05 M, pH 6,5 và giữ ở 4°C. Sau đó hút 10 ml dung dịch enzyme và tủa chọn lọc bằng ammonium sulfate ở các phân đoạn từ 10 đến 100% bão hoà ở 4°C với mỗi phân đoạn cách nhau 10%. Sau khi ly tâm ở tốc độ 13.000 g trong 15 phút ở 4°C, kết tủa của mỗi phân đoạn được hoà tan trong dung dịch đệm phosphate 0,05 M, pH 6,5 bổ sung 0,02% sodium azide và 10 µM CuSO₄ [20]. Dịch enzyme được cô đặc, loại muối và các phân tử có khối lượng nhỏ bằng phương pháp ly tâm qua màng cut-off 10 kDa Amicon (Merk Millipore, Đức). Dịch enzyme được bảo quản ở -40°C cho các thí nghiệm, trong đó hàm lượng được sử dụng ở mức 0,05 mg/phản ứng.

Xác định hàm lượng protein và hoạt độ enzyme ngoại bào: Hàm lượng protein của dịch enzyme tinh sạch sơ bộ được xác định bằng phương pháp Bradford sử dụng albumin huyết thanh bò (BSA) làm đồ thị chuẩn [20]. Hoạt độ của enzyme tyrosinase từ vi khuẩn *R. solanacearum* được xác định dựa theo mô tả của F. Wang và cs (2021) [17].

Hoạt động enzyme (unit/mg protein) được xác định dựa vào công thức:

$$\text{Units/mg} = \frac{\text{Unit/ml enzyme}}{\text{mg protein/ml enzyme}}$$

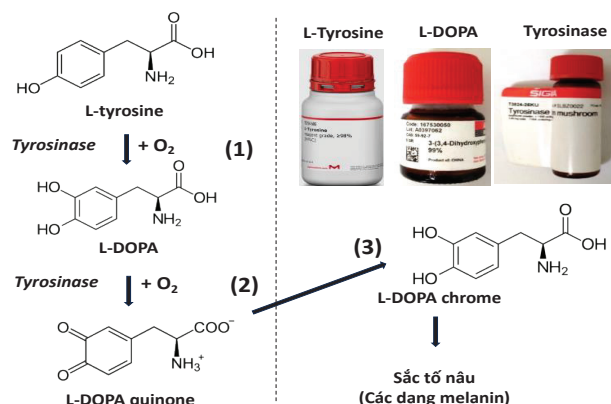
Tách chiết zerumbone và các phân đoạn flavonoid: Zerumbone từ củ gừng gió (*Zingiber zerumbet*) được chiết theo phương pháp cải tiến từ V.N. Huong và cs (2006) [21]. Củ gừng gió (kích cỡ từ 5-6 củ/kg) đã loại bỏ rễ nhỏ, nghiền nhỏ và chiết theo phương pháp lôi cuốn hơi nước bổ sung NaCl nồng độ 1 M. Tinh dầu sau khi được chiết gộp bằng n-hexan được đuổi bớt dung môi và cô đặc bằng thiết bị cô quay chân không (RV 10 Digital V, IKA, Đức). Phần tinh dầu được làm khan bằng muối Na₂SO₄ và zerumbone được kết tinh trong điều kiện lạnh (-20°C) qua đêm có dạng tinh thể màu trắng trong và được bảo quản ở -20°C. Zerumbone được hoà tan trong DMSO ở nồng độ 1 mg/ml cho các thí nghiệm.

Bột các nguyên liệu khô từ lá mít (*Artocarpus heterophyllus*), nụ hoa hòe (*Styphnolobium japonicum*) và đại kê (*Cirsium japonicum*) được chiết bằng n-hexan theo tỷ lệ mẫu/dung môi 1:5 (w/v), phần bột nguyên liệu sau đó được sấy khô. Cân 10 g bột nguyên liệu đem chiết bằng Soxhlet với ethanol 96% cho tới khi không phản ứng dương tính với FeCl₃. Dịch chiết được dẫn đến thể tích xác định 200 ml. Phần bã được sấy khô đến khối lượng không đổi (m₁). Hút 20 ml dịch chiết ethanol đuổi bay hơi bằng máy cô quay chân không (RV 10 Digital V, IKA, Đức) thu được cao

chiết có khối lượng m₂. Cao sau được hoà tan trong nước cất nóng, chỉnh pH 3-4 bằng HCl, sau đó chiết gộp 3 lần bằng ethylacetate. Pha ethylacetate được loại bỏ dung môi thu được flavonoid toàn phần (m₃). Hàm lượng các hợp chất chiết rút kiệt (mg/g bột dược liệu) được xác định theo công thức: $m = (10 - m_1)/10$, trong đó 10 là khối lượng bột dược liệu. Hàm lượng cao chiết (mg) được tính = $m_2 \cdot (200/20)$. Hàm lượng flavonoid toàn phần (mg) được xác định = $m_3 \cdot (200/20)$, trong đó, 20 là thể tích dịch chiết đem đi đuổi dung môi (ml), 200 là tổng thể tích dịch chiết thu được (ml). Flavonoid được hoà tan trong dung môi DMSO ở nồng độ 1 mg/ml và bảo quản ở 4°C.

Nghiên cứu động học phản ứng enzyme: Phản ứng enzyme khi không có mặt chất ức chế.

Phản ứng enzyme với 2 cơ chất L-tyrosine và L-DOPA tương ứng với 2 hoạt tính monophenolase và diphenolase được trình bày ở hình 1. Phản ứng monophenolase với cơ chất L-tyrosine và diphenolase với cơ chất L-DOPA được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi L. Qin và cs (2014) [22]. Chuẩn bị hỗn hợp gồm: 9 ml nước khử ion; 10 ml dung dịch đệm phosphate pH 6,5 và 10 ml dung dịch L-tyrosine hoặc 10 ml dung dịch L-DOPA. Hỗn hợp được sục bão hoà bằng khí O₂ y tế (độ sạch 99,9%) trong khoảng 3-5 phút. Đối với mẫu thí nghiệm, hút 2,9 ml hỗn hợp cho vào cuvet, sau đó bổ sung 0,1 ml dung dịch enzyme trộn đều nhẹ nhàng bằng cách đảo ngược cuvet. Với mẫu đối chứng (blank), enzyme sẽ được thay thế bằng 0,1 ml dung dịch đệm phosphate. Hai enzyme tyrosinase của vi khuẩn *R. solanacearum* và nấm mốc *A. bisporus* sử dụng trong thí nghiệm được sử dụng với cùng hàm lượng protein, tương đương 0,05 mg/phản ứng. Ngay sau khi trộn, mẫu được đo bằng máy đo quang phổ UV-VIS (Shimadzu, Nhật Bản) trong dải từ 240 đến 650 nm ở tốc độ 10 nm/giây liên tục trong 12 phút với khoảng cách mỗi lần đo cách nhau 1 phút.



Hình 1. Phản ứng tổng hợp sắc tố xúc tác bởi tyrosinase.

Phản ứng chuyển hoá từ L-tyrosine thành L-DOPA quinone được thực hiện thông qua 2 bước, trong đó hai phản ứng monophenolase (1) và diphenolase (2) được xúc tác bởi enzyme tyrosinase khi có mặt oxy (O₂). Các phản ứng chuyển hoá tiếp theo (3) chuyển hoá thành L-DOPA chrome không cần enzyme xúc tác.

Phản ứng enzyme khi có mặt chất ức chế: Để đánh giá khả năng ức chế enzyme của các hợp chất, hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị như đã mô tả ở trên, hút 0,1 ml hỗn hợp các thành phần (9 ml nước khử ion, 10 ml dung dịch đệm phosphate pH 6,5 và 10 ml dung dịch L-tyrosine hoặc 10 ml dung dịch L-DOPA), sau đó bổ sung các dung dịch zerumbone từ gừng gió, phân đoạn flavonoid tổng số từ dịch chiết lá mít, hoa hoè và ké sữa để đạt các mức nồng độ cuối cùng 0; 0,01; 0,015; 0,02; 0,025; 0,05 và 0,1 mg/ml. Để giữ thời gian phản ứng như nhau ở các mẫu, dung dịch enzyme tyrosinase (0,1 ml) từ nấm mốc *A. bisporus* hoặc từ vi khuẩn *R. solanacearum* được bổ sung vào sau cùng bằng pipette đa kênh. Phản ứng được trộn trên đĩa microtiter (96-Well Microtiter™ Microplates/Thermo Scientific™) và đọc độ hấp thụ của DOPAquinone và DOPochrome ở bước sóng 320 và 475 nm bằng máy đo ELISA tại thời điểm enzyme bão hoà cơ chất [23-25]. Axit kojic ở các nồng độ như trên được sử dụng để xác định giá trị IC_{50} và so sánh khả năng ức chế của các hợp chất. Đối chứng âm không sử dụng chất ức chế và thay bằng đệm phosphate 0,01 M, pH 6,5. Hiệu quả ức chế tyrosinase (IE) được xác định theo công thức:

$$IE (\%) = [(A_{475i} - A_{475}) / (A_0 - A_{475})] \times 100$$

trong đó: A_0 là độ hấp thụ ánh sáng khi không có mặt enzyme tyrosinase (đối chứng âm), A_{475i} là độ hấp thụ ánh sáng khi có chất ức chế, A_{475} là độ hấp thụ ánh sáng khi không bổ sung chất ức chế. Giá trị IC_{50} của chất ức chế được xác định tại nồng độ mà 50% hoạt độ của enzyme bị ức chế và được quy đổi thông qua lượng sản phẩm tạo thành bằng $\frac{1}{2}$ so với đối chứng (không có mặt chất ức chế) trong cùng điều kiện thí nghiệm. Mức độ ức chế của các chất được so sánh với khả năng ức chế của axit kojic trong cùng điều kiện thí nghiệm [26].

2.3. Phân tích số liệu

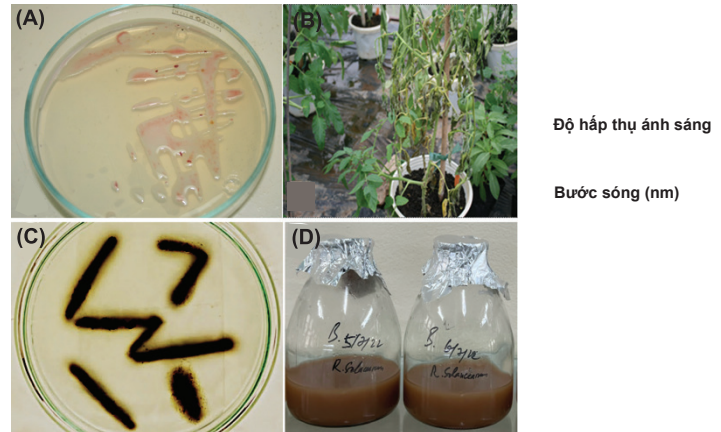
Các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần, sự sai khác giữa các nhóm được so sánh bằng phân tích phương sai một chiều (ANOVA). Tất cả dữ liệu được trình bày bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi giá trị p nhỏ hơn 0,05.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Nuôi cấy vi khuẩn và thu enzyme ngoại bào

Các chủng vi khuẩn *R. solanacearum* được nuôi trong môi trường TZC (hình 2A), chủng biểu hiện độc tính mạnh bằng lây nhiễm nhân tạo vào vùng rễ của cà chua (hình 2B) sẽ được lựa chọn để nuôi cấy trên môi trường TZC bổ sung L-tyrosine (0,4 g/l) và ủ ở 25°C. Kết quả cho thấy, sau 2 ngày ủ, các chủng có khả năng tổng hợp enzyme tyrosinase ngoại bào sẽ chuyển thành màu nâu sẫm (hình 2C). Chủng

biểu hiện hoạt tính mạnh sẽ được lựa chọn để chuyển sang nuôi lỏng để thu enzyme ngoại bào. Sau thời gian từ 18 giờ trong môi trường cảm ứng bởi L-tyrosine và $CuSO_4$, vi khuẩn *R. solanacearum* sinh enzyme tyrosinase ngoại bào, dịch huyền phù vi khuẩn chuyển sang màu nâu và tăng dần theo thời gian sau 24 giờ cho màu nâu sẫm (hình 2D).

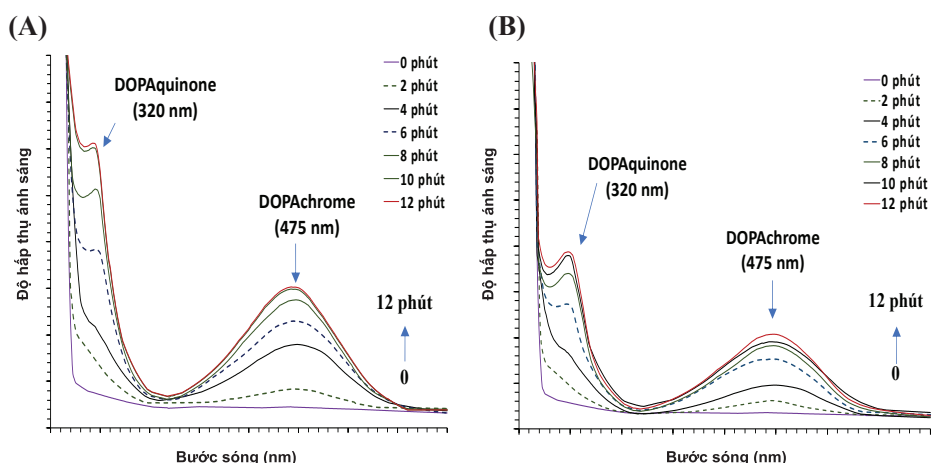


Hình 2. Vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* gây bệnh héo xanh cà chua và hoạt tính tyrosinase ngoại bào. (A) Vi khuẩn *R. solanacearum* phân lập trên đĩa Petri và (B) lây nhiễm nhân tạo trên cà chua, (C) biểu hiện hoá nâu trên đĩa thạch trong môi trường chứa 0,4 g/l L-tyrosine và 100 μM $CuSO_4$, (D) môi trường nuôi cấy *R. solanacearum* sau 48 giờ.

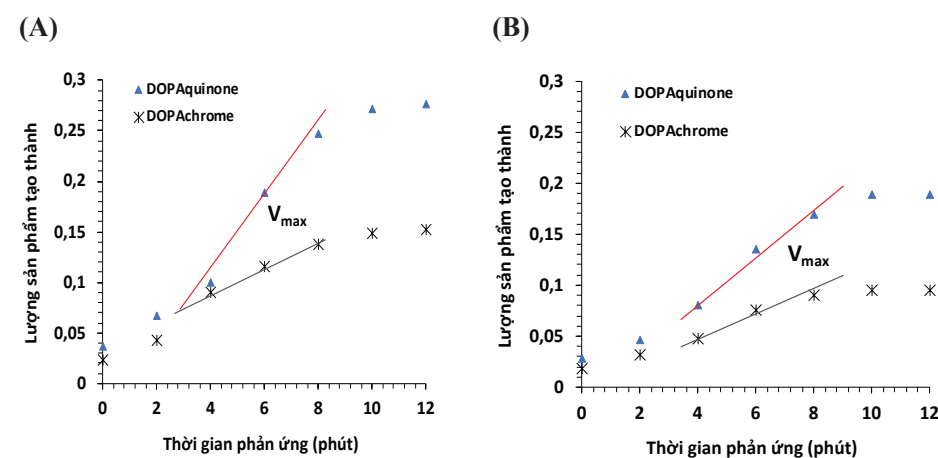
3.2. Phản ứng monophenolase của enzyme tyrosinase với cơ chất L-tyrosine

Enzyme tyrosinase ngoại bào của vi khuẩn *R. solanacearum* được kết tủa ammonium sulfate ở các phân đoạn từ 20 đến 80% ammonium sulfate bão hoà đều biểu hiện hoạt tính tyrosinase, trong đó phân đoạn 80% cho hoạt tính enzyme cao nhất (số liệu không trình bày). Kết quả nghiên cứu tương tự của B. Arian và cs (2016) [18] đối với vi khuẩn *Bacillus megaterium* chủng M36 có hoạt tính cao nhất ở phân đoạn ammonium sulfate 85% và enzyme tyrosinase có khối lượng phân tử 34 kDa [18]. Trong nghiên cứu này, enzyme từ nấm mốc *A. bisporus* (Sigma-Aldrich) được sử dụng làm đối chứng với cùng hàm lượng protein (0,05 mg cho mỗi phản ứng). Kết quả cho thấy, enzyme từ vi khuẩn *R. solanacearum* có hoạt tính monophenolase tương tự như enzyme từ nấm *A. bisporus* (hình 3A, 3B). Lượng sản phẩm tạo thành DOPAquinone (đỉnh 320 nm) và DOPochrome (đỉnh 475 nm) có sự khác biệt giữa 2 enzyme. Lượng DOPAquinone và DOPochrome cao hơn 1,25 (25%) và 1,14 lần (14%) tương ứng so với enzyme từ nấm mốc *A. bisporus* và vi khuẩn *R. solanacearum* (hình 3A, 3B).

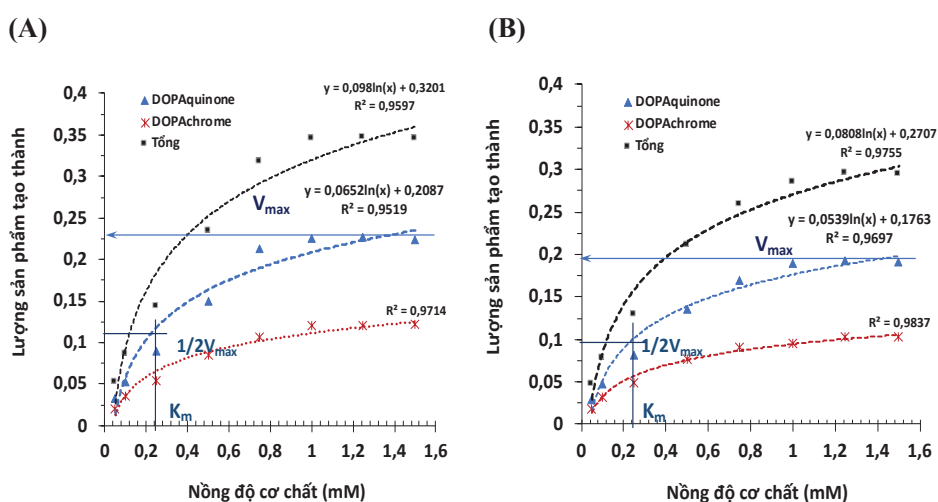
Theo phương trình Michaelis-Menten [27], nồng độ cơ chất (L-tyrosine và L-DOPA) được sử dụng ở mức lớn hơn nhiều so với K_m do đó tốc độ phản ứng $V = V_{max}$ khi enzyme ở trạng thái bão hoà cơ chất, tốc độ phản ứng chỉ



Hình 3. Chuyển hoá cơ chất L-tyrosine bởi enzyme tyrosinase. (A) Enzyme tyrosinase từ nấm *A. bisporus* và **(B)** vi khuẩn *R. solanacearum*.



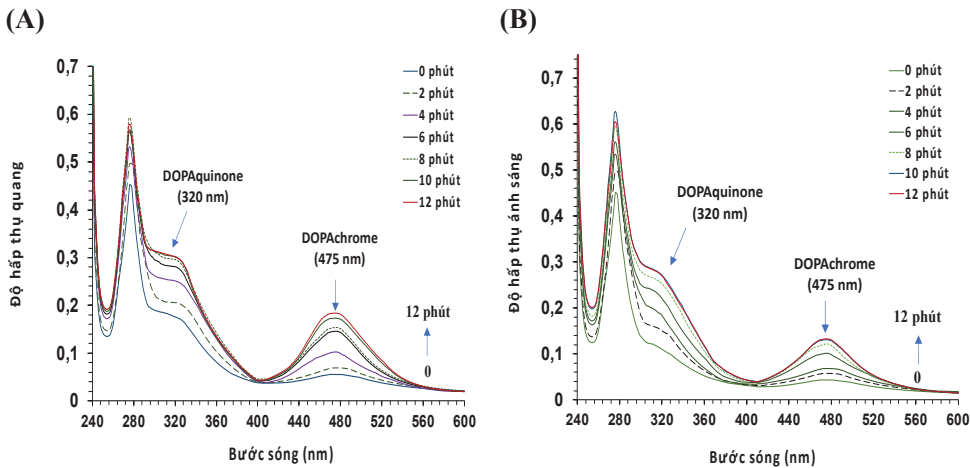
Hình 4. Tốc độ chuyển hoá DOPAquinone và DOPachrome từ cơ chất L-tyrosine. (A) Phản ứng chuyển hoá L-tyrosine bởi 2 enzyme tyrosinase từ nấm *A. bisporus* và **(B)** vi khuẩn *R. solanacearum* tạo sản phẩm DOPAquinone (320 nm) và DOPachrome (475 nm).



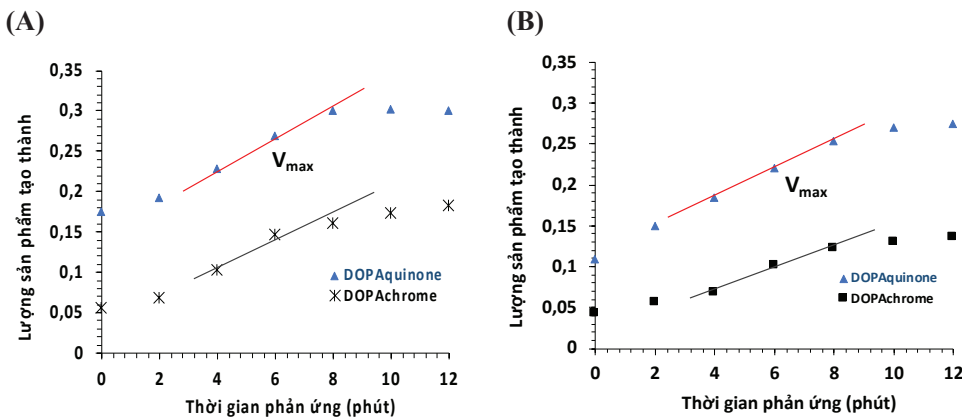
Hình 5. Động học phản ứng chuyển hoá cơ chất L-tyrosine xúc tác bởi enzyme tyrosinase. (A) Phản ứng tạo 2 sản phẩm DOPAquinone (320 nm) và DOPachrome (475 nm) xúc tác bởi nấm *A. bisporus* và **(B)** vi khuẩn *R. solanacearum*. Phương trình hồi quy tuyến tính xây dựng dựa vào tổng lượng sản phẩm tạo thành ở phút thứ 8.

phụ thuộc vào nồng độ enzyme. Việc khảo sát ban đầu với mục tiêu cố định ngưỡng nồng độ enzyme để xác định thời điểm (t) phản ứng đạt tốc độ tối đa. Trong điều kiện thí nghiệm, thời gian phản ứng đạt V_{max} trong khoảng phút thứ 4 đến phút thứ 8 sau đó phản ứng ở trạng thái cân bằng đối với cả 2 sản phẩm tạo thành là DOPAquinone và DOPachrome (hình 4A, 4B). Không có sự khác biệt về tỷ lệ chuyển hoá giữa DOPAquinone và DOPachrome đối với enzyme từ nấm *A. bisporus* và từ vi khuẩn *R. solanacearum*. Điều này cũng gợi ý tốc độ chuyển hoá DOPachrome phụ thuộc vào lượng DOPAquinone tạo thành từ phản ứng chuyển hoá xúc tác bởi enzyme tyrosinase. Chính vì vậy, sản phẩm DOPachrome (A_{475}) đã được định lượng trong các nghiên cứu về tyrosinase [18, 23-26].

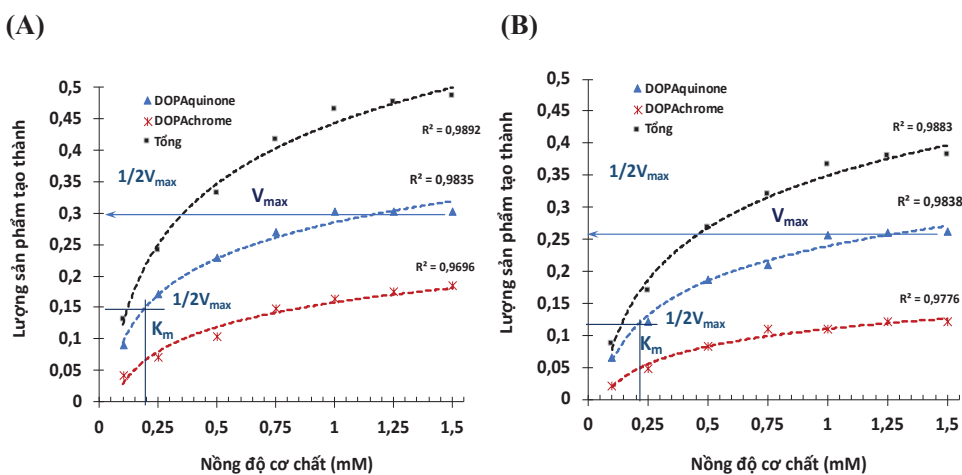
Trên cơ sở khảo sát, phản ứng động học được thực hiện với các nồng độ cơ chất L-tyrosine từ 0,05 đến 1,5 mM trong khi lượng enzyme của nấm *A. bisporus* (đối chứng) được giữ cố định 50 unit/phản ứng (theo thông tin từ nhà cung cấp Sigma Aldrich), sản phẩm của phản ứng gồm DOPAquinone (320 nm), DOPachrome (475 nm) được đo ở phút thứ 8 (tại thời điểm V_{max}). Kết quả cho thấy, giá trị K_m đối với enzyme tyrosinase từ nấm *A. bisporus* và từ vi khuẩn *R. solanacearum* đều đạt ở mức 0,24 mM (hình 5A, 5B). Mặc dù giá trị K_m tương tự nhau nhưng lượng sản phẩm (DOPAquinone) của phản ứng xúc tác bởi enzyme tyrosinase của nấm *A. bisporus* cao hơn vi khuẩn *R. solanacearum* 10,5% đối với cơ chất L-tyrosine. Như vậy, hoạt động của enzyme *R. solanacearum* trong phản ứng ở



Hình 6. Chuyển hoá cơ chất L-DOPA bởi enzyme tyrosinase nấm *A. bisporus* và (B) vi khuẩn *R. solanacearum*.



Hình 7. Tốc độ phản ứng chuyển hoá cơ chất L-DOPA xúc tác bởi 2 enzyme tyrosinase từ nấm *A. bisporus* (A) và vi khuẩn *R. solanacearum* (B). Phản ứng tạo 2 sản phẩm DOPAquinone (320 nm) và DOPACHrome (475 nm), (Tổng) là phương trình hồi quy tuyến tính xây dựng dựa vào tổng lượng sản phẩm tạo thành ở phút thứ 8.



Hình 8. Động học phản ứng chuyển hoá cơ chất L-DOPA xúc tác bởi 2 enzyme tyrosinase. Phản ứng tạo 2 sản phẩm DOPAquinone (320 nm) và DOPACHrome (475 nm) xúc tác bởi (A) nấm *A. bisporus* và (B) vi khuẩn *R. solanacearum*. Phương trình hồi quy tuyến tính xây dựng dựa vào tổng lượng sản phẩm tạo thành ở phút thứ 8.

điều kiện thí nghiệm chỉ tương đương với 89,5% so với enzyme của nấm mỡ. Giá trị V_{max} của phản ứng xúc tác bởi enzyme của vi khuẩn *R. solanacearum* cũng chỉ đạt tương ứng 86,7% (hình 5A). Dựa vào lượng sản phẩm tạo thành tương ứng với hàm lượng protein cho mỗi phản ứng, hoạt động của enzyme của vi khuẩn *R. solanacearum* đạt 44,7 unit/0,05 mg protein.

3.3. Phản ứng diphenolase của enzyme tyrosinase với cơ chất L-DOPA

Enzyme từ vi khuẩn *R. solanacearum* có khả năng xúc tác phản ứng diphenolase tương tự như enzyme từ nấm *A. bisporus* (hình 6). Mặc dù với cùng lượng enzyme, tốc độ chuyển hoá L-DOPA thành hợp chất màu DOPACHrome bởi enzyme từ vi khuẩn *R. solanacearum* đạt 86,7% so với enzyme từ nấm mỡ *A. bisporus* (hình 6).

Trong điều kiện bão hoà cơ chất, phản ứng chuyển hoá L-DOPA bởi enzyme tyrosinase từ nấm mỡ *A. bisporus* đạt tốc độ tối đa trong khoảng từ và vi khuẩn thời gian cho phản ứng đạt tốc độ tối đa trong khoảng từ phút thứ 4 đến phút thứ 8 (hình 7).

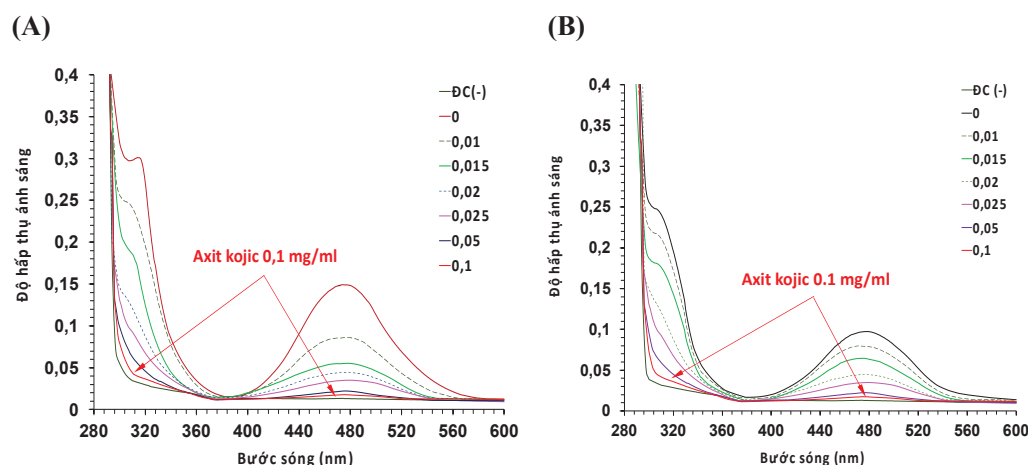
Tương tự như đối với cơ chất L-tyrosine, phản ứng động học được thực khảo sát với các nồng độ cơ chất L-DOPA cuối cùng từ 0,05 đến 1,5 mM trong khi nồng độ enzyme được giữ cố định 50 unit/phản ứng và phản ứng được đo tại phút thứ 8 (tốc độ phản ứng tối đa V_{max}). Kết quả cho thấy, giá trị K_m đối với enzyme tyrosinase từ nấm mỡ *A. bisporus* và từ vi khuẩn *R. solanacearum* là 0,195 và 0,215 mM (hình 8A, 8B).

Do phản ứng tạo 2 sản phẩm DOPAquinone và DOPAchome với các đỉnh hấp thụ cực đại tương ứng ở bước sóng 320 và 475 nm, trong đó DOPAquinone là sản phẩm được chuyển hoá bởi enzyme còn DOPAchome không cần enzyme xúc tác. Do đó, giá trị K_m đã được khảo sát dựa vào lượng DOPA quinone và DOPAchome riêng rẽ. Tuy nhiên, kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa về giá trị K_m khi lựa dựa vào lượng sản phẩm DOPAchome hay DOPAquinone hoặc tổng sản phẩm tạo thành (hình 8A, 8B). Điều này cũng phù hợp với hầu hết các kết quả nghiên cứu đã công bố sử dụng giá trị A_{475} là đỉnh hấp thụ của DOPAchome cho các nghiên cứu động học [23-26]. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng đồng thời cả DOPAquinone (A_{320}) và DOPAchome (A_{475}) để phân tích lượng sản phẩm.

3.4. Hoạt tính ức chế tyrosinase của các hợp chất và phân đoạn flavonoid

Để xác định khả năng ức chế hoạt tính monophenolase và diphenolase của các hợp chất và phân đoạn flavonoid từ một số loại thực vật, axit kojic được sử dụng làm đối chứng dương khi nghiên cứu động học phản ứng. Kết quả đối với cơ chất L-tyrosine, mức độ ức chế phụ thuộc vào nồng độ axit kojic, ở nồng độ 0,1 mg/ml, mức độ ức chế đạt ngưỡng bão hoà ở mức 86,60 và 81,64% tương ứng với enzyme của nấm *A. bisporus* và vi khuẩn *R. solanacearum* (hình 9A, 9B). Đối với cơ chất L-DOPA, mức độ ức chế hoạt tính diphenolase bởi axit kojic cũng biểu hiện tương tự đối với cả 2 enzyme của nấm *A. bisporus* và vi khuẩn *R. solanacearum* (số liệu không trình bày).

Hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase của zerumbone chiết xuất từ củ gừng gió và phân đoạn flavonoid của lá mít, nụ hoa hoè và đại kế được thử nghiệm với dải nồng độ từ 0,01 đến 0,1 mg/ml. Kết quả cho thấy, hoạt tính ức chế với cơ chất L-tyrosine tương ứng ở cả 2 enzyme đều phụ thuộc vào nồng độ (hình 10A, 10B). Giá trị IC_{50} của zerumbone chiết xuất từ gừng gió đạt 0,0203 đến 0,293 mM. So với hoa hoè và đại kế, phân đoạn flavonoid từ lá mít cho hiệu quả ức chế gần tương tự với axit kojic ($p>0,05$) ở ngưỡng nồng độ từ 0,05 đến 0,1 mg/ml (hình 10A, 10B). Giá trị IC_{50} của các hợp chất và phân đoạn flavonoid đối với 2 enzyme được tổng hợp ở bảng 1.



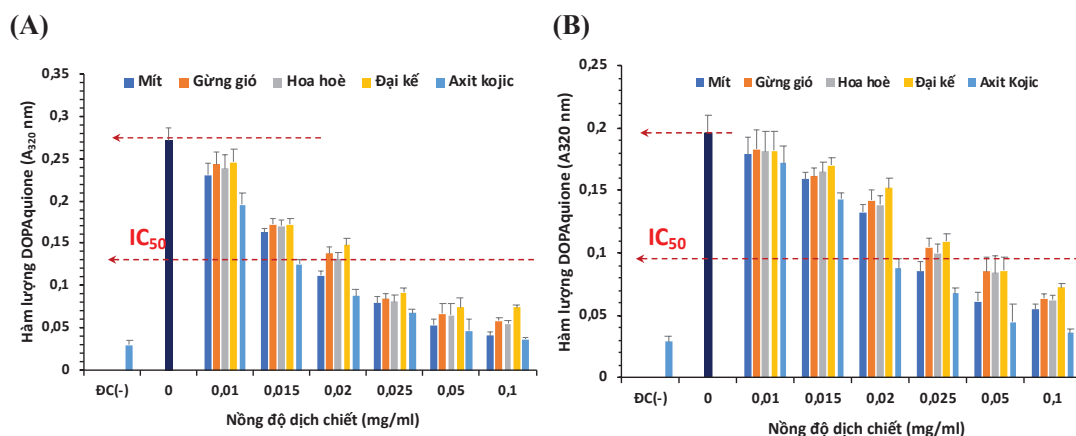
Hình 9. Ảnh hưởng của nồng độ axit kojic đến khả năng ức chế enzyme tyrosinase. Phản ứng với (A) enzyme tyrosinase từ nấm mốc *A. bisporus* và (B) enzyme tyrosinase từ vi khuẩn *R. solanacearum* được đo dải quang phổ tại phút thứ 8, giá trị IC_{50} được xác định theo sản phẩm của phản ứng DOPAquinone (đỉnh hấp thụ tại 320 nm). ĐC(-) là mẫu đối chứng không có mặt enzyme tyrosinase.

Bảng 1. Giá trị IC_{50} của một số dịch chiết ức chế hoạt tính monophenolase và diphenolase của enzyme tyrosinase từ nấm mốc *A. bisporus* và vi khuẩn *R. solanacearum*.

Các hợp chất	IC_{50} của một số dịch chiết (mg/ml)			
	L-tyrosine (monophenolase)		L-DOPA (diphenolase)	
	Nấm mốc <i>A. bisporus</i>	Vi khuẩn <i>R. solanacearum</i>	Nấm mốc <i>A. bisporus</i>	Vi khuẩn <i>R. solanacearum</i>
Axit kojic	0,0139±0,0025 ^a	0,0181±0,0021 ^c	0,0128±0,0021 ^a	0,0191±0,0021 ^b
Zerumbone	0,0203±0,0031 ^b	0,0272±0,0027 ^d	0,0186±0,0021 ^c	0,0293±0,0021 ^d
Flavonoid lá mít	0,0170±0,0012 ^c	0,0221±0,0019 ^b	0,0170±0,0019 ^c	0,0223±0,0021 ^b
Flavonoid đại kế	0,0220±0,0024 ^b	0,0443±0,0052 ^e	0,0220±0,0025 ^b	0,0441±0,0021 ^e
Flavonoid hoa hoè	0,0193±0,0017 ^b	0,0262±0,0034 ^d	0,0196±0,0021 ^b	0,0268±0,0021 ^d

Các chữ khác nhau (a-e) thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p<0,05$).

Trong nghiên cứu này, hoạt tính ức chế IC_{50} của zerumbone và các phân đoạn flavonoid thấp hơn so với axit kojic (bảng 1). Trong phản ứng monophenolase xúc tác bởi enzyme tyrosinase của *A. bisporus* và của *R. solanacearum*, IC_{50} của zerumbone cao hơn so với IC_{50} của axit kojic tương ứng 1,22 và 1,5 lần, ở hoa hoè là 1,39 và 1,22 lần. Phân đoạn flavonoid của đại kế cho hoạt tính ức chế thấp nhất, với IC_{50} so với IC_{50} của axit kojic tương ứng 1,58 và 2,44 lần (bảng 1). Tương tự, với phản ứng diphenolase với cơ chất L-DOPA, IC_{50} của phân đoạn flavonoid đại kế lớn hơn với axit kojic tương ứng 1,72 và 2,31 lần. Đối với cả 2 hoạt tính monophenolase và diphenolase, phân đoạn flavonoid của lá mít biểu hiện hoạt tính ức chế mạnh chỉ thấp hơn so với axit kojic (bảng 1). Nhiều flavonoid là dẫn xuất của hợp chất polyphenol chứa vòng pyrane và phenol có mặt ở nhiều bộ phận của thực vật có khả năng ức chế hoạt tính monophenolase và diphenolase của enzyme tyrosinase [28]. Hầu hết các hợp chất này đều ức chế enzyme tyrosinase theo phương thức ức chế cạnh tranh bằng cách gắn với trung tâm



Hình 10. Xác định khả năng ức chế enzyme tyrosinase của một số dịch chiết thực vật. (A) Ảnh hưởng của nồng độ của các dịch chiết đến khả năng ức chế hoạt tính monophenolase của enzyme tyrosinase từ nấm *A. bisporus* và **(B)** vi khuẩn *R. solanacearum*.

hoạt động của enzyme [28]. Cho đến nay, nhiều nghiên cứu sàng lọc các hợp chất có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase đã được tiến hành trên thế giới và ở Việt Nam. Chẳng hạn, aloesin là một hydroxychromone glucoside được tinh chế từ cây lô hội (*Aloe vera*) có khả năng làm sáng da do ức chế hoạt tính tyrosinase dẫn đến hạn chế quá trình tổng hợp melanin theo phương thức phụ thuộc vào nồng độ [29]. Dịch chiết lá của cây nho *Vitis vinifera* trong nước có IC₅₀ đạt 3,84 mg/ml [30] và dịch chiết lá trong ethanol có IC₅₀ đạt 0,197 mg/ml [31]. Các nghiên cứu ở cây cam thảo (*Glycyrrhiza uralensis*), dâu tằm (*Morus alba*), mít đều cho thấy các hợp chất thuộc nhóm flavonoid có khả năng ức chế enzyme tyrosinase [32-34] và nhiều hợp chất từ các đối tượng thực vật khác có khả năng ức chế enzyme tyrosinase thậm chí mạnh hơn so với axit kojic [31].

Đến nay, trong hầu hết các nghiên cứu này, enzyme tyrosinase được sử dụng đều từ nấm mốc *A. bisporus*. Các nghiên cứu tìm kiếm nguồn enzyme tyrosinase mới từ vi khuẩn và các nguồn khác còn hạn chế, một số nghiên cứu thực hiện ở vi khuẩn [14-18]. Một số vi khuẩn đất biểu hiện hoạt tính enzyme tyrosinase ngoại bào khi cảm ứng bằng tyrosine và CuSO₄ [35]. Ở vi khuẩn *Bacillus* sp., các nghiên cứu enzyme tyrosinase gần đây được thực hiện ở một số loài, chẳng hạn *B. megaterium* sp. chủng M36 biểu hiện hoạt tính monophenolase và diphenolase [18]. Vi khuẩn *B. aryabhattai* TCCC 111983 cũng được phân lập và nghiên cứu đặc điểm cho thấy enzyme này hoạt động trong phạm vi pH rộng (từ 3 đến 10) và bền nhiệt [17]. Về mặt ứng dụng, thông thường dịch chiết thô enzyme ngoại bào thường đơn giản và hiệu quả hơn so với enzyme tinh sạch, vì vậy, nghiên cứu phương pháp thu enzyme tyrosinase thô từ nấm mốc *A. bisporus* cho thấy enzyme thô có độ bền nhiệt và giữ hoạt tính tới 95% sau 9 tháng bảo quản ở -20°C [13]. Chính vì vậy, nghiên cứu ban đầu này khảo sát hoạt tính enzyme ngoại bào của vi khuẩn *R. solanacearum* nhằm tìm kiếm thêm một nguồn enzyme mới.

4. Kết luận

Enzyme tyrosinase ngoại bào từ vi khuẩn *R. solanacearum* có hoạt tính oxy hoá monophenolase và diphenolase. Việc tinh sạch để nghiên cứu sâu về các đặc điểm của enzyme này là cần thiết, nhằm bổ sung thêm nguồn enzyme mới để sàng lọc các hợp chất tự nhiên có khả năng ức chế enzyme tyrosinase. Trên cơ sở đó có thể

ứng dụng trong lĩnh vực dược và mỹ phẩm để kiểm soát quá trình tổng hợp melanin an toàn và hiệu quả.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo được hỗ trợ kinh phí của đề tài “Nghiên cứu bào chế sản phẩm kem làm sáng da từ gừng gió (*Zingiber zerumbet* Smith) và một số dược liệu Việt Nam có hoạt tính ức chế enzyme tyrosinase”, mã số 01C-06/07-2020-3. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.A. Maranduca, D. Branisteanu, D.N. Serban, et al. (2019), “Synthesis and physiological implications of melanic pigments”, *Oncol. Lett.*, **17**(5), pp.4183-4187, DOI: 10.3892/ol.2019.10071.
- [2] N.M. Mohammad, K.Yamauchi, T. Mitsunaga, et al. (2019), “Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources as skin-lightening agents”, *Reviews in Agricultural Science*, **7**, pp.41-58, DOI: 10.7831/ras.7.41.
- [3] R. Nairn, W. Cresswell, J. Nairn, et al. (2015), “Mushroom tyrosinase: A model system to combine experimental investigation of enzyme-catalyzed reactions, data handling using R, and enzyme-inhibitor structural studies”, *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, **43**(5), pp.370-376, DOI: 10.1002/bmb.20887.
- [4] M. Mine, H. Mizuguchi, T. Takayanagi, et al. (2022), “Kinetic analyses of two-steps oxidation from L-tyrosine to L-dopaquinone with tyrosinase by capillary electrophoresis/dynamic frontal analysis”, *Anal. Biochem.*, **655**(114856), DOI: 10.1016/j.ab.2022.114856.
- [5] T. Pillaiyar, M. Manickam, V. Namasivayam, et al. (2017), “Skin whitening agents: Medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors”, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **32**(1), pp.403-425, DOI: 10.1080/14756366.2016.1256882.
- [6] T. Pillaiyar, V. Namasivayam, M. Manickam, et al. (2018), “Inhibitors of melanogenesis: An updated review”, *J. Med. Chem.*, **61**(17), pp.7395-7418, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00967.

- [7] X.W. Zhang, G.L. Bian, P. Kang, et al. (2021), "Recent advance in the discovery of tyrosinase inhibitors from natural sources via separation methods", *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **36**(1), pp.2104-2117, DOI: 10.1080/14756366.2021.1983559.
- [8] S. Zolghadri, A. Bahrami, M.T.H. Khan, et al. (2019), "A comprehensive review on tyrosinase inhibitors", *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **34**(1), pp.279-309, DOI: 10.1080/14756366.2018.1545767.
- [9] C.C.A. Juliano (2022), "Spreading of dangerous skin-lightening products as a result of colourism: A review", *Appl. Sci.*, **12**(3177), DOI: 10.3390/app12063177.
- [10] X. Lai, M.S. Lopez, B.W. Dijkstra, et al. (2016), "Large-scale recombinant expression and purification of human tyrosinase suitable for structural studies", *PLOS ONE*, **11**(8), DOI: 10.1371/journal.pone.0161697.
- [11] T. Mann, W. Gerwat, J. Batzer, et al. (2018), "Inhibition of human tyrosinase requires molecular motifs distinctively different from mushroom tyrosinase", *Journal of Investigative Dermatology*, **138**(7), pp.1601-1608, DOI: 10.1016/j.jid.2018.01.019.
- [12] M. Fernandes, S. Kerkar (2017), "Microorganisms as a source of tyrosinase inhibitors: A review", *Ann. Microbiol.*, **67**, pp.343-358, DOI: 10.1007/s13213-017-1261-7.
- [13] M.A. Morosanova, T.V. Fedorova, A.S. Polyakova, et al. (2020), "Agaricus bisporus crude extract: Characterization and analytical application", *Molecules*, **25**(24), DOI: 10.3390/molecules25245996.
- [14] S. Ashraf, A.S.A.F.E. Sayed, G.H. Rabie, et al. (2021), "Microbial tyrosinase: Biochemical, molecular properties and pharmaceutical applications", *Biomed. Pharmacol. J.*, **14**(3), DOI: 10.13005/bpj/2229.
- [15] S.S. Deepthi, M.K. Reddy, N. Mishra, et al. (2021), "Melanin production by *Pseudomonas* sp. and *in silico* comparative analysis of tyrosinase gene sequences", *BioTechnologia (Pozn)*, **102**(4), pp.411-424, DOI: 10.5114/bta.2021.111106.
- [16] M. Harir, M. Bellahcene, S. Pollini, et al. (2018), "Isolation and characterization of a novel tyrosinase produced by Sahara soil actinobacteria and immobilization on nylon nanofiber membranes", *J. Biotechnol.*, **265**, pp.54-64, DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.11.004.
- [17] F. Wang, Z. Xu, Z. Guo, et al. (2021), "Biochemical characterization of a tyrosinase from *Bacillus aryabhatai* and its application", *Int. J. Biol. Macromol.*, **176**, pp.37-46, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.02.042.
- [18] E. Valipour, B. Arian (2016), "Characterization of tyrosinase enzyme from native *Bacillus megaterium* sp. strain M36", *J. Microbiol. Biotech. Food Sci.*, **5**(5), pp.465-469, DOI: 10.15414/jmbfs.2016.5.5.465-469.
- [19] A. Kelman (1954), "The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance in a tetrazolium medium", *Phytopathology*, **44**(12), pp.693-695.
- [20] M.M. Bradford (1976), "A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Anal. Biochem.*, **72**(1976), pp.248-254, DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- [21] V.N. Huong, D.T.T. Thuy (2006), "Wild ginger (*Zingiber zerumbet* Sm.) from Tam Dao region - a valuable ingredient for preparing zerumbone", *Journal of Science and Technology*, **44**(3), pp.65-69 (in Vietnamese).
- [22] L. Qin, Y. Wu, Y. Liu, et al. (2014), "Dual effects of alpha-arbutin on monophenolase and diphenolase activities of mushroom tyrosinase", *PLOS ONE*, **9**(10), DOI: 10.1371/journal.pone.0109398.
- [23] Y.F. Fan, S.X. Zhu, F.B. Hou, et al. (2021), "Spectrophotometric assays for sensing tyrosinase activity and their applications", *Biosensors (Basel)*, **11**(8), DOI: 10.3390/bios11080290.
- [24] L.M. Vermeer, C.A. Higgins, D.L. Roman, et al. (2013), "Real-time monitoring of tyrosine hydroxylase activity using a plate reader assay", *Anal. Biochem.*, **432**(1), pp.11-15, DOI: 10.1016/j.ab.2012.09.005.
- [25] R. Nairn, W. Cresswell, J. Nairn, et al. (2015), "Mushroom tyrosinase: A model system to combine experimental investigation of enzyme-catalyzed reactions, data handling using R, and enzyme-inhibitor structural studies", *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, **43**(5), pp.370-376, DOI: 10.1002/bmb.20887.
- [26] W. Wang, Y. Gao, J. Zhang, et al. (2022), "Kojic acid showed consistent inhibitory activity on tyrosinase from mushroom and in cultured B16F10 cells compared with arbutins", *Antioxidants*, **11**(502), DOI: 10.3390/antiox11030502.
- [27] L. Michaelis, M.L. Menten (1913), "The kinetics of invertin action", *Biochemische Zeitschrift*, **49**, pp.333-369 (in Germany).
- [28] Y. Lu, Y. Xu, M.T. Song, et al. (2021), "Promotion effects of flavonoids on browning induced by enzymatic oxidation of tyrosinase: Structure-activity relationship", *RSC Adv.*, **11**(23), pp.13769-13779, DOI: 10.1039/D1RA01369F.
- [29] G. Jeon, H.S. Ro, H.Y. Lee, et al. (2022), "Enhancement of melanogenic inhibitory effects of the leaf skin extracts of *Aloe barbadensis* Miller by the fermentation process", *Fermentation*, **8**(580), DOI: 10.3390/fermentation8110580.
- [30] Y.S. Lin, H.J. Chen, P.C. Lee, et al. (2017), "Kinetics of tyrosinase inhibitory activity using *Vitis vinifera* leaf extracts", *Biomed. Res. Int.*, **2017**, DOI: 10.1155/2017/5232680.
- [31] N.T.T. Nhi, D.T. Luan, T.G. Khiem, et al. (2022), "Inhibition of tyrosinase activity by grape leaf extract *Vitis vinifera* L. (Vitaceae)", *TNU Journal of Science and Technology*, **227**(14), pp.10-15, DOI: 10.34238/tnu-jst.6121 (in Vietnamese).
- [32] X. Liu, J. Rao, K. Wang, et al. (2022), "Highly potent inhibition of tyrosinase by Mulberrosides and the inhibitory mechanism *in vitro*", *Chem. Biodivers.*, **19**(1), DOI: 10.1002/cbdv.202100740.
- [33] N.C. Minh, T.L.T. Chau, H.N. Trinh, et al. (2021), "Evaluation of tyrosinase inhibitory activity, *in vitro* antioxidant activity and *in vivo* anti-inflammatory effect of topical gel preparation from *Houttuynia cordata* extract", *Ho Chi Minh City Journal of Medicine*, **25**(6), pp.55-61 (in Vietnamese).
- [34] P.T. Hai, N.B. Yen, B.T. Tung, et al. (2017), "Screening of potential tyrosinase inhibitors using *in silico-in vitro* approach", *VNU Journal of Science, Medical and Pharmaceutical Sciences*, **33**(1), pp.12-18 (in Vietnamese).
- [35] V. Shuster, A. Fishman (2009), "Isolation, cloning and characterization of a tyrosinase with improved activity in organic solvents from *Bacillus megaterium*", *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, **17**(4), pp.188-200, DOI: 10.1159/000233506.

Nghiên cứu nhân giống cây Long não (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào

Trần Văn Tiến^{1*}, Nguyễn Văn Phong^{2,3}, Nguyễn Thị Huệ⁴

¹Học viện Hành chính và Quản trị công, 77 Nguyễn Chí Thanh, phường Láng Hạ, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Bộ Tài chính, 28 Trần Hưng Đạo, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Lâm nghiệp, thị trấn Xuân Mai, huyện Chương Mỹ, Hà Nội, Việt Nam

⁴Trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 1, 8 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 14/3/2025; ngày chuyển phản biện 18/3/2025; ngày nhận phản biện 15/4/2025; ngày chấp nhận đăng 18/4/2025

Tóm tắt:

Cây Long não (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) hay còn gọi là Dã hương, là loài cây thân gỗ, lớn và thường xanh. Gỗ Long não được sử dụng làm nhiều dụng cụ trong gia đình (tráp, hộp, chuỗi hạt...), tinh dầu Long não được sử dụng trong các lĩnh vực y tế, kỹ thuật... Trong nghiên cứu này, các tác giả đã xác định được môi trường phù hợp cho nhân giống *in vitro* cây Long não. Kết quả thu được cho thấy, sử dụng HgCl_2 0,1% trong 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch và tái sinh chồi cao nhất. Môi trường MS (Murashige and Skoog) có bổ sung 1,5 mg/l BAP (6-benzylaminopurine) + 0,5 mg/l kinetin cho số chồi trung bình trong 1 cụm chồi cao nhất (4,70 chồi/cụm). Công thức MS + 0,9 mg/l IBA (indole-3-butyric acid) cho tỷ lệ chồi ra rễ cao (44%), số rễ trung bình cao (3,29 rễ/chồi) với chất lượng rễ tốt: rễ dài, mập, cứng và nhiều rễ phụ. Kết quả của nghiên cứu có thể áp dụng vào thực tiễn để sản xuất số lượng lớn cây Long não sạch bệnh trong thời gian ngắn.

Từ khóa: cây Long não, nhân giống *in vitro*, tái sinh chồi, tạo rễ *in vitro*.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

A study on the micropropagation of camphor tree (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) using plant tissue culture techniques

Van Tien Tran^{1*}, Van Phong Nguyen^{3,4}, Thi Hue Nguyen⁴

¹Academy of Public Administration and Governance, 77 Nguyen Chi Thanh Street, Lang Ha Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

²Ministry of Finance, 28 Tran Hung Dao Street, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

³Vietnam National University of Forestry, Xuan Mai Town, Chuong My District, Hanoi, Vietnam

⁴Technical Center for Standards, Metrology and Quality 1, 8 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 14 March 2025; revised 15 April 2025; accepted 18 April 2025

Abstract:

The camphor tree (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl), also known as Da huong in Vietnamese, is a large, evergreen woody species. Its timber is commonly used in the production of household items (boxes, cases, prayer beads...), camphor essential oil is widely used in medicine, engineering, etc. In this study, the authors identified optimal conditions for the *in vitro* propagation of *Cinnamomum camphora*. The results indicated that surface sterilisation with 0.1% HgCl_2 for 6 minutes produced the highest rate of contamination-free explants with the highest shoot regeneration capacity. The Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1.5 mg/l BAP (6-benzylaminopurine) and 0.5 mg/l kinetin yielded the highest average number of shoots per cluster (4.7 shoots/cluster). Root induction was most successful with Murashige and Skoog medium containing 0.9 mg/l IBA (indole-3-butyric acid), resulting in a rooting rate of 44% and an average of 3.29 roots per shoot. The induced roots were of high quality, long, thick, robust, and highly branched. The results of this study can be practically applied to the mass production of disease-free camphor trees within a short period.

Keywords: *Cinnamomum camphora*, *in vitro* micropropagation, *in vitro* root induction, shoot regeneration.

Classification numbers: 1.6, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: tientv@napa.vn

1. Đặt vấn đề

Cây Long não (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) còn có tên gọi khác là Dã hương, có nguồn gốc ở khu vực Đông Á, bao gồm Đài Loan (Trung Quốc), miền Nam Nhật Bản, đông nam Trung Quốc và các nước Đông Nam Á. Loài này cũng được trồng tại khu vực ven bờ biển Đen của vùng Kavkaz [1, 2]. Long não được trồng từ lâu đời và được khai thác camphor từ thế kỷ XIII. Nơi phát triển nhiều nhất là Đài Loan (Trung Quốc), Nhật Bản, các nước vùng Đông Nam Á, Bắc Mỹ, Bắc Phi và miền Nam nước Pháp.

Ở Việt Nam, Long não được trồng ở Hà Giang từ thời Pháp thuộc và sau 1954 được trồng ở các tỉnh miền núi. Ở các thành phố lớn, Long não được trồng làm cây cho bóng mát tại các tuyến đường hoặc khu đô thị...

Hiện nay, ở nước ta có hai cách nhân giống cây Long não là bằng phương pháp gieo hạt và nhân giống *in vitro*. Nhân giống bằng phương pháp gieo hạt chủ yếu dựa vào sự nảy mầm của hạt với tỷ lệ nảy mầm không cao, phẩm chất di truyền không đồng đều, phụ thuộc nhiều vào điều kiện thời tiết. Nhân giống cây Long não bằng phương pháp nuôi cấy mô giúp làm tăng thêm nguồn vật liệu giống có chất lượng tốt, phẩm chất di truyền đồng đều, giữ nguyên đặc tính của cây mẹ ban đầu.

Trên thế giới, đã có một số nghiên cứu về nhân giống *in vitro* cây Long não, trong đó nghiên cứu của K.N. Babu và cs (2003) [1] cho thấy, nhân nhanh chồi với môi trường WPM (woody-plant medium) với 13,32 mM BA và 4,65 mM kinetin cho kết quả tốt nhất (tỷ lệ tạo chồi 85%, số chồi trung bình tạo thành là 13,96 chồi). Trong nghiên cứu ảnh hưởng của auxin và than hoạt tính đến sự ra rễ, môi trường WPM bổ sung 4,9 mM IBA cho tỷ lệ hình thành rễ cao (100%) và rễ phát triển tốt (chiều dài rễ đạt 11,06 cm sau 90 ngày nuôi cấy *in vitro*) [1]. H. Sharma và cs (2010) [2] khi nghiên cứu nuôi cấy mô cây Long não cho thấy, môi trường thích hợp để nhân nhanh chồi là MS bổ sung 1 mg/l BAP và môi trường nuôi cấy thích hợp cho ra rễ *in vitro* là MS + 1 mg/l IBA.

Ở Việt Nam, N.T. Danh và cs (2005) [3] đã nghiên cứu nhân giống cây Vù hương (*Cinamomum balansae* L.) tạo đa chồi tốt nhất trên môi trường MS có bổ sung 8 g/l agar + 20 g/l sucrose + 0,2 mg/l IBA + 3 mg/l BAP. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu nhân giống cây Vù hương của D.T. Huyen (2006) [4] cho thấy, khử trùng mẫu bằng HgCl₂ 0,1% trong thời gian 7 phút cho kết quả tốt nhất với 30% mẫu nảy chồi có chất lượng chồi tốt. N.V. Phong và cs (2009) [5] đã nghiên cứu nhân giống Vù hương để tạo nguồn giống phục vụ chương trình làm giàu rừng. Kết quả cho thấy, mẫu cây

Vù hương được nuôi cấy trên môi trường cơ bản MS + 25 g/l đường sucrose + 7 g/l agar sau 12 ngày cây nảy mầm, sau 15 ngày các chồi được cắt ra cấy vào môi trường tạo đa chồi, môi trường ra rễ. Với môi trường tạo đa chồi, mẫu được cấy vào môi trường MS + 0,3 mg/l IBA + 2,5 mg/l BAP cho hệ số nhân chồi là 2,56. Môi trường ra rễ tạo cây hoàn chỉnh là môi trường 1/2 MS + 0,5 mg/l NAA cho tỷ lệ chồi ra rễ đạt 92%, trung bình 3,5 rễ/chồi sau 2 tuần nuôi cấy.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định môi trường phù hợp cho nhân giống *in vitro* cây Long não, góp phần cung cấp nguồn giống sạch bệnh, chất lượng tốt cho sản xuất trong thời gian ngắn.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nguồn vật liệu: Đoạn thân bánh tẻ được chọn từ cây Long não sinh trưởng tốt, không sâu bệnh trồng tại vườn ươm của Trường Đại học Lâm nghiệp.

Môi trường nuôi cấy: Môi trường cơ bản MS [6] và môi trường WPM [7] bổ sung 2% sucrose, 0,7% agar và các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau thuộc nhóm auxin và cytokinin. pH môi trường được điều chỉnh đến 5,8 trước khi bổ sung thêm agar và khử trùng ở 118°C trong 20 phút.

Địa điểm nghiên cứu: Viện Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm Nghiệp.

Điều kiện phòng thí nghiệm: Vô trùng, ánh sáng 2000-3000 lux, nhiệt độ phòng nuôi 25±2°C, thời gian chiếu sáng 8 giờ/ngày.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp khử trùng tạo vật liệu khởi đầu: Các đoạn thân bánh tẻ lấy từ cây Long não được rửa dưới vòi nước máy chảy trong 10 phút, chải sạch các kẽ lá chứa mắt ngủ, sau đó rửa lại bằng chất tẩy rửa gia dụng Sunlight trong 15 phút (chia 3 lần mỗi lần 5 phút) và rửa lại bằng nước 3-4 lần để loại bỏ chất tẩy rửa trên bề mặt. Tiếp theo, các mẫu được đưa vào tủ cấy vô trùng và rửa bằng cồn 70% trong 1 phút và khử trùng bằng dung dịch HgCl₂ 0,1% thời gian 4-7 phút. Cuối cùng, mẫu cấy được rửa lại bằng nước cất vô trùng 4-5 lần để loại bỏ HgCl₂ trên bề mặt mẫu cấy. Cắt các đoạn thân có độ dài 2-3 cm có chứa mắt ngủ và cấy vào môi trường MS bổ sung 2% sucrose + 0,7% agar.

Phương pháp nuôi cấy tạo đa chồi: Đoạn thân *in vitro* được tái sinh từ đoạn thân bánh tẻ cây Long não trong tự nhiên có chứa chồi ngủ được cấy vào môi trường MS + 2% sucrose + 0,7% agar và bổ sung thêm chất điều hòa sinh trưởng (bảng 1).

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm tạo đa chồi từ đoạn thân bánh tẻ cây Long nhãn.

Thứ tự		1	2	3	4	5	6	7	8
Chất điều hòa sinh trưởng (mg/l)	BAP	1	1	1	1	1,5	1,5	1,5	1,5
	Kinetin	0,3	0,5	0,7	0,9	0,3	0,5	0,7	0,9
Công thức thí nghiệm		LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	LP6	LP7	LP8

Phương pháp tạo rễ và tái sinh cây hoàn chỉnh: Chồi *in vitro* dài 3-4 cm, có 2-3 lá được cấy vào môi trường ra rễ MS bổ sung 2% sucrose, 0,7% agar và IBA (nồng độ 0,5; 0,7; 0,9 và 1,2 mg/l).

Các chỉ tiêu theo dõi và xử lý số liệu:

Các chỉ tiêu theo dõi được tính như sau:

Tỷ lệ mẫu sạch (%) = Tổng số mẫu sạch/Số mẫu cấy ban đầu x 100.

Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (%) = Tổng số mẫu sạch tái sinh/Số mẫu sạch x 100.

Hệ số nhân chồi = Tổng số chồi tạo thành/số chồi ban đầu.

Tỷ lệ chồi ra rễ (%) = Tổng số chồi ra rễ/Số chồi cấy ban đầu x 100.

Số rễ trung bình/chồi = Tổng số rễ tạo thành/Số chồi ra rễ.

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Số liệu thu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tạo vật liệu khởi đầu

Các mẫu đoạn thân bánh tẻ cây Long nhãn được khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ trong các khoảng thời gian khác nhau và tái sinh trong môi trường MS và WPM. Kết quả được trình bày ở các bảng 2 và 3.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng tới tỷ lệ tái sinh chồi từ đoạn thân cây Long nhãn trên môi trường MS.

Thứ tự	Công thức thí nghiệm	Thời gian khử trùng (phút)	Số lượng mẫu cấy	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (%)
1	VM1	4	105	16,19	100
2	VM2	5	124	19,23	91,90
3	VM3	6	115	40,70	87,23
4	VM4	7	117	49,93	55,17

Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng tới tỷ lệ tái sinh chồi từ đoạn thân cây Long nhãn trên môi trường WPM.

Thứ tự	Công thức thí nghiệm	Thời gian khử trùng (phút)	Số lượng mẫu cấy	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu sạch tái sinh (%)
1	VM5	4	117	13,65	100
2	VM6	5	121	20,62	92,50
3	VM7	6	119	40,89	85,42
4	VM8	7	110	50,44	56,36

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố về ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% đến tỷ lệ tạo mẫu sạch tái sinh đối với đoạn thân Long nhãn được nuôi cấy trong môi trường MS cho thấy, $F_{tính}=37,977 > F_{0,05}=4,066$ chứng tỏ rằng khi khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% thời gian khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ tạo mẫu sạch tái sinh ở đoạn thân cây Long nhãn. Công thức khử trùng phù hợp với đoạn thân cây Long nhãn trường thành là sử dụng $HgCl_2$ 0,1% trong 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch cao và tỷ lệ mẫu sạch tái sinh cao nhất.

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố về ảnh hưởng của thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% đến tỷ lệ tạo mẫu sạch tái sinh đối với đoạn thân Long nhãn được nuôi cấy trong môi trường WPM cho thấy, $F_{tính}=67,071 > F_{0,05}=5,143$ chứng tỏ thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt tới tỷ lệ tạo mẫu sạch tái sinh từ đoạn thân cây Long nhãn. Thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% là 6 phút cho tỷ lệ mẫu sạch cao đồng thời tỷ lệ mẫu sạch tái sinh cũng cao. Chồi tái sinh có chất lượng tốt, chồi mập và xanh.

Kết quả tạo vật liệu vô trùng trên 2 môi trường cho thấy, ở môi trường WPM chồi tái sinh phát triển tốt hơn sau cùng một thời gian nuôi cấy so với trên môi trường MS. Như vậy, môi trường WPM là phù hợp cho việc tái sinh chồi ở cây Long nhãn với thời gian khử trùng bằng $HgCl_2$ 0,1% là 6 phút.

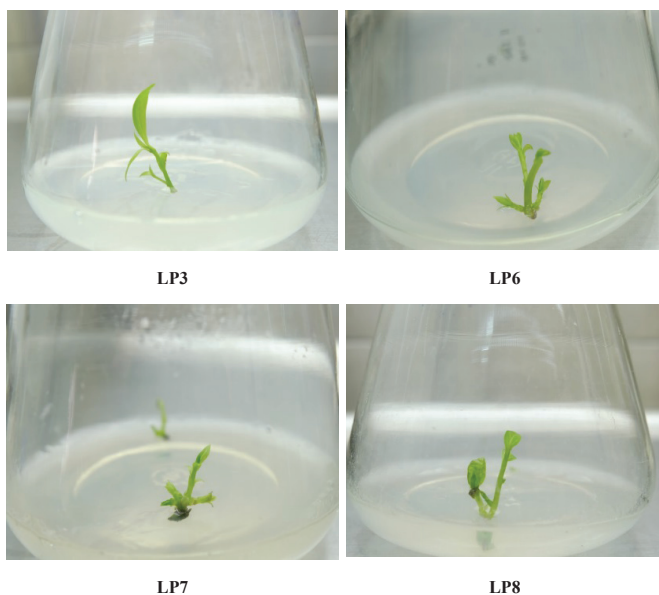
3.2. Nghiên cứu tạo đa chồi

Để tạo ra lượng lớn cây con có năng suất cao, chất lượng tốt và đồng đều trong thời gian ngắn nhằm phục vụ mục đích nhân giống, nghiên cứu đã sử dụng nguồn vật liệu từ đoạn thân *in vitro* tái sinh ở thí nghiệm trên và cấy vào môi trường MS có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng với các nồng độ khác nhau. Kết quả được thể hiện ở bảng 4 và hình 1.

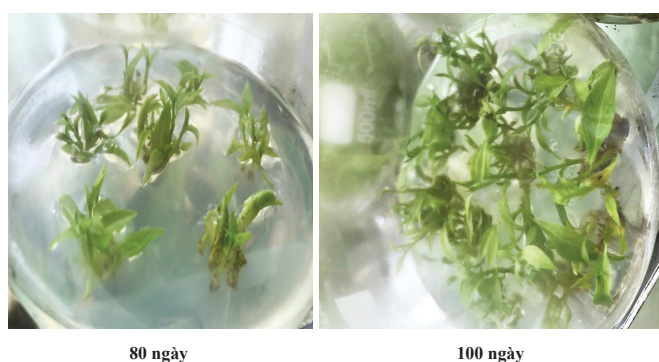
Bảng 4. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng tới khả năng tạo đa chồi cây Long nhãn (sau 4 tuần nuôi cấy).

Thứ tự	Công thức thí nghiệm	Nồng độ (mg/l)		Số lượng mẫu cấy	Số chồi trung bình/mẫu	Chất lượng chồi
		BAP	Kinetin			
1	LP1	1	0,3	97	1,10±0,04	++
2	LP2	1	0,5	105	1,44±0,06	+++
3	LP3	1	0,7	105	2,05±0,01	++
4	LP4	1	0,9	107	1,84±0,02	+
5	LP5	1,5	0,3	100	2,07±0,01	++
6	LP6	1,5	0,5	101	4,70±0,10	+++
7	LP7	1,5	0,7	98	3,19±0,21	++
8	LP8	1,5	0,9	97	2,57±0,03	++

+: Chất lượng chồi kém (các chồi mảnh, còi, yếu); ++: Chất lượng chồi khá (các chồi trung bình, cao, xanh đều); +++: Chất lượng chồi tốt (chồi cao, mập, thân và lá xanh đồng đều).



Hình 1. Kết quả nhân nhanh tạo đa chồi cây Long nhãn sau 4 tuần quan sát trong các môi trường nuôi cấy.



Hình 2. Kết quả tạo cụm chồi Long nhãn trong môi trường LP6 bổ sung 1,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l kinetin.

Kết quả phân tích phương sai một nhân tố về ảnh hưởng của BAP và kinetin tới hệ số nhân chồi *in vitro* cây Long nhãn cho thấy, $F_{\text{tính}} = 336,9062 > F_{0,05} = 2,6572$ chứng tỏ nồng độ BAP và kinetin khác nhau có ảnh hưởng khác nhau rõ rệt đến hệ số nhân chồi *in vitro* cây Long nhãn. Môi trường MS bổ sung BAP với nồng độ 1 mg/l kết hợp với kinetin ở nồng độ lần lượt là 0,3, 0,5, 0,7 và 0,9 mg/l thì chồi phát triển chậm, chưa tạo cụm chồi, số chồi tạo thành trên một cụm thấp (2,31 chồi/cụm) sau 4 tuần nuôi cấy.

Môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP kết hợp với kinetin ở các nồng độ 0,3, 0,5, 0,7 và 0,9 mg/l cụm chồi bắt đầu hình thành sau 4 tuần nuôi cấy, chồi xanh và mập. Hệ số nhân chồi và chất lượng chồi tăng dần khi bổ sung kinetin với nồng độ 0,3-0,5 mg/l đạt kết quả cao nhất khi kết hợp với 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin, hệ số nhân chồi đạt 4,8 chồi/cụm, chất lượng chồi tốt (hình 2). Đối với môi trường bổ sung 1,5 mg/l BAP kết hợp với nồng độ kinetin 0,5-0,9 mg/l có hệ số nhân chồi giảm dần. Nguyên nhân được cho là do tỷ lệ auxin nội sinh kết hợp với cytokinin ngoại sinh có thể kích thích hay ức chế sự phát triển của chồi.

Môi trường MS có BAP nồng độ 1 và 1,5 mg/l kết hợp với kinetin nồng độ 0,3 và 0,9 mg/l đã kích thích tạo đa chồi với tỷ lệ tăng dần tới khi đạt tới ngưỡng cao nhất. Với môi trường có 1,5 mg/l BAP bổ sung 0,5 và 0,9 mg/l kinetin đã ức chế khả năng tạo chồi, hệ số nhân chồi giảm dần.

Như vậy, môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l kinetin được lựa chọn là phù hợp cho tạo cụm chồi, kích thích sự phát triển của chồi Long nhãn.

Kết quả thu được tương tự với nghiên cứu của K.N. Babu và cs (2003) [1]: số chồi trung bình tạo thành là 13,96 chồi/cụm được nuôi cấy trong môi trường WPM bổ sung 13,32 mM BAP + 4,65 mM kinetin. Kết quả này cũng cho thấy sự tương đồng với nghiên cứu nhân giống tạo cụm chồi Re hương của K.T.H. Ninh và cs (2017) [8] với môi trường MS có bổ sung 2,2 mg/l BAP + 0,1 mg/l kinetin + 0,1 mg/l NAA cho hệ số nhân chồi là 3,5 chồi/mẫu, trong thời gian 80 ngày chồi đạt 2,2 cm. Tuy nhiên, khi so với kết quả nghiên cứu nhân giống cây Vù hương của N.V. Phong và cs (2009) [5] cho thấy, hệ số nhân chồi cây Long nhãn cao hơn, nhưng thời gian tạo cụm chồi lại lâu hơn. Đây có thể do đặc tính sinh lý của loài Long nhãn là cây thân gỗ lâu năm, sinh trưởng và phát triển tương đối chậm, nhiều khả năng chồi Long nhãn có nồng độ chất điều hòa sinh trưởng nội sinh thấp. Vậy nên, khi cấy chồi Long nhãn vào môi trường có bổ sung nồng độ BAP và kinetin cao thì cụm chồi mới được hình thành, phát triển chậm hơn so với các loài cây khác.

3.3. Ảnh hưởng của IBA tới khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh

Kết quả nghiên cứu về môi trường ra rễ được thể hiện ở bảng 5 và hình 3. Kết quả thăm dò ảnh hưởng của hàm lượng IBA tới khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh của Long não sau 60 ngày theo dõi cho thấy, chồi Long não khi cấy chuyển vào môi trường MS không bổ sung IBA thì không có khả năng ra rễ. Môi trường nuôi cấy bổ sung IBA với hàm lượng 0,5-0,9 mg/l có khả năng kích thích chồi ra rễ, đặc biệt với hàm lượng 0,9 mg/l cho tỷ lệ chồi ra rễ và số rễ trên chồi cao hơn (3,29 rễ/chồi), rễ mập, dài và cứng. Khi tăng nồng độ IBA tới 1,2 mg/l, số chồi ra rễ và số rễ trung bình/chồi giảm, chất lượng rễ kém hơn (rễ mảnh, ngắn).

Bảng 5. Ảnh hưởng của IBA tới khả năng ra rễ tạo cây hoàn chỉnh của chồi Long não.

Thứ tự	Công thức thí nghiệm	IBA (mg/l)	Số lượng mẫu cấy	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ trung bình/chồi	Chất lượng rễ
1	Đối chứng	0	25	0	-	-
2	RR1	0,5	25	12	1	+
3	RR2	0,7	25	32	1,75	++
4	RR3	0,9	25	64	3,29	+++
5	RR4	1,2	25	48	2,25	++

+: Chất lượng rễ kém, mảnh, ít rễ phụ; ++: Chất lượng rễ trung bình, rễ mảnh, ngắn, trắng; +++: Chất lượng rễ tốt, rễ mập, dài, cứng, trắng, nhiều rễ phụ.



Hình 3. Kết quả thăm dò ảnh hưởng của IBA ở công thức thí nghiệm RR3 tới khả năng ra rễ tạo cây Long não *in vitro* hoàn chỉnh sau 60 ngày nuôi cấy.

Như vậy, môi trường RR3 (MS + 0,9 mg/l IBA + 20 g/l sucrose + 7 g/l agar) thích hợp cho việc ra rễ *in vitro* cây Long não. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của H. Sharma và cs (2010) [2].

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các mẫu đoạn thân Long não được khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 6 phút cho khả năng tạo mẫu sạch và tái sinh chồi cao nhất. Tạo đa chồi Long não trong môi trường MS bổ sung 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l kinetin cho hệ số nhân chồi đạt 4,70 chồi/cụm. Tạo rễ và tái sinh hoàn chỉnh cây Long não trên môi trường MS bổ sung 0,9 mg/l IBA cho tỷ lệ chồi ra rễ cao (44%), số rễ trung bình 3,29 rễ/chồi, chất lượng rễ tốt: dài, mập, cứng, nhiều rễ phụ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K.N. Babu, A. Sajina, D. Minoo, et al. (2003), "Micropropagation of camphor tree (*Cinnamomum camphora*)", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **74**, pp.179-183, DOI: 10.1023/A:1023988110064.
- [2] H. Sharma, B.D. Vashistha (2010), "In vitro propagation of *Cinnamomum Camphora* (L.) Nees & Eberm using shoot tip explants", *Annals of Biology*, **26(2)**, pp.109-114.
- [3] N.T. Danh, L.X. Dac, L.T. Xuan (2005), "Preliminary results on in vitro propagation of Vu huong (*Cinnamomum balansae* Lecomte) by embryo culture technique of immature seeds contributing to biodiversity conservation", *Fundamental Issues of Life In Life Sciences*, Proceedings of the National Scientific Conference, Hanoi, Science and Technics Publishing House, pp.450-453 (in Vietnamese).
- [4] D.T. Huyen (2006), *Study on In Vitro Propagation of Cinnamomum balansae and Long-Leaved Paperbark (Melaleuca leucadendra)*, Graduation Thesis, Vietnam National University of Forestry (in Vietnamese).
- [5] N.V. Phong, N.T. Hang, N.N. Hoang (2009), "Propagation of Vu Huong to establish seedling sources for forest enrichment programs", *Journal of Ecological Economics*, **27**, pp.46-50 (in Vietnamese).
- [6] T. Murashige, F. Skoog (1962), "A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures", *Physiologia Plantarum*, **15(3)**, pp.473-497, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [7] G. Lloyd, B. McCown (1981), "Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel", *International Plant Propagators' Society*, **30**, pp.421-427.
- [8] K.T.H. Ninh, N.Q. Trang, B.V. Thang, et al. (2017), "In vitro propagation study of *Cinnamomum parthenoxylon* (Jack) Meisn", *Journal of Forestry Science and Technology*, **2017**, pp.42-48 (in Vietnamese).

Sự sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của cây rong Bắp sú *Kappaphycus striatus* nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên

Vũ Thị Mơ¹, Hoàng Thanh Tùng², Nguyễn Thị Như Mai³, Hoàng Đắc Khải³, Trần Mai Đức¹, Đặng Xuân Cường⁴, Lê Trọng Nghĩa¹, Trần Văn Huỳnh¹, Võ Thành Trung¹, Hồ Sơn Lâm¹, Đoàn Văn Thân¹, Đỗ Mạnh Cường³, Vũ Quốc Luận³, Nguyễn Ngọc Lâm¹, Dương Tấn Nhựt^{3*}

¹Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 1 Cầu Đá, phường Vĩnh Nguyên, TP Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

²Trường Đại học Đà Lạt, 1 Phù Đổng Thiên Vương, phường 8, TP Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

³Viện Khoa học sự sống, 9/621 Võ Nguyên Giáp, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Trường Đại học Công Thương TP Hồ Chí Minh, 140 Lê Trọng Tấn, phường Tây Thạnh, quận Tân Phú, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/3/2022; ngày chuyển phản biện 4/3/2022; ngày nhận phản biện 24/3/2022; ngày chấp nhận đăng 1/4/2022

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, cây rong Bắp sú (*Kappaphycus striatus*) 8 tuần tuổi có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* được nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên nhằm đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển và hàm lượng carrageenan của cây rong. Ở điều kiện bán tự nhiên, cây rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (8 nhánh/cây, chiều cao đạt 3,01 cm và khối lượng tươi đạt 1,23 g) nuôi trồng dưới điều kiện ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng lưới xanh đen ($250 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) cho tỷ lệ sống sót, khối lượng tươi, tốc độ tăng trưởng (TĐTT) cao hơn khi nuôi trồng trong các nguồn chiếu sáng khác (đèn huỳnh quang và ánh sáng tự nhiên) sau 8 tuần nuôi trồng. Tiếp theo, rong được nuôi trồng trong điều kiện tự nhiên tại vịnh Vân Phong (Khánh Hòa) theo phương pháp giàn phao nổi. Kết quả cho thấy, sau 10 tuần nuôi trồng, cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có khối lượng tươi và khô cao gấp 5,25 lần, TĐTT tích lũy gấp 4,42 lần, hàm lượng carrageenan đạt 28,83%, vượt trội hơn so với cây rong tự nhiên. Nghiên cứu này đã chứng minh được rằng, khả năng sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của rong Bắp sú có thể cải thiện thông qua nuôi cấy *in vitro*.

Từ khóa: bán tự nhiên, carrageenan, *Kappaphycus striatus*, tự nhiên.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

Growth and carrageenan content of *Kappaphycus striatus* micropropagules in semi-natural and natural conditions

Thi Mo Vu¹, Thanh Tung Hoang², Thi Nhu Mai Nguyen³, Dac Khai Hoang³, Mai Duc Tran¹, Xuan Cuong Dang⁴, Trong Nghia Le¹, Van Huynh Tran¹, Thanh Trung Vo¹, Son Lam Ho¹, Van Than Doan¹, Manh Cuong Do³, Quoc Luan Vu³, Ngoc Lam Nguyen¹, Tan Nhut Duong^{3*}

¹Institute of Oceanography, Vietnam Academy of Science and Technology, 1 Cau Da Street, Vinh Nguyen Ward, Nha Trang City, Khanh Hoa Province, Vietnam

²Da Lat University, 1 Phu Dong Thien Vuong Street, Ward 8, Da Lat City, Lam Dong Province, Vietnam

³Institute of Life Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 9/621 Vo Nguyen Giap Street, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, 140 Le Trong Tan Street, Tay Thanh Ward, Tan Phu District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 2 March 2022; revised 24 March 2022; accepted 1 April 2022

Abstract:

In this study, *in vitro* 8-week-old micropropagules of *K. striatus* were grown in semi-natural and natural conditions to evaluate the growth, development, and carrageenan content of the Seaweed. At the semi-natural conditions, *in vitro* 8-week-old micropropagules of *K. striatus* (8 branches plant, 3.01 cm in height, and 1.23 g in fresh weight) under natural light reduced to 1/2 light intensity by using a blue-black net ($250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), showed higher survival rate, fresh weight, and growth rate than under other lighting conditions (fluorescent lamp and natural light) after 8 weeks of culture. Then, seaweed was grown in the field in Van Phong bay (Khanh Hoa province) by the floating method. The results showed that the growth (5.25-fold of fresh and dry weight; 4.42-fold of growth rate) and carrageenan content (28.83%) of *in vitro* seaweed were higher than those of the natural seaweed after 10 weeks of culture. This study demonstrated that the growth and carrageenan content of *K. striatus* was improved by the *in vitro* culture method.

Keywords: carrageenan, *Kappaphycus striatus*, natural, semi-natural.

Classification numbers: 1.6, 4.6

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

1. Đặt vấn đề

Rong Bắp sú thuộc ngành rong đỏ (Rhodophyta), phân bố chủ yếu ở vùng biển nhiệt đới, trong các thủy vực biển hờ ven bờ nơi có sự trao đổi nước, độ mặn cao ổn định, nước trong và cường độ ánh sáng cao... [1]. Rong Bắp sú nổi bật với hàm lượng cao chất xơ, sắt, axit béo omega-3 [2] và các hợp chất chống oxy hóa [3]. Đặc biệt, nó còn là nguồn cung cấp nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quý giá, có tiềm năng ứng dụng trong các ngành dược phẩm và sinh học [4]. Ngoài ra, rong Bắp sú có chứa lượng lớn carrageenan - là một loại colloid nhóm phycocolloid được chiết xuất từ rong đỏ thuộc chi Kappaphycus. Carrageenan có cấu trúc phân tử dạng polysaccharide và đặc tính nổi bật là khả năng liên kết mạnh với các phân tử protein từ nguồn gốc động vật và thực vật [5]. Với những đặc tính nổi bật, carrageenan đã trở thành nguyên liệu quan trọng được khai thác trong nhiều ngành khác nhau, bao gồm thực phẩm, dược phẩm và công nghệ phủ bề mặt [6].

Vào năm 2005, Việt Nam đã thực hiện thành công việc du nhập và nuôi trồng rong Bắp sú có xuất xứ từ Philippines. Trong giai đoạn đầu sau khi được đưa vào môi trường mới, loài rong này cho thấy TĐTT cao và có thể canh tác quanh năm tại các khu vực ven biển nơi độ mặn duy trì ở mức cao và ổn định. Rong Bắp sú là loài có khả năng chịu mặn hẹp, với khoảng độ mặn thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển dao động trong khoảng 27-33‰. Nếu độ mặn giảm xuống dưới 20‰ trong thời gian kéo dài, sự tăng trưởng của rong sẽ bị đình trệ và rong có thể chết sau khoảng một tuần; ngược lại, khi độ mặn vượt quá ngưỡng 35 đến 40‰, sự phát triển của rong cũng bị suy giảm rõ rệt [7]. Khoảng nhiệt độ nước tối ưu nhất cho sự sinh trưởng và phát triển của rong bắp sú nằm trong khoảng từ 25 đến 30°C; khi nhiệt độ nước vượt quá 31°C, TĐTT giảm đáng kể, trong khi ở nhiệt độ dưới 15°C, rong có thể bị chết [8]. Nhu cầu về muối khoáng, đặc biệt là nitơ và phospho, của rong bắp sú tăng cao dưới điều kiện nhiệt độ cao và cường độ ánh sáng mạnh. Tuy nhiên, trong môi trường nước biển tự nhiên với khả năng trao đổi nước thường xuyên, lượng khoáng sẵn có thường đã đáp ứng đủ cho quá trình sinh trưởng và phát triển của rong [7]. Về nhu cầu ánh sáng, cường độ ánh sáng thích hợp cho rong Bắp sú dao động từ 585 đến 975 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, cường độ quá cao hoặc quá thấp đều ảnh hưởng đến sức sống của rong [9]. Ngoài ra, rong Bắp sú phát triển thuận lợi nhất tại các khu vực có điều kiện trao đổi nước liên tục.

Mặc dù đã được du nhập và nuôi trồng thành công, cho đến nay, kỹ thuật nhân giống duy nhất được áp dụng đối với rong Bắp sú vẫn là phương pháp sinh sản sinh dưỡng. Việc duy trì hình thức nhân giống vô tính trong thời gian dài, thiếu quá trình chọn lọc, đã dẫn đến tình trạng suy thoái giống và giảm sức sống của rong. Ngoài ra, do chịu tác động của các yếu tố môi trường, loài rong này đã ghi nhận sự biến

đổi không chỉ về TĐTT mà còn về hàm lượng cũng như chất lượng carrageenan. Đặc biệt, trong bối cảnh biến đổi khí hậu diễn biến phức tạp những năm gần đây, nguy cơ bùng phát dịch bệnh ngày càng gia tăng, ảnh hưởng tiêu cực đến năng suất và chất lượng rong nuôi trồng [5, 10].

Trong số các kỹ thuật được áp dụng trong nghiên cứu nhân giống rong biển, kỹ thuật nuôi cấy *in vitro* được đánh giá là phương pháp ít chịu ảnh hưởng của điều kiện thời tiết, tạo ra số lượng lớn cây giống, đồng thời tạo ra nguồn giống khỏe, ít nhiễm bệnh, có khả năng kháng bệnh cao, năng suất vượt trội, thích nghi tốt với điều kiện nghèo dinh dưỡng [11, 12]. Hiện nay, có nhiều phương pháp nhân giống *in vitro* đối với rong biển, bao gồm: tái sinh chồi trực tiếp, nuôi cấy tế bào đơn, phát sinh phôi vô tính trực tiếp và phát sinh phôi vô tính gián tiếp thông qua mô sẹo [11, 13, 14]. Giai đoạn cuối cùng của quy trình nhân giống *in vitro* là chuyển cây con ra môi trường tự nhiên (*ex vitro*). Tỷ lệ sống sót của cây con sau khi chuyển ra điều kiện *ex vitro* phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có tình trạng sinh lý, kích thước cây con và các yếu tố môi trường, đặc biệt là nguồn ánh sáng [15]. Trong số các yếu tố ảnh hưởng đến giai đoạn thích nghi của cây rong, kích thước cây con và nguồn ánh sáng là hai yếu tố then chốt ảnh hưởng đến khả năng sống sót khi chuyển sang điều kiện môi trường tự nhiên. Việc xác định kích thước cây con lý tưởng trước khi đưa ra môi trường nuôi trồng là yếu tố quan trọng giúp nâng cao tỷ lệ sống và nâng cao hiệu quả sản xuất. Thêm vào đó, thiết lập hệ thống chiếu sáng thích hợp cho từng giai đoạn phát triển của cây con nuôi cấy *in vitro* sẽ tạo điều kiện để cây dần làm quen với ánh sáng tự nhiên, hỗ trợ quá trình thích nghi trước khi chuyển ra môi trường bên ngoài, từ đó hỗ trợ khả năng quang hợp và phát triển. Do được nuôi trong điều kiện vô trùng với ánh sáng và nhiệt độ thấp, cây rong *in vitro* cần phải trải qua một quá trình điều chỉnh để thích ứng dần với những điều kiện môi trường khắc nghiệt hơn. Quá trình này thường diễn ra trong các bể kính, nơi các yếu tố như nhiệt độ và cường độ ánh sáng được điều chỉnh dần dần để gần với điều kiện tự nhiên. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá sự phát triển và chất lượng của cây con nuôi cấy mô trong môi trường bán tự nhiên và tự nhiên, đồng thời so sánh với cây phát triển tự nhiên ngoài môi trường.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Cây con 8 tuần tuổi có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (kích thước khoảng 2,5 cm, khối lượng khoảng 1 g và có 8 nhánh) của dòng rong nâu *Sacoli* thuộc loài rong Bắp sú, đang được nuôi trồng tại Phòng Thí nghiệm vật liệu hữu cơ từ tài nguyên biển (Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang). Nguồn gốc rong *in vitro* là rong Bắp sú bố mẹ đã sinh trưởng tại vịnh Vân Phong, Khánh Hòa từ năm 2005.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tác động của loại cây con nuôi cấy in vitro đối với sự phát triển của rong Bắp sú trong giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên: Cây rong Bắp sú 8 tuần tuổi có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* của 6 loại khác nhau (kích thước, số nhánh và khối lượng tươi) được chuyển ra nuôi trồng *ex vitro* nhằm đánh giá sự phát triển của rong ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên (bảng 1). Rong được cố định vào mảnh vụn san hô hoặc đá (kích thước 5×10 cm), đặt trong bể kính có thể tích 100 l (kích thước 25×35×50 cm), sục khí liên tục bằng máy để hàm lượng oxy hòa tan đạt 7,8-11,5 mg.l⁻¹, nhiệt độ 25-27°C và được đặt dưới nguồn ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng lưới xanh đen. Theo dõi sự phát triển của rong, màu nước hàng ngày. Môi trường nuôi trồng rong là PES [9] được chuẩn bị bằng nước biển có độ mặn 30-35‰ đã được lọc qua lưới có kích thước lỗ 22 μm.

Bảng 1. Phân loại cây rong *in vitro* dựa trên các chỉ tiêu sinh trưởng để sử dụng làm nguồn mẫu cho thí nghiệm.

Loại cây	Số nhánh (nhánh/cây)	Chiều cao (cm)	Khối lượng tươi (g)
1	3,00±0,00	0,52±0,06	0,36±0,08
2	4,00±0,00	1,00±0,09	0,53±0,06
3	5,00±0,00	1,49±0,10	0,63±0,12
4	6,00±0,00	2,06±0,16	0,86±0,05
5	7,00±0,00	2,52±0,10	0,96±0,05
6	8,00±0,00	3,01±0,12	1,23±0,06

Tác động của nguồn ánh sáng đối với sự sinh trưởng của rong Bắp sú có nguồn gốc từ nuôi cấy in vitro ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên: Cây con 8 tuần tuổi có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* được cố định vào mảnh vụn san hô hoặc đá (kích thước 5×10 cm), đặt trong bể kính có thể tích 100 l (kích thước 25×35×50 cm), sục khí liên tục bằng máy để hàm lượng oxy hòa tan luôn duy trì 7,8-11,5 mg.l⁻¹, nhiệt độ 25-27°C. Ánh sáng cung cấp cho rong từ các nguồn ánh sáng khác nhau (bảng 2) nhằm khảo sát tác động của nguồn ánh sáng đối với sự sinh trưởng cây con có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên. Chu kỳ chiếu sáng 12 giờ/ngày đối với các nghiệm thức sử dụng hệ thống chiếu sáng. Theo dõi sự phát triển của rong và màu nước hàng ngày. Môi trường nuôi trồng là dung dịch PES được pha bằng nước biển có độ mặn 30-35‰ đã được lọc qua lưới có kích thước lỗ 22 μm.

Trong thí nghiệm ảnh hưởng của loại cây con và nguồn ánh sáng, thay toàn bộ nước và bổ sung môi trường dinh dưỡng 1 lần/tuần. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với mỗi nghiệm thức 3 bể kính, mỗi bể kính chứa 10 cây.

Bảng 2. Các đặc tính của nguồn ánh sáng.

Nguồn ánh sáng	Đặc điểm	Cường độ ánh sáng (μmol.m ⁻² .s ⁻¹)
1	Ánh sáng trắng đèn huỳnh quang	55
2	Ánh sáng trắng đèn huỳnh quang	75
3	Ánh sáng tự nhiên có giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng mái che (mái tôn trong và lưới màu xanh đen)	250
4	Ánh sáng tự nhiên	500

Giai đoạn nuôi trồng ngoài tự nhiên tại vịnh Vân Phong: Sau giai đoạn nuôi trồng bán thích nghi, các cây rong con đạt chất lượng tốt nhất từ các nghiệm thức tối ưu được chuyển ra môi trường tại vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa để đánh giá tình trạng sinh trưởng và sự phát triển của cây giống. Các bụi rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và các bụi đối chứng (có nguồn gốc từ tự nhiên) được tách thành các cụm có khối lượng khoảng 50 g/bụi, sau đó buộc cố định vào dây thùng xanh với khoảng cách giữa các bụi là 40 cm và dây rong được đặt trên giàn ở độ sâu cách mặt nước 50 cm [5]. Vị trí vịnh Vân Phong nằm ở tọa độ 109°10' Đông và 12°29' Bắc, có đặc điểm nền đáy chủ yếu là rạn san hô chết và đá sỏi lớn; các yếu tố môi trường như: nhiệt độ nước dao động 26-28°C, pH 8,04-8,20 và cường độ ánh sáng 257-325 μmol.m⁻².s⁻¹. Trong quá trình nuôi trồng, cứ sau mỗi 2 tuần nuôi, rong được đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, bao gồm khối lượng tươi (g), khối lượng khô (g) và TĐTT.

Đánh giá hàm lượng và chất lượng carrageenan: Thu thập rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và ngoài tự nhiên được nuôi ngoài tự nhiên ở vịnh Vân Phong tại thời điểm có tỷ lệ tích lũy chất khô cao nhất. Rong thu về được rửa sạch dưới vòi nước nhiều lần nhằm loại bỏ cát, đá, tảo tạp và sinh vật bám. Sau đó, rong được làm khô bằng cách phơi ở điều kiện phòng đến khi khối lượng không đổi. Các mẫu rong khô này được sử dụng để phân tích hàm lượng và đánh giá chất lượng carrageenan.

Quy trình xác định hàm lượng carrageenan được thực hiện như sau: Cân 20 g mẫu rong khô, sau đó cho vào 400 ml dung dịch KOH 6% và đun ở 80°C trong vòng 2 giờ. Tiếp đến, mẫu rong được nấu tiếp với 400 ml nước cất ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 2 giờ. Dịch chiết thu được sau đó được lọc qua vải để loại bỏ bã, phần dịch lọc được gel hóa bằng cách bổ sung dung dịch KCl 0,2%, sau đó trải qua quá trình đông lạnh và rã đông tối thiểu hai lần nhằm tăng hiệu quả gel hóa. Cuối cùng, carrageenan được sấy ở nhiệt độ 60°C cho đến khi khối lượng ổn định [16].

Hàm lượng carrageenan được xác định bằng công thức sau:

$$HL_c = M_c/M_r \times 100$$

trong đó: HL_c (%): Hàm lượng carrageenan; M_c (g): Khối lượng carrageenan thu được; M_r (g): Khối lượng khô của rong.

Đo sức đông: Cân 1,5 g carrageenan, thêm vào 100 ml nước cất và gia nhiệt ở 70°C trong 30 phút. Sau khi thu được

dung dịch đồng nhất, đổ dung dịch vào đĩa petri đến đầy. Đĩa petri chứa mẫu carrageenan sau đó được đặt lên thiết bị đo sức đông Rheo Meter (Model CR-500DX, Sun Scientific Co., Ltd., Nhật Bản) và tiến hành đo tại 3 vị trí khác nhau trên bề mặt đĩa [17].

Đo độ nhớt: Tương tự, cân 1,5 g carrageenan, bổ sung 100 ml nước cất và gia nhiệt ở 70°C trong 30 phút để thu được dung dịch đồng nhất. Dung dịch sau đó được chuyển vào cốc có dung tích 100 ml và đặt dưới máy đo độ nhớt DV-E Viscometer (Mỹ) để tiến hành đo; kết quả được ghi nhận theo thông số hiển thị trên thiết bị [17].

Các chỉ tiêu theo dõi: Xác định khối lượng tươi của rong: Khối lượng tươi của rong Bắp sú được xác định bằng cân đồng hồ có giới hạn tối đa 500 g và độ chia nhỏ nhất 5 g. Trước khi tiến hành cân, rong được thấm khô bằng giấy để loại bỏ lượng nước tự do trên bề mặt; xác định khối lượng khô: Sau khi xác định khối lượng tươi, mẫu rong được sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ từ 60 đến 70°C cho đến khi đạt khối lượng không đổi. Sau đó, mẫu được cân để xác định khối lượng khô.

TĐTT của rong Bắp sú được tính theo công thức của C.E.P. Penniman và cs (1986) [18] như sau:

$$GR = [(W_t/W_0)^{1/t} - 1] \times 100$$

trong đó: GR: TĐTT của rong Bắp sú (%/ngày); t: Thời gian giữa hai lần cân (ngày); W_0 : Khối lượng tươi ban đầu của rong Bắp sú (g); W_t : Khối lượng tươi rong Bắp sú sau thời gian t ngày (g).

Ngoài ra, tỷ lệ tích lũy chất khô (%) được xác định là tỷ số giữa khối lượng khô và khối lượng tươi của rong.

2.3. Xử lý số liệu

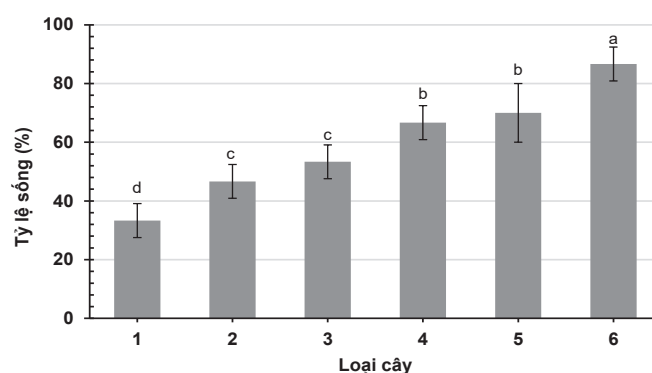
Thí nghiệm được thiết kế theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm ba lần lặp, mỗi nghiệm thức gồm 30 mẫu. Dữ liệu thu thập được xử lý bằng Microsoft Excel 2010, sau đó tiến hành phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA) và kiểm định sự khác biệt giữa các trung bình bằng phép thử Duncan ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ [19] sử dụng phần mềm SPSS 16.0.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Sự sinh trưởng của rong Bắp sú *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên

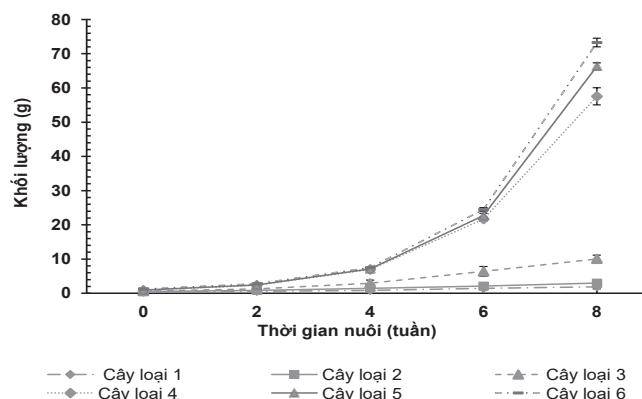
Kết quả sau 8 tuần nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên, sự sinh trưởng và phát triển của loại cây rong số 6 (8 nhánh; kích thước và khối lượng lần lượt là 3,01 cm và 1,23 g) tốt nhất so với các loại cây được thí nghiệm còn lại. Số nhánh/cây, kích thước và khối lượng của các cây rong thuộc sáu loại có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* đã ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây con sau 8 tuần nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên. Từ các chỉ tiêu theo dõi và được trình bày ở các hình 1-3, có thể thấy loại cây khi đưa ra ngoài nuôi thích nghi có

vai trò quyết định đối với quá trình sinh trưởng. Nhìn chung, khả năng sinh trưởng tăng dần khi kích thước, số nhánh và khối lượng của cây giống tăng. Cây con có kích thước lớn thường có tỷ lệ sống sót cao hơn và TĐTT tốt hơn so với cây con có kích thước nhỏ. Cây con rong nâu *Saccol* loại 6 đạt tỷ lệ sống cao nhất: $86,67 \pm 5,77\%$. Tiếp theo là cây con loại 4 và 5 có tỷ lệ sống đạt $66,67 \pm 5,77$ đến $70,00 \pm 10\%$. Tỷ lệ sống thấp nhất là cây loại 1 đạt $33,33 \pm 5,77\%$ (hình 1).



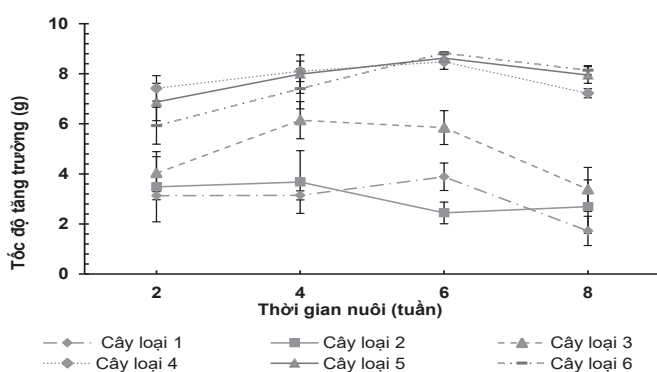
Hình 1. Tác động của loại cây con rong nâu *Saccol in vitro* đến tỷ lệ sống ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng. Các chữ cái khác nhau (a, b, c, d) trên các cột thể hiện sự khác biệt thống kê với phép thử Duncan (với $p < 0,05$). Cây loại 1: số nhánh $3,00 \pm 0,00$ nhánh/cây; chiều cao $0,52 \pm 0,06$ cm; khối lượng tươi $0,36 \pm 0,08$ g; cây loại 2: số nhánh $4,00 \pm 0,00$ nhánh/cây; chiều cao $1,00 \pm 0,09$ cm; khối lượng tươi $0,53 \pm 0,06$ g; cây loại 3: số nhánh $5,00 \pm 0,00$ nhánh/cây; chiều cao $1,49 \pm 0,10$ cm; khối lượng tươi $0,63 \pm 0,12$ g; cây loại 4: số nhánh $6,00 \pm 0,00$ nhánh/cây; chiều cao $2,06 \pm 0,16$ cm; khối lượng tươi $0,86 \pm 0,05$ g; cây loại 5: số nhánh $7,00 \pm 0,00$ nhánh/cây; chiều cao $2,52 \pm 0,10$ cm; khối lượng tươi $0,96 \pm 0,05$ g; cây loại 6: số nhánh $8,00 \pm 0,00$ nhánh/cây; chiều cao $3,01 \pm 0,12$ cm; khối lượng tươi $1,23 \pm 0,06$ g.

Khối lượng tươi của các loại cây *in vitro* khác nhau nuôi ở điều kiện bán tự nhiên khác nhau sau 8 tuần nuôi. Các loại cây con đều có khối lượng tươi thấp ở những tuần đầu nuôi trồng. Đến tuần nuôi thứ 6, khối lượng cây con tăng lên rõ rệt. Kết thúc 8 tuần thí nghiệm, cây con loại 6 có khối lượng tươi cao nhất ($73,27 \pm 1,27$ g), tiếp theo là cây con loại 5 ($66,33 \pm 1,02$ g). Khối lượng tươi thấp nhất là cây con loại 1 và 2, tương ứng đạt $1,87 \pm 0,60$ g và $3,00 \pm 1,00$ g (hình 2).

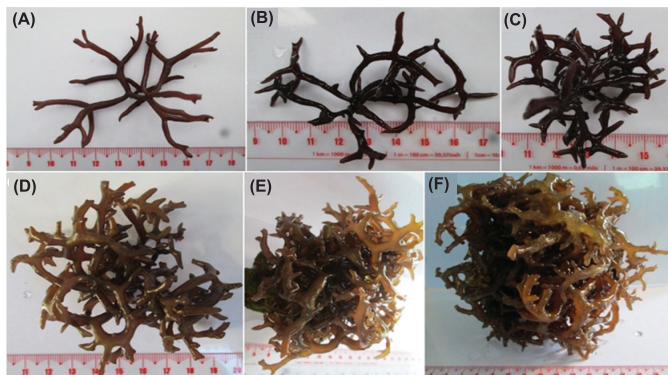


Hình 2. Tác động của loại cây con rong nâu *Saccol in vitro* đối với khối lượng tươi ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.

Tương tự như tỷ lệ sống và khối lượng tươi của rong, loại cây giống ban đầu ảnh hưởng đến TĐTT sau 8 tuần nuôi cấy. TĐTT của các loại cây con biến động ở các tuần nuôi, xu hướng chung là giai đoạn đầu TĐTT thấp, sau đó tăng lên vào tuần nuôi thứ 4 và 6 và giảm dần ở tuần nuôi thứ 8. Xét cả quá trình nuôi, TĐTT tích lũy thấp nhất là cây con loại 1 và 2 ($2,97 \pm 0,23\%/ngày$ và $3,07 \pm 0,66\%/ngày$, tương ứng), rong phân nhánh ít, cây còi cọc và chậm phát triển (hình 3, hình 4A và 4B). Tiếp theo, cây con loại 3 có TĐTT tích lũy đạt $5,08\%/ngày$ với đặc điểm cây phân nhánh ít (hình 3 và hình 4C). Cây loại 4, 5, 6 có TĐTT cao nhất đạt ($7,57 \pm 0,45$ đến $7,86 \pm 0,51\%/ngày$), cao hơn đáng kể so với TĐTT của các loại cây còn lại, cây rong sinh trưởng tốt, ra nhiều nhánh thứ cấp, đầu nhánh vót nhọn, thân rong mập và rong cuộn lại thành một cụm lớn (hình 3 và hình 4D-4F).



Hình 3. Tác động của chất lượng cây con rong nâu *Sacol* *in vitro* đến tốc độ tăng trưởng ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.



Hình 4. Hình thái của cây con dòng rong nâu *Sacol*, có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro*, được quan sát từ các cây khác nhau sau 8 tuần nuôi trồng ở giai đoạn thích nghi. Các cây được đánh số từ 1 đến 6, tương ứng với các hình A, B, C, D, E, F.

Kết quả cho thấy rằng, các cây con ban đầu có kích thước từ 2 cm trở lên cho khả năng sống sót rất cao, trong khi cây con dưới 2 cm sinh trưởng kém và có tỷ lệ chết cao. Điều này có thể là do các cây có kích thước lớn có đặc điểm cây khỏe, các nhánh rong già. Khi chuyển ra nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên chúng dễ dàng thích nghi hơn. Mặc dù, điều kiện bán tự nhiên khác biệt rất nhiều so với điều kiện *in vitro*, nhưng do có kích thước lớn, khỏe nên cây vẫn chống

chịu được với những thay đổi đột ngột về các điều kiện môi trường xung quanh như môi trường nghèo dinh dưỡng, nhiều nguồn bệnh và cường độ ánh sáng cao. Điều này làm cho cây yếu dần nếu không cung cấp đủ dinh dưỡng cho cây. Tuy nhiên, điều quan trọng là cây có khả năng chống chịu tốt mới đáp ứng được điều kiện khắc nghiệt bán tự nhiên, các cây có kích thước lớn thì khả năng chống chịu tốt nên cây nhanh chóng phục hồi và nhanh phát triển. Hơn nữa, điều kiện bên ngoài thoáng, cây lại có số nhánh nhiều và diện tích tiếp xúc lớn, khả năng quang hợp tốt nên cây sinh trưởng nhanh và gia tăng kích thước nhiều.

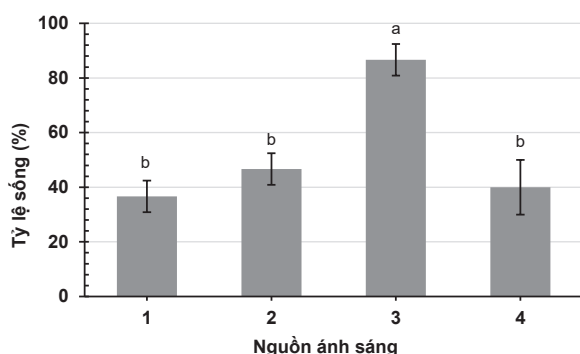
Giai đoạn đầu khi được chuyển ra điều kiện *ex vitro*, cây con cần thích nghi với môi trường nên chúng sinh trưởng chậm mà chủ yếu là để phục hồi những mất mát do việc chuyển từ môi trường lý tưởng ra môi trường tự nhiên kém lý tưởng hơn.

Giai đoạn sau, khi đã thích nghi với môi trường mới, chế độ chăm sóc hợp lý, cây con sinh trưởng rất mạnh, cây càng lớn thì khả năng sinh trưởng càng tăng, tốc độ quang hợp của cây ngày càng cao (tốc độ quang hợp tỷ lệ thuận với diện tích tán rong và số lượng nhánh của cây). Còn các cây có kích thước quá bé thường có khả năng chống chịu kém, rất nhạy cảm với các thay đổi môi trường xung quanh nên dễ bị sốc dẫn đến cây kém phát triển và tỷ lệ cây chết cao. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả của C.R.K. Reddy và cs (2003) [11] trên đối tượng cây rong Sụn - loài rong có kích thước 3-5 cm và có khả năng thích nghi tốt với điều kiện tự nhiên.

Qua việc theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của cây con ở điều kiện bán tự nhiên cho thấy, để tăng tỷ lệ sống sót của cây con khi chuyển ra nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên cần chú ý đến kích thước cây, các cây có kích thước càng lớn thì tỷ lệ sống sót càng cao, khả năng sinh trưởng càng tốt. Việc chuyển các cây con có kích thước khoảng 2 cm trở lên ra điều kiện *ex vitro* cho kết quả tốt. Như vậy, các cây giống tốt đạt chất lượng cao thì tiêu chí đầu tiên phải quan tâm đó là có kích thước từ 2 cm trở lên, có 7-8 nhánh, nhánh có màu sắc tự nhiên, không có những biểu hiện bất thường về hình thái và sinh lý.

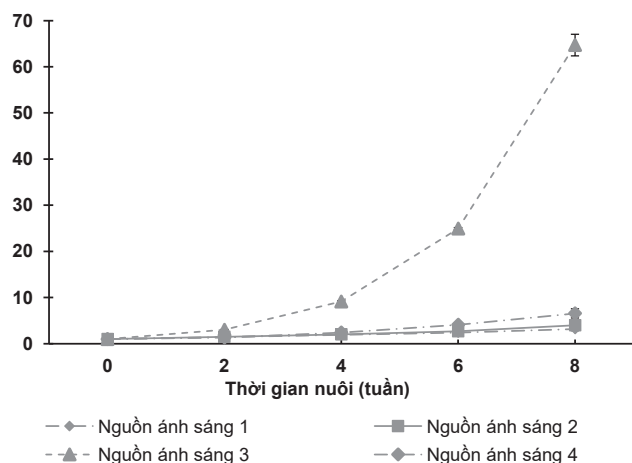
Sau khi tìm được loại cây con có chất lượng tốt, tiến hành nuôi dưới các nguồn sáng khác nhau. Kết quả sau 8 tuần nuôi thích nghi trong điều kiện bán tự nhiên cho thấy rằng, cây rong được nuôi dưới nguồn ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng tôn trong và lưới xanh đen (nguồn ánh sáng 3) là tốt nhất so với các nghiệm thức còn lại.

Nguồn ánh sáng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây con có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro*. Tỷ lệ sống cao nhất của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* là $86,67 \pm 5,77\%$ khi nuôi dưới nguồn ánh sáng tự nhiên có giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng tôn trong và lưới xanh đen (nguồn ánh sáng 3). Ở nguồn ánh sáng trắng từ đèn huỳnh quang (nguồn ánh sáng 1 và 2) và nguồn sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) thì tỷ lệ sống đạt $36,67 \pm 5,77$ đến $46,67 \pm 5,77\%$ (hình 5).



Hình 5. Tác động của nguồn ánh sáng đến tỷ lệ sống của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng. Các chữ cái khác nhau (a, b) trên các cột thể hiện sự khác biệt thống kê với phép thử Duncan (với $p < 0,05$).

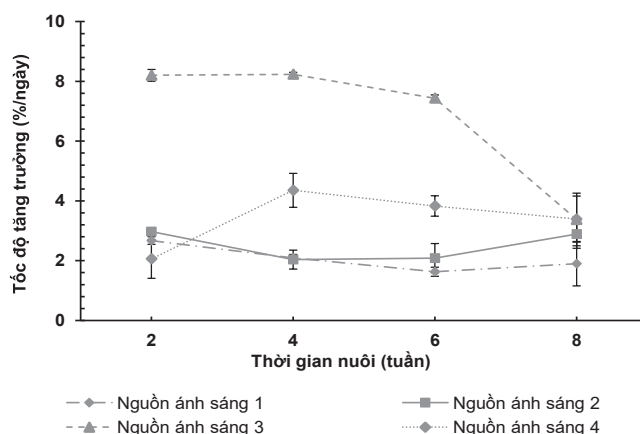
Tương tự tỷ lệ sống, khối lượng tươi của cây con sau 8 tuần nuôi ở các nguồn ánh sáng khác nhau thì khác nhau. Khối lượng tươi của cây con cao nhất (64,70 g) ở nghiệm thức nguồn ánh sáng tự nhiên có giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng tôn trong và lưới xanh đen (nguồn ánh sáng 3). Khối lượng tươi của rong thấp nhất ở nghiệm thức nuôi dưới nguồn ánh sáng trắng đèn huỳnh quang (nguồn ánh sáng 1 và 2) và nguồn sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) (hình 6).



Hình 6. Ảnh hưởng của nguồn ánh sáng đến khối lượng tươi của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.

Kết quả sau 8 tuần nuôi ở điều kiện bán tự nhiên, TĐTT của cây con có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* biến đổi phụ thuộc vào nguồn ánh sáng (hình 7). Rong được nuôi dưới nguồn ánh sáng 3 có TĐTT cao nhất ở tất cả các thời điểm. Xét cả quá trình thí nghiệm, ở nguồn ánh sáng trắng đèn huỳnh quang (nguồn ánh sáng 1 và 2), TĐTT tích lũy của rong thấp nhất ($2,07 \pm 0,31$ đến $2,50 \pm 0,25\%$ /ngày); rong phát triển chậm và phân nhánh ít. Sau 8 tuần thí nghiệm, rong bị mất màu rải rác tại các vị trí phân nhánh và đầu nhánh. Sau đó, rong bị nhũn và đứt gãy - dấu hiệu của thiếu ánh sáng để quang hợp trong thời gian dài. Cây có TĐTT

tích lũy cao nhất ($6,81 \pm 0,22\%$ /ngày) ở nguồn ánh sáng 3, rong phân chia rất nhiều nhánh thứ cấp, đầu nhánh vót nhọn và có màu nâu nhạt, thân rong có nhiều đốm màu sữa; đây là đặc điểm điển hình của giai đoạn sinh trưởng mạnh. Khi nuôi ở nguồn sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) TĐTT tích lũy của rong là $3,41 \pm 0,27\%$ /ngày, rong phân nhánh ít và cây chậm phát triển.

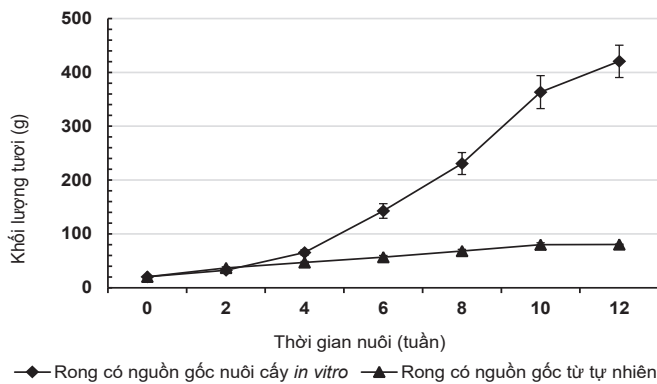


Hình 7. Ảnh hưởng của nguồn ánh sáng đến tốc độ tăng trưởng của cây con dòng rong nâu *Sacol* có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên sau 8 tuần nuôi trồng.

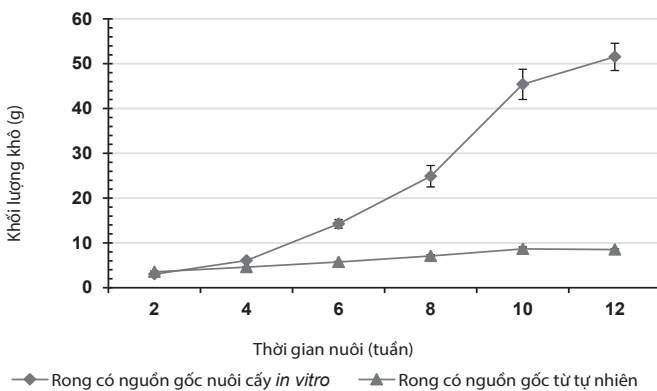
Ánh sáng đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của thực vật nói chung cũng như rong biển nói riêng, thông qua các cơ chế như quang chu kỳ, quang hợp và quang hình thái. Thông thường, cây nuôi cấy trong môi trường *in vitro* có nhu cầu ánh sáng thấp hơn so với cây được trồng ngoài điều kiện tự nhiên (*ex vitro*). Bên cạnh vai trò là nguồn năng lượng cho quá trình quang hợp, ánh sáng còn tham gia điều tiết nhiều hoạt động sinh lý và phát triển của thực vật. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, rong Bắp sú phát triển tốt nhất ở cường độ ánh sáng $125-145 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ dưới ánh sáng trắng đèn huỳnh quang [20]. Trong điều kiện tự nhiên, cường độ ánh sáng thích hợp nhất $585-975 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, ánh sáng quá cao hay quá thấp đều ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của rong [21]. Như vậy, trong giai đoạn nuôi trồng bán tự nhiên, cần cung cấp cường độ ánh sáng $250 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ bằng cách sử dụng tôn trong và lưới xanh đen giảm 1/2 cường độ ánh sáng tự nhiên (nguồn ánh sáng 4) để rong phát triển tốt và sử dụng nguồn ánh sáng này để nghiên cứu thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Sự sinh trưởng của rong Bắp sú *in vitro* ở giai đoạn nuôi trồng ngoài tự nhiên

Trong giai đoạn nuôi trồng ngoài tự nhiên, sau 12 tuần cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và đối chứng (rong có nguồn gốc ngoài tự nhiên) được nuôi trồng ở vịnh Vân Phong, tỉnh Khánh Hòa. Kết quả ghi nhận, các chỉ tiêu sinh trưởng của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* luôn luôn cao hơn so với đối chứng là rong có nguồn gốc từ tự nhiên.



Hình 8. Khối lượng tươi rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 12 tuần.

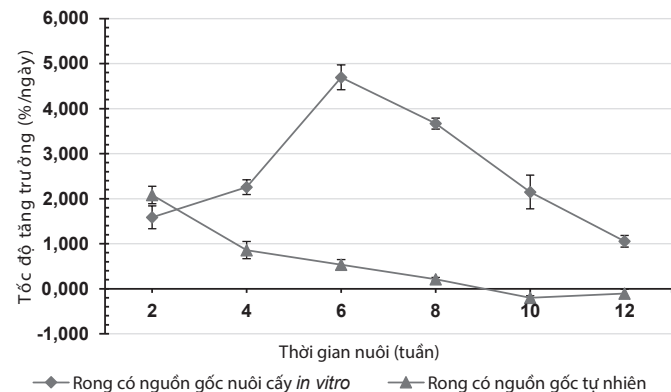


Hình 9. Khối lượng khô rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 12 tuần.

Khối lượng tươi và khô của cây rong sau 12 tuần nuôi trồng ngoài tự nhiên khác nhau và ảnh hưởng bởi nguồn gốc giống. Cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có khối lượng tươi và khô ($32,63 \pm 2,14$ và $3,00 \pm 0,17$ g, tương ứng) thấp hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên ($36,97 \pm 1,86$ và $3,53 \pm 0,21$ g, tương ứng, $p < 0,05$) vào tuần nuôi thứ 2. Những tuần tiếp theo, khối lượng tươi và khô của rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* tăng nhanh và luôn luôn cao hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên. Kết thúc thí nghiệm, khối lượng tươi và khô của rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* lần lượt là $420,57 \pm 30,01$ và $51,53 \pm 3,05$ g, cao hơn 5,25 lần so với khối lượng tươi và khô của rong có nguồn gốc từ tự nhiên ($80,17 \pm 0,81$ và $8,50 \pm 0,17$ g, tương ứng) (hình 8 và 9).

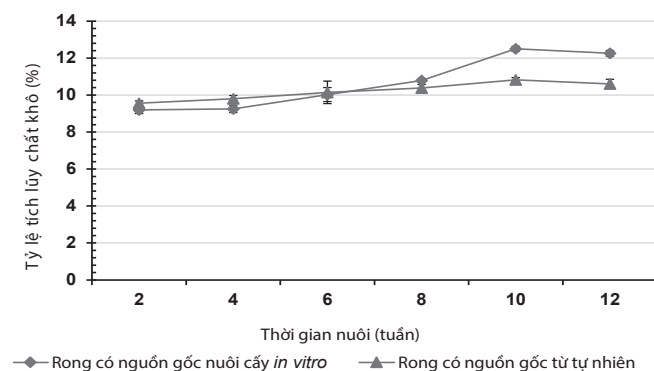
Tương tự như khối lượng tươi và khô, TĐTT của rong Bắp sú cũng khác nhau trong mỗi lần thu số liệu và phụ thuộc vào nguồn gốc rong giống. Sau 2 tuần nuôi, TĐTT của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ($1,59 \pm 0,25\%$) thấp hơn TĐTT của rong có nguồn gốc từ tự nhiên ($2,08 \pm 0,20\%$ /ngày). Tuy nhiên, trong những tuần tiếp theo, TĐTT của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* luôn cao hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên. Vào tuần nuôi thứ 6, TĐTT của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt mức cao nhất

($4,70 \pm 0,28\%$ /ngày), trong khi TĐTT của rong có nguồn gốc từ tự nhiên có xu hướng giảm so với thời gian đầu thả giống ($0,53 \pm 0,12\%$ /ngày). Kết thúc thí nghiệm, TĐTT của cả hai nghiệm thức đều giảm; rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt $1,05 \pm 1,13\%$ /ngày, trong khi rong có nguồn gốc từ tự nhiên ghi nhận mức tăng trưởng âm ($-0,11 \pm 0,09\%$ /ngày). Nếu xét tổng thể trong suốt quá trình nuôi, TĐTT tích lũy của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cao hơn 4,42 lần (đạt $2,57 \pm 1,63\%$ /ngày) so với TĐTT của rong có nguồn gốc từ tự nhiên ($0,57 \pm 0,84\%$ /ngày) (hình 10).



Hình 10. Tốc độ tăng trưởng của rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 12 tuần.

Tỷ lệ tích lũy chất khô của rong Bắp sú thay đổi theo nguồn gốc giống và thời gian nuôi trồng. Tỷ lệ này có xu hướng tăng dần theo thời gian nuôi trồng. Sau hai tuần nuôi, tỷ lệ tích lũy chất khô của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ($9,21 \pm 0,23\%$) thấp hơn so với rong có nguồn gốc từ tự nhiên ($9,56 \pm 0,12\%$). Sau 10 tuần nuôi trồng, tỷ lệ tích lũy chất khô đạt giá trị cao nhất ở cả hai nhóm giống. Tuy nhiên, tỷ lệ tích lũy chất khô của rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* ($12,50 \pm 0,14\%$) vượt trội hơn so với rong tự nhiên ($10,81 \pm 0,25\%$). Kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ tích lũy chất khô giảm nhẹ ở cả hai nhóm giống, nhưng sự thay đổi này không đáng kể (hình 11). Do đó, rong được thu hoạch vào tuần thứ 10 để xác định hàm lượng cũng như chất lượng carrageenan.



Hình 11. Tỷ lệ tích lũy chất khô của cây rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên sau 10 tuần nuôi trồng ngoài tự nhiên.

Cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đã được quen với môi trường phát triển vô trùng, nhiệt độ và cường độ ánh sáng thấp. Do đó, khi chuyển sang môi trường bên ngoài có điều kiện khắc nghiệt hơn, cần có một giai đoạn chuyển tiếp để cây rong dần thích nghi với điều kiện tự nhiên. Quá trình này được thực hiện bằng cách nuôi cây trong các bể kính với nhiệt độ và cường độ ánh sáng tăng dần cho đến khi đạt được điều kiện môi trường tự nhiên. Trong giai đoạn đầu thả giống, rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cần thời gian để thích ứng với môi trường tự nhiên, do đó TĐTT ban đầu (1,59%/ngày) thấp hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên (2,08%/ngày). Trong suốt 12 tuần nuôi trồng, cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt TĐTT tích lũy cao gấp 4,42 lần so với rong có nguồn gốc tự nhiên. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu của C.R.K. Reddy và cs (2003) [11] trên rong Sụn, trong đó, rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có TĐTT cao gấp 1,5 đến 1,8 lần so với rong có nguồn gốc tự nhiên. Cũng trong nghiên cứu này, rong Sụn có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có TĐTT đạt 8,11%/ngày trong suốt mùa vụ nuôi 90 ngày; ngoài ra, rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có TĐTT thấp hơn nhiều (2,57%/ngày) trong 12 tuần nuôi, vào tuần thứ 4-6 thí nghiệm TĐTT là 4,70%/ngày. Mặc dù có sự cải thiện đáng kể về chất lượng cây giống so với giống tự nhiên, TĐTT của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* vẫn thấp hơn so với các nghiên cứu trước đây trong và ngoài nước. Điều này có thể giải thích rằng, mặc dù phương pháp nuôi cấy *in vitro* đã giúp cải thiện chất lượng cây giống ban đầu, nhưng không có nghĩa là chất lượng cây giống hiện tại có thể đạt được mức độ như cây giống cách đây gần 20 năm. Vì vậy, việc di nhập nguồn cây giống ban đầu từ các quốc gia có quần thể rong ngoài tự nhiên và sử dụng các mẫu này để nhân giống hàng loạt là cần thiết. Sau 10 tuần nuôi trồng, tỷ lệ tích lũy chất khô đạt giá trị tối đa ở cả hai nhóm giống. Tỷ lệ tích lũy chất khô của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* (12,50%) cao hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên (10,81%). Đây là kết quả đáng chú ý, vì trong cùng điều kiện nuôi trồng, rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cho sinh khối và tỷ lệ tích lũy chất khô cao hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên.

3.3. Đánh giá hàm lượng và chất lượng carrageenan của cây rong dòng nâu Sacol có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro*

Sau 10 tuần nuôi trồng trong điều kiện tự nhiên, rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và rong có nguồn gốc tự nhiên được thu hoạch, rửa sạch và phơi khô. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng và chất lượng carrageenan của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* cao hơn so với rong có nguồn gốc tự nhiên (bảng 3).

Bảng 3. Hàm lượng và chất lượng carrageenan rong có nguồn gốc *in vitro* và rong tự nhiên nuôi trồng ngoài tự nhiên sau 10 tuần.

Nguồn gốc giống rong	Hàm lượng carrageenan (%)	Chất lượng carrageenan	
		Sức đông (g.cm^{-2})	Độ nhớt (cps)
<i>In vitro</i>	28,83 $\pm$ 0,76	928,67 $\pm$ 1,53	34,17 $\pm$ 0,76
Tự nhiên	24,33 $\pm$ 0,58	909,00 $\pm$ 8,89	28,5 $\pm$ 0,50

Hàm lượng carrageenan trong rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* đạt 28,83 $\pm$ 0,76%, cao hơn so với hàm lượng carrageenan trong rong có nguồn gốc tự nhiên (24,33 $\pm$ 0,58%) sau 10 tuần nuôi ($p < 0,05$) (bảng 3). Chất lượng carrageenan được đánh giá qua chỉ số sức đông và độ nhớt của carrageenan. Sức đông và độ nhớt của carrageenan chiết xuất từ rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* (928,67 $\pm$ 1,53 g.cm^{-2} và 34,17 $\pm$ 0,76 cps, tương ứng) cao hơn so với carrageenan chiết xuất từ rong có nguồn gốc tự nhiên (909,00 $\pm$ 8,89 g.cm^{-2} và 28,5 $\pm$ 0,50 cps, tương ứng) ($p < 0,05$) (bảng 3).

Hàm lượng carrageenan trong rong biển bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, trong đó các yếu tố sinh thái như ánh sáng mặt trời, dinh dưỡng và nhiệt độ đóng vai trò quan trọng [23]. Bên cạnh đó, yếu tố sinh lý của rong, bao gồm độ tuổi, đường kính thân rong, sinh khối, pha sinh trưởng, cũng như các yếu tố trong quá trình thu hoạch như hàm lượng nước trong rong khi phơi khô, phương pháp khai thác và chiết xuất cũng có tác động đáng kể đến hàm lượng carrageenan [22, 23]. Trong nghiên cứu này, hàm lượng carrageenan cao nhất được chiết xuất từ rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* đạt 28,83%.

Rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* và rong tự nhiên đều được nuôi trồng trong điều kiện sinh thái tương tự và vào cùng một thời điểm, với phương pháp tách chiết carrageenan giống nhau. Tuy nhiên, sự khác biệt về hàm lượng carrageenan có thể được giải thích bởi sự khác biệt về nguồn gốc rong, tốc độ sinh trưởng và sinh khối thu được tại thời điểm thu hoạch. Cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có đường kính thân lớn hơn (dữ liệu không hiển thị), điều này dẫn đến khả năng tích lũy carrageenan cao hơn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.K. Budiyo và cs (2019) [24] trên rong Sụn, trong đó tác giả nhận định rằng, rong biển được nuôi trồng trong điều kiện sinh thái đồng đều về chất dinh dưỡng, ánh sáng và nhiệt độ sẽ có sự khác biệt về đường kính và sinh khối, từ đó ảnh hưởng đến khả năng tích lũy carrageenan.

Theo nghiên cứu của K. Ma'ruf và cs (2018) [25], đường kính của cây rong biển có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng carrageenan. Cây rong có đường kính lớn hơn, sinh khối cao hơn thường có hàm lượng carrageenan cao hơn. Sự phát triển của rong biển tỷ lệ nghịch với hàm lượng carrageenan của nó và hàm lượng carrageenan cao ở cây rong có nguồn gốc nuôi cấy *in vitro* có thể được giải thích bằng kích thước và đường kính của cây, cũng như sự phân bố và hấp thụ chất dinh dưỡng của rong ảnh hưởng đến khả năng tổng hợp carrageenan.

Một yếu tố khác làm ảnh hưởng đến sự khác biệt trong hàm lượng carrageenan là sắc tố trong rong biển. Sắc tố đóng vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp, giúp hấp thụ năng lượng mặt trời để tối ưu sự phát triển và tích lũy carrageenan. Rong nâu *Saccol* có hai giai đoạn vòng đời: giai đoạn sinh dưỡng và giai đoạn phát sinh. Trong giai đoạn sinh dưỡng, năng lượng được phân bổ chủ yếu cho việc tăng trưởng và tích lũy carrageenan. Ngược lại, ở giai đoạn phát sinh, năng lượng được tập trung cho quá trình sinh sản, dẫn đến hàm lượng carrageenan giảm, mặc dù sự phát triển của cây vẫn tiếp tục cho đến khi đạt được kích thước tối đa.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* có khả năng thích nghi tốt trong điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên. Trong giai đoạn bán tự nhiên, rong đạt 8 nhánh/cây, cao 3,01 cm và khối lượng tươi 1,23 g, được nuôi trồng dưới nguồn ánh sáng tự nhiên giảm 1/2 cường độ ánh sáng bằng lưới xanh đen cho thấy, khả năng sinh trưởng vượt trội so với các cây rong được nuôi trồng dưới các nguồn ánh sáng khác. Sau 10 tuần nuôi trồng ngoài tự nhiên tại vịnh Vân Phong, các chỉ tiêu sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của cây rong có nguồn gốc từ nuôi cấy *in vitro* luôn đạt kết quả cao hơn so với cây đối chứng. Kết quả này cho thấy tiềm năng của việc nhân giống rong bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro*, góp phần cung cấp giống rong có chất lượng cao cho ngành nuôi trồng rong biển thương mại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] C.J. Dawes, G.C. Trono, A.O. Lluisma (1993), "Clonal propagation of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus alvarezii* for Philippine seaweed farms", *Hydrobiologia*, **260**(1), pp.379-383.

[2] R. Adharini, E. Suyono, S. Suadi, et al. (2018), "A comparison of nutritional values of *Kappaphycus alvarezii*, *Kappaphycus striatum*, and *Kappaphycus spinosum* from the farming sites in Gorontalo Province, Sulawesi, Indonesia", *Journal Applied Phycology*, **31**(1), pp.725-730.

[3] L. Hayashi, R.P. Reis (2012), "Cultivation of the red algae *Kappaphycus alvarezii* in Brazil and its pharmacological potential", *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **22**(4), pp.748-752, DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000055.

[4] L.D. Hung, D.T. Trung (2018), "Cloning cDNA sequence coding the KSA-1 lectin from red alga *Kappaphycus striatum* cultivated in Vietnam", *Vietnam Journal Biotechnology*, **14**(4), pp.689-697, DOI: 10.15625/1811-4989/14/4/12302.

[5] C.S. Vairappan, C.S. Chung, A.Q. Hurtado, et al. (2008), "Distribution and symptoms of epiphyte infection in major carrageenophyte producing farms", *Journal Applied Phycology*, **20**(5), pp.477-483, DOI: 10.1007/s10811-007-9299-8.

[6] M. Ohno, D.B. Largo, T. Ikumoto (1994), "Growth rate, carrageenan yield and gel properties of cultured kappa-carrageenan producing red alga *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in the subtropical waters of Shikoku, Japan", *Journal Applied Phycology*, **6**(1), pp.1-5, DOI: 10.1007/BF02185896.

[7] A.M. Hatta (2016), *Kappaphycus striatus* (PROSEA), [https://uses.plannet-project.org/en/Kappaphycus_striatus_\(PROSEA\)](https://uses.plannet-project.org/en/Kappaphycus_striatus_(PROSEA)), accessed 20 July 2023.

[8] G.C.J. Trono (1992), "Eucheuma and Kappaphycus: Taxonomy and cultivation", *Bulletin of Marine Sciences and Fisheries*, Kochi University, **12**, pp.51-65.

[9] D.A.T. Yunque, K.R. Tibubos, A.Q. Hurtado, et al. (2011), "Optimization of culture conditions for tissue culture production of young plantlets of carrageenophyte *Kappaphycus*", *Journal Applied Phycology*, **23**(3), pp.433-438, DOI: 10.1007/s10811-010-9594-7.

[10] C.S. Vairappan, R. Razalie, U.M. Elias, et al. (2014), "Effects of improved post-harvest handling on the chemical constituents and quality of carrageenan in red alga, *Kappaphycus alvarezii* Doty", *J. Appl. Phycol.*, **26**(2), pp.909-916.

[11] C.R.K. Reddy, G.R.K. Kumar, A.K. Siddhanta, et al. (2003), "In vitro somatic embryogenesis and regeneration of somatic embryos from pigmented callus of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta, Gigartinales)", *Journal Applied Phycology*, **39**(1), pp.610-616, DOI: 10.1046/j.1529-8817.2003.02092.x.

[12] A. Azizi, N.M. Hanafi, M.N. Basiran, et al. (2018), "Evaluation of disease resistance and tolerance to elevated temperature stress of the selected tissue cultured *Kappaphycus alvarezii* Doty 1985 under optimized laboratory conditions", *3 Biotech*, **8**(8), pp.321-330, DOI: 10.1007/s13205-018-1354-4.

[13] V.T. Mo, L.K. Cuong, H.T. Tung, et al. (2020), "Somatic embryogenesis and plantlets regeneration from seaweed *Kappaphycus striatus*", *Acta Physiologia Plantarum*, **42**, pp.104-115, DOI: 10.1007/s11738-020-03102-3.

[14] V.T. Mo, T.V. Huynh, L.T. Nghia, et al. (2018), "Induction of callus formation from *Kappaphycus striatus* under different culture conditions", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **16**(2), pp.301-309.

[15] D.T. Nhut (2011), *Plant Biotechnology*, Agricultural Publishing House, 531pp (in Vietnamese).

[16] S. Istini, M. Ohno, H. Kusunose (1994), "Methods of analysis for agar, carrageenan and alginate in seaweed", *Bulletin of Marine Sciences and Fisheries*, Kochi University, **14**, pp. 49-55.

[17] N. Stanley (1987), "Production, properties and uses of carrageenan", *Production and Utilization of Products from Commercial Seaweeds*, FAO Fisheries Technical, Canada, pp.116-146.

[18] C.E.P. Penniman, A.C. Mathieson (1986), "Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire", *Botanica Marina*, **29**(2), pp.147-154.

[19] D.B. Duncan (1955), "Multiple range and multiple F tests", *Biometrics*, **11**(1), pp.1-42.

[20] G.S. Gerang, M. Ohno (1997), "Growth rates of *Eucheuma denticulatum* (Burman) Collins et Harvey and *Kappaphycus striatum* (Schmitz) Doty under different conditions in warm waters of Southern Japan", *Journal Applied Phycology*, **9**(5), pp.413-415, DOI: 10.1023/A:1007906326617.

[21] A.Q. Hurtado, D.A. Yunque, K. Tibubos, et al. (2009), "Use of Acadian marine plant extract powder from *Cophyllum nodosum* in tissue culture of *Kappaphycus* varieties", *Journal Applied Phycology*, **21**(6), pp.633-639, DOI: 10.1007/s10811-008-9395-4.

[22] L. Hayhi, E.C. Oliveira, G.B. Lhonneur, et al. (2007), "The effects of selected cultivation conditions on the carrageenan characteristics of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil", *Journal Applied Phycology*, **19**(5), pp.505-511, DOI: 10.1007/s10811-007-9163-x.

[23] I.A.G. Borlongan, K.R. Tibubos, D.A.T. Yunque, et al. (2011), "Impact of AMPEP on the growth and occurrence of epiphytic *Neosiphonia infestation* on two varieties of commercially cultivated *Kappaphycus alvarezii* grown at different depths in the Philippines", *Journal Applied Phycology*, **23**(3), pp.615-621, DOI: 10.1007/s10811-010-9649-9.

[24] M.K. Budiyo, S.Y. Abadi (2019), "Growth and carrageenan content of local and tissue culture seed of *Kappaphycus alvarezii* cultivated in floating cage", *AACL Bioflux*, **12**(1), pp.167-178.

[25] K. Ma'ruf, I.J. Effendy, E. Ishak (2018), "Influence of initial weight of seeds in variation of growth and carrageenan content of *Eucheuma spinosum*", *AACL Bioflux*, **11**(4), pp.1155-1163.

Nghiên cứu tính toán kết cấu cầu cảng dạng khung không gian theo lý thuyết cơ học phá hủy dựa trên phần mềm SAP 2000

Trần Long Giang*

Viện Nghiên cứu Khoa học và Công nghệ Hàng hải, Trường Đại học Hàng hải Việt Nam, 484 Lạch Tray, phường Kênh Dương, quận Lê Chân, TP Hải Phòng, Việt Nam

Ngày nhận bài 18/3/2025; ngày chuyển phản biện 18/3/2025; ngày nhận phản biện 17/4/2025; ngày chấp nhận đăng 18/4/2025

Tóm tắt:

SAP 2000 là phần mềm cho phép mô hình hóa chính xác kết cấu khung không gian phức tạp dưới tác dụng của nhiều loại tải trọng phức tạp; hỗ trợ nhiều loại phân tích như tĩnh học, động học và phi tuyến; giúp đánh giá toàn diện khả năng chịu lực của kết cấu dưới các tải trọng khác nhau. Giao diện trực quan và dễ sử dụng của phần mềm này giúp người dùng dễ dàng nhập dữ liệu; tiết kiệm thời gian nhờ tự động hóa quá trình tính toán và cho kết quả chi tiết (biểu đồ nội lực, ứng suất, biến dạng). Trong nghiên cứu này, tác giả sử dụng phần mềm SAP 2000 để tính toán nội lực cho kết cấu cầu cảng dạng khung không gian, sau đó dựa theo lý thuyết cơ học phá hủy để tính toán vết nứt cho công trình cầu cảng tại Quy Nhơn (Bình Định). Qua đó, khẳng định SAP 2000 là công cụ hiệu quả để thiết kế và phân tích kết cấu cầu cảng bê tông cốt thép dạng khung không gian làm việc trong điều kiện tự nhiên và khai thác khắc nghiệt. Đồng thời, kiến nghị sử dụng lý thuyết cơ học phá hủy vào thiết kế cầu cảng để đảm bảo an toàn và hiệu quả kinh tế cao nhất.

Từ khóa: kết cấu cầu cảng, lý thuyết cơ học phá hủy, SAP 2000, TCVN 4116:2023, tiêu chuẩn thiết kế.

Chỉ số phân loại: 1.8, 2.1

A study on structural analysis of a 3D frame pier structure based on fracture mechanics theory using SAP 2000 software

Long Giang Tran*

Maritime Research Institute, Vietnam Maritime University, 484 Lach Tray Street, Kanh Duong Ward, Le Chan District, Hai Phong City, Vietnam

Received 18 March 2025; revised 17 April 2025; accepted 18 April 2025

Abstract:

SAP 2000 is a software that allows accurate modelling of complex spatial frame structures under the influence of various types of complex loads; supports multiple types of analysis, including static, dynamic, and nonlinear analysis, which helps to comprehensively assess the load-bearing capacity of structures under different loads. The user-friendly, intuitive interface of this software makes it easy for users to input data and saves time by automating the calculation process and generating detailed results (internal force diagrams, stress, deformation). In this article, the author uses SAP 2000 to calculate the internal forces for a spatial frame-type pier structure, then applies fracture mechanics theory to compute the cracks for a specific pier structure in Quy Nhon (Binh Dinh province). Accordingly, the author asserts that SAP 2000 serves as an effective tool for the structural design and analysis of reinforced concrete wharf frame systems operating under natural environmental conditions and subjected to severe service loads. Additionally, it is recommended to integrate fracture mechanics theory into pier design to ensure safety and achieve the highest economic efficiency.

Keywords: design standards, fracture mechanics theory, pier structure, SAP 2000, TCVN 4116:2023.

Classification numbers: 1.8, 2.1

*Email: giangtl.ird@vimaru.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Trong ngành xây dựng công trình cảng biển, cầu cảng là một yếu tố cấu thành quan trọng, đòi hỏi các nghiên cứu, phân tích kết cấu phức tạp để đảm bảo tính an toàn, ổn định và hiệu quả kinh tế. Kết cấu cầu cảng thường phải chịu tác động của các tải trọng động như: sóng biển, dòng chảy, tải trọng do tàu neo đậu, tải trọng tĩnh từ trọng lượng của công trình và môi trường xung quanh. Vì vậy, việc tính toán và phân tích nội lực, chuyển vị, đặc biệt là hiện tượng rạn nứt trong kết cấu cầu cảng là một công tác quan trọng để đánh giá khả năng chịu lực và tuổi thọ của công trình.

Để phục vụ cho việc thiết kế và kiểm tra kết cấu cầu cảng, việc sử dụng phần mềm mô phỏng kết cấu như SAP 2000 kết hợp với lý thuyết cơ học phá huỷ trở thành một phương pháp hiệu quả. Lý thuyết cơ học phá huỷ giúp xác định được độ rộng của vết nứt trong các cấu kiện bê tông cốt thép, từ đó đưa ra các giải pháp phù hợp để hạn chế sự phát triển của vết nứt, đảm bảo tính ổn định và độ bền của công trình.

Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu liên quan đến phân tích và thiết kế kết cấu cầu cảng, bao gồm việc sử dụng phần mềm mô phỏng và lý thuyết cơ học phá huỷ để tối ưu hóa các thiết kế. Các nghiên cứu này chủ yếu tập trung vào việc mô phỏng các tải trọng động và tĩnh tác động lên kết cấu cầu cảng, cùng với việc đánh giá sự phát triển của các vết nứt trong các cấu kiện bê tông cốt thép. Các phần mềm phân tích kết cấu như SAP 2000, ANSYS và ABAQUS đã được sử dụng để mô phỏng các kết cấu phức tạp, giúp người thiết kế đưa ra các quyết định chính xác và hiệu quả hơn trong việc phân tích độ bền và tính ổn định của cầu cảng.

Trong nước, các nghiên cứu về phân tích kết cấu cầu cảng đã được thực hiện chủ yếu với các kết cấu bê tông cốt thép và khung không gian. Tuy nhiên, việc tích hợp lý thuyết cơ học phá huỷ vào trong quy trình thiết kế và phân tích kết cấu cầu cảng vẫn chưa được chú trọng một cách đầy đủ. Việc nghiên cứu sâu hơn về vấn đề này sẽ giúp tăng cường tính an toàn và hiệu quả kinh tế của các công trình cầu cảng, đặc biệt là trong bối cảnh phát triển mạnh mẽ các cảng biển tại Việt Nam.

Mục tiêu nghiên cứu của bài báo là sử dụng phần mềm SAP 2000 để phân tích kết cấu cầu cảng dạng khung không gian, kết hợp với lý thuyết cơ học phá huỷ để đánh giá khả năng chịu lực và độ ổn định của công trình dưới tác động

của các loại tải trọng khác nhau. Cụ thể, bài nghiên cứu sẽ tập trung vào việc tính toán nội lực, chuyển vị và kiểm tra sự phát triển của vết nứt trong các cấu kiện bê tông cốt thép của cầu cảng. Các kết quả từ mô phỏng sẽ được so sánh với các tiêu chuẩn thiết kế hiện hành là TCVN 4116:2023 và Eurocode 2-2004, từ đó đánh giá tính an toàn của công trình.

Nghiên cứu này có tính thời sự và khoa học cao vì các công trình cầu cảng đóng vai trò quan trọng trong hệ thống giao thông biển, đặc biệt là khi Việt Nam đang phát triển mạnh mẽ cơ sở hạ tầng cảng biển. Việc sử dụng phần mềm SAP 2000 để phân tích kết cấu cầu cảng với tính toán vết nứt theo lý thuyết cơ học phá huỷ không chỉ giúp đảm bảo an toàn công trình mà còn giúp tiết kiệm chi phí và tăng hiệu quả kinh tế trong quá trình thiết kế và thi công.

Ngoài ra, nghiên cứu giúp mở rộng ứng dụng của lý thuyết cơ học phá huỷ trong thiết kế kết cấu cầu cảng, qua đó thúc đẩy sự phát triển của các phương pháp tính toán và kiểm tra hiện đại trong ngành xây dựng cầu cảng, góp phần nâng cao chất lượng công trình biển ở Việt Nam.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

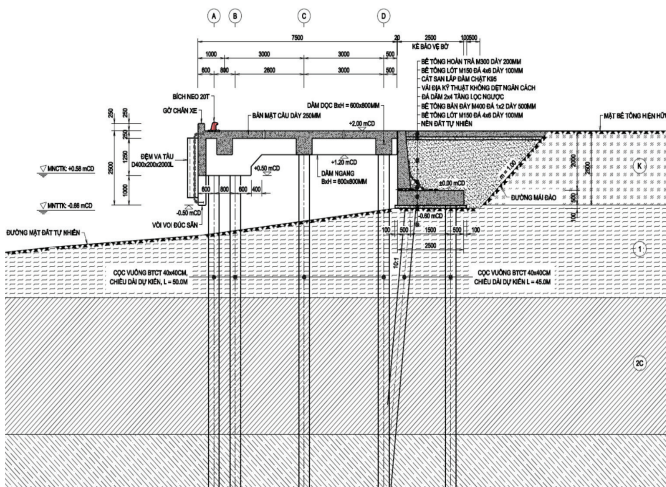
2.1. Đối tượng

Công trình được lựa chọn để nghiên cứu là cầu cảng thuộc luồng Quy Nhơn. Công trình nằm tại số 1B Phan Chu Trinh, phường Hải Cảng, TP Quy Nhơn, tỉnh Bình Định (hình 1).



Hình 1. Vị trí công trình nghiên cứu.

Công trình sử dụng kết cấu dạng khung không gian bao gồm hệ dầm dọc, dầm ngang bê tông cốt thép đặt trên hệ cọc bê tông cốt thép. Đây là một trong các dạng kết cấu được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam hiện nay (hình 2) [1].



Hình 2. Mặt cắt ngang kết cấu công trình.

Chi tiết kích thước các cấu kiện của công trình được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Các thông số hình học của cấu kiện công trình.

STT	Hình dạng cấu kiện	Kích thước (mm)
1	Cọc vuông bê tông cốt thép 400x400 mm	Chiều rộng B=400 Chiều cao H=400
2	TB1	Chiều rộng B=600 Chiều cao H=800 Chiều dài L=7500
3	LB1	Chiều rộng B=600 Chiều cao H=800 Chiều dài L=4980
4		Chiều rộng B=600 Chiều cao H=800 Chiều dài L=4980
5	Bản mặt cầu	Chiều cao H=250

TB1: Dầm ngang số 1; LB1: Dầm dọc số 1; LB2: Dầm dọc số 2; B: Chiều rộng cấu kiện; H: Chiều cao cấu kiện; L: Chiều dài cấu kiện.

2.1.1. Thông số đầu vào mô hình

Xác định chiều dài tính toán của cọc: Chiều dài chịu uốn của cọc: do cọc ngâm trong đất vì vậy chiều dài tính toán L_U của cọc sẽ được xác định theo TCVN 10304:2014.

$$L_U = L_0 + \frac{2}{\alpha_{bd}} \quad (1)$$

trong đó: L_0 : Chiều dài tự do của cọc (m); α_{bd} : Hệ số (1/m) được tính bằng công thức:

$$\alpha_{bd} = \sqrt[5]{\frac{K \cdot b_c}{E_b \cdot I}} \quad (2)$$

trong đó: K : Hệ số phụ thuộc loại đất; b_c : Bề rộng tính toán của cọc (khi $d \geq 0,8$ m thì $b_c = d + 1$ m, khi $d < 0,8$ m thì $b_c = 1,5 d + 0,5$ m); E_b : Mô đun đàn hồi của cọc (T/m^2); I : Mô men quán tính của cọc (m^4).

Kết quả tính toán chiều dài chịu uốn của cọc được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả tính toán chiều dài chịu uốn của cọc.

Hàng cọc	Toàn bộ
D (m)	0,4
F_c (m^2)	0,16
b_c (m)	1,1
K_{qd} (T/m^4)	564,46
E_b (kN/m^2)	$3,10 \times 10^7$
I (m^4)	0,0021
α_{bd}	0,6119
L_0 (m)	4,1
L_U (m)	7,4

2.1.2. Thông số vật liệu

Thông số kỹ thuật của bê tông và thép được tổng hợp trong bảng 3.

Bảng 3. Các thông số kỹ thuật của vật liệu.

Vật liệu	Đơn vị	Cốt thép CB400-V	Bê tông M350
Mô đun đàn hồi	kN/m^2	$2,00 \times 10^8$	$3,10 \times 10^7$
Trọng lượng riêng	kN/m^3	78,5	24,5
Cường độ chịu kéo	kN/m^2	365000	1100
Cường độ chịu nén	kN/m^2	365000	15500
Hệ số Poisson		0,3	0,2
Hệ số giãn nở nhiệt		$1,20 \times 10^{-5}$	$1,10 \times 10^{-5}$

Các loại tải trọng tác dụng lên công trình bao gồm: thường xuyên: trọng lượng bản thân kết cấu công trình, áp lực đất...; tạm thời ngắn hạn: gió và dòng chảy, tải trọng do tàu bao gồm: lực neo tàu, lực va, lực tựa tàu khi cập bến, tải trọng tác động trong giai đoạn xây dựng; tạm thời tác động dài hạn: tải trọng do hoạt tải và thiết bị trên công trình. Cụ thể: tĩnh tải: trọng lượng riêng của bê tông cốt thép: $24,5 kN/m^3$; hoạt tải khai thác trên cầu cảng: được quy về tải phân bố đều $q=1,0 T/m^2$; tải trọng neo tàu: tác động do neo tàu tại bến được tính toán với vận tốc gió $20,7 m/s$ và vận tốc dòng chảy phương dọc $2,20 m/s$, vận tốc dòng chảy theo phương ngang là $0,60 m/s$; tải trọng va tàu: theo phương vuông góc là $9,0 T$, phản lực theo phương song song là $4,5 T$.

2.2. Phương pháp tính toán

Mô hình hóa kết cấu: Kết cấu công trình được phân tích bởi mô hình 3 chiều với hệ trục tọa độ tổng thể X, Y, Z được thiết lập tương ứng với phương dọc, ngang và đứng. Các thuộc tính của phần tử kết cấu được gán cho các phần tử của mô hình như phần tử nút, thanh, tấm với các thuộc tính tương đương [2-4].

Mô hình mô phỏng kết cấu dựa trên phần mềm SAP 2000 như hình 3. Do địa chất khu vực xây dựng là cát và sét cứng nên cọc được mô phỏng liên kết ngầm trong đất. Mô hình cọc trong đất thường được thể hiện bằng các liên kết cơ học để mô phỏng tương tác giữa cọc và đất. Hai mô hình phổ biến là: (1) Mô hình cọc bằng liên kết ngầm (liên kết cứng); (2) Mô hình cọc bằng lò xo (liên kết mềm, thường theo mô hình nền biến dạng cục bộ, nền đất được thay thế bằng các lò xo và chỉ biến dạng tại nơi có tải trọng, khu vực lân cận không bị biến dạng hoặc mô hình phân bố đàn hồi).

Mô hình (1) phù hợp khi đất rất cứng hoặc có độ càn cao, làm cho biến dạng tương đối giữa đất và cọc nhỏ. Mô hình (2) phù hợp đất yếu hơn, điều kiện địa chất công trình là cát và sét, vì vậy mô hình cọc ngầm trong đất được lựa chọn.



Hình 3. Mô hình kết cấu bằng phần mềm SAP 2000.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả tính toán nội lực

Kết quả nội lực lớn nhất và nhỏ nhất của 6 tổ hợp tải trọng được thể hiện trong các bảng 4-9.

Bảng 4. Các tổ hợp tính toán kết cấu.

Tổ hợp	Trọng lượng bê tông cốt thép	Hoạt tải	Áp lực đất	Áp lực va	Lực neo
1	X		X		
2	X	X	X		
3	X		X	X	
4	X		X		X
5	X	X	X	X	
6	X	X	X		X

Bảng 5. Nội lực cọc.

P (tấn)	V2 (tấn)	V3 (tấn)	M2 (tấn.m)	M3 (tấn.m)	Ghi chú
-11,627	0,263	2,282	-4,458	9,834	M3max
-24,963	-2,667	1,223	4,518	-9,907	M3min
-6,499	0,320	-1,644	15,453	1,484	M2max
-13,202	-0,393	-4,171	-15,415	-1,425	M2min
-14,281	0,167	4,144	-5,984	1,960	V3max
-10,241	-0,393	-4,171	6,113	-1,125	V3min
2,208	1,738	3,245	-7,903	0,006	V2max
-22,002	-2,667	1,223	-8,470	-0,891	V2min
6,127	1,057	2,849	-1,526	-1,888	Pmax
-38,784	-0,224	-3,809	-14,539	-0,908	Pmin

P: Lực dọc trục; V2: Lực cắt theo phương trục 2; V3: Lực cắt theo phương trục 3; M2: Mômen uốn quanh trục 2; M3: Mômen uốn quanh trục 3.

Bảng 6. Nội lực dầm ngang chiều rộng kết cấu x chiều cao kết cấu=600x800 mm.

P (tấn)	V2 (tấn)	V3 (tấn)	M2 (tấn.m)	M3 (tấn.m)	Ghi chú
-4,586	7,413	-0,280	-0,290	17,593	M3max
2,641	-19,100	-1,263	-1,247	-29,577	M3min
6,400	-9,926	-1,902	2,492	-13,796	M2max
5,804	-15,790	1,902	-2,492	-16,099	M2min
6,400	-10,406	3,307	-1,117	-18,287	V3max
5,804	-15,790	-3,307	2,372	-16,099	V3min
8,996	18,561	-2,506	1,455	-10,758	V2max
2,644	-19,134	0,902	1,039	-29,200	V2min
8,997	18,540	-2,505	1,455	-10,751	Pmax
-12,653	1,882	-1,014	0,599	-1,166	Pmin

P: Lực dọc trục; V2: Lực cắt theo phương trục 2; V3: Lực cắt theo phương trục 3; M2: Mômen uốn quanh trục 2; M3: Mômen uốn quanh trục 3.

Bảng 7. Nội lực dầm dọc chiều rộng kết cấu x chiều cao kết cấu=600x800 mm.

P (tấn)	V2 (tấn)	V3 (tấn)	M2 (tấn.m)	M3 (tấn.m)	Ghi chú
0,580	0,552	-0,163	-0,275	8,306	M3max
0,155	3,981	-0,481	0,375	-9,473	M3min
5,528	6,521	-0,276	1,057	0,427	M2max
-0,736	-9,453	-0,519	-0,585	-8,855	M2min
-5,529	-4,873	0,472	1,057	0,520	V3max
0,347	4,214	-0,524	-0,106	1,771	V3min
0,856	9,519	-0,370	0,501	0,771	V2max
-0,736	-9,453	-0,519	-0,585	-8,855	V2min
1,230	-0,002	0,005	0,034	2,845	Pmax
-9,029	-1,590	-0,005	0,574	4,438	Pmin

P: Lực dọc trục; V2: Lực cắt theo phương trục 2; V3: Lực cắt theo phương trục 3; M2: Mômen uốn quanh trục 2; M3: Mômen uốn quanh trục 3.

Bảng 8. Nội lực bản sàn chiều cao kết cấu = 250 mm.

M11 (tấn.m/m)	M22 (tấn.m/m)	V13 (tấn/m)	V23 (tấn/m)	Ghi chú
1,211	0,535	-0,331	2,007	M11max
-1,895	-0,433	1,131	-0,847	M11min
0,226	1,094	0,375	1,306	M22max
-1,104	-1,750	1,076	-2,091	M22min
0,672	0,111	1,908	0,134	V13max
-1,375	-1,599	-1,611	-1,882	V13min
1,207	0,543	1,082	2,030	V23max
-1,139	-1,737	-1,473	-2,091	V23min

M11: Mômen uốn quanh trục 2 do lực tác động dọc theo trục 1 gây ra (mômen theo phương x); M22: Mômen uốn quanh trục 1 do lực tác động dọc theo trục 2 gây ra (mômen theo phương y); V13: Lực cắt theo trục 3 (z) do lực tác động dọc theo trục 1 (x); V23: Lực cắt theo trục 3 (z) do lực tác động dọc theo trục 2 (y).

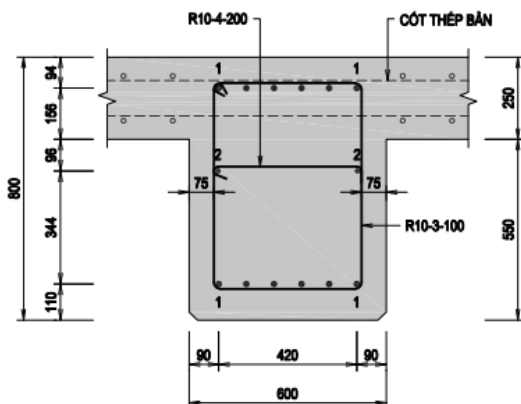
Bảng 9. Tổng hợp kết quả chuyển vị.

U1 (mm)	U2 (mm)	U3 (mm)	Ghi chú
6,172	14,584	0,007	U1max
-7,884	12,402	-0,343	U1min
4,248	18,158	-0,084	U2max
0,061	-16,843	-0,820	U2min
6,166	8,866	0,196	U3max
0,017	-16,786	-0,933	U3min

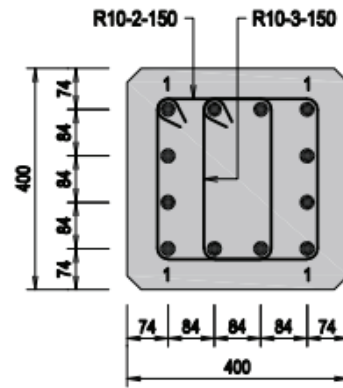
U1: Chuyển vị theo phương 1; U2: Chuyển vị theo phương 2; U3: Chuyển vị theo phương 3.

3.2. Tính toán bề rộng vết nứt theo TCVN 4116:2023

Tính toán vết nứt trong bê tông cấu kết là vấn đề phức tạp, được nghiên cứu từ lâu và xuất phát từ nhiều lý thuyết khác nhau [5], tuy nhiên, nghiên cứu này tập trung tính toán theo lý thuyết cơ học phá hủy. Bố trí cốt thép của kết cấu công trình được trình bày trong hình 4 và 5.



Hình 4. Bố trí cốt thép của dầm và bản.



Hình 5. Bố trí cốt thép của cọc.

Tính toán bề rộng vết nứt theo TCVN 4116:2023 được tiến hành như sau: điều kiện mở rộng vết nứt [6]:

$$aT \leq [aT] \quad (3)$$

trong đó: aT: Bề rộng vết nứt tính toán (mm); [aT]: Bề rộng vết nứt cho phép (mm). [aT]=0,1 mm với công trình cấp IV có kết cấu nằm trong vùng nước biển thay đổi.

Chiều rộng vết nứt tính toán được xác định theo công thức:

$$\alpha_T = k * C_d * \eta * \frac{\sigma_a - \sigma_0}{E_a} * 7 * (4 - 100\mu) \sqrt{d} \quad (4)$$

trong đó: k: Hệ số cấu kiện chịu uốn và nén lệch tâm, k=1; khi đặt cốt thép nhiều lớp k=1,2; C_d: Hệ số điều chỉnh, hệ số này được lấy như sau: khi tải trọng tạm thời, C_d=1; khi M_{ld}/M_p<2/3, C_d=1; khi M_{ld}/M_p>2/3, C_d=1,3 (M_{ld} và M_p lần lượt là mômen uốn do tải trọng cố định, lâu dài, tải trọng toàn phần: cố định, lâu dài và ngắn hạn); η: Hệ số phụ thuộc vào loại thép, thép thanh có gờ η=1, thép thanh trơn η=1,4, thép sợi η=1,2; E_a: Mô đun đàn hồi của cốt thép (MPa); σ₀: Ứng suất giới hạn không gây nứt (MPa); d: Đường kính cong; σ_a: Ứng suất trong cốt thép chịu kéo, đối với cấu kiện chịu uốn σ_a được xác định:

$$\sigma_a = \frac{M}{F_a Z} \quad (5)$$

trong đó: M: Mômen tính toán; F_a: Diện tích cốt thép (cm²); Z: Cánh tay đòn của nội lực so với tiết diện cấu kiện; σ_a: Ứng suất ban đầu trong cốt thép.

Kết quả tính toán bề rộng vết nứt của các cấu kiện theo TCVN 4116:2023 thể hiện ở bảng 10.

Bảng 10. Bề rộng vết nứt theo TCVN 4116:2023.

STT	Cấu kiện	Bề rộng vết nứt (mm)	Bề rộng vết nứt cho phép (mm)
1	Cọc	0,041	0,1
2	TB1	0,093	0,1
3	LB1	0,041	0,1
4	LB2	0,063	0,1
5	Bản mặt cầu	0,073	0,1

TB1: Dầm ngang số 1; LB1: Dầm dọc số 1; LB2: Dầm dọc số 2.

3.3. Tính toán vết nứt theo Eurocode 2-2004

Việc tính toán vết nứt theo Eurocode 2-2004 dựa trên mô hình đàn hồi tuyến tính (LEFM) [7]. Mô hình này phù hợp với các giả định về ứng xử đàn hồi của bê tông và cốt thép dưới điều kiện tải trọng thông thường, giúp đơn giản hóa quá trình tính toán mà vẫn đảm bảo độ chính xác cần thiết. Biểu dạng trung bình để tính chiều rộng vết nứt được xác định như sau:

$$\varepsilon_{sm} - \varepsilon_{cm} = \frac{\sigma_s - K_t \frac{f_{ct,eff}}{\rho_{p,eff}} (1 + \alpha_e \rho_{p,eff})}{E_s} \geq 0,6 \frac{\sigma_c}{E_s} \quad (6)$$

trong đó: ε_{sm} : Biến dạng của cốt thép tại trạng thái giới hạn; ε_{cm} : Biến dạng nén trung bình của bê tông; σ_s : Biểu thị ứng suất trong thanh cốt thép; $f_{ct,eff}$: Ứng suất kéo bê tông hiệu dụng tại thời điểm cấu kiện bắt đầu nứt; $\rho_{p,eff}$: Tỷ lệ cốt thép hữu hiệu; E_s : Mô đun đàn hồi của thép; α_e : Hệ số đàn hồi tương đối giữa thép và bê tông; σ_c : Ứng suất trong bê tông; K_t : Hệ số phụ thuộc vào thời gian tải trọng, $K_t=0,6$ cho tải trọng ngắn hạn (S), $K_t=0,4$ cho tải trọng dài hạn (L).

Chiều rộng vết nứt được xác định theo công thức như sau [8]:

$$W_k = S_{r,max} * (\varepsilon_{sm} - \varepsilon_{cm}) \quad (7)$$

trong đó, W_k : Chiều rộng vết nứt; $S_{r,max}$: Độ rộng vết nứt lớn nhất.

Kết quả tính toán bề rộng vết nứt của các cấu kiện theo Eurocode 2-2004 được thể hiện ở bảng 11.

Bảng 11. Bề rộng vết nứt theo Eurocode 2-2004.

STT	Cấu kiện	Bề rộng vết nứt (mm)	Bề rộng vết nứt cho phép (mm)
1	Cọc	0,112	0,3
2	TB1	0,055	0,3
3	LB1	0,000	0,3
4	LB2	0,000	0,3
5	Bản mặt cầu	0,000	0,3

TB1: Dầm ngang số 1; LB1: Dầm dọc số 1; LB2: Dầm dọc số 2.

Kết quả tính toán, các giá trị bề rộng vết nứt trong cả hai phương pháp đều thấp hơn giới hạn cho phép, như vậy kết cấu đảm bảo độ an toàn trong thực tế. Tuy nhiên, TCVN 4116:2023 yêu cầu khắt khe hơn với giới hạn bề rộng vết nứt chỉ 0,1 mm, trong khi Eurocode 2-2004 cho phép tới 0,3 mm [9]. Điều này thể hiện yêu cầu cao của TCVN 4116:2023 đối với các công trình có kết cấu bê tông cốt thép chịu tác động bởi môi trường khắc nghiệt.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã thực hiện phân tích kết cấu cầu cảng dạng khung không gian bằng phần mềm SAP 2000, kết hợp với lý thuyết cơ học phá hủy để đánh giá khả năng chịu lực và hiện tượng rạn nứt của công trình. Các kết quả phân tích nội lực và chuyển vị cho thấy rằng, kết cấu cầu cảng đáp ứng được các yêu cầu về an toàn và ổn định dưới tác động

của các loại tải trọng khác nhau. Đồng thời, việc áp dụng lý thuyết cơ học phá hủy đã giúp xác định được bề rộng vết nứt trong các cấu kiện, đảm bảo rằng các vết nứt này nằm trong giới hạn cho phép theo tiêu chuẩn TCVN 4116:2023 và Eurocode 2-2004.

Các kết quả tính toán cho thấy, bề rộng vết nứt của các cấu kiện như cọc, dầm ngang, dầm dọc và bản mặt cầu đều nhỏ hơn giá trị cho phép, chứng tỏ rằng kết cấu đáp ứng được yêu cầu về độ bền và độ ổn định. Điều này khẳng định tính hiệu quả của việc sử dụng phần mềm SAP 2000 trong mô phỏng và phân tích kết cấu phức tạp, cũng như tầm quan trọng của việc áp dụng lý thuyết cơ học phá hủy trong thiết kế và đánh giá kết cấu cầu cảng.

Nghiên cứu này cũng đề xuất việc tích hợp lý thuyết cơ học phá hủy vào quy trình thiết kế cầu cảng để đảm bảo an toàn và hiệu quả kinh tế cao nhất. Các kết quả này có thể được sử dụng làm cơ sở tham khảo cho các dự án tương tự trong tương lai, đặc biệt là trong bối cảnh Việt Nam đang phát triển mạnh mẽ hệ thống cảng biển và hạ tầng hàng hải.

Cuối cùng, nghiên cứu này cũng góp phần nâng cao hiểu biết về ứng dụng phần mềm phân tích kết cấu và lý thuyết cơ học phá hủy trong lĩnh vực xây dựng công trình biển, đồng thời mở ra hướng nghiên cứu mới trong việc tối ưu hóa thiết kế kết cấu cầu cảng dưới tác động của các điều kiện môi trường phức tạp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Hàng hải Việt Nam trong đề tài mã số DT24-25.157. Tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Commission for Standards, Metrology and Quality of Vietnam (2014), *TCVN 10304:2014 - Pile Foundations - Design Standards* (in Vietnamese).
- [2] N.V. Trung, N.T. Trung (2012), *SAP 2000-V11.0: Structural Analysis of Port and Coastal Structures*, Construction Publishing House (in Vietnamese).
- [3] T.L. Anderson (1995), *Fracture Mechanics: Fundamentals and Applications*, CRC Press, pp.41-67.
- [4] J. Napier (2019), "SAP 2000 documentation and user guide", *Computers and Structures Inc.*, <https://web.wiki.csiamerica.com/wiki/x/vgcT>, accessed 18 March 2025.
- [5] A. Kassimali (2010), *Matrix Analysis of Structures*, Cengage Learning, pp.10-20.
- [6] Commission for Standards, Metrology and Quality of Vietnam (2023), *TCVN 4116:2023 - Hydraulic Structures - Hydraulic Concrete and Reinforced Concrete Structures - Design Requirements* (in Vietnamese).
- [7] M.A. Wahab, I. Hilmy, T. Hafiz, et al. (2012), "Finite elements in fracture mechanics: For general power type singularity problems", *The International Conference on Applied Mechanics and Mechanical Engineering (AMME)*, 15, pp.1-14, DOI: 10.21608/amme.2012.36949
- [8] European Committee for Standardization (2004), *Eurocode 2: Design of Concrete Structures (EN 1992-1-1:2004)*.
- [9] Z.P. Bazant, J. Planas (1999), *Fracture and Size Effect in Concrete and Other Quasibrittle Materials*, CRC Press, pp.8-11, DOI: 10.1201/9780203756799.

Đánh giá thị giác của trẻ cận thị sử dụng tròng kính vi thấu kính phi cầu bậc cao

Trần Đình Minh Huy^{1,2*}, Trần Hải Yến^{2,3}, Hạ Thị Xuân Thảo^{2,3}, Hồ Thị Bích Vân^{2,3}, Nguyễn Lê Hoàng Nguyên¹

¹Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 217 Hồng Bàng, phường 11, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Viện Nghiên cứu và Đào tạo Thị giác Hải Yến, 31A Nguyễn Đình Chiểu, phường Đa Kao, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Khoa Mắt, Bệnh viện An Sinh, 10 Trần Huy Liệu, phường 11, quận Phú Nhuận, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 20/8/2024; ngày chuyển phản biện 30/8/2024; ngày nhận phản biện 25/9/2024; ngày chấp nhận đăng 30/9/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu: So sánh thị lực và đánh giá chủ quan về mặt thị giác của trẻ em cận thị sử dụng tròng kính vi thấu kính phi cầu bậc cao (HAL) với tròng kính đơn tiêu cự (ĐTC). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Thử nghiệm lâm sàng phân bố ngẫu nhiên, tiến cứu, mù đôi thực hiện trên 119 trẻ em cận thị có độ cầu tương đương từ -0,75D đến -4,75D, độ loạn không quá -1,50D, bất đồng khúc xạ không quá 1,00D, với độ tuổi từ 7 đến 13 tại Khoa Mắt, Bệnh viện An Sinh. **Kết quả:** Thị lực nhìn xa và nhìn gần của từng mắt tại thời điểm 6 tháng ở nhóm sử dụng tròng HAL và tròng ĐTC lần lượt là $0,03 \pm 0,03$, $0,04 \pm 0,03$ LogMAR ($p=0,235$) và $4,0 \pm 0,0$, $4,0 \pm 0,2$ hàng N ($p=0,082$). Tại thời điểm 3 tháng, tròng HAL được đánh giá là khó thích nghi hơn so với tròng ĐTC ($p=0,023$). Mức hài lòng về chất lượng thị giác của trẻ sử dụng tròng HAL khi học tập không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tròng ĐTC ($p>0,05$) nhưng trong các hoạt động vận động lại thấp hơn ($p<0,05$). **Kết luận:** Khả năng thích nghi của trẻ với tròng kính HAL cao. Thị lực nhìn xa, nhìn gần và mức hài lòng của trẻ sử dụng tròng kính HAL khi học tập tương đương với tròng kính ĐTC. Có ít hơn 10% trẻ không hài lòng với chất lượng thị giác khi sử dụng tròng HAL trong các hoạt động vận động.

Từ khóa: chất lượng thị giác, kiểm soát cận thị, kính gọng.

Chỉ số phân loại: 3.2, 3.5

Evaluating visual performance of myopic children wearing highly aspherical lenslet spectacles

Dinh Minh Huy Tran^{1,2*}, Hai Yen Tran^{2,3}, Thi Xuan Thao Ha^{2,3}, Thi Bich Van Ho^{2,3}, Le Hoang Nguyen Nguyen¹

¹University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 217 Hong Bang Street, Ward 11, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Hai Yen Vision Research and Training Institute, 31A Nguyen Dinh Chieu Street, Da Kao Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Department of Ophthalmology, An Sinh Hospital, 10 Tran Huy Lieu Street, Ward 11, Phu Nhuan District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 20 August 2024; revised 25 September 2024; accepted 30 September 2024

Abstract:

Objectives: Evaluating visual acuity and subjective responses of myopic children with highly aspherical lenslets (HAL) in comparison to those with conventional single vision lenses (SVL). **Research objects and methods:** A prospective, randomised, double-blinded clinical trial on 119 myopic children aged between 7 and 13 years old, with spherical equivalent refractive error ranging from -0.75D to -4.75D, astigmatism no more than -1.50D and anisometropia equal to or less than 1.00D being conducted at Department of Ophthalmology, An Sinh Hospital. **Results:** Monocular distance and near visual acuity at six-month visit with HAL and SVL were 0.03 ± 0.03 , 0.04 ± 0.03 LogMAR ($p=0.235$) and 4.0 ± 0.0 , 4.0 ± 0.2 N notation ($p=0.082$), respectively. At the three-month visit, HAL was found to be more difficult to adapt than SVL ($p=0.023$). Visual performance satisfaction in studying activities with HAL was comparable to SVL ($p>0.05$) but in dynamic activities, HAL showed a lower level of satisfaction ($p<0.05$). **Conclusions:** Children's adaptation to HAL was high. Distance, near visual acuity and satisfaction with HAL in studying activities were comparable to SVL. Less than 10% of children were not satisfied with HAL in dynamic activities.

Keywords: myopia control, spectacles, visual performance.

Classification numbers: 3.2, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: minhhuyl.trandinh@ump.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Ánh nặng kinh tế - xã hội liên quan đến cận thị đang gia tăng nhanh chóng. Chỉ riêng trong năm 2015, tổn thất năng suất lao động toàn cầu do cận thị gây ra được ước tính vào khoảng 250 tỷ USD [1]. Cận thị nặng còn liên quan đến các biến chứng tại mắt cần chăm sóc y tế như: bong võng mạc, đục thủy tinh thể, glôcôm [2]. Chính vì vậy, kiểm soát cận thị là một vấn đề được quan tâm trong những năm gần đây.

Các nghiên cứu đã cho thấy vai trò của vùng võng mạc chu biên trong điều hòa sự phát triển của nhãn cầu. Tín hiệu thị giác xuất phát từ vùng võng mạc chu biên mạnh hơn so với vùng võng mạc trung tâm [3]. Bên cạnh đó, hiện tượng viễn thị chu biên kích thích sự phát triển của chiều dài trục nhãn cầu trong khi hiện tượng cận thị chu biên lại có tác dụng ức chế [4]. Những phát hiện này đã dẫn đến việc ra đời của các phương pháp quang học điều chỉnh tình trạng viễn thị chu biên nhằm kiểm soát cận thị, trong đó có các loại tròng kính gong với thiết kế mới như tròng kính phân tán đa lớp kết hợp (DIMS) và tròng kính HAL.

Tròng kính HAL đã được chứng minh có hiệu quả kiểm soát cận thị 67% (0,53D/năm) đối với độ cầu tương đương và 64% (0,23 mm/năm) đối với chiều dài trục nhãn cầu trong năm đầu sử dụng kính [5]. Tròng kính này được thiết kế gồm một vùng nhìn rõ 9 mm ở trung tâm có cấu trúc như kính đơn tiêu cự thông thường, còn lại là các HAL được sắp xếp thành những vòng tròn đồng tâm từ vùng chu biên vào vùng cận trung tâm có tác dụng tạo lệch tiêu cận thị. Thiết kế này dẫn đến những quan ngại về chất lượng thị giác và khả năng thích nghi của trẻ khi sử dụng kính. Vì vậy, chúng tôi muốn so sánh thị lực và đánh giá chủ quan của trẻ về mặt thị giác khi sử dụng tròng kính HAL so với tròng kính ĐTC thông thường.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nghiên cứu được tiến hành trong 10 tháng (từ tháng 5/2019 đến tháng 3/2020) tại Khoa Mắt, Bệnh viện An Sinh trên đối tượng trẻ em cận thị thỏa mãn các tiêu chuẩn sau:

Tiêu chuẩn lựa chọn: Trẻ em từ 7 đến 13 tuổi, có độ cầu tương đương sau liệt điều tiết đo bằng máy Shin Nippon K 5001 từ -0,75D đến -4,75D mỗi mắt, với độ loạn không quá -1,50D, bất đồng khúc xạ không quá 1,00D; thị lực chính kính tối đa (LogMAR) từ 0,06 trở lên.

Tiêu chuẩn loại trừ: Trẻ có lệ hoặc bất kỳ bệnh lý mắt nào khác như bệnh lý võng mạc, đục thủy tinh thể, sụp mí; bệnh lý toàn thân hoặc chậm phát triển tâm thần; đang sử dụng thuốc tại mắt hoặc toàn thân có thể gây ảnh hưởng đến tiến triển cận thị hoặc thị lực; có tiền sử điều trị kiểm soát cận thị; đang tham gia một thử nghiệm lâm sàng khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Thử nghiệm lâm sàng phân bố ngẫu nhiên, có nhóm chứng, tiền cứu, mù đôi.

Cỡ mẫu: Tổng số 119 trẻ, đã bao gồm tỷ lệ bỏ cuộc dự đoán 20%.

Các bước tiến hành nghiên cứu: Trẻ thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn được ký bản đồng thuận tham gia nghiên cứu, sau đó sử dụng phần mềm Randomization.com chia mỗi trẻ một mã ngẫu nhiên và phân vào một trong hai nhóm: sử dụng tròng kính HAL hoặc sử dụng tròng kính ĐTC. Người làm kính và người phát kính cho trẻ không phải là người đo, khám trực tiếp. Mã ngẫu nhiên chỉ được giữ bởi thành viên nhóm nghiên cứu chuyên trách về thống kê y học và chỉ được mở ra khi kết thúc nghiên cứu.

Tại lần khám ban đầu, nghiên cứu viên tiến hành thu thập thông tin hành chính, khai thác bệnh sử, tiền căn. Sau đó, trẻ được đo khúc xạ chủ quan và thị lực nhìn xa chính kính tối đa với bảng Snellen ở khoảng cách 5 m cho từng mắt và hai mắt, thị lực nhìn gần từng mắt với bảng LVRC. Các bước đo thị lực và khúc xạ sẽ được lặp lại vào tháng thứ 3 và tháng thứ 6. Ngoài ra, ở hai lần khám này, trẻ được yêu cầu điền vào bảng câu hỏi khảo sát trải nghiệm của trẻ khi sử dụng kính.

Nghiên cứu viên, trẻ và cha mẹ đều không biết loại kính mà trẻ được chỉ định sử dụng trong suốt quá trình nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu: Chất lượng thị giác được đánh giá dựa trên:

- Thị lực nhìn xa từng mắt, hai mắt và thị lực nhìn gần từng mắt.
- Đánh giá chủ quan của trẻ.

Thống kê và xử lý số liệu: Nhập và xử lý số liệu bằng phần mềm Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, Mỹ) và SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, Mỹ). Các biến liên tục được trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn, khoảng tin cậy 95%. Các biến định tính được trình bày dưới dạng tỷ lệ phần trăm (%). Sử dụng kiểm định t cho biến liên tục. Sử dụng kiểm định Chi bình phương cho các biến phân loại, $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu

Chúng tôi thu nhận được 119 trẻ tham gia nghiên cứu, trong đó có 54 trẻ (45,4%) đeo tròng kính HAL và 65 trẻ (54,6%) đeo tròng kính ĐTC. Sau 6 tháng, mỗi nhóm có 4 trẻ dừng tham gia nghiên cứu, trong đó có 2 trẻ đeo tròng kính HAL cảm thấy khó chịu khi sử dụng kính (bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm của hai nhóm nghiên cứu.

Biến số	n	Tròng HAL	n	Tròng ĐTC	Giá trị p
Tuổi	54	11,2±1,6	65	10,9±1,7	0,437
Giới (nam:nữ)	54	23:31	65	31:34	0,586
Độ cầu tương đương (D)	108	-3,47±1,16	130	-3,37±1,22	0,629
		[-1,05; -6,13]		[-0,58; -6,30]	
Thị lực nhìn xa hai mắt (LogMAR)	54	0,0±0,04	65	-0,01±0,05	0,334
		[-0,1; 0,06]		[-0,1; 0,1]	
Thị lực nhìn xa từng mắt (LogMAR)	108	0,03±0,03	130	0,03±0,03	0,340
		[-0,04; 0,14]		[-0,04; 0,16]	
Thị lực nhìn gần từng mắt (hàng N)	108	4,0±0,1	130	4,1±0,2	0,731
		[4,0; 5,0]		[4,0; 5,0]	

Tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu, không có sự khác biệt về tuổi, giới, độ cầu tương đương, thị lực nhìn xa và nhìn gần giữa hai nhóm nghiên cứu ($p>0,05$). Điều này đảm bảo tính đồng nhất giữa hai nhóm nghiên cứu.

3.2. Thị lực

Thị lực của nhóm nghiên cứu được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Thị lực tại các lần khám.

Biến số	n	Tròng HAL	n	Tròng ĐTC	Giá trị p
Thị lực nhìn xa hai mắt					
Khám lần đầu	54	0,0±0,04	65	-0,01±0,05	0,334
		[-0,1; 0,06]		[-0,1; 0,1]	
3 tháng	50	0,02±0,05	62	0,04±0,07	0,267
		[-0,1; 0,2]		[-0,08; 0,4]	
6 tháng	50	0,02±0,03	61	0,02±0,03	0,751
		[-0,08; 0,12]		[-0,08; 0,1]	
Thị lực nhìn xa từng mắt					
Khám lần đầu	108	0,03±0,03	130	0,03±0,03	0,340
		[-0,04; 0,14]		[-0,04; 0,16]	
3 tháng	100	0,06±0,05	124	0,07±0,08	0,237
		[-0,0; 0,26]		[0,0; 0,4]	
6 tháng	100	0,03±0,03	122	0,04±0,03	0,235
		[0,0; 0,14]		[-0,04; 0,24]	
Thị lực nhìn gần từng mắt					
Khám lần đầu	108	4,0±0,1	130	4,1±0,2	0,731
		[4,0; 5,0]		[4,0; 5,0]	
3 tháng	100	4,0±0,2	124	4,1±0,3	0,069
		[4,0; 5,0]		[4,0; 5,0]	
6 tháng	100	4,0±0,0	122	4,0±0,2	0,082
		[4,0; 4,0]		[4,0; 5,0]	

Kết quả bảng 2 cho thấy, không có sự khác biệt về thị lực nhìn xa và nhìn gần giữa trẻ sử dụng tròng kính HAL và trẻ sử dụng tròng kính ĐTC thông thường ($p>0,05$). Kết quả của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của J. Bao và cs (2022) [5]. Một nghiên cứu khác lại cho thấy, tròng kính

HAL làm giảm thị lực vùng trung tâm $0,07\pm0,09$ LogMAR (tương đương với nửa dòng trên bảng đo thị lực) so với tròng kính ĐTC [6]. Điều này là do chúng tôi và J. Bao và cs (2022) [5] đánh giá thị lực trung tâm khi đối tượng nhìn qua vùng quang học trung tâm của tròng kính, trong khi đánh giá thị lực trung tâm khi đối tượng nhìn qua vùng cận trung tâm chứa các vi thấu kính phi cầu. Tóm lại, khi nhìn qua vùng nhìn rõ ở trung tâm kính, thị lực của trẻ sử dụng tròng kính HAL không bị ảnh hưởng.

3.3. Đánh giá chủ quan của trẻ

Triệu chứng và đánh giá chủ quan của trẻ khi sử dụng kính được thể hiện ở các bảng 3 và 4.

Bảng 3. Triệu chứng chủ quan sau 3 và 6 tháng sử dụng kính.

Lần khám	Loại kính	Triệu chứng	Giá trị p
Chóng mặt			
		Có	Không
3 tháng	HAL	24%	76%
	ĐTC	6,5%	93,5%
6 tháng	HAL	18%	82%
	ĐTC	19,7%	80,3%
Đau đầu			
		Có	Không
3 tháng	HAL	18%	82%
	ĐTC	11,3%	88,7%
6 tháng	HAL	18%	82%
	ĐTC	9,7%	90,3%
Mỏi mắt			
		Có	Không
3 tháng	HAL	30%	70%
	ĐTC	24,2%	75,8%
6 tháng	HAL	26%	74%
	ĐTC	18%	82%
Buồn nôn			
		Có	Không
3 tháng	HAL	2%	98%
	ĐTC	0%	100%
6 tháng	HAL	0%	100%
	ĐTC	3,3%	96,7%

Buồn nôn là triệu chứng ít xảy ra nhất khi trẻ thay đổi tròng kính. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các triệu chứng đau đầu, mỏi mắt, buồn nôn ở hai nhóm qua các lần tái khám. Tuy nhiên, tại lần khám 3 tháng, có 24% trẻ sử dụng tròng kính HAL báo cáo triệu chứng chóng mặt, trong khi con số này ở trẻ sử dụng tròng kính ĐTC là 6,5% ($p=0,008$). Đáng lưu ý là đến lần khám 6 tháng, tỷ lệ trẻ em sử dụng tròng kính HAL báo cáo hiện tượng chóng mặt đã giảm xuống còn 18% và không có sự khác biệt so với tròng kính ĐTC. Điều này có lẽ là do trẻ cần thời gian lâu hơn để thích nghi với tròng kính HAL.

Bảng 4. Đánh giá chủ quan của trẻ.

Lần khám	Loại kính	Đánh giá chủ quan				Giá trị p
		Sự thoải mái khi sử dụng kính				
		Rất thoải mái	Hơi thoải mái	Hơi khó chịu	Rất khó chịu	
3 tháng	HAL	54%	30%	16%	0%	0,051
	ĐTC	67,7%	29%	3,2%	0%	
6 tháng	HAL	56%	42%	2%	0%	0,094
	ĐTC	75,4%	23%	1,6%	0%	
Cảm nhận của trẻ						
		Rất thích	Thích	Không thích	Rất không thích	
3 tháng	HAL	42%	58%	0%	0%	0,443
	ĐTC	40,3%	56,5%	3,2%	0%	
6 tháng	HAL	42%	56%	2%	0%	0,504
	ĐTC	47,5%	50,8%	0%	1,6%	
Khả năng thích nghi với kính						
		Rất dễ	Dễ	Khó	Rất khó	
3 tháng	HAL	26%	46%	26%	2%	0,023
	ĐTC	45,2%	46,8%	8,1%	0%	
6 tháng	HAL	38%	54%	8%	0%	0,779
	ĐTC	32,8%	60,7%	6,6%	0%	
Khả năng nhìn xa với kính (bảng đen, bảng báo hiệu)						
		Rất rõ	Hơi rõ	Hơi mờ	Rất mờ	
3 tháng	HAL	36%	58%	6%	0%	0,319
	ĐTC	50%	41,9%	6,5%	1,6%	
6 tháng	HAL	46%	48%	6%	0%	0,959
	ĐTC	47,5%	47,5%	4,9%	0%	
Khả năng nhìn gần với kính (đọc sách)						
		Rất rõ	Hơi rõ	Hơi mờ	Rất mờ	
3 tháng	HAL	62%	36%	2%	0%	0,142
	ĐTC	77,4%	22,6%	0%	0%	
6 tháng	HAL	56%	42%	2%	0%	0,402
	ĐTC	60,7%	39,3%	0%	0%	
Khả năng nhìn khi đi bộ, chạy, chơi thể thao						
		Rất tốt	Tốt	Không tốt	Hoàn toàn không tốt	
3 tháng	HAL	36%	60%	4%	0%	0,02
	ĐTC	59,7%	40,3%	0%	0%	
6 tháng	HAL	34%	60%	6%	0%	0,048
	ĐTC	50,8%	49,2%	0%	0%	
Khả năng nhìn khi ở trên xe máy, xe ô tô						
		Rất tốt	Tốt	Không tốt	Hoàn toàn không tốt	
3 tháng	HAL	46%	50%	4%	0%	0,239
	ĐTC	61,3%	37,1%	1,6%	0%	
6 tháng	HAL	46%	54%	0%	0%	0,038
	ĐTC	65,6%	34,4%	0%	0%	

Sự thoải mái, cảm nhận của trẻ, khả năng nhìn xa và gần khi sử dụng kính ở hai nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê qua các lần tái khám ($p>0,05$). Trong 3 tháng đầu, trông kính HAL được đánh giá là khó thích nghi hơn so với trông kính đơn tiêu cự ($p=0,023$). Hai trẻ ngừng sử dụng kính thử vì khó chịu trong nghiên cứu của chúng tôi cũng xảy ra trong 3 tháng đầu.

Ngoài ra, khả năng nhìn trong khi chuyển động (đi bộ, chạy, chơi thể thao) khi sử dụng trông HAL được trẻ đánh giá thấp hơn. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng, tỷ lệ trẻ đánh giá “không tốt” dưới 10%. Lý giải cho điều này chúng tôi cho rằng, ở những hoạt động tĩnh như nhìn bảng, đọc sách, trẻ sẽ chủ yếu nhìn qua vùng trung tâm kính, còn với những hoạt động vận động thường yêu cầu trường nhìn bao quát và trẻ có thể quan sát môi trường xung quanh qua cả vùng trung tâm và ngoại vi của kính, do đó chất lượng thị giác có thể bị những vi thấu kính phi cầu ở vùng cận trung tâm và ngoại vi của kính ảnh hưởng. Kết quả cho thấy, thị lực khi nhìn qua vùng chứa các vi thấu kính chỉ bị giảm 1 dòng nhưng đánh giá trong nghiên cứu được thực hiện khi bệnh nhân ngồi yên, có thể chất lượng thị giác trong những hoạt động thể thao còn bị ảnh hưởng bởi tốc độ di chuyển của vật cũng như của cơ thể.

4. Kết luận

Thị lực nhìn xa, thị lực nhìn gần và đánh giá chủ quan về mức độ hài lòng của trẻ với trông kính HAL trong các hoạt động học tập tương đương với trông kính ĐTC. Tuy nhiên, trông kính HAL được đánh giá là khó thích nghi hơn, do đó trẻ cần thời gian thích nghi lâu hơn. Có 2 trẻ (3,7%) trong nghiên cứu của chúng tôi không thích nghi được với trông HAL. Ngoài ra, mức độ hài lòng của trẻ sử dụng trông HAL trong các hoạt động vận động cũng thấp hơn so với trông ĐTC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K.S. Naidoo, T.R. Fricke, K.D. Fricket, et al. (2019), “Potential lost productivity resulting from the global burden of myopia: Systematic review, meta-analysis, and modeling”, *Ophthalmology*, **126**(3), pp.338-346, DOI: 10.1016/j.optha.2018.10.029.
- [2] A.E.G. Haarman, C.A. Enthoven, J.W.L. Tideman, et al. (2020), “The complications of myopia: A review and meta-analysis”, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **61**(4), DOI: 10.1167/iovs.61.4.49.
- [3] E.L. Smith, R. Ramamirtham, Y.Q. Grider, et al. (2007), “Effects of foveal ablation on emmetropization and form-deprivation myopia”, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **48**(9), pp.3914-3922, DOI: 10.1167/iovs.06-1264.
- [4] A.B. Pérez, A. Nour, D. Troilo (2014), “Axial eye growth and refractive error development can be modified by exposing the peripheral retina to relative myopic or hyperopic defocus”, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **55**(10), pp.6765-6773, DOI: 10.1167/iovs.14-14524.
- [5] J. Bao, A. Yang, Y. Huang, et al. (2022), “One-year myopia control efficacy of spectacle lenses with aspherical lenslets”, *British Journal of Ophthalmology*, **106**(8), pp.1171-1176, DOI: 10.1136/bjophthalmol-2020-318367.
- [6] X. Li, C. Ding, Y. Li, et al. (2021), “Influence of lenslet configuration on short-term visual performance in myopia control spectacle lenses”, *Frontiers in Neuroscience*, **15**, DOI: 10.3389/fnins.2021.667329.

Vai trò của câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng trong dự phòng đột quỵ não ở người bệnh tăng huyết áp

Trương Tuấn Anh*, Hoàng Thị Vân Lan

Trường Đại học Điều dưỡng Nam Định, 254 Hàn Thuyên, phường Vị Xuyên, TP Nam Định, tỉnh Nam Định, Việt Nam

Ngày nhận bài 5/6/2023; ngày chuyển phản biện 7/6/2023; ngày nhận phản biện 26/6/2023; ngày chấp nhận đăng 29/6/2023

Tóm tắt:

Mục tiêu: Đánh giá kết quả thí điểm áp dụng mô hình câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng cho người bệnh tăng huyết áp dự phòng đột quỵ. **Phương pháp:** Nghiên cứu can thiệp có đối chứng, mỗi nhóm có 30 người bệnh tăng huyết áp 50-75 tuổi. Thành lập câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng dành cho nhóm can thiệp. **Kết quả:** Sau can thiệp chỉ còn khoảng 1/4-1/3 đối tượng ở nhóm can thiệp chưa tuân thủ các nội dung về dùng thuốc. Con số này ở nhóm đối chứng là cao hơn nhiều, trong đó 3/4 số nội dung có tỷ lệ không tuân thủ về dùng thuốc ở mức 100%. Chưa nhận thấy được sự thay đổi đáng kể về việc tuân thủ chế độ ăn ở 02 nhóm nghiên cứu. Tỷ lệ người kiểm soát được huyết áp ở nhóm can thiệp là cao hơn và có xu hướng tăng so với nhóm đối chứng. Cụ thể, nhóm can thiệp từ 70 tăng lên 73,3% sau 3 tháng can thiệp và sau 9 tháng là 86,7%. Các số liệu này ở nhóm đối chứng lần lượt là: 80, 60 và 53,3%. **Kết luận:** Câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng có vai trò quan trọng trong việc nâng cao kiến thức và tuân thủ điều trị ở người bệnh tăng huyết áp, góp phần dự phòng nguy cơ đột quỵ.

Từ khóa: câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng, đột quỵ, tăng huyết áp.

Chỉ số phân loại: 3.3, 3.5

The role of community health clubs in preventing stroke in hypertensive patients

Tuan Anh Truong*, Thi Van Lan Hoang

Nam Dinh University of Nursing, 254 Han Thuyen Street, Vi Xuyen Ward, Nam Dinh City, Nam Dinh Province, Vietnam

Received 5 June 2023; revised 26 June 2023; accepted 29 June 2023

Abstract:

Objective: To evaluate the outcomes of a pilot implementation of a community health club model for patients with hypertension in stroke prevention. **Methods:** A controlled intervention study was conducted, with each group consisting of 30 hypertensive patients aged 50-75 years. A community health club was established for the intervention group. **Results:** After the intervention, only about one-quarter to one-third of participants in the intervention group were non-adherent to medication-related recommendations, whereas this proportion was much higher in the control group, with non-adherence rates reaching 100% for three-quarters of the measured criteria. No significant changes in dietary adherence were observed in either group. The rate of blood pressure control in the intervention group was higher and showed an increasing trend compared to the control group. Specifically, the proportion of patients in the intervention group with controlled blood pressure increased from 70 to 73.3% after 3 months, and to 86.7% after 9 months; in the control group, these figures were 80, 60, and 53.3%, respectively. **Conclusion:** The community health club plays an important role in enhancing knowledge and treatment adherence among hypertensive patients, thereby contributing to stroke risk prevention.

Keywords: community health club, hypertension, stroke.

Classification numbers: 3.3, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: tuananhd69@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Tăng huyết áp là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây ra các bệnh tim mạch (CVD) và tử vong liên quan đến CVD trên toàn cầu. Năm 2019, khoảng 1,13 tỷ người trên thế giới bị tăng huyết áp [1, 2]. Bên cạnh việc phòng ngừa sự gia tăng tỷ lệ lưu hành thì việc quản lý hiệu quả những đối tượng hiện mắc tăng huyết áp đóng vai trò rất quan trọng trong hệ thống chăm sóc sức khỏe của mỗi quốc gia.

Kiểm soát huyết áp bằng thuốc, tuân thủ phác đồ điều trị bao gồm tái khám và thay đổi lối sống là yếu tố then chốt để giảm các biến cố lâm sàng. Giảm huyết áp là một trong những biện pháp can thiệp hiệu quả nhất để ngăn ngừa cả đột quỵ nguyên phát và đột quỵ thứ phát [3]. Tuy nhiên, do điều trị tăng huyết áp là một phương pháp điều trị lâu dài và cần tuân thủ nghiêm ngặt nên bệnh nhân thường không đạt được huyết áp mục tiêu (tức là huyết áp <140/90 mmHg).

Các công cụ tự quản lý, bao gồm máy theo dõi huyết áp, nhật ký huyết áp và các hướng dẫn thực hành, được phát triển để hỗ trợ bệnh nhân điều trị và thay đổi lối sống dựa trên việc cung cấp thông tin cá nhân về tăng huyết áp. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, việc tự quản lý huyết áp đóng vai trò quan trọng trong việc đạt được huyết áp mục tiêu [4, 5] thông qua ghi nhận huyết áp, có thể dẫn đến cải thiện việc tuân thủ điều trị và kiểm soát. Bên cạnh việc tự quản lý, cũng đã có các bằng chứng cho thấy vai trò của các câu lạc bộ sức khỏe trong kiểm soát huyết áp [6].

Tại Việt Nam, hiện nay đã có nhiều câu lạc bộ sức khỏe dành cho người bệnh tăng huyết áp được thành lập, bước đầu cũng đã góp phần nâng cao kiến thức và tuân thủ điều trị ở người bệnh. Ngoài ra, có rất nhiều chương trình thương mại và các cơ sở câu lạc bộ sức khỏe được thành lập để tạo cơ hội cho việc thúc đẩy hoạt động thể lực. Tuy nhiên, hầu hết các câu lạc bộ này đều dành cho người bệnh đang điều trị nội trú hoặc quản lý điều trị ngoại trú tại các bệnh viện. Do vậy, tính gắn kết giữa các thành viên chưa cao, thiếu tính thường xuyên và ổn định, tính bền vững thấp.

Một câu hỏi cụ thể và thiết thực cần được giải quyết là liệu và ở mức độ nào, việc trở thành thành viên câu lạc bộ sức khỏe có liên quan đến việc kiểm soát huyết áp, từ đó, dự phòng được các biến cố lâm sàng do bệnh gây ra, trong đó có đột quỵ. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là đánh giá kết quả thí điểm áp dụng mô hình câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng cho người bệnh tăng huyết áp trong việc nâng cao kiến thức và hành vi tuân thủ điều trị, qua đó, góp phần dự phòng đột quỵ.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là người từ 50-75 tuổi, được chẩn đoán có bệnh tăng huyết áp độ I hoặc II đang được quản lý tại trạm y tế. Có khả năng đi lại, giao tiếp bình thường, chưa bị các biến chứng của bệnh tăng huyết áp, đồng ý tham gia nghiên cứu. Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1 đến tháng 10/2020 tại một số trạm y tế xã của tỉnh Nam Định.

Nghiên cứu đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Điều dưỡng Nam Định theo quyết định số 2590/GCN-HĐĐĐ ngày 19/11/2019. Kết quả của đề tài chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Sử dụng thiết kế nghiên cứu can thiệp cộng đồng có nhóm đối sánh.

Mẫu và phương pháp chọn mẫu: Chọn ngẫu nhiên một xã tham gia thí điểm áp dụng một số các giải pháp và một xã đối chứng. Để nhóm can thiệp và nhóm chứng có đặc điểm về kinh tế - chính trị - xã hội tương đối tương đồng, nghiên cứu sẽ lựa chọn ngẫu nhiên một xã của huyện Vụ Bản là xã can thiệp và một xã của huyện Hải Hậu làm nhóm chứng. Kết quả bốc thăm đã chọn được xã Trung Thành, huyện Vụ Bản là xã can thiệp và xã Hải Quang, huyện Hải Hậu là xã đối chứng. Tại xã can thiệp, lựa chọn ngẫu nhiên 30 người được chẩn đoán tăng huyết áp theo tiêu chuẩn chẩn đoán và thành lập câu lạc bộ sức khỏe. Tại xã đối chứng, lựa chọn 30 người bị bệnh tăng huyết áp có các đặc điểm tương đồng như nhóm can thiệp để theo dõi.

Quy trình can thiệp:

- Giai đoạn 1: Đánh giá trước can thiệp, khảo sát các thông tin ở cả hai nhóm can thiệp và đối chứng. Huyết áp của người bệnh, kiến thức, thực hành về tuân thủ điều trị của người bệnh ở cả hai nhóm can thiệp và đối chứng.

- Giai đoạn 2: Tổ chức chương trình can thiệp, chỉ áp dụng cho nhóm can thiệp.

Hình thức, tần suất và địa điểm hoạt động: Hoạt động tập trung tại trạm y tế xã, tối thiểu 2 tháng sinh hoạt một lần. Thời gian do cụ thể do Ban chủ nhiệm và các thành viên tự thống nhất. Nội dung hoạt động chính: trao đổi, cập nhật các kiến thức liên quan đến điều trị bệnh, tuân thủ điều trị, chế độ ăn uống, hoạt động thể lực. Nội dung chính của một buổi sinh hoạt: (i) đo các chỉ số huyết áp, đường huyết, đo các chỉ số cân nặng, chiều cao và tính BMI; (ii) sinh hoạt chuyên môn (mỗi buổi tập trung vào một chủ đề); (iii) tập bài thể dục được hướng dẫn; (iv) tổng kết và xác định nội dung chuyên môn cho buổi sinh hoạt kế tiếp.

Các hỗ trợ chuyên môn cho câu lạc bộ: Cán bộ hỗ trợ chuyên môn trực tiếp tại cộng đồng là trạm trưởng trạm y tế xã hoặc 1 nhân viên trạm y tế (nhóm đối tượng này đã được tập huấn về kiến thức và phương pháp triển khai câu lạc bộ nâng cao sức khỏe tại cộng đồng). Ban quản lý đã tổ chức 6 buổi tập huấn cho các thành viên câu lạc bộ với các nội dung: nâng cao nhận thức của bệnh nhân về việc dùng thuốc hạ áp thông qua hoạt động tư vấn; khuyến khích và hướng dẫn sử dụng bằng phiên giải và hỗ trợ tự theo dõi huyết áp tại nhà; các biện pháp dự phòng biến chứng của bệnh; hướng dẫn các bài tập thể dục phù hợp với tình trạng sức khỏe; xây dựng chế độ ăn phù hợp với tình trạng bệnh lý. Hỗ trợ cho câu lạc bộ 1 máy đo huyết áp và 1 máy đo đường huyết nhanh.

Giám sát chương trình can thiệp: Để hỗ trợ các câu lạc bộ cũng như y tế thôn triển khai thành công các nội dung can thiệp, nhóm nghiên cứu sẽ tiến hành các hoạt động giám sát hỗ trợ. Ban quản lý sẽ tham gia sinh hoạt cùng với các câu lạc bộ (mỗi câu lạc bộ từ 2-3 lần) cũng như tiến hành sàng lọc phát hiện sớm người có nguy cơ cao cùng với y tế thôn.

- Giai đoạn 3: Đánh giá giữa kỳ: Sau 3 tháng triển khai các hoạt động can thiệp, Ban quản lý sẽ tiến hành đánh giá kết quả giữa kỳ. Các nội dung đánh giá giống như đánh giá ban đầu và được triển khai thực hiện tại cả 2 nhóm can thiệp và đối chứng.

- Giai đoạn 4: Đánh giá sau can thiệp: Sau 10 tháng tiến hành can thiệp và hỗ trợ giám sát, nghiên cứu tiến hành đánh giá các kết quả của chương trình. Tiến hành đánh giá ở cả hai nhóm can thiệp và đối chứng, nội dung đánh giá giống như ở giai đoạn trước can thiệp. Các nội dung đánh giá giống lần 1 và 2.

Quy trình xây dựng công cụ thu thập thông tin: Công cụ thu thập thông tin được xây dựng dựa trên các hướng dẫn và khuyến cáo về điều trị tăng huyết áp của Bộ Y tế và Hội Tim mạch Việt Nam. Sử dụng phương pháp chuyên gia để đánh giá tính giá trị của công cụ. Các công cụ phiên bản đầu tiên sẽ được gửi đến 3 chuyên gia trong lĩnh vực liên quan cho ý kiến nhận xét. Sử dụng phương pháp điều tra thử nghiệm tại cộng đồng để đánh giá độ tin cậy của thang đo. Sau khi nhận được các ý kiến phản hồi của các bên liên quan từ hai hoạt động trên, nhóm nghiên cứu tiến hành chỉnh sửa và hoàn thiện bộ công cụ.

Phương pháp thu thập thông tin: Sử dụng phỏng vấn trực tiếp và phương pháp tự điền (có giám sát) để thu thập các thông tin liên quan. Sử dụng máy đo huyết áp thủy ngân để đo chỉ số huyết áp của đối tượng.

Phương pháp phân tích số liệu: Các số liệu được quản lý bằng phần mềm Epidata và phân tích bằng phần mềm SPSS 22.0. Sử dụng bảng tần số và tỷ lệ % để mô tả các biến số.

3. Kết quả và bàn luận

Bảng 1. Một số thông tin chung của đối tượng tham gia nghiên cứu.

Biến số	Đặc tính	Can thiệp (n=30)		Đối chứng (n=30)	
		Tần số	Tỷ lệ %	Tần số	Tỷ lệ %
Giới tính	Nam	18	60	18	60
	Nữ	12	40	12	40
Nhóm tuổi	50-59	2	6,7	2	6,7
	60-69	13	43,3	13	43,3
	≥70	15	50,0	15	50,0
Công việc	Nông nghiệp	25	83,3	25	83,3
	Nghỉ hưu	5	16,7	5	16,7
Thời gian được chẩn đoán bệnh	≤5 năm	21	70,0	21	70,0
	6-10 năm	6	20,0	6	20,0
	≥11 năm	3	10,0	3	10,0
Phân độ tăng huyết áp	Độ 1	13	43,3	13	43,3
	Độ 2	17	56,7	17	56,7

Kết quả bảng 1 cho thấy, 100% các đối tượng ở cả 2 nhóm đều được quan sát trong suốt thời gian nghiên cứu. Về cơ bản, đặc điểm của 2 nhóm này tương đối tương đồng ở tất cả các đặc điểm chung.

Bảng 2. Mức độ tuân thủ dùng thuốc của đối tượng giữa các thời điểm nghiên cứu.

Nội dung	Can thiệp (n=30)			Đối chứng (n=30)		
	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)
Tự ý tăng hoặc giảm lượng thuốc của mình	93,3	33,3	40	90	100	100
Không uống thuốc theo đúng thời gian quy định	96,7	30	23,3	96,7	100	100
Tự ngừng uống thuốc khi cảm thấy khỏe hơn	90	36,7	40	93,3	93,3	96,7
Tự ngừng uống thuốc khi cảm thấy không khỏe	90	26,7	16,7	93,3	93,3	100

T1: Thời điểm nghiên cứu lần thứ nhất, T2: Thời điểm nghiên cứu lần thứ hai, T3: Thời điểm nghiên cứu lần thứ ba.

Kết quả bảng 2 cho thấy, sau can thiệp chỉ còn khoảng 1/4-1/3 đối tượng ở nhóm can thiệp chưa tuân thủ các nội dung về dùng thuốc. Số liệu này ở nhóm đối chứng là cao hơn, có 3/4 số nội dung có tỷ lệ không tuân thủ ở mức 100%.

Bảng 3. Mức độ tuân thủ chế độ ăn của đối tượng giữa các thời điểm nghiên cứu.

Nội dung	Can thiệp (n=30)			Đối chứng (n=30)		
	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)
Ăn giảm lượng muối	53,3	73,3	66,7	63,3	70	70
Ăn giảm chất béo và mỡ động vật	50	56,7	63,3	53,3	73,3	76,7
Ăn giảm lượng đường và đồ ngọt	40	50	66,7	50	83,3	70
Ăn giảm các thức ăn chế biến sẵn	20	60	56,7	60	70	46,7
Ăn tăng các loại rau xanh	96,7	93,3	96,7	83,3	90	90
Sử dụng rượu, bia ở mức cho phép	36,7	70	63,3	46,7	46,7	36,7

T1: Thời điểm nghiên cứu lần thứ nhất, T2: Thời điểm nghiên cứu lần thứ hai, T3: Thời điểm nghiên cứu lần thứ ba.

Kết quả bảng 3 cho thấy, chế độ ăn của người bệnh tăng huyết áp, đặc biệt là người cao tuổi và người bệnh là nam giới phụ thuộc rất nhiều vào vợ và con của họ. Do vậy, nghiên cứu này chưa nhận thấy được sự thay đổi đáng kể về việc tuân thủ chế độ ăn ở 2 nhóm nghiên cứu.

Bảng 4. Mức độ tuân thủ chế độ tập luyện và theo dõi sức khỏe của đối tượng giữa các thời điểm nghiên cứu.

Nội dung	Can thiệp (n=30)			Đối chứng (n=30)		
	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)	T1 (%)	T2 (%)	T3 (%)
Vận động thể lực >5 lần/tuần	73,3	90	86,7	80	76,7	60
Vận động ≥30 phút/lần	63,3	76,7	70	40	46,7	53,3
Kiểm soát cân nặng	60	93,3	76,7	50	63,3	43,3
Khám bệnh định kỳ	56,7	73,3	80	70	73,3	80
Đo huyết áp tại nhà	33,3	46,7	60	56,7	63,3	50

T1: Thời điểm nghiên cứu lần thứ nhất, T2: Thời điểm nghiên cứu lần thứ hai, T3: Thời điểm nghiên cứu lần thứ ba.

Kết quả bảng 4 cho thấy, xu hướng thay đổi hành vi tuân thủ chế độ tập luyện và theo dõi sức khỏe của nhóm can thiệp tốt hơn so với nhóm đối chứng.

Bảng 5. Phân loại tình trạng kiểm soát huyết áp (huyết áp <140/90 mmHg) của đối tượng giữa các thời điểm nghiên cứu.

Phân loại		Can thiệp (n=30)			Đối chứng (n=30)		
		T1	T2	T3	T1	T2	T3
Đạt	Tần số	21	22	26	24	18	16
	Tỷ lệ %	70	73,3	86,7	80,0	60,0	53,3
Chưa đạt	Tần số	9	8	4	6	12	14
	Tỷ lệ %	30	26,7	13,3	20,0	40,0	46,7

T1: Thời điểm nghiên cứu lần thứ nhất, T2: Thời điểm nghiên cứu lần thứ hai, T3: Thời điểm nghiên cứu lần thứ ba.

Kết quả bảng 5 cho thấy, tỷ lệ người kiểm soát được huyết áp ở nhóm can thiệp là cao hơn và có xu hướng tăng so với nhóm đối chứng.

Trong dữ liệu ban đầu, các đối tượng giữa nhóm can thiệp và nhóm chứng tương đối đồng nhất về đặc điểm của những người tham gia bao gồm tuổi tác, dân tộc, giáo dục và nghề nghiệp. Mặc dù chưa đi sâu phân tích thêm sự khác biệt, tuy nhiên, để giải quyết các khác biệt này phương pháp đối sánh điểm xu hướng đã được sử dụng. Phương pháp này có thể giúp giải quyết được vấn đề bất đồng và không có sự khác biệt nào được ghi nhận trong dữ liệu đối sánh và điều này cho phép tạo ra các ước tính chính xác hơn cho các tác động can thiệp của câu lạc bộ đối với việc cải thiện việc quản lý huyết áp của nhóm can thiệp. Trong y văn, phương pháp so khớp điểm xu hướng đã được sử dụng rộng rãi để củng cố các lập luận nhân quả trong các nghiên cứu bán thực nghiệm và quan sát bằng cách giảm sự sai lệch lựa chọn [7, 8].

Trong nghiên cứu này, hầu hết các chỉ số so sánh, nhóm can thiệp đều có xu hướng thay đổi theo hướng tích cực

hơn so với nhóm đối chứng. Mặc dù vậy, có một số chỉ số so sánh không có nhiều điểm khác biệt, ví dụ như tuân thủ chế độ ăn. Chế độ ăn của người bệnh tăng huyết áp, đặc biệt là người cao tuổi và người bệnh là nam giới phụ thuộc rất nhiều vào vợ và con của họ. Do vậy, trong nghiên cứu này chưa nhận thấy được sự thay đổi đáng kể về việc tuân thủ chế độ ăn ở nhóm can thiệp. Phát hiện này của chúng tôi cũng phù hợp với một số kết quả nghiên cứu trước đây tại Việt Nam [5, 9].

Khi tham gia câu lạc bộ sức khỏe, các đối tượng được giới thiệu chi tiết về vai trò của việc tuân thủ dùng thuốc trong kiểm soát huyết áp. Họ cũng được chuyên gia giới thiệu về các cách thức để có thể thường xuyên tuân thủ dùng thuốc theo phác đồ. Với những hoạt động đã tham gia, nhóm người bệnh tăng huyết áp ở nhóm can thiệp có mức độ tuân thủ sử dụng thuốc tốt hơn hẳn so với nhóm đối chứng. Điều này cho thấy, người bệnh tăng huyết áp tại cộng đồng gặp rất nhiều rào cản trong việc tuân thủ dùng thuốc. Một trong những giải pháp có thể cải thiện được vấn đề này đó là hình thành các câu lạc bộ nâng cao sức khỏe tại cộng đồng cho nhóm này. Với các phát hiện thu được trong nghiên cứu này, có thể thấy rằng, kết quả tích cực phần lớn là do các tác động của chương trình can thiệp. Phương pháp can thiệp và cách tiếp cận này đã giúp những người bệnh tăng huyết áp nhận thức rõ hơn về tình trạng huyết áp của họ, nâng cao kiến thức về tầm quan trọng của việc quản lý huyết áp và tăng cường sử dụng các công cụ tự quản lý, đồng thời đạt được tỷ lệ duy trì cao đáng kể trong khoảng thời gian một năm. Câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng dành cho người bệnh tăng huyết áp tập trung vào nâng cao khả năng tự kiểm soát huyết áp của đối tượng, giúp họ chủ động hơn để kiểm soát các vấn đề sức khỏe của mình. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra tác động tích cực của các biện pháp can thiệp dựa vào cộng đồng đối với bệnh nhân tăng huyết áp, chẳng hạn như Chương trình nâng cao nhận thức về sức khỏe tim mạch của Canada [10].

Trong nghiên cứu này, những thay đổi trong hành vi, lối sống, tuân thủ điều trị, đặc biệt là thay đổi huyết áp, được chọn làm thước đo kết quả vì chúng liên kết trực tiếp và chặt chẽ nhất với các biện pháp can thiệp được cung cấp. Được tích hợp chặt chẽ với thành phần quản lý tăng huyết áp hướng đến bệnh nhân, câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng do nhóm nghiên cứu, xây dựng đã tạo điều kiện chuyển tiếp bệnh nhân sang một hệ thống chăm sóc sức khỏe toàn diện, nhằm cung cấp hiệu quả và toàn diện các biện pháp phòng ngừa đột quỵ thiết yếu tại cộng đồng.

4. Kết luận

Việc tham gia câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng đã giúp cho người bệnh tăng huyết áp nâng cao được kiến thức về bệnh, từ đó, tuân thủ điều trị hơn, góp phần ngăn ngừa nguy cơ xuất hiện các biến cố lâm sàng nói chung và đột quỵ nói riêng. Điều này được thể hiện rất rõ thông qua kết quả kiểm

soát huyết áp giữa hai nhóm: Ở nhóm can thiệp, tỷ lệ kiểm soát được huyết áp có xu hướng tăng lên; còn ở nhóm chứng thì ngược lại. Những phát hiện này đóng vai trò quan trọng trong việc cung cấp thông tin cho các cuộc thảo luận chính sách về cách tiếp cận dựa vào cộng đồng và góp phần định hướng các nỗ lực tăng cường chăm sóc ban đầu có thể được nhân rộng tại Việt Nam và các quốc gia khác, nhằm cải thiện hiệu quả quản lý bệnh nhân tăng huyết áp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization (2021a), “Hypertension”, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>, accessed 18 October 2021.
- [2] World Health Organization (2021b), “Noncommunicable diseases: Risk factors”, <https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/topic-details/GHO/ncd-risk-factors>, accessed 15 October 2021.
- [3] L. Liu, Z. Wang, L. Gong, et al. (2009), “Blood pressure reduction for the secondary prevention of stroke: A Chinese trial and a systematic review of the literature”, *Hypertens. Res.*, **32**(11), pp.1032-1040, DOI: 10.1038/hr.2009.139.
- [4] R. Agarwal, J.E. Bills, T.J.W. Hecht, et al. (2011), “Role of home blood pressure monitoring in overcoming therapeutic inertia and improving hypertension control: A systematic review and meta-analysis”, *Hypertension*, **57**(1), pp.29-38, DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.160911.
- [5] Q.N. Nguyen, L. Weinehall, S. Wall, et al. (2012), “Effectiveness of community-based comprehensive healthy lifestyle promotion on cardiovascular disease risk factors in a rural Vietnamese population: A quasi-experimental study”, *BMC Cardiovasc. Disord.*, **12**, DOI: 10.1186/1471-2261-12-56.
- [6] E.C. Schroeder, W.D. Franke, D. Lee, et al. (2017), “Associations of health club membership with physical activity and cardiovascular health”, *PLOS ONE*, **12**(1), DOI: 10.1371/journal.pone.0170471.
- [7] J.J. Randolph, K. Falbe, L. Joseph, et al. (2014), “A step-by-step guide to propensity score matching in R”, *Practical Assessment, Research and Evaluation*, **19**(18).
- [8] S.L. Mayne, B.K. Lee, A.H. Auchincloss (2015), “Evaluating propensity score methods in a quasi-experimental study of the impact of menu-labeling”, *PLOS ONE*, **10**(12), DOI: 10.1371/journal.pone.0144962.
- [9] Q.K. Long, P.L. Bui, A.J. Adler, et al. (2020), “Effect of community-based intervention on self-management of blood pressure among hypertensive adults: Findings from the Communities for Healthy Hearts quasi-experimental study in Vietnam”, *J. Glob. Health Sci.*, **2**(1), pp.1-14, DOI: 10.35500/jghs.2020.2.e10.
- [10] J. Kaczorowski, C.D. Grande, V.N. Grenier (2013), “Community-based programs to improve prevention and management of hypertension: Recent Canadian experiences, challenges, and opportunities”, *Canadian Journal of Cardiology*, **29**(5), DOI: 10.1016/j.cjca.2013.02.011.

Nghiên cứu ảnh hưởng của phun GA_3 đến năng suất và chất lượng quả giống hồng Việt Cường (*Diospyros kaki* L.)

Chu Huy Tường^{1,2}, Nguyễn Tiến Dũng³, Nguyễn Thị Tinh^{3*}, Nguyễn Quốc Hùng⁴, Bùi Quang Đăng¹,
Lã Văn Hiền³, Nguyễn Văn Hồng³, Ngô Xuân Bình³

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Vùng, 70 Trần Hưng Đạo, phường Trần Hưng Đạo, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, xã Vĩnh Quỳnh, huyện Thanh Trì, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, phường Tân Thịnh, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

⁴Viện Nghiên cứu Rau quả, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 25/7/2023; ngày chuyển phản biện 28/7/2023; ngày nhận phản biện 11/8/2023; ngày chấp nhận đăng 16/8/2023

Tóm tắt:

Kết quả nghiên cứu sử dụng GA_3 trên giống hồng Việt Cường 12 năm tuổi tại Thái Nguyên cho thấy, việc sử dụng GA_3 với nồng độ và thời điểm phù hợp có tác dụng nâng cao tỷ lệ đậu quả, năng suất giống hồng Việt Cường. Phun GA_3 ở nồng độ 20-60 ppm ở 1 trong 3 thời điểm: trước nở hoa 10 ngày, khi hoa nở rộ và sau khi hoa nở rộ 15 ngày đều có tác dụng làm tăng đáng kể tỷ lệ đậu quả và năng suất quả. Trong đó, GA_3 ở nồng độ 40 ppm phun ở thời điểm 15 ngày sau khi hoa nở rộ cho kết quả tốt nhất, tỷ lệ đậu quả đạt 21,7%, năng suất quả đạt 40,5 kg/cây. Số lần sử dụng GA_3 cũng có tác dụng thuận chiều với các tiêu chí trên, nghĩa là tỷ lệ đậu quả và năng suất tăng cùng số lần phun. Trong đó, GA_3 nồng độ 40 ppm và phun 3 lần cho kết quả cao nhất (tỷ lệ đậu quả 24,7%, 288,3 quả/cây, khối lượng quả 156,8 g/quả, năng suất 45,2 kg/cây). Nghiên cứu cũng cho thấy, phun GA_3 không làm ảnh hưởng đến chất lượng quả giống hồng Việt Cường. Những kết quả thu được góp thêm cơ sở khoa học để xây dựng quy trình kỹ thuật thâm canh giống hồng Việt Cường tại Thái Nguyên và các địa phương khác có điều kiện sinh thái tương tự.

Từ khóa: chất kích thích sinh trưởng GA_3 , chất lượng quả, hồng Việt Cường, năng suất quả, tỷ lệ đậu quả.

Chỉ số phân loại: 4.1, 4.6

A study on the effects of GA_3 application on fruit yield and quality in the Viet Cuong persimmon cultivar (*Diospyros kaki* L.)

Huy Tuong Chu^{1,2}, Tien Dung Nguyen³, Thi Tinh Nguyen^{3*}, Quoc Hung Nguyen⁴,
Quang Dang Bui¹, Van Hien La³, Van Hong Nguyen³, Xuan Binh Ngo³

¹Institute of Regional Research and Development, 70 Tran Hung Dao Street, Tran Hung Dao Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

²Vietnam Academy of Agricultural Sciences, Vinh Quynh Commune, Thanh Tri District, Hanoi, Vietnam

³Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University, Quyet Thang Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

⁴Fruit and Vegetable Research Institute, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

Received 25 July 2023; revised 11 August 2023; accepted 16 August 2023

Abstract:

The results conducted from the GA_3 application on 12-year-old trees of Viet Cuong persimmon cultivar grown in Thai Nguyen province showed that GA_3 , when sprayed timely with suitable concentration helps to improve the fruit set rate and fruit yield remarkably. Spraying GA_3 with concentrations ranging from 20 to 60 ppm and applied at one of three stages: 10 days before flowering, full blooming and 15 days after the second spray (fully bloomed status) had a good impact on fruit setting and fruit yield. In which, GA_3 at 40 ppm concentration of 15 days after full bloom reports the best results, with 21.7% fruit set and 40.5 kg/tree produced. The times of GA_3 spray also positively affected these parameters, which means the fruit set rate and fruit yield increased together with the spray times. In which, spraying 40 ppm of GA_3 3 times gave the best results (24.7% fruit set, 288.3 fruits/tree, 156.8 g/fruit, and 45.2 kg/tree). It is also mentioned that spraying GA_3 had no effect on the fruit quality of the Viet Cuong persimmon cultivar. These findings can be applied to the establishment of persimmon cultivating technology in Thai Nguyen and similar ecological areas as well.

Keywords: fruit quality, fruit yield, GA_3 growth stimulator, rate of fruit set, Viet Cuong persimmon.

Classification numbers: 4.1, 4.6

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

1. Đặt vấn đề

Cây hồng (*Diospyros kaki* L.) thuộc họ thị (*Ebenaceae*) là loại cây ăn quả lâu năm, giàu chất dinh dưỡng và các hoạt chất sinh học. Trong 100 g thịt quả chín có: 0,7 g protein, 0,1 g lipid, 11 g các chất carbohydrate, 3,1 g chất xơ, 10 mg canxi, 19,1 mg phospho, 0,2 mg sắt, 49,7 mg iot, 0,16 mg caroten, 16 mg vitamin C, ngoài ra còn vitamin PP, B1, B2... Các chất carbohydrate trong quả hồng chiếm 12-16% (có thể tới 25%) chủ yếu là đường sacarose, glucose và fructose [1-3]. Ngoài ra, trong quả còn có pectin, tanin (0,25-0,4%) và một lượng nhỏ các hoạt chất khác [4, 5].

Cây hồng được trồng nhiều ở các tỉnh trung du miền núi phía Bắc với các giống đặc sản địa phương như: hồng không hạt Bắc Kạn, hồng vành khuyên Lạng Sơn, hồng không hạt Quán Bạ (Hà Giang), hồng Yên Bái... [2, 6]. Ở Thái Nguyên, cùng với một số giống hồng nổi tiếng như hồng Thạch Thất, hồng Nhân Hậu được đưa về trồng trong các hộ dân, giống hồng bản địa Việt Cường, nguồn gốc từ huyện Đồng Hỷ có nhiều đặc điểm quý: sinh trưởng khỏe, quả hình trụ, kích thước lớn (140-160 g/quả), màu quả vàng hấp dẫn, vị ngọt mát, không chát, dễ bảo quản, chín sớm nên giá bán khá cao (70.000-100.000 đồng/kg), đã và đang được người dân địa phương chú trọng phát triển. Việc nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật nhằm nâng cao năng suất chất lượng quả giống hồng bản địa này là rất cần thiết, vì vậy chúng tôi thực hiện “Nghiên cứu ảnh hưởng của phun GA_3 đến năng suất và chất lượng quả giống hồng Việt Cường”.

2. Vật liệu, nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm được tiến hành trong năm 2021 trên vườn 12 năm tuổi, tại xóm Việt Cường, xã Hóa Thượng, huyện Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên. Các biện pháp kỹ thuật như bón phân, phòng trừ sâu bệnh, cỏ dại được áp dụng theo quy trình hiện hành và đồng đều trên toàn bộ vườn thí nghiệm.

2.2. Nội dung

Nghiên cứu ảnh hưởng của thời điểm phun GA_3 đến năng suất và chất lượng quả hồng Việt Cường.

Nghiên cứu ảnh hưởng của số lần phun GA_3 đến năng suất, chất lượng quả hồng Việt Cường.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu ảnh hưởng của thời điểm phun GA_3 đến tỷ lệ đậu quả và năng suất quả ở cây hồng Việt Cường: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc 3 cây với 7 công thức bao gồm: Công thức (CT) 1: Đối chứng, phun nước lã; các công thức phun GA_3 với nồng độ như sau: CT2: 20 ppm; CT3: 30 ppm; CT4: 40 ppm; CT5: 50 ppm; CT6: 60 ppm và CT7: 70 ppm. Các công thức được tiến hành trong

cùng một điều kiện trồng và chăm sóc; phun GA_3 vào 3 thời điểm: phun trước khi hoa nở 10 ngày, phun khi hoa nở rộ và phun sau khi hoa nở 15 ngày. Phun ướt toàn bộ tán lá cây và ướt toàn bộ các chùm hoa, nụ hoa vào cuối buổi chiều.

Nghiên cứu ảnh hưởng của số lần phun GA_3 đến tỷ lệ đậu quả, năng suất quả ở cây hồng Việt Cường: Bố trí 7 công thức thí nghiệm tương tự như nêu trên với yếu tố thí nghiệm là số lần phun GA_3 : phun 1 lần vào thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày; phun 2 lần vào thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày và khi hoa nở rộ; phun 3 lần vào thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày, khi hoa nở rộ và sau khi hoa nở 15 ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ đậu quả được tính bằng tổng số quả đậu đến khi thu hoạch/tổng số hoa thí nghiệm; các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất: theo dõi số quả đậu/cây, trọng lượng quả, năng suất quả/cây được tính bằng công thức: tổng số quả/cây x trọng lượng quả; khi quả chín đánh giá các chỉ tiêu chất lượng quả gồm: chất khô tổng số (%), hàm lượng caroten (mg/100 g), tanin (%) chất khô hòa tan (độ Brix).

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của thời điểm phun GA_3 đến tỷ lệ đậu quả, năng suất quả ở cây hồng Việt Cường

Kết quả bảng 1 cho thấy, phun GA_3 nồng độ 20-40 ppm tại cả 3 thời điểm đều cho tỷ lệ đậu quả cao hơn đối chứng. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ GA_3 thì tỷ lệ đậu quả ở cây hồng Việt Cường bắt đầu giảm. Phun GA_3 nồng độ 40 ppm cho tỷ lệ đậu quả cao nhất ở cả ba thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày, khi hoa nở rộ và sau khi hoa nở 15 ngày, với các giá trị lần lượt là 15,9, 17,6 và 21,7%. Trong đó, phun ở thời điểm phun sau nở hoa 15 ngày cho kết quả cao nhất (21,7%), số liệu ở độ tin cậy 95%, khi tăng nồng độ đến ngưỡng 70 ppm, tỷ lệ đậu quả thấp hơn đối chứng.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời điểm phun GA_3 đến tỷ lệ đậu quả ở cây hồng Việt Cường.

Công thức	Nồng độ GA_3 (ppm)	Thời điểm phun GA_3		
		Phun trước khi hoa nở 10 ngày (%)	Phun khi hoa nở rộ (%)	Phun sau nở hoa 15 ngày (%)
1 (ĐC)	Phun nước lã	14,3	14,3	14,3
2	20	15,2	16,3	17,8
3	30	15,3	16,5	19,9
4	40	15,9	17,6	21,7
5	50	15,5	17,1	17,9
6	60	14,9	15,2	16,1
7	70	12,2	13,0	10,5
CV (%)		10,3	9,7	11,8
LSD ₀₅		1,5	2,1	2,7

Kết quả bảng 2 cho thấy, năng suất quả có xu hướng tăng khi phun GA_3 ở nồng độ 20, 40 và 50 ppm, giảm dần khi phun ở nồng độ cao hơn. Nồng độ GA_3 40 và 50 ppm cho kết quả cao nhất lần lượt là 33,7 và 31,7 kg/cây (phun ở thời điểm trước nở hoa 10 ngày; 37,3 và 37,1 kg/cây (thời điểm hoa nở rộ); 40,5 và 38,2 kg/cây (thời điểm sau khi hoa nở rộ 15 ngày), năng suất quả đạt giá trị thấp nhất ở công thức phun GA_3 70 ppm thời điểm sau nở hoa 15 ngày, sự sai khác ở độ tin cậy 95%.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời điểm phun GA_3 đến năng suất quả ở cây hồng Việt Cường.

Công thức	Nồng độ GA_3 (ppm)	Năng suất quả (kg/cây)		
		Phun trước khi hoa nở 10 ngày	Phun khi hoa nở rộ	Phun sau nở hoa 15 ngày
1 (ĐC)	Phun nước lã	26,5	26,5	26,5
2	20	30,2	31,4	32,9
3	30	31,5	32,7	34,6
4	40	33,7	37,3	40,5
5	50	31,7	37,1	38,2
6	60	30,6	30,9	31,7
7	70	23,9	24,5	22,9
CV (%)		7,8	9,2	7,9
LSD ₀₅		2,5	2,7	3,2

Theo các tác giả L.V. Quang (1995) [3], P.V. Con (2004a) [2], cây hồng có khả năng đậu quả khá cao nhưng tỷ lệ rụng quả tương đối lớn, nguyên nhân chủ yếu là sự rụng quả sinh lý có thể lên đến 97%... P.V. Con (2004a) [2] chỉ ra rằng, rụng quả sinh lý ở cây hồng có hai đợt rụng chủ yếu: lần 1 xảy ra từ khoảng 15-20 ngày sau khi quả được hình thành được coi là đợt rụng quả trầm trọng nhất; lần 2 vào khoảng thời gian trước khi thu hoạch 2-3 tháng, tuy ít nghiêm trọng hơn nhưng cũng ảnh hưởng đến năng suất. Theo L.V. Tri (1992) [7], H.M. Tan và cs (1993) [8], để hạn chế việc rụng quả có thể bổ sung chất điều hòa sinh trưởng như IAA, GA_3 với chức năng hạn chế hoặc ngăn chặn quá trình hình thành tầng rời giữa đỉnh quả và cuống quả.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phun GA_3 vào 3 thời điểm khác nhau, kết quả cho thấy, phun ở thời điểm sau khi hoa nở 15 ngày (nồng độ GA_3 40 ppm) cho kết quả tốt nhất. Nguyên nhân có thể là sau khi nở 15 ngày là thời điểm quả đã được hình thành và bắt đầu quá trình rụng quả sinh lý lần 1, tầng rời bắt đầu hình thành, tỷ lệ chất kích thích sinh trưởng/chất ức chế sinh trưởng giảm mạnh, việc bổ sung GA_3 kịp thời đồng nghĩa làm tăng trở lại tỷ lệ này dẫn đến sự hình thành tầng rời bị ngăn cản, quả không bị rụng và tiếp tục phát triển. P.V. Con (2004b) [9] cho rằng, phun GA_3 cho cây hồng ở nồng độ 30 ppm cho khả năng đậu quả cao, còn với giống hồng Điện Biên, L.H. Dinh (2016) [10] ghi nhận phun GA_3 nồng độ 40 ppm đem lại kết quả tốt nhất. Như

vậy có thể thấy, sử dụng nồng độ chất kích thích sinh trưởng nói chung, GA_3 nói riêng để tăng tỷ lệ đậu quả phải căn cứ vào giống trồng thông qua những nghiên cứu thực nghiệm cụ thể. Kết quả thể hiện ở bảng 2 cũng cho thấy, GA_3 phun ở nồng độ 40 ppm có tác dụng tốt nhất để nâng cao năng suất quả, nồng độ GA_3 lên đến 70 ppm làm giảm đáng kể năng suất khi giảm xuống thấp hơn so với đối chứng không phun, điều này cho thấy nồng độ 70 ppm là không phù hợp cho việc phun để nâng cao năng suất quả trên cây hồng Việt Cường.

Tóm lại, sử dụng GA_3 nồng độ 40 ppm ở thời điểm sau khi hoa nở 15 ngày có tác dụng nâng cao tỷ lệ đậu quả, nâng cao năng suất quả hồng Việt Cường và cho kết quả cao nhất.

3.2. Ảnh hưởng của số lần phun GA_3 đến tỷ lệ đậu quả và năng suất quả ở cây hồng Việt Cường

Để tiếp tục nghiên cứu tác dụng của việc bổ sung GA_3 đối với năng suất và chất lượng quả hồng Việt Cường, nhóm nghiên cứu tiến hành thử nghiệm số lần phun GA_3 ở các nồng độ khác nhau, kết quả được thể hiện ở các bảng 3-5.

Bảng 3. Ảnh hưởng của số lần phun GA_3 đến tỷ lệ đậu quả ở cây hồng Việt Cường.

Công thức	Nồng độ GA_3 (ppm)	Phun 1 lần ^a (%)	Phun 2 lần ^b (%)	Phun 3 lần ^c (%)
1 (ĐC)	Phun nước lã	14,3	14,3	14,3
2	20	15,2	16,8	18,8
3	30	15,3	17,5	21,5
4	40	15,9	19,6	24,7
5	50	15,5	17,7	19,9
6	60	14,9	15,5	15,7
7	70	12,2	11,4	10,6
CV (%)		10,3	12,4	13,7
LSD ₀₅		1,5	2,5	3,4

^a: Phun 1 lần vào thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày; ^b: Phun 2 lần vào thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày + khi hoa nở rộ; phun 3 lần vào thời điểm trước khi hoa nở 10 ngày + khi hoa nở + sau khi hoa nở 15 ngày; ^c: Phun 1 lần là công thức và kết quả tương tự như phun trước nở hoa 10 ngày ở bảng 1.

Với số liệu trình bày ở bảng 3, chúng tôi nhận thấy: phun GA_3 trong khoảng nồng độ từ 20 đến 60 ppm cho tỷ lệ đậu quả cao hơn so với đối chứng, nhưng khi tăng đến nồng độ 70 ppm, tỷ lệ đậu quả giảm mạnh và thấp hơn so với đối chứng. Tỷ lệ đậu quả tăng dần theo số lần phun, kết quả cao nhất ở nhóm công thức phun GA_3 3 lần gồm: công thức 3 (30 ppm), công thức 4 (40 ppm) và công thức 5 (50 ppm), trong đó công thức 4 (40 ppm) đạt giá trị tỷ lệ đậu quả cao nhất (phun 1 lần đạt 15,9%, phun 2 lần đạt 19,6% và phun 3 lần đạt 24,7%). Công thức có giá trị thấp nhất là phun 3 lần ở nồng độ GA_3 70 ppm, sự sai khác có ý nghĩa ở độ tin cậy 95%.

Bảng 4. Ảnh hưởng của số lần phun GA₃ đến các yếu tố cấu thành năng suất giống hồng Việt Cường.

Công thức	Nồng độ GA ₃ (ppm)	Phun 1 lần		Phun 2 lần		Phun 3 lần	
		Số quả/cây	Trọng lượng quả (g/quả)	Số quả/cây	Trọng lượng quả (g/quả)	Số quả/cây	Trọng lượng quả (g/quả)
1 (ĐC)	Phun nước lã	182,7	145,0	182,7	145,0	182,7	145,0
2	20	207,2	145,7	222,9	148,9	229,0	150,2
3	30	215,2	146,4	238,1	149,5	249,2	151,3
4	40	223,9	150,5	256,1	154,6	288,3	156,8
5	50	213,6	148,4	245,6	148,6	248,3	150,6
6	60	204,4	149,7	213,4	146,7	192,9	147,7
7	70	166,6	143,6	164,9	143,7	156,2	142,8
CV (%)		10,3	7,9	9,7	6,9	11,4	8,7
LSD ₀₅		10,5	3,3	15,9	4,1	11,6	4,9

Kết quả bảng 4 cho thấy, phun GA₃ nồng độ từ 20 đến 60 ppm có tác dụng tích cực đến các yếu tố cấu thành năng suất, các chỉ tiêu số quả/cây, khối lượng quả đều cao hơn so với đối chứng và tăng dần theo số lần phun với mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê. Công thức 4 (40 ppm) cho kết quả cao nhất, đạt giá trị 223,9 quả/cây và 150,5 g/quả khi phun 1 lần; đạt 256,1 quả/cây và 154,6 g/quả khi phun 2 lần; đạt 288,3 quả/cây và 156,8 g/quả khi phun 3 lần. Tăng nồng độ GA₃ đến ngưỡng 70 ppm, số quả/cây và khối lượng quả đều thấp hơn so với đối chứng.

Bảng 5. Ảnh hưởng của số lần phun GA₃ đến năng suất quả giống hồng Việt Cường.

Công thức	Nồng độ GA ₃ (ppm)	Năng suất quả (kg/cây)		
		Phun 1 lần	Phun 2 lần	Phun 3 lần
1 (ĐC)	Phun nước lã	26,5	26,5	26,5
2	20	30,2	33,2	34,4
3	30	31,5	35,6	37,7
4	40	33,7	39,6	45,2
5	50	31,7	36,5	37,4
6	60	30,6	31,3	28,5
7	70	23,9	23,7	22,3
CV (%)		8,9	10,5	11,7
LSD ₀₅		2,1	2,7	3,6

Năng suất quả của các công thức có sự khác biệt so với đối chứng (bảng 5), trong đó, các công thức phun GA₃ với nồng độ từ 20 đến 60 ppm cho năng suất quả cao hơn đáng tin cậy ở mức 95% và tăng dần theo số lần phun, trong đó công thức 4 (40 ppm) cho năng suất cao nhất (45,2 kg/cây), tiếp theo là công thức 3 (30 ppm, năng suất đạt 37,7 kg/cây) và công thức 5 (50 ppm, năng suất đạt 37,4 kg/cây). Tăng nồng độ GA₃ lên 70 ppm, năng suất quả giảm rõ rệt (lần lượt phun 1, 2, 3 là 23,9, 23,7 và 22,3 kg/cây).

Các kết quả nghiên cứu của nhiều nhà khoa học chỉ ra rằng, chất điều hòa sinh trưởng GA₃ có tác dụng hai mặt, ở nồng độ phù hợp, chúng có tác dụng kích thích sinh trưởng, giảm sự rụng hoa, rụng quả, giúp phân chia tế bào để hình thành lộc non, nhất là phát triển chiều cao của cây [4, 11], còn nếu nồng độ quá cao, GA₃ có tác dụng như một chất ức chế sinh trưởng làm chậm, giảm sự hình thành phát sinh lộc non, đồng thời làm tăng quá trình rụng quả, ức chế quá trình phát triển của quả làm quả nhỏ và chất lượng kém [4, 5]. Bên cạnh đó, sử dụng GA₃ với nồng độ phù hợp giúp cải thiện rõ rệt chất lượng và năng suất quả [12], làm chậm quá trình chín (kéo dài khoảng 30 ngày), bảo toàn màu sắc, đường chất và độ cứng quả khi bảo quản trên cây [13].

Thực tế trong sản xuất, một số nông hộ ở Việt Nam đã sử dụng GA₃ phun ở nồng độ cao để diệt và ngăn chặn các đợt lộc vụ đông trên cây vải, kỹ thuật này đã giúp cây vải ra nhiều lộc và hoa trong vụ xuân năm sau.

Kết quả nghiên cứu trình bày ở các bảng 3-5 phù hợp với các nhận định trên đây với ngưỡng nồng độ được coi là phù hợp nằm trong khoảng từ 20 đến 60 ppm và tác động ức chế bắt đầu xảy ra ở nồng độ 70 ppm... Việc phun nhiều lần (3 lần) cho kết quả tốt hơn phun ít lần (1 và 2 lần) do bổ sung thường xuyên sự thiếu hụt auxin trong cây, ngăn cản quá trình hình thành tầng rời (là nguyên nhân của rụng quả) và giúp quả sinh trưởng tốt hơn (bảng 3-5).

3.3. Ảnh hưởng của phun GA₃ đến một số chỉ tiêu chất lượng giống hồng Việt Cường

Bảng 6. Ảnh hưởng của phun GA₃ đến một số chỉ tiêu chất lượng quả ở cây hồng Việt Cường.

Chỉ tiêu	Công thức phun (40 ppm) ^a							
	Đối chứng	Trước khi hoa nở 10 ngày	Khi hoa nở rộ	Sau nở hoa 15 ngày	Phun 1 lần	Phun 2 lần	Phun 3 lần	CV (%)
Chất khô (%)	19,7	18,2	18,3	19,6	18,2	18,5	19,1	6,2
Đường tổng số (%)	14,7	14,5	14,2	15,3	14,5	14,3	14,1	5,1
Caroten (mg/100 g)	0,39	0,41	0,47	0,52	0,41	0,46	0,46	5,8
Tanin (%)	0,56	0,51	0,48	0,41	0,51	0,49	0,45	5,1
Độ Brix (%)	15,8	15,4	15,7	15,0	15,4	15,2	14,9	4,9

^a: kết quả phân tích chỉ tiêu chất lượng quả hồng Việt Cường được lấy mẫu từ các công thức phun GA₃ cho năng suất cao nhất là công thức được khuyến cáo áp dụng trong sản xuất: cụ thể là kết quả phun GA₃ nồng độ 40 ppm ở cả nội dung 3.1 và 3.2.

Kết quả bảng 6 cho thấy, các chỉ tiêu liên quan đến chất lượng giống hồng Việt Cường không có sự thay đổi đáng kể khi sử dụng GA₃, trong đó chỉ tiêu hàm lượng chất khô, tuy có chút ít biến động (từ 18,2 đến 19,7%) nhưng sự sai khác cũng chỉ trong phạm vi sai số (LSD₀₅=1,24).

4. Kết luận

1. Phun chất điều tiết sinh trưởng GA_3 trong phạm vi nồng độ từ 20 đến 60 ppm vào 1 trong 3 thời điểm: trước nở hoa 10 ngày, khi hoa nở rộ và sau khi hoa nở rộ 15 ngày có tác dụng làm tăng tỷ lệ đậu quả và năng suất quả giống hồng Việt Cường, trong đó, nồng độ 40 ppm phun tại thời điểm 15 ngày sau khi hoa nở đem lại kết quả tốt nhất, tỷ lệ đậu quả đạt 21,7%, năng suất quả đạt 40,5 kg/cây.

2. Trong khoảng nồng độ GA_3 từ 20 đến 60 ppm với tối đa 3 lần áp dụng, tỷ lệ đậu quả và năng suất quả tăng theo số lần phun, trong đó GA_3 nồng độ 40 ppm và phun 3 lần cho kết quả cao nhất (tỷ lệ đậu quả 24,7%, số quả 288,3 quả/cây, khối lượng quả 156,8 g/quả, năng suất 45,2 kg/cây).

3. Phun GA_3 trong phạm vi nồng độ từ 20 đến 60 ppm không làm suy giảm các chỉ tiêu chất lượng quả giống hồng Việt Cường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] P.V. Con (1995), *Evaluation and Selection of High-Quality Persimmon Varieties In Northern Vietnam*, Vietnam Education Publishing House, 394pp (in Vietnamese).

[2] P.V. Con (2004a), *Persimmon Trees: Cultivation Techniques and Care Practice*, Hanoi Agricultural Publishing House, 75pp (in Vietnamese).

[3] L.V. Quang (1995), *Fruit Crops Cultivation Handbook*, Agricultural Publishing House, Guangxi - China (Translated version), 462pp.

[4] J.R.V. Matheus, C.J.D. Andrade, R.F. Miyahira (2022), "Compounds and potential use in the development of new products - A review", *Food Reviews International*, **38**, pp.384-401, DOI: 10.1080/87559129.2020.1733597.

[5] H. Kitagawa, P.G. Lucina (1984), *Persimmon Culture in New Zealand*, Agaccess, 73pp.

[6] V.C. Hau (1999), *Fruit Crops Cultivation in Vietnam*, Agricultural Publishing House, Ho Chi Minh City, 502pp (in Vietnamese).

[7] L.V. Tri (1992), *Effective Use of Growth Regulators and Micronutrients*, Science and Technics Publishing House, Hanoi, 167pp (in Vietnamese).

[8] H.M. Tan, N.Q. Thach (1993), *Plant Growth Regulators for Crops*, Agricultural Publishing House, Hanoi, 392pp (in Vietnamese).

[9] P.V. Con (2004b), *Regulation Techniques for Growth, Flowering, and Fruit Set in Fruit Crops*, Hanoi Agricultural Publishing House, 160pp (in Vietnamese).

[10] L.H. Dinh (2016), *Research on Technical Measures to Improve Persimmon (Diospyros kaki L.) Yield in Dien Bien*, Doctoral Dissertation in Agriculture, Vietnam National University of Agriculture (in Vietnamese).

[11] P. Leng, H. Itamura, H. Yamamura (1993), "Freezing tolerance of several *Diospyros* species and kaki cultivars as related to anthocyanin formation", *J. Japan. Soc. Hortic. Sci.*, **61**, pp.795-804 (in Japanese).

[12] N. Thakur, D.P. Sharma, G. Singh, et al. (2025), "Impact of plant bio-regulators and bio-stimulant application timing on fruit production and physiological characteristics of oriental persimmon (*Diospyros kaki* L.)", *Journal of Plant Nutrition*, pp.1-9, DOI: 10.1080/01904167.2025.2481129.

[13] X. Yang, Q. Lin, L. Huang, et al. (2023), "Effects of plant regulators and leaf fertilization on fruit quality, storage ability of persimmon during on-tree storage and yield and quality of the fruits next season", *Journal of Fruit Science*, **40(11)**, pp.2435-2445.

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 5 - May 2025

Một phương pháp dựa trên mạng nơ-ron tích chập một chiều kết hợp tăng cường dữ liệu để khôi phục dữ liệu bị thiếu trong hệ thống giám sát sức khỏe kết cấu cầu.

Trần Thế Hiệp, Bùi Tiến Thành, Nguyễn Thạch Bích, Nguyễn Thị Thanh Yên

Mối liên hệ giữa thời gian phục hồi điện môi và tính chất áp điện của hệ vật liệu $Ba_{1-x}Ca_xZr_{0.1}Ti_{0.9}O_3$.

Nguyễn Văn Khiển, Vũ Thị Kim Liên, Chu Thị Anh Xuân, Lô Thị Huế, Phạm Hoài Linh, Nguyễn Thị Ngọc Anh, Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Văn Đăng, Lê Tiến Hà

Nghiên cứu khả năng phân tán mangan dioxit trong hệ polyvinyl alcohol và đánh giá khả năng hấp phụ photphat của vật liệu.

Lê Mạnh Cường

Tổng hợp acetaminophen trực tiếp từ chất đầu dạng muối *p*-aminophenol hydrochloride và natri acetat ứng dụng trong công nghiệp dược.

Đinh Ngọc Minh, Trương Thanh Tùng

Phân lập, tuyển chọn chủng *Lactobacillus* ứng dụng cho lên men sữa chua đậu xanh.

Nguyễn Thị Mai Hương, Phạm Thị Thu Hoài

Bước đầu nghiên cứu khảo sát một số đặc tính của chủng *Bacillus subtilis* bản địa, phân lập từ người Việt Nam khỏe mạnh ứng dụng trong sản xuất chế phẩm probiotic.

Đào Gia Bách, Đoàn Thị Thùy Linh, Lưu Thị Thủy Ngân, Dương Hưng Thịnh, Nguyễn Vũ Trung, Lê Thị Hội

Khảo sát hoạt tính enzyme tyrosinase ngoại bào của vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* và sàng lọc khả năng ức chế enzyme của một số dịch chiết thực vật.

Nguyễn Đức Bách, Phí Thị Cẩm Miên, Trần Thị Phương Thảo, Nguyễn Thị Thu Hoa, Trần Thị Oanh, Tô Thị Mai Hương, Trần Ngọc Hùng

Nghiên cứu nhân giống cây Long não (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào.

Trần Văn Tiến, Nguyễn Văn Phong, Nguyễn Thị Huế

Sự sinh trưởng và hàm lượng carrageenan của cây rong Bắp sú *Kappaphycus striatus* nuôi trồng ở điều kiện bán tự nhiên và tự nhiên.

Vũ Thị Mơ, Hoàng Thanh Tùng, Nguyễn Thị Như Mai, Hoàng Đức Khải, Trần Mai Đức, Đặng Xuân Cường, Lê Trọng Nghĩa, Trần Văn Huỳnh, Võ Thành Trung, Hồ Sơn Lâm, Đoàn Văn Thân, Đỗ Mạnh Cường, Vũ Quốc Luận, Nguyễn Ngọc Lâm, Dương Tấn Nhựt

Nghiên cứu tính toán kết cấu cầu cảng dạng khung không gian theo lý thuyết cơ học phá hủy dựa trên phần mềm SAP 2000.

Trần Long Giang

Đánh giá thị giác của trẻ cận thị sử dụng kính vi thấu kính phi cầu bậc cao.

Trần Đình Minh Huy, Trần Hải Yến, Hạ Thị Xuân Thảo, Hồ Thị Bích Vân, Nguyễn Lê Hoàng Nguyên

Vai trò của câu lạc bộ sức khỏe cộng đồng trong dự phòng đột quỵ não ở người bệnh tăng huyết áp.

Trương Tuấn Anh, Hoàng Thị Vân Lan

Nghiên cứu ảnh hưởng của phun GA_3 đến năng suất và chất lượng quả giống hồng Việt Cường (*Diospyros kaki* L.).

Chu Huy Tường, Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Thị Tình, Nguyễn Quốc Hùng, Bùi Quang Đăng, Lã Văn Hiền, Nguyễn Văn Hồng, Ngô Xuân Bình

1 A one-dimensional convolutional neural network-based approach with data augmentation for missing data recovery in bridge SHM systems.

The Hiep Tran, Tien Thanh Bui, Thach Bich Nguyen, Thi Thanh Yen Nguyen

9 Correlation between dielectric relaxation time and piezoelectric property in $Ba_{1-x}Ca_xZr_{0.1}Ti_{0.9}O_3$.

Van Kien Nguyen, Thi Kim Lien Vu, Thi Anh Xuan Chu, Thi Hue Lo, Hoai Linh Pham, Thi Ngoc Anh Nguyen, Van Quang Nguyen, Van Dang Nguyen, Tien Ha Le

14 Study on the dispersibility of manganese dioxide in the polyvinyl alcohol system and evaluation of the material's phosphate adsorption capacity.

Manh Cuong Le

19 Direct synthesis of acetaminophen from *p*-aminophenol hydrochloride and sodium acetate for pharmaceutical applications.

Ngoc Minh Dinh, Thanh Tung Truong

24 Isolation and selection of *Lactobacillus* strains for fermentation of mung bean yoghurt.

Thi Mai Huong Nguyen, Thi Thu Hoai Pham

32 Preliminary investigation on some characteristics of indigenous *B. subtilis* strains isolated from healthy Vietnamese for application in probiotic production.

Gia Bach Dao, Thi Thuy Linh Doan, Thi Thuy Ngan Luu, Hung Thinh Duong, Vu Trung Nguyen, Thi Hoi Le

38 Investigation of extracellular tyrosinase isolated from *Ralstonia solanacearum* and screening of tyrosinase inhibitors from some plant extracts.

Duc Bach Nguyen, Thi Cam Mien Phi, Thi Phuong Thao Tran, Thi Thu Hoa Nguyen, Thi Oanh Tran, Thi Mai Huong To, Ngoc Hung Tran

47 A study on the micropropagation of camphor tree (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) using plant tissue culture techniques.

Van Tien Tran, Van Phong Nguyen, Thi Hue Nguyen

52 Growth and carrageenan content of *Kappaphycus striatus* micropropagules in semi-natural and natural conditions.

Thi Mo Vu, Thanh Tung Hoang, Thi Nhu Mai Nguyen, Dac Khai Hoang, Mai Duc Tran, Xuan Cuong Dang, Trong Nghia Le, Van Huynh Tran, Thanh Trung Vo, Son Lam Ho, Van Than Doan, Manh Cuong Do, Quoc Luan Vu, Ngoc Lam Nguyen, Tan Nhut Duong

61 A study on structural analysis of a 3D frame pier structure based on fracture mechanics theory using SAP 2000 software.

Long Giang Tran

67 Evaluating visual performance of myopic children wearing highly aspherical lenslet spectacles.

Dinh Minh Huy Tran, Hai Yen Tran, Thi Xuan Thao Ha, Thi Bich Van Ho, Le Hoang Nguyen Nguyen

71 The role of community health clubs in preventing stroke in hypertensive patients.

Tuan Anh Truong, Thi Van Lan Hoang

76 A study on the effects of GA_3 application on fruit yield and quality in the Viet Cuong persimmon cultivar (*Diospyros kaki* L.).

Huy Tuong Chu, Tien Dung Nguyen, Thi Tinh Nguyen, Quoc Hung Nguyen, Quang Dang Bui, Van Hien La, Van Hong Nguyen, Xuan Binh Ngo