

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

**TẬP 67, SỐ 6, THÁNG 6 NĂM 2025**  
VOLUME 67, NUMBER 6, JUNE 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 - HUTECH University, 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](mailto:khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn)

Tạp chí điện tử: [b.vjst.vn](http://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<sup>d</sup>

## 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](mailto:khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn)

E-journal: [b.vjst.vn](http://b.vjst.vn)

## PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20<sup>th</sup> July 2021

No. 50/GP-BTTTT 1<sup>st</sup> February 2023



# Nghiên cứu sàng lọc ảo các hợp chất dị vòng thiazole hướng ức chế enzyme 3CLpro của virus Corona nhằm phát triển các thuốc điều trị COVID-19

Lương Thị Thanh Huyền<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Hồng Đức<sup>1</sup>, Nguyễn Huy Hoàng<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Hà<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội, 13-15 Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 14/5/2025; ngày chuyển phản biện 18/5/2025; ngày nhận phản biện 2/6/2025; ngày chấp nhận đăng 5/6/2025

## Tóm tắt:

Enzyme 3-chymotrypsin-like protease (3CLpro) đóng vai trò quan trọng trong quá trình sao chép của virus Corona và là đích tác dụng của nhiều nghiên cứu phát triển thuốc mới điều trị COVID-19. Tuy nhiên, các chất ức chế 3CLpro được báo cáo cho đến nay còn nhiều hạn chế như sự kháng thuốc, kém hiệu quả khi sử dụng đơn lẻ. Mặt khác, dị vòng thiazole là một cấu trúc ưu việt với nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng. Nhằm tìm kiếm các chất ức chế 3CLpro mới, chúng tôi đã áp dụng phương pháp docking phân tử để đánh giá tương tác giữa 40 dẫn chất thiazole, gồm các mảnh phân tử nhỏ và các thuốc được Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt lưu hành, với 3CLpro của SARS-CoV, MERS-CoV và đặc biệt SARS-CoV-2. Kết quả mô phỏng nghiên cứu cho thấy, có 8 hợp chất có khả năng liên kết trực tiếp với vị trí xúc tác của 3CLpro, trong đó Edoxaban, Ixabepilone, Dabrafenib, Ceftaroline fosamil có lực liên kết với 3CLpro SARS-CoV-2 lần lượt là -8,6, -8,7, -8,8 và -8,9 kcal/mol. Nghiên cứu này cung cấp một mô hình sàng lọc đáng tin cậy để xác định các chất ức chế 3CLpro mới mang khung thiazole, hướng phát triển các thuốc kháng virus tiềm năng trong điều trị SARS-CoV-2.

**Từ khóa:** dị vòng thiazole, docking phân tử, SARS-CoV-2, 3CLpro.

**Chỉ số phân loại:** 1.4, 1.6, 3.4

## Virtual screening of thiazole-based heterocyclic derivatives as inhibitors of Coronavirus 3CLpro enzymes for the development of COVID-19 therapeutics

Thi Thanh Huyen Luong<sup>1\*</sup>, Thi Hong Duc Nguyen<sup>1</sup>, Huy Hoang Nguyen<sup>2</sup>, Van Ha Nguyen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hanoi University of Pharmacy, 13-15 Le Thanh Tong Street, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 14 May 2025; revised 2 June 2025; accepted 5 June 2025

## Abstract:

The enzyme 3-chymotrypsin-like protease (3CLpro) of Coronavirus plays a crucial role in viral replication and is a validated target in the development of new drugs for the treatment of COVID-19. However, till now, most reported 3CLpro inhibitors are raising concerns regarding drug resistance, low efficacy when used as monotherapy. On the other hand, the thiazole scaffold is a privileged structure with potential biological activities. With the aim of finding compounds that can inhibit new 3CLpro enzymatic activity, we applied molecular docking simulations to investigate the interactions between 40 thiazole-based derivatives, including small molecules and Food and Drug Administration (FDA) - approved drugs, with the 3CLpro enzymes of SARS-CoV, MERS-CoV, and particularly SARS-CoV-2. The simulation results revealed that 8 potential compounds are capable of binding directly to the catalytic site of 3CLpro, including edoxaban, ixabepilone, dabrafenib, and ceftaroline fosamil, which exhibited binding affinities to SARS-CoV-2 3CLpro of -8.6, -8.7, -8.8, and -8.9 kcal/mol, respectively. This study presents a reliable in silico screening model for the identification of novel 3CLpro inhibitors bearing thiazole scaffolds, contributing to the development of potential antiviral drugs against SARS-CoV-2.

**Keywords:** SARS-CoV-2, thiazole scaffold, 3CLpro, 3D molecular docking.

**Classification numbers:** 1.4, 1.6, 3.4

\*Tác giả liên hệ: Email: luonghuyen@gmail.com

## 1. Đặt vấn đề

Virus Corona (họ Coronaviridae) là mầm bệnh phổ biến ở con người và động vật, thường lây nhiễm qua đường hô hấp, gây ra các triệu chứng cảm lạnh thông thường. Trong thời gian qua, ba chủng virus Corona đã được ghi nhận là có khả năng truyền từ động vật sang người, bao gồm: virus Corona gây hội chứng hô hấp cấp tính nặng (SARS-CoV), virus Corona gây hội chứng hô hấp Trung Đông (MERS-CoV) và SARS-CoV-2, đều lây nhiễm sang người sau khi lan truyền từ động vật [1, 2]. Đặc biệt, SARS-CoV-2 là tác nhân gây ra đại dịch toàn cầu COVID-19 và là nguyên nhân gây tử vong cho hàng triệu người trên toàn thế giới trong thời gian rất ngắn. Thêm nữa, dịch bệnh do SARS-CoV-2 gây ra có thể bùng phát mạnh mẽ trở lại trong tương lai gần. Enzyme 3CLpro, hay còn được gọi là Mpro (Main protease) là một enzyme có cấu trúc đặc hiệu chỉ có ở virus Corona, enzyme đóng vai trò quan trọng trong quá trình phiên mã và nhân bản virus SARS-CoV-2 [3-5]. Do đó, 3CLpro được coi là đích tác dụng hàng đầu trong nghiên cứu và phát triển các thuốc kháng virus SARS-CoV-2. Các protein 3CLpro của 3 loài virus Corona là 6Y2F (SARS-CoV-2 3CLpro), 3TNT (SARS-CoV 3CLpro) và 5WKK (MERS-CoV 3CLpro) đã được phân lập và xác định cấu trúc đầy đủ, tuy nhiên trong quá trình biến thể của virus, việc biến đổi của enzyme này còn chưa được nghiên cứu chi tiết, vì vậy hiện chưa có đánh giá rõ ràng về hiệu quả của các thuốc ức chế 3CLpro trên dòng virus có kháng thuốc. Đến nay, một số chất ức chế protease 3CLpro đã được thiết kế, phát triển và thử nghiệm lâm sàng để điều trị COVID-19, tuy nhiên chỉ có Nirmatrelvir được FDA và Cơ quan Quản lý Dược phẩm châu Âu cấp phép sử dụng khẩn cấp điều trị COVID-19 ở người lớn (hiệp đồng với Ritonavir - tên thương mại của Norvir) [6, 7]. Thêm vào đó, một số tác dụng phụ, sự kháng thuốc cùng chi phí điều trị cao cũng là một trong những nguyên nhân khiến việc sử dụng phác đồ này còn nhiều hạn chế. Chính vì vậy, nghiên cứu sàng lọc ảo các chất có khả năng ức chế 3CLpro là rất cần thiết để phát triển các chất tiềm năng điều trị SARS-CoV. Mặt khác, các hợp chất dị vòng chứa thiazole với những tính chất đặc biệt về hoạt tính sinh học đã được nhiều nhà khoa học nghiên cứu từ rất lâu. Qua các nghiên cứu đã được công bố cho thấy, các hợp chất dị vòng thiazole và dẫn xuất của chúng có khả năng kháng khuẩn, chống nấm [8], kháng viêm [9], chống hiện tượng co giật [10], chống ung thư [11], kháng virus [12]. Trong đó, Ritonavir là một hợp chất mang khung dị vòng thiazole, có khả năng chống HIV nhờ tác dụng ức chế protease của

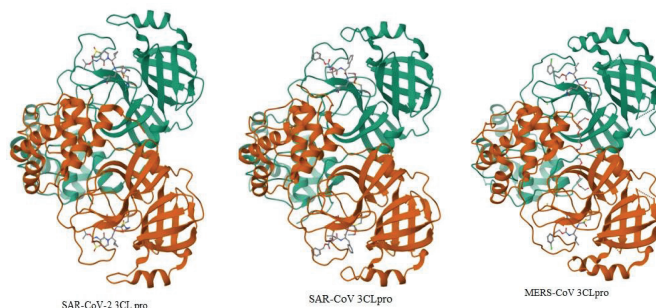
HIV, một loại enzyme cùng họ với 3CLpro của virus Corona [12, 13]. Chính vì vậy, nghiên cứu sàng lọc ảo các thuốc đã lưu hành hay các dẫn chất đang được thử nghiệm lâm sàng mang khung thiazole nhằm tìm ra các chất có khả năng ức chế 3CLpro là rất cần thiết để phát triển nhanh các thuốc tiềm năng điều trị SARS-CoV. Các tác giả nghiên cứu sử dụng lý thuyết và các công cụ tính toán nhằm tìm kiếm các hợp chất mang khung thiazole có khả năng tương tác với enzyme SARS-CoV-2” với mục tiêu: (i) Nghiên cứu cấu trúc của một số hợp chất và thuốc chứa phối tử thiazole và (ii) Nghiên cứu lý thuyết khả năng tương tác của một số thiazole với các enzyme SARS-CoV để làm tiền đề cho nghiên cứu thực nghiệm sau này.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

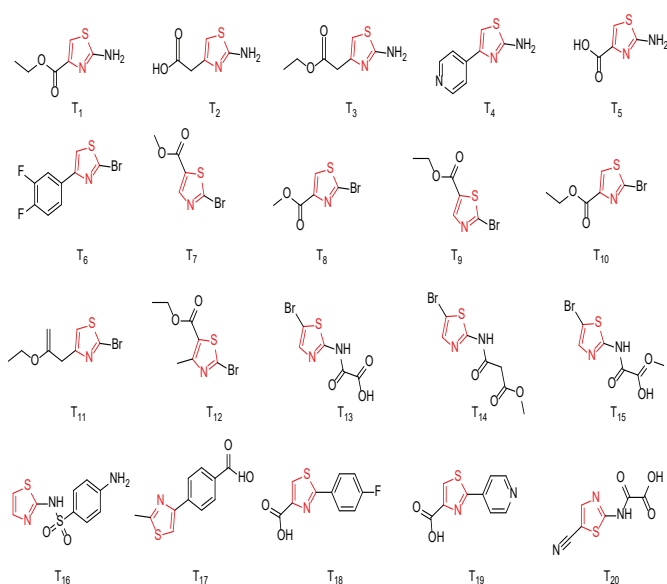
3CLpro là một trong những protein chịu trách nhiệm về vòng đời của SARS-CoV, SAR-CoV-2, MERS-CoV-2. Enzyme này rất quan trọng trong việc hình thành virus RNA mới bằng cách điều chỉnh chuỗi polypeptide của virus, được gọi là quá trình phân giải protein PP1a và PP1ab. Các polypeptid này bao gồm 11 vị trí phân cắt xúc tác bảo tồn, sử dụng một túi kỵ nước lớn chứa acid glutamic và các gốc acid amin nhỏ khác. Protein này được coi là mục tiêu chọn lọc vì cho đến nay, không có protease nào của con người được biết đến có cấu trúc tương đồng và tính đặc hiệu phân cắt cơ chất với SARS-CoV 3CLpro.

*Chuẩn bị cấu trúc protein:* Các cấu trúc của 3 protein SARS-CoV-2 3CLpro; SARS-CoV 3CLpro; MERS-CoV 3CLpro lần lượt được lấy xuống từ ngân hàng protein với ID tương ứng là: 6Y2F; 3TNT và 5WKK. Sau đó các cấu trúc protein được loại bỏ phân tử nước, thêm nguyên tử hydro và điện tích sau đó được xác định lại vùng hoạt động của enzyme qua phần mềm MGL Autodock tools 1.5.7. Cấu trúc 3D của ba loại enzyme 3CLpro được thể hiện trong hình 1.

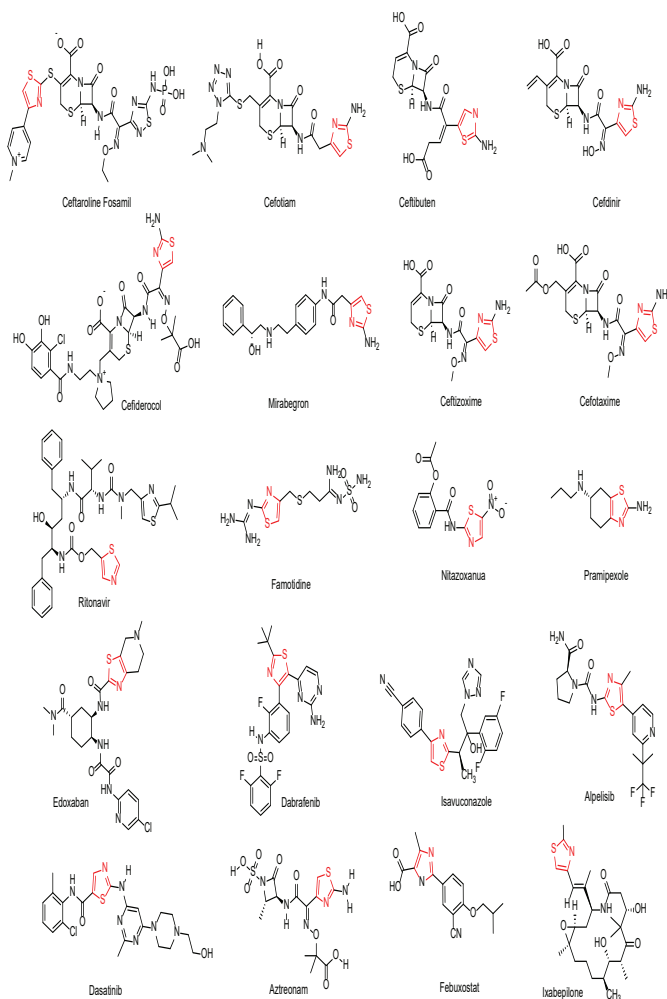


Hình 1. Cấu trúc 3D enzyme 3CLpro của virus SARS-CoV, SARS-CoV-2, MERS-CoV.





**Hình 2. Cấu trúc các phối tử thiazole được sử dụng trong nghiên cứu T1-T20 được lựa chọn từ các hợp chất có hoạt tính ức chế enzyme MurA, 3CLpro, MetaAP1a và DdIB... [15].**



**Hình 3. Các thuốc có cấu trúc dị vòng thiazole được FDA cấp phép sử dụng.**

**Chuẩn bị cấu trúc hợp chất:** Các dẫn xuất dị vòng thiazole được biết đến là các hợp chất có hoạt tính sinh học tốt như hoạt tính kháng vi khuẩn, kháng virus, kháng tế bào ung thư, chất chống oxy hóa... [14]. Nhóm nghiên cứu đã lựa chọn ra 20 mảnh phối tử khác nhau đều là dẫn xuất của thiazole có hoạt tính sinh học tốt [15] để đánh giá tương tác giữa vòng thiazole và 3 loại enzyme SARS-CoV-2 3CLpro; SARS-CoV 3CLpro; MERS-CoV 3CLpro. Cấu trúc của các phối tử mang khung thiazole này được thể hiện ở hình 2. Thêm vào đó, trên danh sách các loại thuốc được FDA ban hành hàng năm, 20 thuốc có mang khung dị vòng thiazole có cấu trúc như hình 3 đã được chọn ra để thực hiện nghiên cứu. Cấu trúc hóa học của các hợp chất mang khung thiazole được lấy từ cơ sở dữ liệu PubChem hoặc được vẽ bằng phần mềm ChemBio Office 2010 và được chuyển thành cấu trúc 3D nhờ phần mềm Avogadro. Sau đó, tất cả các hợp chất được gắn trường lực Merck Molecular Force Field (MMFF94) và tối ưu hóa mức năng lượng.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp 3D docking phân tử:** Phương pháp 3D docking phân tử *in silico* được sử dụng để đánh giá tương tác ảo giữa các phối tử mang khung thiazole và enzyme 3CLpro. Khả năng liên kết của các hợp chất cần docking được đánh giá thông qua sự tương tác của chúng với các acid amin trong hốc phản ứng cũng như năng lượng tương tác tính bởi hàm tính điểm (scoring function) của Autodock Vina.

Trung tâm hoạt động và Grid box cho docking được thiết lập các thông số của tọa độ trung tâm X, Y và Z với độ rộng tương ứng cùng với khoảng cách giữa các ô lưới [13] được mô tả ở bảng 1. Kích thước Grid box đủ lớn để bao phủ toàn bộ trung tâm hoạt động và đảm bảo phối tử di chuyển tự do trong trung tâm hoạt động của enzyme. Các thông số này được xác định dựa trên kích thước phối tử dự kiến sử dụng.

**Bảng 1. Các thông số mạng lưới để nghiên cứu lắp ghép phân tử.**

| Tên protein       | ID   | Tọa độ trung tâm(x, y, z)             | Kích thước độ rộng tương ứng | Khoảng cách giữa các ô lưới |
|-------------------|------|---------------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| SARS-CoV-2 3CLpro | 6Y2F | x=10,9372;<br>y=-2,0146;<br>z=18,2692 | 25 Å X 25 Å X 25 Å           | 1 Å                         |
| SARS-CoV 3CLpro   | 3TNT | x=25,1486;<br>y=44,1145;<br>z=-5,6121 | 25 Å X 25 Å X 25 Å           | 1 Å                         |
| MERS-CoV 3CLpro   | 5WKK | x=-21,9860;<br>y=25,6036;<br>z=4,0045 | 25 Å X 25 Å X 25 Å           | 1 Å                         |

Trong mô hình docking này, ảnh hưởng của phân tử nước đã được giảm thiểu để kết quả nghiên cứu tập trung vào tương tác giữa phối tử dị vòng thiazole với trung tâm hoạt động của enzyme. Các tương tác được quan tâm nhiều nhất là liên kết hydro giữa dị vòng thiazole với các acid amin có mặt trong trung tâm hoạt động của protein, cũng như các tương tác giữa các nhóm chức khác trong cấu trúc phối tử với enzyme. Cấu dạng có tương tác với trung tâm hoạt động của protein đồng thời có năng lượng liên kết nhỏ nhất sẽ được ưu tiên lựa chọn. Kết quả của quá trình sàng lọc được báo cáo dưới đơn vị kcal/mol (năng lượng liên kết).

**Thẩm định lại mô hình docking phân tử:** Để thẩm định lại mô hình 3D docking phân tử trong nghiên cứu này và kiểm tra thuật toán cùng với độ tin cậy khi lắp ghép phối tử với protein, nhóm nghiên cứu đã thực hiện sử dụng mô hình docking này để re-dock Levofloxacin với trung tâm hoạt động của phân tử FABP4 (FABP4 là một protein với ID:3FR5 được tải xuống từ thư viện protein (Protein Data Bank). Hình ảnh cấu trúc 2D và 3D thu được về tương tác giữa levofloxacin trong hốc phân ứng của FABP4 cho thấy, phối tử liên kết chính xác với vị trí trung tâm hoạt động và có độ chênh lệch không đáng kể với hình ảnh tương tác của phối tử Levofloxacin và FABP4 trong báo cáo trước đó của Y. Wang và cs (2014) [16].

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Nghiên cứu sàng lọc các phối tử thiazole phân tử nhỏ

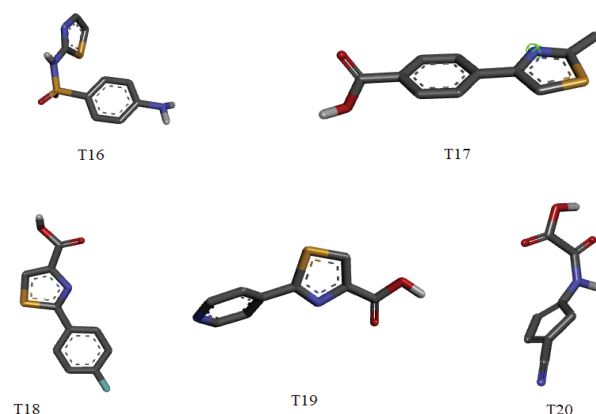
Nhóm nghiên cứu đã tiến hành sàng lọc ảo đánh giá tương tác giữa protein 3CLpro với 20 mảnh phối tử mang khung dị vòng thiazole có cấu trúc phân tử nhỏ (hình 2). Đây đều là các khung dẫn chất thiazole đã và đang được đánh giá có hoạt tính sinh học tốt như ức chế hoạt động của một số enzyme MurA, 3CLpro, MetaAP1a và DdlB... [14-19]. Kết quả docking các hợp chất này vào trung tâm hoạt động của enzyme 3CLpro được tổng hợp ở bảng 2 dựa trên năng lượng liên kết các dẫn chất dị vòng thiazole với các enzyme SARS-CoV-2 3CLpro( $E_4$ ), SARS-CoV 3CLpro( $E_5$ ), MERS-CoV 3CLpro( $E_6$ ).

Kết quả nghiên cứu tương tác của các hợp chất mang khung dị vòng thiazole với các enzyme SARS-CoV-2 3CLpro, SARS-CoV 3CLpro, MERS-CoV 3CLpro cho thấy, các thiazole có thể chia thành 2 nhóm: Nhóm 1 bao gồm 15 cấu trúc có tương tác yếu hơn  $T_1$ - $T_{15}$  và nhóm 2 có tương tác mạnh gồm các chất  $T_{16}$ - $T_{20}$ . Nhóm  $T_1$ - $T_{15}$  có năng lượng liên kết với 3 enzyme trong khoảng từ -5 đến -7 (kcal/mol). Các thiazole từ  $T_{16}$ - $T_{20}$  với năng lượng liên kết mạnh hơn trải dài trong khoảng -7 đến -9 (kcal/mol). Cấu trúc của 5 thiazole này trong vùng hoạt động của enzyme với mức năng lượng liên kết cao nhất được thể hiện trên hình 4.

Kết quả phân tích cho thấy, phối tử T16 có năng lượng tương tác với SARS-CoV-2 3CLpro là -7,6 kcal/mol. Cấu trúc của phân tử cũng như sự có mặt của một số nhóm có khả

**Bảng 2.** Tương tác giữa các phối tử thiazole với các enzyme virus Corona.

| STT | Thiazole | $E_4$ (kcal/mol) | $E_5$ (kcal/mol) | $E_6$ (kcal/mol) |
|-----|----------|------------------|------------------|------------------|
| 1   | T1       | -6,7             | -5,3             | -6,3             |
| 2   | T2       | -6,1             | -4,7             | -6,6             |
| 3   | T3       | -6,0             | -4,3             | -6,0             |
| 4   | T4       | -6,0             | -5,6             | -6,5             |
| 5   | T5       | -6,2             | -5,1             | -7,2             |
| 6   | T6       | -6,9             | -5,9             | -7,9             |
| 7   | T7       | -5,6             | -5,1             | -6,6             |
| 8   | T8       | -5,9             | -5,2             | -6,5             |
| 9   | T9       | -5,7             | -5,3             | -6,7             |
| 10  | T10      | -6,1             | -5,5             | -6,8             |
| 11  | T11      | -6,1             | -5,3             | -7,1             |
| 12  | T12      | -6,1             | -5,4             | -7,2             |
| 13  | T13      | -7,0             | -5,7             | -7,8             |
| 14  | T14      | -7,0             | -6,0             | -7,6             |
| 15  | T15      | -6,9             | -5,7             | -7,9             |
| 16  | T16      | -7,6             | -7,9             | -9,2             |
| 17  | T17      | -7,3             | -7,5             | -8,6             |
| 18  | T18      | -7,7             | -8,5             | -8,4             |
| 19  | T19      | -7,4             | -8,3             | -8,3             |
| 20  | T20      | -7,3             | -7,4             | -8,4             |

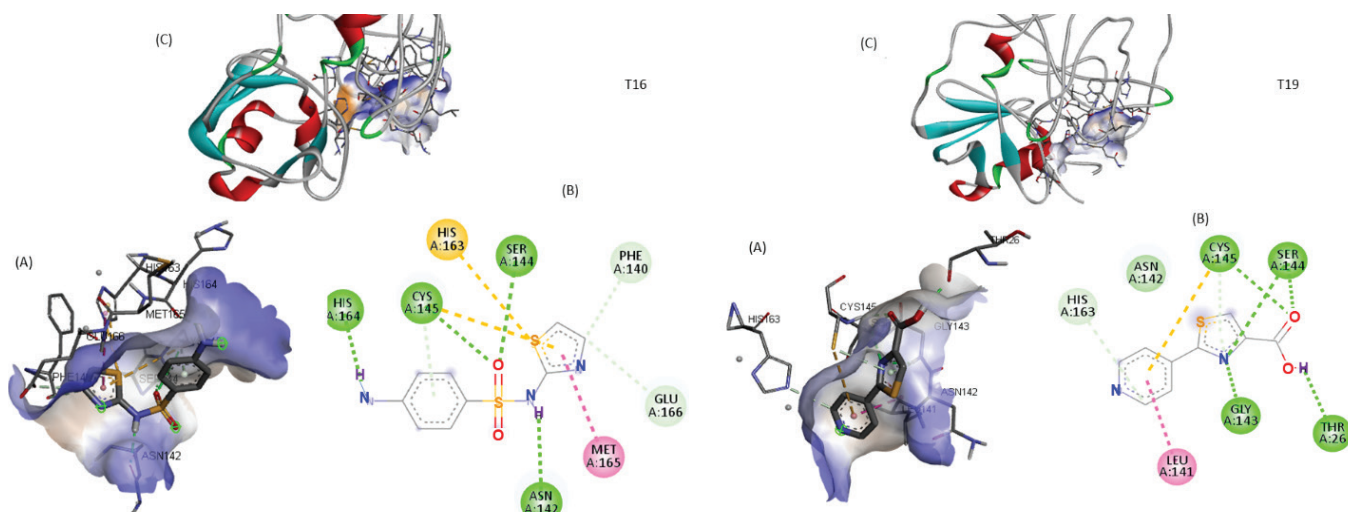


**Hình 4.** Cấu trúc 3D của dẫn chất thiazole trong trung tâm hoạt động của SARS-CoV-2 3CLpro.

năng tạo liên kết hydro từ đó làm tăng năng lượng liên kết với enzyme (hình 5). Đáng chú ý là hai liên kết hydro giữa nguyên tử lưu huỳnh và nitơ trong khung dị vòng thiazole với nguyên tử oxy trong HIS163 và CYS145. Ngoài ra còn có thêm hai liên kết hydro giữa nhóm -S=O với H trong CYS145 và SER144.

Hợp chất T17 và T20 đều có năng lượng tương tác với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro là -7,3 kcal/mol. Sự tương tác phụ thuộc chủ yếu vào lực hút tĩnh điện giữa T17 và T20 với các acid amin trong cấu trúc của enzyme như asparagine,

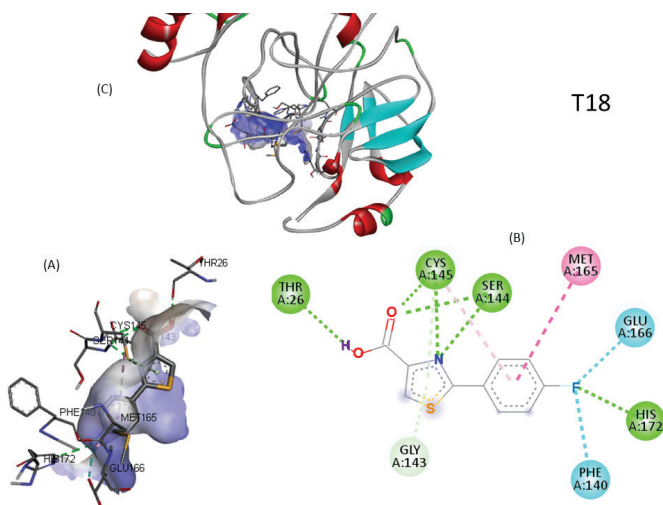




Hình 5. T16, T19 tương tác (A), (B) trong tâm hoạt động của SARS-CoV-2 3CLpro (C).

serine. Với T19, kết quả mô phỏng cho thấy, năng lượng tương tác là -7,4 kcal/mol. Các tương tác mạnh giữa T16, T19 và SAR-CoV-2 3CLpro được thể hiện rõ trong hình 5. Các tương tác bao gồm liên kết hydro giữa nguyên tử N của vòng thiazole với GLY143, SER144 và liên kết hydro giữa nhóm carbonyl của hợp chất T19 với SER144, CYS145 và THR26.

Trong các dẫn chất thiazole được thử nghiệm, T18 có năng lượng tương tác mạnh nhất trong dãy với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro. Với cấu trúc của phân tử cũng như sự có mặt của một số nhóm có khả năng liên kết tốt làm tăng năng lượng liên kết của T18 với enzyme (-7,7 kcal/mol, hình 6). Bên cạnh các liên kết yếu như  $\pi$ -alkyl;  $\pi$ -S còn có các tương tác, liên kết mạnh như các liên kết hydro của CYS145, SER144, HIS172, THR26. Ngoài ra, Flo có 1 electron độc thân và có thể tạo thành liên kết cho nhận với một trong ba acid amin GLU166, PHE140 và HIS 172.



Hình 6. T18 tương tác (A), (B) trong tâm hoạt động của SARS-CoV-2 3CLpro(C).

### 3.2. Sàng lọc ảo các thuốc có cấu trúc dị vòng thiazole đã được FDA cấp phép lưu hành

Trong quá trình sàng lọc ảo, 20 thuốc đã được lưu hành có mang khung dị vòng thiazole được đưa vào trung tâm hoạt động của 3 enzyme 3CLpro. Năng lượng tương tác giữa khung dị vòng thiazole và trung tâm hoạt động của protein giúp tìm ra được các hợp chất có khả năng ức chế hoạt động của enzyme thông qua cơ chế gắn kết trực tiếp vào tâm xúc tác (vị trí cạnh tranh với cơ chất của enzyme). Năng lượng liên kết của từng thuốc với các enzyme SARS-Cov-2 3CLpro(E1), SARS-CoV 3CLpro(E2), MERS-CoV 3CLpro(E3) được tổng hợp ở bảng 3.

Bảng 3. Tương tác giữa các thuốc có khung thiazole đối với enzyme 3CLpro.

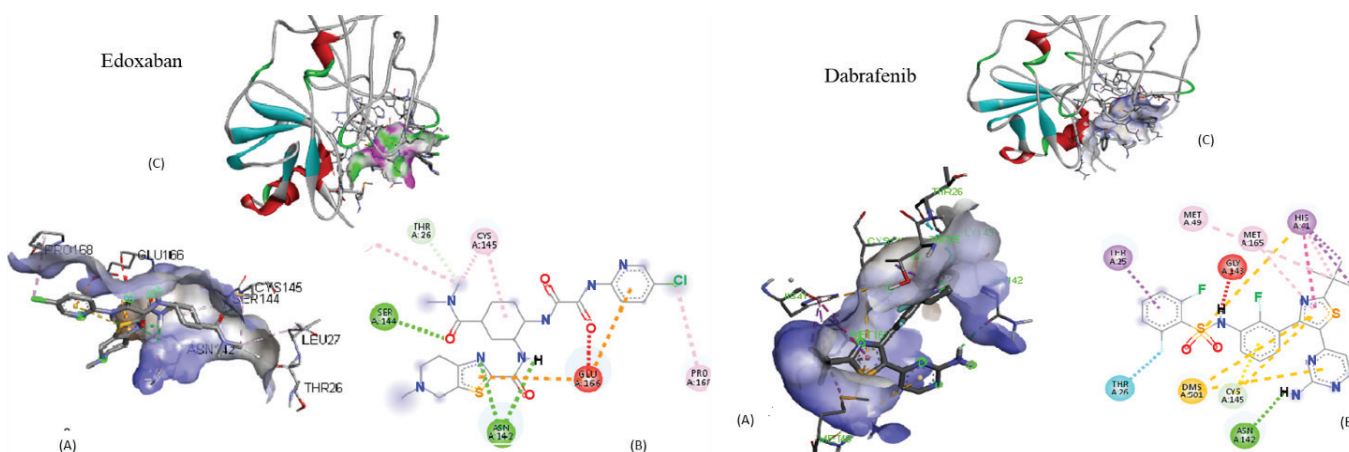
| STT | Tên thuốc           | E <sub>1</sub> (kcal/mol) | E <sub>2</sub> (kcal/mol) | E <sub>3</sub> (kcal/mol) |
|-----|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 1   | Mirabegron          | -6,0                      | -6,8                      | -7,8                      |
| 2   | Alpelisib           | -7,7                      | -7,2                      | -6,4                      |
| 3   | Cefiderocol         | -6,5                      | -6,5                      | -4,9                      |
| 4   | Isavuconazole       | -6,8                      | -7,1                      | -9,0                      |
| 5   | Edoxaban            | -8,6                      | -8,8                      | -9,7                      |
| 6   | Dabrafenib          | -8,7                      | -9,0                      | -9,8                      |
| 7   | Febuxostat          | -7,1                      | -8,6                      | -8,0                      |
| 8   | Ixabepilone         | -8,8                      | -8,7                      | -8,7                      |
| 9   | Dasatinib           | -7,4                      | -8,8                      | -8,5                      |
| 10  | Nitazoxanide        | -7,2                      | -7,7                      | -8,8                      |
| 11  | Pramipexole         | -5,2                      | -6,3                      | -6,9                      |
| 12  | Ritonavir           | -5,3                      | -4,1                      | -4,3                      |
| 13  | Aztreonam           | -8,4                      | -8,5                      | -7,7                      |
| 14  | Famotidine          | -7,1                      | -7,5                      | -8,3                      |
| 15  | Ceftaroline fosamil | -8,9                      | -8,5                      | -9,7                      |
| 16  | Cefotiam            | -6,1                      | -7,7                      | -8,7                      |
| 17  | Ceftibuten          | -7,3                      | -7,8                      | -8,8                      |
| 18  | Cefdinir            | -7,4                      | -8,1                      | -8,3                      |
| 19  | Cefotaxime          | -7,1                      | -8,4                      | -9,3                      |
| 20  | Ceftizoxime         | -8,0                      | -8,3                      | -9,6                      |

Kết quả nghiên cứu với các enzyme SARS-CoV-2 3CLpro, SARS-CoV 3CLpro, MERS-CoV 3CLpro có 4 thuốc cho thấy những năng lượng liên kết thấp nhất đó là: Edoxaban, Ixabepilone, Dabrafenib, Ceftaroline fosamil. So sánh với các hợp chất có cấu trúc phân tử nhỏ ở trên, cả 4 thuốc này đều cho thấy khả năng tương tác tốt hơn với enzyme 3CLpro. Trên dữ liệu nghiên cứu, kết quả phân tích cho thấy Edoxaban - một thuốc chống đông máu đường uống có năng lượng tương tác với SARS-CoV-2 3CLpro, SARS-CoV 3CLpro, MERS-CoV 3CLpro lần lượt là -8,6; -8,8; -9,7 (kcal/mol), Sự tương tác phụ thuộc chủ yếu vào lực hút tĩnh điện giữa Edoxaban và các acid amin trong cấu trúc của enzyme như Asparagine và Serine (hình 7).

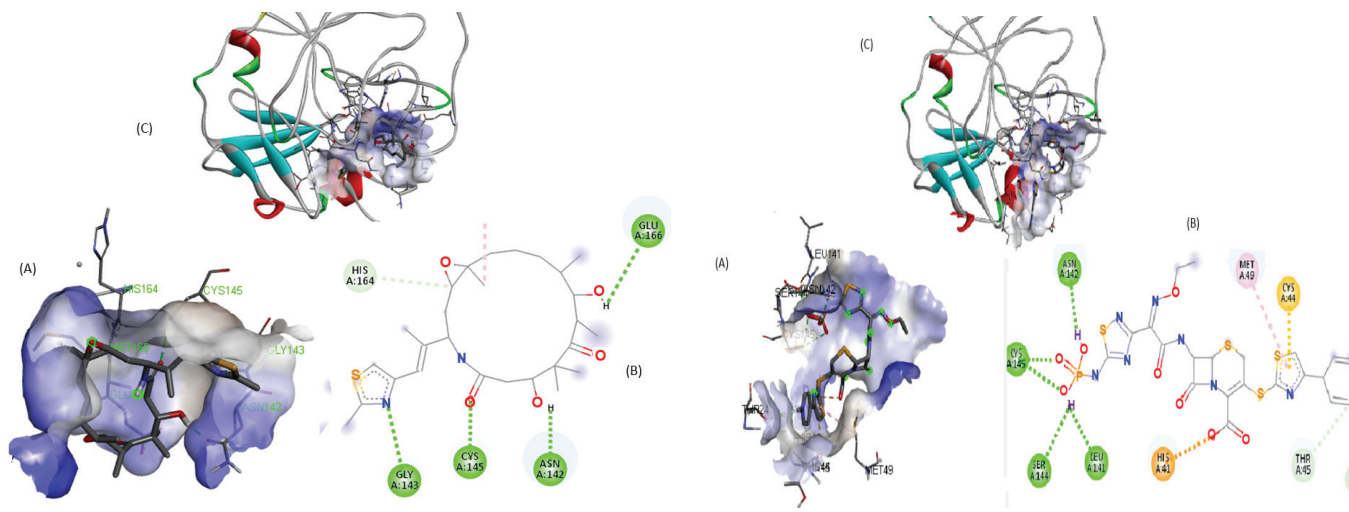
Trong số các thuốc có tương tác tốt với enzyme 3CLPro, Dabrafenib có năng lượng tương tác với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro, SARS-CoV 3CLpro, MERS-CoV 3CLpro lần lượt là -8,7; -9,0; -9,8 kcal/mol. Cấu trúc của phân tử

cũng như sự có mặt của một số nhóm có khả năng tạo liên kết hydro cũng làm tăng năng lượng liên kết với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro (-8,7 kcal/mol trong hình 7). Bên cạnh các tương tác yếu như  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ - $\sigma$ ,  $\pi$ -alkyl chú ý hơn cả là liên kết hydro giữa NH proton với O trong Asn142 ngoài ra có liên kết giữa nguyên tử halogen flo với acid amin threonine 26.

Trong nghiên cứu tương tác của Ixabepilone với 3 loại enzyme SARS-CoV-2 3CLpro, SARS-CoV 3CLpro, MERS-CoV 3CLpro, kết quả mô phỏng cho thấy, năng lượng liên kết lần lượt là -8,8; -8,7; -8,7 kcal/mol. Như vậy, Ixabepilone tương tác tốt với cả 3 loại enzyme Corona protease này. Các tương tác mạnh của Ixabepilone với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro được thể hiện trên hình 8. Trong đó có liên kết hydro giữa oxy trong nhóm CHO và cystein 145, bên cạnh đó còn có 3 liên kết hydro của Glu166, Gly143 và Cys145.



Hình 7. Edoxaban và Dabrafenib tương tác (A), (B) trong trung tâm hoạt động protein SARS-CoV-2 3CLpro (C).



Hình 8. Ixabepilone tương tác (A), (B) trong trung tâm hoạt động protein SARS-CoV-2 3CLpro (C).

Hình 9. Ceftaroline fosamil tương tác (A), (B) trong trung tâm hoạt động protein SARS-CoV-2 3CLpro (C).

Ceftaroline fosamil, một thuốc kháng sinh nhóm cephalosporin cho thấy khả năng tương tác mạnh với protein 3CLpro. Năng lượng liên kết với 3 enzyme SARS-CoV-2 3CLpro, SARS-CoV 3CLpro, MERS-CoV 3CLpro lần lượt là: -8,9; -8,5; -9,7 kcal/mol. Với năng lượng liên kết -8,9 kcal/mol, Ceftaroline fosamil là thuốc có tương tác tốt nhất trong tất cả các thuốc được sàng lọc đối với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro gây bệnh COVID-19. Trong cấu trúc của Ceftaroline fosamil vòng 1,3-thiazole gắn vào vị trí 3 của nhân cephalosporin và nhóm oxime trong gốc acyl C7 chịu trách nhiệm cho các hoạt tính. Tương tác mạnh của Ceftaroline fosamil được thể hiện rõ bằng liên kết hydro giữa PO với H của NH của cysteine 145. Nguyên tử oxy của asparagine 142 tạo liên kết hydro với hydro của Ceftaroline fosamil. Ngoài ra còn có các liên kết hydro với leucine 141 và serine 144 (hình 9).

Kết quả phân tích cho thấy, bằng cách sàng lọc các thuốc chứa thiazole được FDA cấp phép lưu hành, chúng tôi đã xây dựng được một số thuốc có khả năng tương tác tốt với SARS-CoV-2 3CLpro. Một số cấu trúc có năng lượng liên kết trong khoảng -8,6 đến -8,9 kcal/mol. Năng lượng này lớn hơn so với một số cấu trúc được công bố gần đây, cho thấy tiềm năng sử dụng các hợp chất có khung dị vòng thiazole với tác dụng ức chế enzyme 3CLpro của SARS-CoV-2. Các thuốc được FDA cấp phép lưu hành trên thị trường cho thấy, ái lực với enzyme SARS-CoV-2 3CLpro tốt hơn các mảnh phân tử nhỏ dẫn chất của thiazole được nghiên cứu, có lẽ do các thuốc này ngoài các liên kết tương tác nổi bật giữa dị vòng thiazole với trung tâm hoạt động của protein, còn có sự hỗ trợ tương tác của một số nhóm chức khác trong cấu trúc. Mặt khác, enzyme 3CLpro là một protease chỉ có ở virus và không tương đồng với protease nào của người nên các hợp chất hướng ức chế enzyme 3CLpro vừa được đánh giá trong nghiên cứu này được kỳ vọng sẽ có tác dụng chọn lọc đặc hiệu, giảm tác dụng không mong muốn khi sử dụng. Mô hình docking phân tử dự đoán được xây dựng cho thấy, độ chính xác cao trong khả năng phân loại các hợp chất có “hoạt tính” ức chế và không có hoạt tính ức chế enzyme này, là tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn trong việc thiết kế các hợp chất làm thuốc điều trị COVID-19, cũng như các bệnh liên quan đến các dòng virus Corona khác.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu sàng lọc ảo mô phỏng tương tác giữa các dẫn chất có khung dị vòng thiazole với 3 enzyme 3CLpro của virus Corona, thông qua phương pháp 3D docking phân tử đã được thực hiện, với 40 dẫn chất khác nhau, bao gồm các thuốc đã được lưu hành cũng như các hợp chất đang trong quá trình nghiên cứu tiền lâm sàng. Nhóm nghiên

cứu đã xây dựng được một số khung thiazole có khả năng tương tác tốt với SARS-CoV-2 3CLpro, trong đó một số cấu trúc có năng lượng liên kết trong khoảng -7,3 đến -9 kcal/mol. Các hợp chất dị vòng thiazole T<sub>16</sub>-T<sub>20</sub> và đặc biệt là các thuốc có khung thiazole đã được FDA cấp phép lưu hành là Edoxaban, Ixabepilone, Dabrafenib, Ceftaroline fosamil thể hiện tương tác mạnh nhất với enzyme 3CLpro của 3 loại virus Corona được nghiên cứu, góp phần khẳng định khung dị vòng thiazole là một trong các khung dị vòng có tương tác tốt, có ái lực mạnh, khả năng gắn kết ổn định vào vị trí xúc tác của protein. Nghiên cứu cho thấy, tiềm năng để phát triển các dẫn chất mang khung dị vòng thiazole hướng ức chế 3CLpro và ức chế sự phát triển của virus Corona. Kết quả này đóng vai trò quan trọng trong việc nghiên cứu và phát triển các thuốc kháng virus và điều trị COVID-19 thông qua ức chế enzyme 3CLpro của virus. Tuy nhiên, nghiên cứu docking phân tử còn một số hạn chế, như việc chưa đánh giá được tương tác giữa các hợp chất có tiềm năng với trung tâm hoạt động của protein khi protein ở dạng linh động. Do vậy, cần tiến hành thêm các nghiên cứu mô phỏng ADMET *in silico*, nghiên cứu thử nghiệm mô phỏng động lực học phân tử (molecular dynamics simulations) và các nghiên cứu thực nghiệm *in vitro*, *in vivo* để đánh giá lại kết quả sàng lọc, chứng minh hoạt tính một cách chính xác hơn. Đồng thời nhóm nghiên cứu đề xuất nghiên cứu, phát triển các dẫn xuất mang khung dị vòng thiazole với các nhóm chức khác nhau để tăng cường hoạt tính, với mục đích phát triển thuốc mới điều trị COVID-19 trong tương lai.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C. Drosten, S. Günther, W. Preiser, et al. (2003), “Identification of a novel Coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome”, *N. Engl. J. Med.*, **348**, pp.1967-1976, DOI: 10.1056/NEJMoa030747.
- [2] J.S. Peiris, S.T. Lai, P. Poon, et al. (2003), “Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome”, *The Lancet*, **361(9366)**, pp.1319-1325, DOI: 10.1016/S0140-6736(03)13077-2.
- [3] R. Lu, X. Zhao, J. Li, et al. (2020), “Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel Coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding”, *Lancet*, **395(10224)**, pp.565-574, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- [4] W. Dai, B. Zhang, X.M. Jiang, et al. (2020), “Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease”, *Science*, **368**, pp.1331-1335, DOI: 10.1126/science.abb4489.
- [5] V.M.F. Amorim, E.P. Soares, A.S. Al Ferrari, et al. (2024), “3-chymotrypsin-like protease (3CLpro) of SARS-CoV-2: Validation as a molecular target, proposal of a novel catalytic mechanism, and inhibitors in preclinical and clinical trials”, *Viruses*, **16(6)**, DOI: 10.3390/v16060844.



- [6] United States Food and Drug Administration (2021), “FDA authorizes first oral antiviral for treatment of COVID-19”, *FDA* (Press release), <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-first-oral-antiviral-treatment-covid-19>, accessed 2 June 2025.
- [7] S. Reis, M.I. Metzendorf, R. Kuehn, et al. (2023), “Nirmatrelvir combined with ritonavir for preventing and treating COVID-19”, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **11**, DOI: 10.1002/14651858.CD015395.pub3.
- [8] I. Yavari, T. Sanaeishoar, M. Ghazvini, et al. (2010), “Solvent-free synthesis of functionalized 2,3-dihydrothiazole from isothiocyanate, primary alkylamines and 2-chloro-1,3-dicarbonyl compound”, *J. Sulfur Chem.*, **31(3)**, pp.169-176, DOI:10.1080/17415993.2010.485645.
- [9] S. Hosseinezhad, A. Ramazani (2023), “Thiazole ring - the antimicrobial, anti-inflammatory, and anticancer active scaffold”, *Arab. J. Chem.*, **16(11)**, DOI: 10.1016/j.arabjc.2023.105234.
- [10] A. Shafiee, M. Dolatabadi, F. Kamal (1990), “Synthesis and antibacterial and antifungal activities of 4-substituted-2-thiazolyldiazones”, *J. Sci. I. R. Iran*, **1(2)**, pp.107-110.
- [11] K.H. Narasimhamurthy, T.R. Swaroop, K.S. Rangappa (2024), “A review on progress of thiazole derivatives as potential anti-inflammatory agents”, *Eur. J. Med. Chem. Rep.*, **12**, DOI:10.1016/j.ejmcr.2024.100225.
- [12] A. Hsu, G.R. Granneman, G. Witt, et al. (1997), “Multiple-dose pharmacokinetics of ritonavir in human immunodeficiency virus-infected subjects”, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **41(5)**, pp.898-905.
- [13] A.B. Gurung, M.A. Ali, J. Lee, et al. (2020), “Structure-based virtual screening of phytochemicals and repurposing of FDA approved antiviral drugs unravels lead molecules as potential inhibitors of Coronavirus 3C-like protease enzyme”, *J. King Saud Univ. Sci.*, **32(6)**, pp.2845-2853, DOI: 10.1016/j.jksus.2020.07.007.
- [14] M.A. Alam (2023), “Thiazole, a privileged scaffold in drug discovery”, *Privileged Scaffolds in Drug Discovery*, pp.1-19, DOI: 10.1016/B978-0-443-18611-0.00027-9.
- [15] M. Proj, M. Hrast, D. Knez, et al. (2022), “Fragment-sized thiazoles in fragment-based drug discovery campaigns: Friend or foe”, *ACS Med. Chem. Lett.*, **13(12)**, pp.1905-1910, DOI: 10.1021/acsmchemlett.2c00429.
- [16] Y. Wang, W.K. Law, J.S. Hu, et al. (2014), “Discovery of FDA-approved drugs as inhibitors of fatty acid binding protein 4 using molecular docking screening”, *J. Chem. Inf. Model.*, **54(11)**, pp.3046-3050, DOI: 10.1021/ci500503b.
- [17] E.M. Sharshira, M. Hamada (2012), “Synthesis, characterization and antimicrobial activities of some thiazole derivatives”, *Am. J. Org. Chem.*, **2(3)**, pp.69-73, DOI: 10.5923/j.ajoc.20120203.06.
- [18] S.R. Pattan, N. Dighe, A. Nirmal, et al. (2009), “Synthesis and biological evaluation of some substituted amino thiazole derivatives”, *Asian J. Res. Chem.*, **2(2)**, pp.196-201.
- [19] A. Sudhakar, A. Pati, M. Baburao, et al. (2010), “An efficient, uncatalyzed, and rapid synthesis of thiazoles and aminothiazoles under microwave irradiation and investigation of their biological activity”, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **185**, pp.103-109.

# Nghiên cứu lý thuyết sự hấp phụ các phân tử hữu cơ dễ bay hơi trên bề mặt $\text{MoSe}_2$

Nguyễn Ngọc Trí\*, Cao Thị Hương

Phòng Thí nghiệm Hóa học Tính toán và Mô phỏng, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Quy Nhơn,  
70 An Dương Vương, phường Nguyễn Văn Cừ, TP Quy Nhơn, tỉnh Bình Định, Việt Nam

Ngày nhận bài 23/1/2024; ngày chuyển phản biện 25/1/2024; ngày nhận phản biện 4/4/2024; ngày chấp nhận đăng 14/2/2025

## Tóm tắt:

Việc hiểu cơ chế hấp phụ các phân tử trên bề mặt vật liệu như dichalcogenide kim loại chuyển tiếp có ý nghĩa quan trọng để đánh giá đầy đủ các hiện tượng bề mặt cũng như tính chất điện tử của vật liệu. Trong nghiên cứu này, tác giả sử dụng các tính toán hóa học lượng tử để khảo sát chi tiết sự tương tác giữa các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi (VOC) trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$ . Các cấu hình hấp phụ được làm bền bởi tương tác  $\text{Se} \cdots \text{H/C/O}$ . Kết quả cho thấy, sự hấp phụ các phân tử trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$  được đánh giá là hấp phụ vật lý yếu. Khả năng hấp phụ của các phân tử trên  $\text{MoSe}_2$  giảm dần theo thứ tự  $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH} > \text{C}_5\text{H}_{12} > \text{C}_2\text{H}_3\text{CHO} > \text{H}_3\text{COCH}_3 > \text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_2$ . Các phân tích nguyên tử trong phân tử (AIM) và orbital liên kết thích hợp (NBO) chỉ ra rằng, các tương tác ngoại phân tử  $\text{Se} \cdots \text{H/C/O}$  đều thuộc loại tương tác yếu và có bản chất không cộng hóa trị. Kết quả đạt được cho thấy,  $\text{MoSe}_2$  dạng đơn lớp có khả năng cảm biến tốt đối với các VOC. Thời gian tái tạo bề mặt  $\text{MoSe}_2$  trong các hệ khảo sát ở nhiệt độ phòng rất nhanh. Như vậy,  $\text{MoSe}_2$  đơn lớp được mong đợi có tiềm năng trong ứng dụng cảm biến các hợp chất VOC.

**Từ khóa:** hợp chất hữu cơ dễ bay hơi, lý thuyết phiếm hàm mật độ,  $\text{MoSe}_2$ , sự hấp phụ, tương tác bề mặt.

**Chỉ số phân loại:** 1.4, 2.4, 2.5

## Theoretical study on the adsorption of volatile organic compounds on $\text{MoSe}_2$ surface

Ngoc Tri Nguyen\*, Thi Huong Cao

Lab of Computational Chemistry and Modelling, Faculty of Natural Sciences, Quy Nhon University,  
70 An Duong Vuong Street, Nguyen Van Cu Ward, Quy Nhon City, Binh Dinh Province, Vietnam

Received 23 January 2024; revised 4 April 2024; accepted 14 February 2025

## Abstract:

Understanding the adsorption mechanism of molecules on material surfaces, such as transition metal dichalcogenides, is of great significance for fully evaluating insights into phenomena and electronic properties on material surfaces. In this work, we conducted quantum chemical calculations to investigate the interaction between volatile organic compounds (VOC) and  $\text{MoSe}_2$  surface in detail. The  $\text{Se} \cdots \text{H/C/O}$  intermolecular interactions contribute to stable adsorption configurations. Results indicate that the process of molecules adsorbed onto  $\text{MoSe}_2$  is evaluated as weak physical adsorption. The adsorption ability of molecules on  $\text{MoSe}_2$  decreases in the order of  $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH} > \text{C}_5\text{H}_{12} > \text{C}_2\text{H}_3\text{CHO} > \text{H}_3\text{COCH}_3 > \text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_2$ . The atoms in molecules (AIM) and natural bond orbital (NBO) analyses reveal that the  $\text{Se} \cdots \text{H/C/O}$  intermolecular contacts are weak interactions and are non-covalent in nature. The obtained results indicate that the  $\text{MoSe}_2$  monolayer has good sensitivity for volatile organic compounds. The recovery time for the  $\text{MoSe}_2$  surface in the investigated systems is speedy after adsorption at room temperature. Therefore, monolayer  $\text{MoSe}_2$  is anticipated to be a promising candidate for sensing applications involving VOC.

**Keywords:** adsorption, density functional theory,  $\text{MoSe}_2$ , surface interaction, volatile organic compounds.

**Classification numbers:** 1.4, 2.4, 2.5

\*Tác giả liên hệ: Email: nguyennngoctri@qnu.edu.vn

## 1. Đặt vấn đề

Việc phát hiện, loại bỏ các VOC hoặc chuyển chúng thành một số hợp chất thân thiện môi trường là một trong những chủ đề quan trọng được các nhà khoa học quan tâm sâu sắc, bởi những tác hại của chúng đối với sức khỏe con người và hệ sinh thái [1]. Nhiều nghiên cứu với mục đích tìm kiếm vật liệu xúc tác, vật liệu hấp phụ hay cảm biến thích hợp để loại bỏ khí độc hại hay VOC đã được thực hiện [2, 3]. Các hệ vật liệu khác nhau đã được khảo sát, đánh giá trên cả hai khía cạnh lý thuyết mô phỏng và thực nghiệm. Trong số đó, các vật liệu chalcogenide kim loại chuyển tiếp nổi lên như những ứng cử viên đầy hứa hẹn trong các ứng dụng về quang xúc tác, cảm biến khí.

Gần đây, các nghiên cứu về vật liệu  $\text{MoSe}_2$  - một trong những chalcogen kim loại điển hình, cho thấy bề mặt pha  $2\text{H-MoSe}_2$  có khả năng tương tác tốt với phân tử dextran chứa nhóm chức -OH [4]. Các đơn lớp  $\text{MoSe}_2$  dạng thuần khiết và pha tạp kim loại được đánh giá có khả năng hấp phụ và cảm biến tốt các khí gây hại như  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  hay các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi:  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  [5-9]. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu trước đây, sự tương tác giữa các phân tử VOC trên các bề mặt vật liệu nói chung và  $\text{MoSe}_2$  nói riêng chưa được phân tích chi tiết. Cụ thể, sự hấp phụ methanol và ethanol lên  $\text{MoSe}_2$  khá yếu và được làm bền bởi liên kết hydrogen  $\text{H}\cdots\text{Se}$ , tuy nhiên sự hình thành và độ bền của liên kết này chưa được báo cáo đầy đủ [8]. Tương tự, sự có mặt tương tác ngoại phân tử  $\text{Se}\cdots\text{C/N/O}$  được xác định dựa vào sự chuyển mật độ điện tích giữa các vị trí ở phân tử acetone và bề mặt  $\text{MoSe}_2$  [5]. Đối với khảo sát về sự hấp phụ  $\text{NH}_3$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  trên  $\text{MoSe}_2$ , các tương tác  $\text{Se}\cdots\text{N}$ ,  $\text{Se}\cdots\text{H}$  hình thành và đóng góp vào việc làm bền các cấu hình hấp phụ chưa được đánh giá tường minh [6, 7, 9]. Việc phân tích làm rõ bản chất tương tác hấp phụ có ý nghĩa thiết thực trong việc hiểu các quá trình diễn ra trên bề mặt vật liệu. Hơn nữa, các kết quả từ tính toán mô phỏng giúp định hướng cho các nghiên cứu thực nghiệm xa hơn trong việc lựa chọn các bề mặt vật liệu phù hợp để ứng dụng hiệu quả trong cảm biến hay xúc tác [10]. Do vậy, nghiên cứu hiện tại sử dụng các tính toán lý thuyết phiếm hàm mật độ có sự bổ sung các hiệu chỉnh về tương tác van der Waals để khảo sát sự hấp phụ các phân tử VOC với các nhóm chức khác nhau trên các bề mặt  $\text{MoSe}_2$ , từ đó hiểu rõ hơn về sự hình thành và vai trò các tương tác bề mặt trong quá trình hấp phụ.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

Bề mặt  $\text{MoSe}_2$  và các phân tử VOC gồm isopentane ( $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_3$ ), propan-1-ol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), propenal ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{CHO}$ ), acetone ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) và ethylamine ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{NH}_2$ ) được tối ưu bằng chương trình VASP sử dụng phiếm hàm vdW-DF2 [11-13]. Đối với  $\text{MoSe}_2$  dạng đơn lớp ( $2\text{H-MoSe}_2$ ,  $\text{P6}_3/\text{mmc}$  [14]), mô hình tính toán được thiết kế với kích thước  $4\times 4\times 1$  ứng với độ lớn các chiều:  $a=12,66$  Å;  $b=12,66$  Å;  $c=25,44$  Å. Ở đây, chiều  $c$  (trục  $z$ ) được xem

xét với khoảng không gian trống (lớn hơn 15 Å) đủ lớn để bỏ qua các tương tác biên không cần thiết trong quá trình tối ưu hóa hình học. Năng lượng phân tách sóng phẳng ( $E_{\text{cut-off}}$ ) được lựa chọn ở 450 eV và các điểm mạng lưới mô tả trường Brillouin được thiết lập với kích thước  $2\times 2\times 1$ . Một số đặc trưng của quá trình tối ưu hóa hình học như sự hội tụ về lực và năng lượng được xem xét tương ứng ở mức nhỏ hơn 0,01 và  $1\times 10^{-5}$  eV. Các giá trị năng lượng đặc trưng như năng lượng hấp phụ ( $E_{\text{ads}}$ ), năng lượng tương tác ( $E_{\text{int}}$ ), năng lượng biến dạng bề mặt ( $E_{\text{D-surf}}$ ) và biến dạng phân tử ( $E_{\text{D-mol}}$ ) được tính theo các biểu thức sau:

$$\begin{aligned} E_{\text{ads}} &= E_{\text{conf}} - E_{\text{surf}} - E_{\text{mol}}; \\ E_{\text{int}} &= E_{\text{conf}} - E_{\text{surf}}^* - E_{\text{mol}}^*; \\ E_{\text{D-surf}} &= E_{\text{surf}}^* - E_{\text{surf}}; \\ E_{\text{D-mol}} &= E_{\text{mol}}^* - E_{\text{mol}} \end{aligned}$$

trong đó:  $E_{\text{conf}}$ ,  $E_{\text{surf}}$ ,  $E_{\text{mol}}$  là giá trị năng lượng tính cho các hình học tối ưu của cấu hình hấp phụ, bề mặt và phân tử;  $E_{\text{surf}}^*$  và  $E_{\text{mol}}^*$  là giá trị năng lượng điểm đơn của các cấu trúc bề mặt và phân tử được tách ra từ cấu hình hấp phụ bền và không tối ưu lại.

Thêm vào đó, để hiểu rõ hơn về độ bền và bản chất tương tác giữa phân tử và bề mặt vật liệu, các tính toán về hình học topo, các điểm tới hạn liên kết (BCP) được thực hiện bằng chương trình AIMAll ở mức lý thuyết B3LYP/LANL2DZ [15]. Sự hình thành các tương tác ngoại phân tử, sự chuyển mật độ electron tại các vị trí tương tác trong các cấu hình hấp phụ bền được xem xét thêm bởi phân tích dựa trên cách tiếp cận orbital liên kết thích hợp (NBO) tại cùng mức lý thuyết trên [16]. Các tính toán này được thực hiện bởi chương trình Gaussian 09, tương tự như các hệ nghiên cứu trước đây [10, 17].

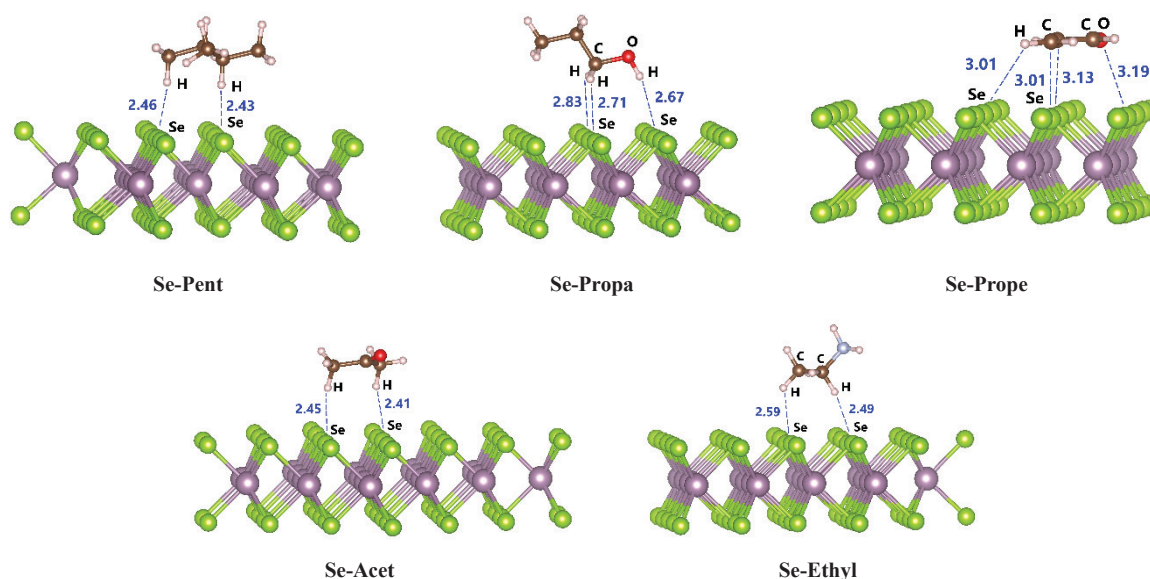
## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Cấu trúc hình học bền

Thực hiện tối ưu hóa các cấu trúc của sự hấp phụ các phân tử VOC bao gồm isopentane, propan-1-ol, propenal, acetone và ethylamine lên bề mặt  $\text{MoSe}_2$  sử dụng phiếm hàm vdW-DF2, chúng tôi thu được các cấu hình hấp phụ bền đối với mỗi hệ vật liệu-phân tử ( $\text{MoSe}_2$ -VOC) như chỉ ra ở hình 1. Các cấu hình hấp phụ được ký hiệu Se-Pent, Se-Propa, Se-Prope, Se-Acet, Se-Ethyl tương ứng với các phân tử isopentane, propan-1-ol, propenal, acetone và ethylamine.

Kết quả tối ưu hình học thấy, ở các cấu hình hấp phụ bền xuất hiện nhiều tương tác ngoại phân tử  $\text{Se}\cdots\text{H/C/O}$  giữa các vị trí Se (trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$ ) với các nguyên tử H, C, O trong các phân tử hợp chất hữu cơ. Đáng chú ý, các phân tử có xu hướng sắp xếp theo kiểu nằm ngang, song song với bề mặt  $\text{MoSe}_2$  trong sự hình thành các tương tác bề mặt trong các cấu hình hấp phụ. Như được chỉ ra ở hình 1, các khoảng cách  $\text{Se}\cdots\text{H}$  và  $\text{Se}\cdots\text{C/O}$  trong các cấu hình hấp phụ có giá trị tương ứng trong khoảng 2,41-3,01 Å và 3,01-3,19 Å. Các giá trị này đều nhỏ hơn tổng bán kính van der Waals của các nguyên tử tham gia tương tác. Cụ thể, bán kính van der





Hình 1. Các cấu trúc bền đối với sự hấp phụ các phân tử hữu cơ trên bề mặt vật liệu  $\text{MoSe}_2$  (khoảng cách đơn vị Å, các nguyên tử Mo, Se, C, H, O, N tương ứng với các hình cầu màu tím, xanh lá, xám, trắng, đỏ, xanh lơ).

Waals của các nguyên tử H, C, O, Se lần lượt là 1,20, 1,70, 1,50 và 1,90 Å. Thêm vào đó, độ lớn các khoảng cách liên kết hydrogen trong các hệ khảo sát xấp xỉ và hơi lớn hơn so với các hệ  $\text{RCHZ}\cdots\text{RCHZ}$  với R là các nhóm thế, Z là các nguyên tố chalcogen như S, Se [18]. Do đó, các tác giả nhận định, bước đầu có sự hình thành các tương tác yếu như liên kết hydrogen kiểu  $\text{Se}\cdots\text{H}$  và tương tác chalcogen  $\text{Se}\cdots\text{C/O}$  trong quá trình hấp phụ các phân tử VOC trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$ .

### 3.2. Các giá trị năng lượng của quá trình hấp phụ

Để đánh giá khả năng hấp phụ của các phân tử hợp chất hữu cơ lên trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$ , tác giả xem xét các đại lượng đặc trưng như năng lượng hấp phụ ( $E_{\text{ads}}$ ), năng lượng tương tác ( $E_{\text{int}}$ ) của các cấu hình hấp phụ, năng lượng biến dạng đối với bề mặt và phân tử ( $E_{\text{D-surf}}$ ,  $E_{\text{D-mol}}$ ). Tất cả các giá trị này được liệt kê trong bảng 1.

Bảng 1. Năng lượng hấp phụ, năng lượng tương tác và năng lượng biến dạng (đơn vị  $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) đối với các hệ  $\text{MoSe}_2$  - hợp chất hữu cơ dễ bay hơi.

| Cấu hình | $E_{\text{ads}}$ | $E_{\text{int}}$ | $E_{\text{D-surf}}$ | $E_{\text{D-mol}}$ |
|----------|------------------|------------------|---------------------|--------------------|
| Se-Pent  | -2,8             | -4,6             | 1,4                 | 0,4                |
| Se-Propa | -4,8             | -5,5             | 0,7                 | 0,0                |
| Se-Prope | -1,2             | -2,3             | 1,2                 | 0,0                |
| Se-Acet  | -0,9             | -1,4             | 0,5                 | 0,0                |
| Se-Ethyl | -0,2             | -1,4             | 1,2                 | 0,0                |

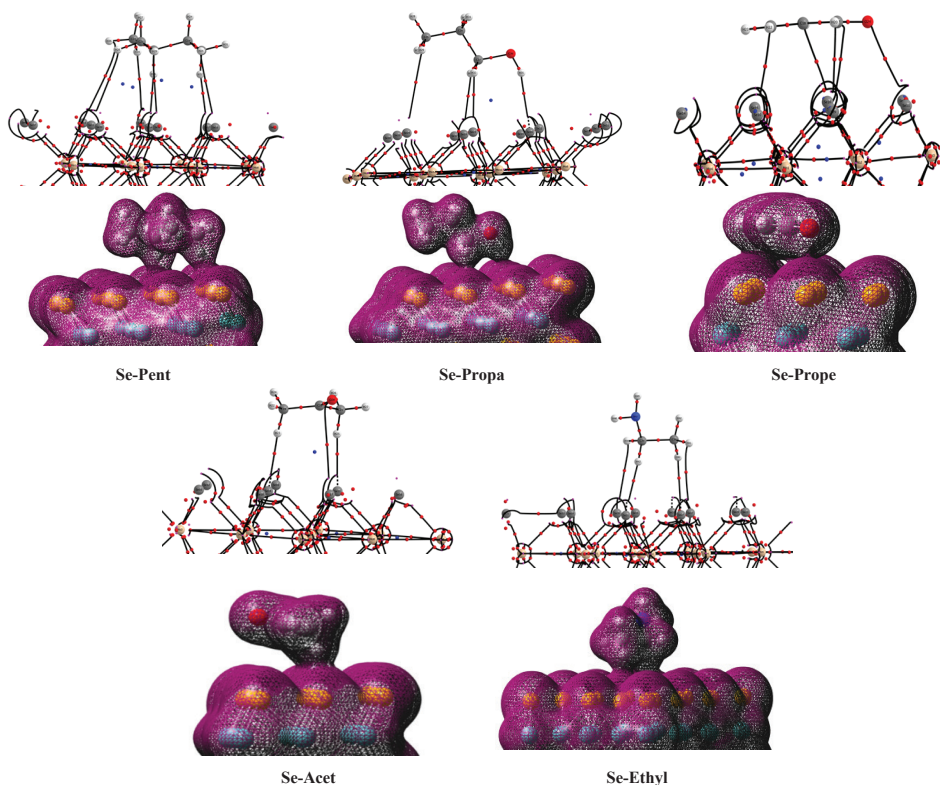
Kết quả tính toán cho thấy, năng lượng hấp phụ đối với các hệ khảo sát trong khoảng -0,2 đến -4,8  $\text{kcal.mol}^{-1}$  và tăng theo thứ tự  $\text{Se-Propa} < \text{Se-Pent} < \text{Se-Prope} < \text{Se-Acet} < \text{Se-Ethyl}$  (bảng 1). Do đó, sự hấp phụ các phân tử VOC trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$  khá yếu và giảm theo trình tự các phân tử

propan-1-ol>isopentane>propenal>acetone>ethylamine. Thêm vào đó, năng lượng tương tác đối với các cấu hình hấp phụ trong khoảng từ -1,4 đến -5,5  $\text{kcal.mol}^{-1}$  và biến đổi tương tự năng lượng hấp phụ. Đáng chú ý, năng lượng tương tác và hấp phụ đối với Se-Propa có giá trị âm hơn so với các phân tử VOC còn lại, chứng tỏ propan-1-ol tương tác tốt với bề mặt  $\text{MoSe}_2$ .

Bên cạnh đó, sự biến dạng phân tử và bề mặt là một đặc trưng quan trọng trong quá trình hấp phụ. Từ bảng 1 cho thấy, giá trị năng lượng biến dạng của các cấu trúc bề mặt  $\text{MoSe}_2$  và phân tử VOC đều khá nhỏ, trong khoảng 0,0-1,4  $\text{kcal.mol}^{-1}$ . Do đó, cấu trúc bề mặt và các phân tử biến đổi không đáng kể trong quá trình hấp phụ. Trong đó, cấu trúc bề mặt  $\text{MoSe}_2$  ( $E_{\text{D-surf}}$  trong khoảng 0,5-1,4  $\text{kcal.mol}^{-1}$ ) bị biến dạng nhiều hơn so với ở các phân tử VOC ( $E_{\text{D-mol}}$  trong khoảng 0,0-0,4  $\text{kcal.mol}^{-1}$ ). Điều này tương tự như nhận định trước đây về sự thay đổi cấu trúc bề mặt  $\text{TiO}_2$  so với các phân tử hữu cơ trong quá trình hấp phụ [19].

### 3.3. Phân tích nguyên tử trong phân tử và orbital liên kết thích hợp

Để hiểu rõ hơn bản chất, độ bền của các tương tác bề mặt trong quá trình hấp phụ, chúng tôi tiến hành phân tích AIM và NBO cho các cấu trúc bền đối với mỗi hệ  $\text{MoSe}_2$ -VOC tại mức lý thuyết B3LYP/LANL2DZ. Theo đó, hình học topo thể hiện ở hình 2. Một số thông số đặc trưng tại các BCP bao gồm mật độ electron ( $\rho(r)$ ), Laplacian của mật độ electron ( $\nabla^2(\rho(r))$ ) và tổng năng lượng (thế năng và động năng) mật độ electron ( $H(r)$ ) được liệt kê trong bảng 2. Bên cạnh đó, sự chuyển mật độ electron tổng (EDT) và năng lượng bền hóa bậc 2 - năng lượng siêu liên hợp ngoại phân tử ( $E^{(2)}$ ) được phân tích theo cách tiếp cận NBO và được chỉ ra trong bảng 2.



Hình 2. Hình học topo và giản đồ mật độ electron tổng của các cấu trúc bền đối với các hệ MoSe<sub>2</sub>-VOC khảo sát (isovalue=0,005 au).

Bảng 2. Các đại lượng đặc trưng của hình học topo ( $\nabla^2(\rho(r))$ ,  $\rho(r)$ ,  $H(r)$  đơn vị au) và phân tích NBO (EDT đơn vị e,  $E^{(2)}$  đơn vị kcal.mol<sup>-1</sup>) các cấu trúc bền với MoSe<sub>2</sub> ở mức lý thuyết B3LYP/LANL2DZ.

| Cấu hình | BCP       | $\rho(r)$ | $\nabla^2(\rho(r))$ | $H(r)$ | $E^{(2)}$ | EDT    |
|----------|-----------|-----------|---------------------|--------|-----------|--------|
| Se-Pent  | Se...H    | 0,019     | 0,057               | 0,001  | -2,6      | 0,008  |
|          | Se...H    | 0,021     | 0,061               | 0,001  | -2,5      |        |
| Se-Propa | Se...H(C) | 0,010     | 0,031               | 0,001  | -1,7      | 0,003  |
|          | Se...H(C) | 0,013     | 0,040               | 0,002  | -0,5      |        |
|          | Se...H(O) | 0,012     | 0,036               | 0,001  | -1,9      |        |
| Se-Prope | Se...H    | 0,008     | 0,027               | 0,001  | ---       | -0,019 |
|          | Se...C    | 0,016     | 0,053               | 0,000  | -4,4      |        |
|          | Se...C    | 0,014     | 0,044               | 0,001  | -3,2      |        |
|          | Se...O    | 0,009     | 0,034               | 0,001  | -0,7      |        |
| Se-Acet  | Se...H    | 0,019     | 0,058               | 0,001  | -3,1      | -0,007 |
|          | Se...H    | 0,021     | 0,062               | 0,001  | -4,2      |        |
| Se-Ethyl | Se...H    | 0,015     | 0,051               | 0,002  | -1,8      | 0,006  |
|          | Se...H    | 0,018     | 0,056               | 0,001  | -5,5      |        |

Phân tích hình học topo của các cấu trúc hấp phụ bền (hình 2) thấy rằng, có sự xuất hiện các BCP giữa các sự tương tác Se...H/C/O. Thêm vào đó, các giá trị  $\rho(r)$  và  $\nabla^2(\rho(r))$  tại các BCP Se...H/C/O tương ứng trong khoảng 0,008-0,021 và 0,027-0,062 au (bảng 2), đều nằm trong giới hạn cho sự hình thành tương tác yếu không cộng hóa trị [20, 21]. Do đó, các tương tác ngoại phân tử kiểu Se...H là

các liên kết hydrogen, Se...C/O là các tương tác chalcogen. Trong đó, các liên kết hydrogen kiểu Se...H có giá trị  $\rho(r)$  trong khoảng 0,008-0,021 au khác nhau không đáng kể so với các tương tác Se...C/O ( $\rho(r)$  trong khoảng 0,009-0,016 au). Ngoài ra, các giá trị  $H(r)$  tính được đều dương nhỏ, chứng tỏ các tương tác ngoại phân tử trong các hệ khảo sát đều có bản chất không cộng hóa trị. Như vậy, các liên kết hydrogen Se...H và tương tác chalcogen Se...C/O đều là các tương tác yếu, có bản chất không cộng hóa trị và đóng góp hỗ trợ nhau trong việc làm bền các cấu hình hấp phụ. Sự hình thành nhiều liên kết hydrogen C-H...Se, đặc biệt sự có mặt liên kết O-H...Se làm cho cấu hình Se-Propa trở nên bền hơn so với các cấu hình hấp phụ còn lại.

Bên cạnh đó, sự xuất hiện các vùng xen phủ mật độ electron giữa các vị trí trên phân tử với bề mặt vật liệu, minh chứng thêm cho sự hình thành các tương tác ngoại phân tử ở các hệ MoSe<sub>2</sub>-VOC. Ở đây, sự xen phủ mật độ electron tập trung ở các vị trí các nguyên tử H, C, O với Se trên bề mặt MoSe<sub>2</sub> để hình thành các tương tác Se...H/C/O. Các vùng tiếp xúc lớn giữa các vị trí trên các phân tử VOC và bề mặt MoSe<sub>2</sub> dẫn đến sự hình thành các tương tác bền cũng như tăng cường độ bền các cấu hình hấp phụ thu được. Bảng 2 chỉ ra các giá trị EDT ở các cấu hình hấp phụ khá nhỏ (trong khoảng 0,003-0,019 e). Đối với các cấu hình Se-Pent, Se-Propa và Se-Ethyl, giá trị EDT đều dương, thể hiện rằng sự chuyển mật độ electron từ phân tử VOC đến bề mặt MoSe<sub>2</sub> chiếm ưu thế hơn sự chuyển electron ngược lại từ bề mặt vật liệu đến các phân tử. Ngược lại, đối với Se-Prope, Se-Acet, sự chuyển mật độ electron từ các phân tử đến MoSe<sub>2</sub> chiếm ưu thế hơn từ MoSe<sub>2</sub> đến các phân tử, thể hiện ở giá trị EDT âm nhỏ (-0,007 và -0,019 e).

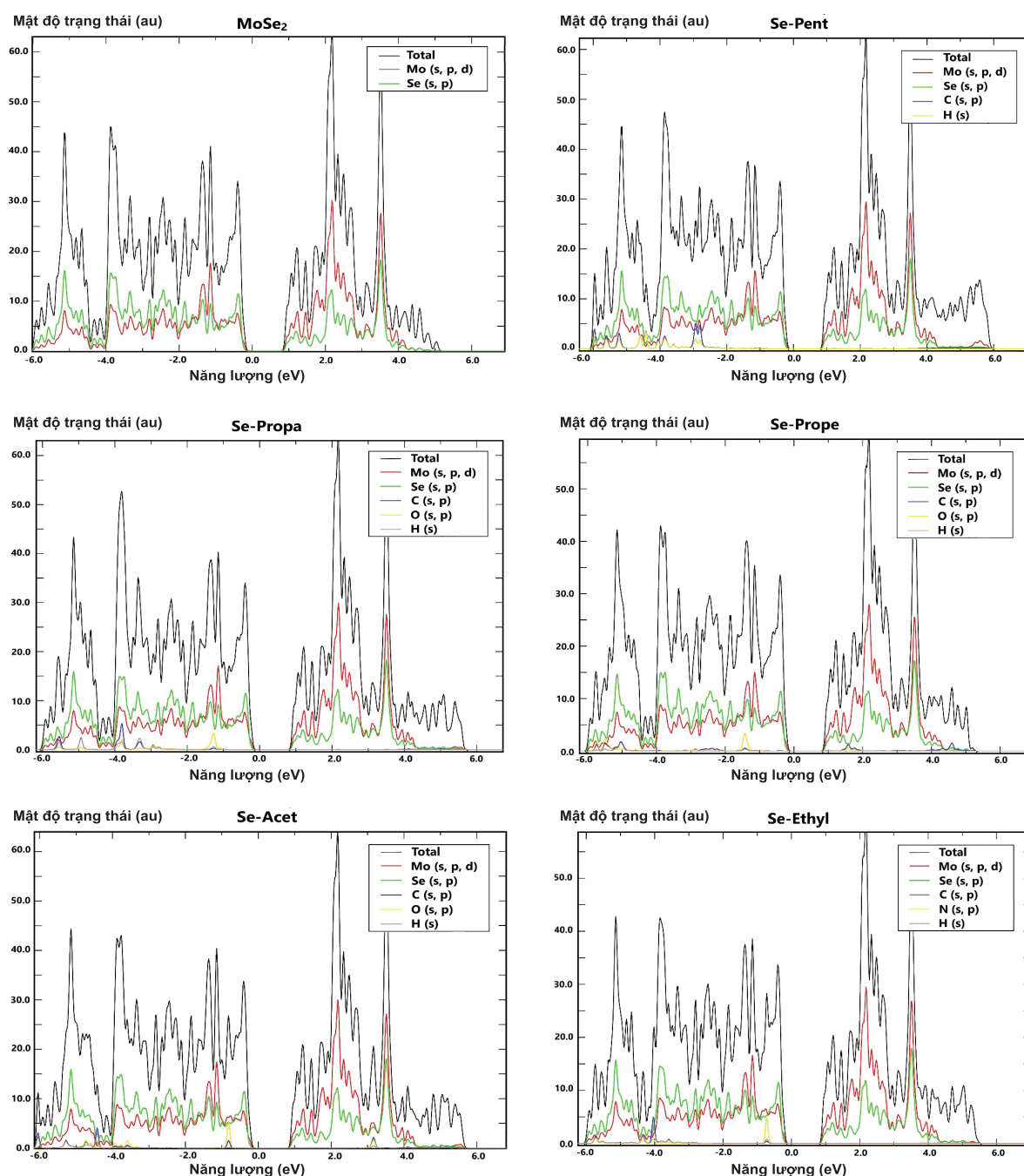
Đối với các hệ MoSe<sub>2</sub>-VOC, sự hình thành các tương tác kiểu Se...H/C được xem xét dựa vào sự chuyển mật độ electron từ cặp electron riêng của Se (LP(Se)) trên các bề mặt MoSe<sub>2</sub> đến orbital phản liên kết BD\*(H-C/O), BD\*(C-C/H/O) trong các phân tử VOC. Ở các tương tác Se...O, sự chuyển mật độ electron được xác định từ LP(O) đến BD\*(Mo-Se). Kết quả tính toán cho thấy, năng lượng siêu liên hợp ngoại phân tử ( $E^{(2)}$ ) trong khoảng từ -0,5 đến -5,5 kcal.mol<sup>-1</sup> đối với các liên kết hydrogen Se...H và từ

-0,7 đến -4,4 kcal.mol<sup>-1</sup> đối với các tương tác chalcogen Se···C/O. Nhìn chung, các giá trị E<sup>(2)</sup> đều khá nhỏ, do đó các tương tác ngoại phân tử đều khá yếu. Điều này dẫn đến các cấu hình hấp phụ ở các hệ MoSe<sub>2</sub>-VOC thu được trở nên kém bền. Nhận định này hoàn toàn phù hợp với các giá trị năng lượng hấp phụ và năng lượng tương tác của các hệ MoSe<sub>2</sub>-VOC ở bảng 1. Hơn nữa, các liên kết hydrogen kiểu Se···H có giá trị E<sup>(2)</sup> hơi lớn hơn so với các giá trị E<sup>(2)</sup> ở các tương tác chalcogen Se···C/O. Do đó, đối với các hệ

MoSe<sub>2</sub>-VOC, các liên kết hydrogen kiểu Se···H được ưu tiên hình thành, đóng góp nhiều hơn vào độ bền các cấu hình hấp phụ so với các tương tác chalcogen kiểu Se···C/O.

### 3.4. Tính chất điện tử và khả năng nhạy cảm với các phân tử khí của đơn lớp MoSe<sub>2</sub>

Sự thay đổi các tính chất điện tử trong quá trình hấp phụ cũng như tính nhạy cảm các phân tử khí được khảo sát trong nghiên cứu này. Các giản đồ mật độ trạng thái (DOS) của các cấu hình hấp phụ bền được minh họa ở hình 3.



Hình 3. Giản đồ mật độ trạng thái đối với MoSe<sub>2</sub> và các cấu hình hấp phụ bền.



Kết quả phân tích DOS cho các cấu hình hấp phụ bền thấy rằng, nhìn chung có sự xen phủ nhỏ giữa các orbital 4s, 4p ở Se với các orbital 2s, 2p của C/N/O và 1s của H. Cụ thể hơn, các sự xen phủ này chủ yếu tập trung ở các vùng năng lượng -1,0 đến 0,0 và -3,0 đến -5,0 eV. Nhìn chung, các vùng xen phủ mật độ trạng thái giữa các nguyên tử trong phân tử VOC và bề mặt MoSe<sub>2</sub> khá nhỏ, đặc biệt ở các vùng lân cận 0,0 và 1,0 eV. Do đó, sự hấp phụ các phân tử VOC ít làm thay đổi năng lượng vùng hóa trị cũng như vùng dẫn của bề mặt đơn lớp MoSe<sub>2</sub>. Tuy vậy, sự dịch chuyển nhỏ các dải năng lượng sẽ dẫn đến thay đổi tính chất điện tử, độ nhạy cảm của bề mặt MoSe<sub>2</sub> đối với các phân tử VOC khảo sát.

Để đánh giá khả năng cảm biến các phân tử của bề mặt đơn lớp MoSe<sub>2</sub>, các đại lượng đặc trưng như độ nhạy cảm (S), thời gian tái tạo bề mặt (τ) được tính theo biểu thức sau và tập hợp ở bảng 3 [22, 23].

$$S = \frac{\frac{1}{\sigma_{\text{conf}}} - \frac{1}{\sigma_{\text{surf}}}}{\frac{1}{\sigma_{\text{surf}}}}; \sigma = \lambda \cdot e^{(-E_g/2k_B T)}; \tau = A^{-1} \cdot e^{(-E_a/k_B T)}$$

trong đó:  $\sigma_{\text{surf}}$ ,  $\sigma_{\text{conf}}$  tương ứng là độ dẫn điện của bề mặt vật liệu trước và sau khi hấp phụ các phân tử;  $\lambda$  là hằng số,  $E_g$  là năng lượng vùng cấm tương ứng với các giá trị  $\sigma_{\text{surf}}$  và  $\sigma_{\text{conf}}$ ; T là nhiệt độ Kelvin; A là tần số thử ( $A=10^{-12} \text{ s}^{-1}$ ),  $k_B$  là hằng số Boltzmann ( $k_B=8,318 \times 10^{-3} \text{ kJ.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ),  $E_a$  là năng lượng giải hấp, có giá trị bằng với năng lượng hấp phụ ( $E_{\text{ads}}$ ).

Kết quả chỉ ra rằng, năng lượng vùng cấm tính toán của đơn lớp MoSe<sub>2</sub> khoảng 1,15 eV, khá gần với kết quả thực nghiệm đo được (1,50 eV [24]). Sự hấp phụ các phân tử khí VOC dẫn đến dịch chuyển các dải năng lượng (giản đồ DOS) ở các vùng dẫn và vùng hóa trị, do đó làm thay đổi năng lượng vùng cấm của vật liệu. Tuy nhiên, sự thay đổi các giá trị  $E_g$  không đáng kể (khoảng 0,02-0,04 eV). Như một hệ quả, độ nhạy cảm S tính được trong khoảng 32,2-54,1% đối với các phân tử VOC khảo sát. Từ kết quả tính toán thấy rằng, MoSe<sub>2</sub> đơn lớp có tính nhạy cảm tương đối tốt đối với các phân tử VOC, đặc biệt là propenal và isopentane.

**Bảng 3.** Năng lượng vùng cấm ( $E_g$ , đơn vị eV), độ nhạy cảm của các phân tử khí (S, đơn vị %) và thời gian phục hồi (τ, đơn vị s) đối với sự hấp phụ các phân tử hợp chất hữu cơ dễ bay hơi trên đơn lớp MoSe<sub>2</sub>.

|              | Se-Pent              | Se-Propa            | Se-Prope             | Se-Acet              | Se-Ethyl             |
|--------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| $E_g$ (eV)   | 1,11                 | 1,12                | 1,11                 | 1,13                 | 1,13                 |
| S (%)        | 54,1                 | 44,2                | 54,1                 | 32,2                 | 32,2                 |
| τ (s, 298 K) | $5,1 \cdot 10^{-10}$ | $3,5 \cdot 10^{-9}$ | $7,0 \cdot 10^{-12}$ | $4,7 \cdot 10^{-12}$ | $1,5 \cdot 10^{-12}$ |

Bên cạnh đó, thời gian phục hồi hay tái tạo bề mặt vật liệu MoSe<sub>2</sub> sau quá trình hấp phụ là một đặc trưng quan trọng cho việc tái sử dụng vật liệu trong cảm biến khí. Kết quả tính toán cho thấy, giá trị τ ở 298 K khá nhỏ, trong khoảng  $10^{-12}$  đến  $10^{-9}$  s. Do vậy, sự phục hồi bề mặt vật liệu rất nhanh sau quá trình hấp phụ các phân tử khí ở nhiệt độ phòng (298 K). Điều này có được như là hệ quả của sự hấp phụ hay tương tác yếu giữa các phân tử với bề mặt MoSe<sub>2</sub>.

#### 4. Kết luận

Sử dụng các tính toán dựa vào lý thuyết phiếm hàm mật độ, tại phiếm hàm vdW-DF2, tác giả thu được các cấu hình hấp phụ bền ứng với các hệ phân tử VOC-MoSe<sub>2</sub>. Năng lượng hấp phụ của các cấu hình bền trong khoảng -0,01 đến -0,21 eV. Kết quả cho thấy, khả năng hấp phụ các phân tử VOC trên bề mặt MoSe<sub>2</sub> đều thuộc loại hấp phụ vật lý yếu, giảm dần theo thứ tự propan-1-ol (Se-Propa) > isopentane (Se-Pent) > propenal (Se-Prope) > acetone (Se-Acet) > ethylamine (Se-Ethyl). Các cấu hình hấp phụ được làm bền chủ yếu bởi các liên kết hydrogen Se...H và sự cộng kết bởi các tương tác chalcogen Se...C/O. Phân tích AIM cho thấy, các tương tác Se...H/C/O đều thuộc loại tương tác yếu và có bản chất không cộng hóa trị. Thêm vào đó, phân tích NBO đã chứng minh sự hình thành các tương tác ngoại phân tử Se...H/C/O và đóng góp vào độ bền các cấu hình hấp phụ đối với hệ MoSe<sub>2</sub>-VOC. Kết quả tính toán cho thấy, sự thay đổi năng lượng vùng cấm ở các cấu hình hấp phụ không đáng kể so với bề mặt MoSe<sub>2</sub> ban đầu. Độ nhạy cảm với các phân tử VOC trên bề mặt MoSe<sub>2</sub> tương đối tốt, trong khoảng 32,2-54,1%. Bên cạnh đó, thời gian giải hấp phụ hay tái tạo bề mặt MoSe<sub>2</sub> (τ) khá nhanh, trong khoảng  $10^{-9}$  s đến  $10^{-12}$  s tại nhiệt độ 298 K. Như vậy, MoSe<sub>2</sub> đơn lớp được mong đợi có tiềm năng trong ứng dụng cảm biến các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Chương trình học bổng sau tiến sỹ của Quỹ đổi mới sáng tạo Vingroup (mã số VINIF.2022.STS.19). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Hakim, Y.Y. Broza, O. Barash, et al. (2012), "Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways", *Chem. Rev.*, **112**(11), pp.5949-5966, DOI: 10.1021/cr300174a.
- [2] M. Chhowalla, H.S. Shin, G. Eda, et al. (2013), "The chemistry of two-dimensional layered transition metal dichalcogenide nanosheets", *Nat. Chem.*, **5**, pp.263-275, DOI: 10.1038/nchem.1589.
- [3] K.K. Zadeh, J.Z. Ou, T. Daeneke, et al. (2015), "Two-dimensional transition metal dichalcogenides in biosystems", *Adv. Funct. Mater.*, **25**(32), pp.5086-5099, DOI: 10.1002/adfm.201500891.

- [4] T.W. Kang, J. Han, S. Lee, et al. (2018), “2D transition metal dichalcogenides with glucan multivalency for antibody-free pathogen recognition”, *Nat. Comm.*, **9**, DOI: 10.1038/s41467-018-04997-w.
- [5] C. Gao, X. Liu, H. Yang, et al. (2020), “A theoretical study of Ti-MoSe<sub>2</sub> as a noninvasive type-1 diabetes diagnosis material for detecting acetone from exhaled breath”, *Vacuum*, **182**, DOI: 10.1016/j.vacuum.2020.109729.
- [6] D.J. Late, T. Doneux, M. Bougouma (2014), “Single-layer MoSe<sub>2</sub> based NH<sub>3</sub> gas sensor”, *Appl. Phys. Lett.*, **105**, DOI: 10.1063/1.4903358.
- [7] D. Zhang, Z. Yang, P. Li, et al. (2019), “Flexible self-powered high-performance ammonia sensor based on Au-decorated MoSe<sub>2</sub> nanoflowers driven by single layer MoS<sub>2</sub>-flake piezoelectric nanogenerator”, *Nano Energy*, **65**, DOI: 10.1016/j.nanoen.2019.103974.
- [8] V. Nagarajan, R. Chandiramouli (2018), “MoSe<sub>2</sub> nanosheets for detection of methanol and ethanol vapors: A DFT study”, *J. Mole. Graph. Model.*, **81**, pp.97-105, DOI: 10.1016/j.jmgm.2018.02.011.
- [9] A.I. Ayesb (2022), “DFT investigation of H<sub>2</sub>S and SO<sub>2</sub> adsorption on Zn modified MoSe<sub>2</sub>”, *Superlattices and Microstructures*, **162**, DOI: 10.1016/j.spmi.2021.107098.
- [10] N.N. Tri, H.Q. Dai, A.J.P. Carvalho, et al. (2021), “Insights into adsorptive interactions between antibiotic molecules and rutile-TiO<sub>2</sub> (110) surface”, *Surf. Scie.*, **703**, DOI: 10.1016/j.susc.2020.121723.
- [11] G. Kresse, J. Hafner (1993), “Ab initio molecular dynamics for liquid metals”, *Phys. Rev. B*, **47**, pp.558-561, DOI: 10.1103/PhysRevB.47.558.
- [12] G. Kresse, J. Furthmuller (1996), “Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set”, *Comp. Mater. Scie.*, **6(1)**, pp.15-50, DOI: 10.1016/0927-0256(96)00008-0.
- [13] K. Lee, E.D. Murray, L. Kong, et al. (2010), “Higher-accuracy van der Waals density functional”, *Phys. Rev. B*, **82**, DOI: 10.1103/PhysRevB.82.081101.
- [14] S. Tongay, J. Zhou, C. Ataca, et al. (2012), “Thermally driven crossover from indirect toward direct band gap in 2D semiconductors: MoSe<sub>2</sub> versus MoS<sub>2</sub>”, *Nano Lett.*, **12(11)**, pp.5576-5580, DOI: 10.1021/nl302584w.
- [15] T.A. Keith (2019), *AIMAll (Version 19.10.12)*, TK Gristmill Software, Overland Park KS, USA.
- [16] G. Frenking, S. Shaik (2014), *The Chemical Bond: Fundamental Aspects of Chemical Bonding*, Wiley, 438pp.
- [17] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, et al. (2010), *Gaussian 09 (Revision B.01)*, Gaussian, Wallingford, CT.
- [18] L.T.T. Quyen, B.N. Tung, P.N. Thach, et al. (2024), “Characteristics of nonconventional hydrogen bonds and stability of dimers of chalcogenoaldehyde derivatives: A noticeable role of oxygen compared to other chalcogens”, *RSC Adv.*, **14**, pp.14114-14125, DOI: 10.1039/D4RA01837K.
- [19] H.T.M. Phuc, N.N. Tri, N.T. Trung (2019), “Theoretical study on adsorption of organic molecules containing benzene ring onto rutile-TiO<sub>2</sub> (110) surface using density functional theory method”, *Quy Nhon University - Journal of Science*, **13(5)**, pp.85-93 (in Vietnamese).
- [20] R.F.W. Bader (1990), *Atoms in Molecules: A Quantum Theory*, Oxford University Press, 456pp.
- [21] C.F. Matta, R.J. Boyd (2007), *The Quantum Theory of Atoms in Molecules: From Solid State to DNA and Drug Design*, Wiley, DOI: 10.1002/9783527610709.
- [22] X. Zhang, L. Yu, X. Wu, et al. (2015), “Experimental sensing and density functional theory study of H<sub>2</sub>S and SOF<sub>2</sub> adsorption on Au-modified graphene”, *Adv. Sci.*, **2(11)**, DOI: 10.1002/advs.201500101.
- [23] H. Cui, P. Jia, X. Peng, et al. (2020), “Adsorption and sensing of CO and C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> by S-defected SnS<sub>2</sub> monolayer for DGA in transformer oil: A DFT study”, *Mater. Chem. Phys.*, **249**, DOI: 10.1016/j.matchemphys.2020.123006.
- [24] H.W. Qing, K.Z. Kourosh, K. Andras, et al. (2012), “Electronics and optoelectronics of two-dimensional transition metal dichalcogenides”, *Nat. Nanotech.*, **7**, pp.699-712, DOI: 10.1038/nnano.2012.193.

# Nghiên cứu các đặc trưng của cảm biến khí $\text{NH}_3$ dựa trên các màng nhạy polypyrrole pha tạp $\text{FeCl}_3$ ở nhiệt độ phòng

Hoàng Thị Hiền<sup>1\*</sup>, Chu Văn Tuấn<sup>1</sup>, Trần Thanh Bình<sup>1,2</sup>, Đỗ Huy Hoàng<sup>3</sup>, Hồ Trường Giang<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên, xã Dân Tiến, huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng nghề Công nghiệp Hà Nội, 131 Thái Thịnh, phường Trung Liệt, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 19 Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>4</sup>Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 13/9/2023; ngày chuyển phản biện 15/9/2023; ngày nhận phản biện 18/10/2023; ngày chấp nhận đăng 23/10/2023

## Tóm tắt:

Các màng polymer dẫn (PPy) được pha tạp  $\text{FeCl}_3$  thu được các hình thái dạng đám hạt nano và tấm mỏng nano mọc trực tiếp trên bề mặt điện cực Pt/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  theo một cách đơn giản bằng cách kết hợp giữa phun phủ và trùng hợp pha hơi. Các đặc trưng hình thái và cấu trúc của màng PPy được phân tích thông qua ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM), phổ tán sắc năng lượng tia X (EDS) và phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR). Kết quả đo nhạy khí cho thấy, tất cả các màng PPy đều đáp ứng tốt với khí  $\text{NH}_3$  ở nhiệt độ phòng và độ đáp ứng cao nhất khoảng 135% được tìm thấy khi tiếp xúc với 400 ppm khí  $\text{NH}_3$  của mẫu màng PPy@30. Các cảm biến PPy chế tạo được không những cho thời gian đáp ứng/hồi phục nhanh, đặc biệt là thời gian đáp ứng chỉ cỡ vài giây mà còn cho độ chọn lọc tốt nhất với khí  $\text{NH}_3$  ở nhiệt độ phòng. Kết quả thu được chứng tỏ rằng, hiệu suất của cảm biến khí  $\text{NH}_3$  ở nhiệt độ phòng bị ảnh hưởng đáng kể bởi pha tạp và hình thái bề mặt của các màng PPy. Ngoài ra, cơ chế nhạy khí của cảm biến dựa trên các màng PPy cũng đã được thảo luận trong nghiên cứu này.

**Từ khóa:** cảm biến khí  $\text{NH}_3$ , nhiệt độ phòng, PPy.

**Chỉ số phân loại:** 1.4, 2.4, 2.5

## Room-temperature fabrication and characterisation of ammonia gas sensors based on $\text{FeCl}_3$ -doped polypyrrole thin films

Thi Hien Hoang<sup>1\*</sup>, Van Tuan Chu<sup>1</sup>, Thanh Binh Tran<sup>1,2</sup>, Huy Hoang Do<sup>3</sup>, Truong Giang Ho<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Hung Yen University of Technology and Education, Dan Tien Commune, Khoai Chau District, Hung Yen Province, Vietnam

<sup>2</sup>Ha Noi Vocational College of Industry, 131 Thai Thinh Street, Trung Liet Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 19 Le Thanh Tong Street, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

<sup>4</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 13 September 2023; revised 18 October 2023; accepted 23 October 2023

## Abstract:

The  $\text{FeCl}_3$ -doped conductive polymer (PPy) films exhibited nanoparticle clusters and nanosheet structures that were grown directly on the surface of the Pt/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  electrodes in a simple way using a combination of spray coating and vapour phase polymerisation. The morphological and structural characteristics of PPy film are analysed through scanning electron microscopy (SEM) images, energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. The results of the gas sensitivity measurement show that all PPy films respond well to  $\text{NH}_3$  gas at room temperature and the highest response of 135% was found when the PPy@30 sample was exposed to 400 ppm  $\text{NH}_3$  gas. The fabricated PPy sensors not only exhibit fast response/recovery times, especially with response times of only a few seconds, but also show excellent selectivity toward  $\text{NH}_3$  gas at room temperature. The obtained results demonstrate that the performance of  $\text{NH}_3$  gas sensors at room temperature is significantly affected by the doping and surface morphology of the PPy films. Additionally, the gas sensing mechanism of the sensor based on PPy films has also been discussed in this study.

**Keywords:**  $\text{NH}_3$  gas sensor, PPy, room temperature.

**Classification numbers:** 1.4, 2.4, 2.5

\*Tác giả liên hệ: Email: hoanghien499@gmail.com



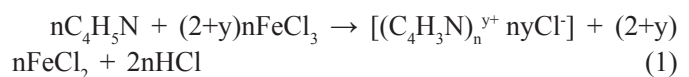
## 1. Đặt vấn đề

Ô nhiễm không khí là một trong những vấn đề chính đối với sự phát triển của xã hội ngày nay. Việc phát hiện các khí độc gây ô nhiễm môi trường như  $\text{NO}_x$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{NH}_3$ ... là rất cần thiết [1]. Trong số đó,  $\text{NH}_3$  là một khí rất dễ thoát ra ngoài và khuếch tán mạnh trong không khí, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe con người và động vật. Sau khi hít phải một lượng lớn  $\text{NH}_3$  trong thời gian ngắn, người ta có thể bị chảy nước mắt, đau họng, khàn giọng, ho, khó thở, chóng mặt, nhức đầu, buồn nôn... Thậm chí, gây tổn thương đến nhiều bộ phận như phổi, gan, thận, tim [2, 3]. Giới hạn phơi nhiễm cho phép đối với con người là 25 ppm trong 8 giờ [4]. Đối với các vật nuôi như gia súc, gia cầm khi tiếp xúc với  $\text{NH}_3$  trong thời gian dài, ngoài việc gây tổn thương đến các bộ phận (mắt, mũi, họng) còn ảnh hưởng tiêu cực đến sự tăng trưởng, chức năng sinh lý và khả năng miễn dịch [5]. Một ví dụ điển hình là con lợn khi bị tiếp xúc với 100 ppm  $\text{NH}_3$  trong 4 đến 5 tuần sẽ bị giảm tăng trọng và khả năng tiêu thụ thức ăn được [6]. Tuy nhiên, khí  $\text{NH}_3$  lại được ứng dụng rất nhiều trong các ngành công nghiệp. Vì vậy, việc giám sát khí  $\text{NH}_3$  trong môi trường dựa trên các cảm biến khí là điều rất quan trọng. Trong lĩnh vực cảm biến khí, các vật liệu polymer dẫn thu hút sự quan tâm của rất nhiều nhà khoa học trên toàn thế giới trong hai thập niên gần đây, bởi các tính chất hóa lý phong phú, linh hoạt trong chế tạo cấu trúc linh kiện, giá thành rẻ, bền, thân thiện với môi trường và có ưu điểm rất lớn là hoạt động được ở nhiệt độ phòng [7, 8]. Trong đó, PPy là một trong số những polymer dẫn được nghiên cứu rất phổ biến cho cảm biến khí  $\text{NH}_3$  ở nhiệt độ phòng [9]. Hình thái bề mặt của các lớp màng polymer dẫn có cấu trúc nano được xem là một trong những yếu tố then chốt ảnh hưởng lớn đến hiệu suất của cảm biến khí [10, 11]. Trong thời gian gần đây, các màng polymer có cấu trúc nano với diện tích bề mặt riêng lớn, bao gồm các dạng như hạt nano, sợi nano và tấm nano đã thu hút sự quan tâm đáng kể trong nhiều nghiên cứu khoa học. Y.J. Hong và cs (2010) [12] đã chỉ ra những hạt nano PPy cho độ đáp ứng cỡ 1,12 khi tiếp xúc với 200 ppm khí  $\text{NH}_3$ . Bên cạnh đó, một số cấu trúc khác của PPy như ống nano cho độ đáp ứng là 1,11 ứng với nồng độ 100 ppm khí  $\text{NH}_3$  [13], sợi nano cho độ đáp ứng là 1,53 với 150 ppm khí  $\text{NH}_3$  [14] và đám dây nano có độ đáp ứng là 1,26 ứng với 77 ppm khí  $\text{NH}_3$  [15]. Ngoài ra, độ đáp ứng của các cảm biến khí  $\text{NH}_3$  ngày càng được cải thiện thông qua kỹ thuật pha tạp bằng phương pháp điện hóa hoặc oxy hóa hóa học để làm thay đổi độ dẫn của các lớp màng PPy. Gần đây, A. Jain và cs (2023) [16] đã sử dụng  $\text{FeCl}_3$  đóng vai trò là chất pha tạp rất tốt cho quá trình tổng hợp các màng PPy để phát hiện khí  $\text{NH}_3$  ở nhiệt độ phòng.

Tuy nhiên, những nghiên cứu trên chủ yếu tập trung vào từng hình thái riêng lẻ mà chưa có hệ thống và độ đáp ứng vẫn còn ở mức thấp. Do đó, trong nghiên cứu này nhóm tác giả tập trung vào việc chế tạo ra các màng PPy có cấu trúc nano với các hình thái bề mặt khác nhau (đám hạt nano, tấm nano), chứa nồng độ pha tạp khác nhau, góp phần cải thiện độ đáp ứng cho cảm biến khí  $\text{NH}_3$  ở nhiệt độ phòng.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, các hóa chất được sử dụng cho tổng hợp màng PPy bao gồm: monome pyrrole (Merck, có độ tinh khiết cao >99%); muối sắt (III) clorua ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) và ethanol đều xuất xứ từ Trung Quốc. Điện cực Pt/ $\text{Al}_2\text{O}_3$  (từ Hãng AdValue Technology - Mỹ) có kích thước đế là 6,3x6,3x0,25 mm cùng với 2 dây Pt như mô tả chi tiết ở trong tài liệu [17]. Điện cực được làm sạch bằng cồn và nước cất hai lần trước khi đem sử dụng. Dung dịch muối  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  có nồng độ 0,02 M được pha như mô tả trong tài liệu [17]. Sau đó, các đế  $\text{Al}_2\text{O}_3$  được phủ một lớp mỏng  $\text{FeCl}_3$  lên trên bề mặt bằng kỹ thuật phun phủ dựa trên thiết bị Electrospraying - NTEC, với điện thế sử dụng là 13 kV, lưu lượng phun là 0,2 ml/giờ, thời gian phun thay đổi 30, 50 và 100 phút. Các đế  $\text{Al}_2\text{O}_3$  sau khi được phun phủ  $\text{FeCl}_3$  với thời gian khác nhau, được tiến hành polymer hóa đồng thời trong một buồng kín có chứa một nguồn monome pyrrole. Quá trình polyme hóa được thực hiện trong thời gian 60 phút, ở nhiệt độ 5°C và áp suất khí quyển. Phương trình phản ứng tổng hợp màng polypyrrole xảy ra như sau:



Sản phẩm thu được đem rửa sạch, sấy khô và gọi tên theo thời gian phun phủ lần lượt là PPy@30, PPy@50 và PPy@100.

Đặc trưng nhạy khí của cảm biến được khảo sát bằng điện trở đáp ứng thông qua thiết bị Keithley, model 2700 với các nồng độ khí  $\text{NH}_3$  khác nhau (100, 200 và 400 ppm) trong môi trường khí mang là không khí khô (80%  $\text{N}_2$  + 20%  $\text{O}_2$ ) ở nhiệt độ phòng theo phương pháp thổi trộn tự động. Độ đáp ứng của cảm biến khí được tính toán theo công thức:

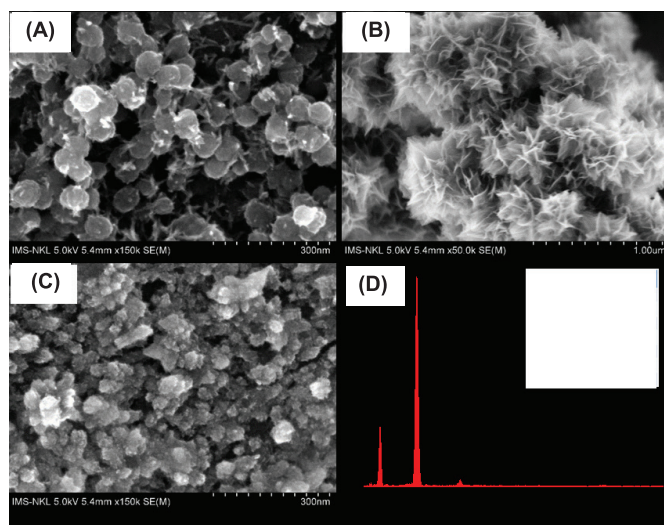
$$S = \frac{R_{\text{gas}} - R_{\text{air}}}{R_{\text{air}}} \cdot 100\% \quad (2)$$

trong đó:  $R_{\text{gas}}$ ,  $R_{\text{air}}$  lần lượt là điện trở trong môi trường khí cần đo và trong không khí.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Hình thái và cấu trúc của các màng PPy

Hình 1A-C là ảnh SEM bề mặt của các mẫu màng PPy được tổng hợp với 0,02 M  $\text{FeCl}_3$  theo thời gian phun phủ khác nhau (30, 50 và 100 phút). Quan sát thấy, khi được phun phủ trong thời gian 30 phút, mẫu màng PPy thu được là những đám hạt khá đồng đều và có đường kính khá nhỏ (hình 1A) được ước lượng trung bình cỡ 50 nm. Điều này góp phần làm tăng diện tích bề mặt riêng của màng, sẽ rất thuận lợi cho quá trình tương tác khí trên bề mặt.

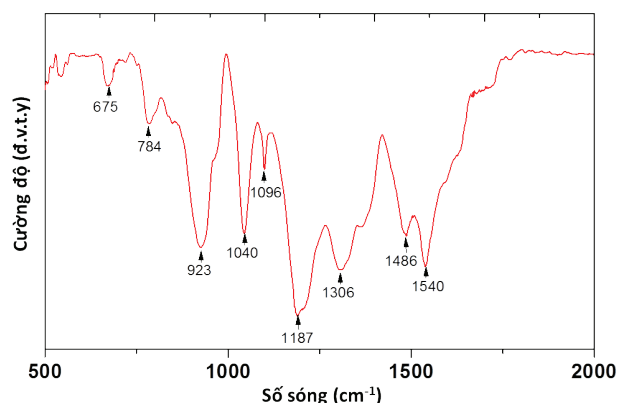


Hình 1. Ảnh kính hiển vi điện tử quét của các mẫu màng. (A) PPy@30, (B) PPy@50, (C) PPy@100, (D) Phổ tán sắc năng lượng của mẫu PPy@30.

Tăng thời gian phun phủ lên 50 phút, màng PPy quan sát được là các tấm mỏng được sắp xếp một cách ngẫu nhiên (hình 1B). Khi tiếp tục tăng thời gian phun phủ lên tới 100 phút thì màng PPy nhận được như ở hình 1C, là những cụm đám hạt xếp chặt chẽ với nhau.

Thành phần các nguyên tố trong mẫu màng PPy tổng hợp được phân tích thông qua EDS cho một mẫu điển hình PPy@30 như trên hình 1D. EDS của màng PPy chỉ ra các đỉnh đặc trưng cho các nguyên tố C, N, Cl, Fe, Al và O. Trong đó, C, N, Fe và Cl là những nguyên tố của màng PPy, còn Al và O là những nguyên tố thể hiện cho đế  $Al_2O_3$ .

Các nhóm liên kết đặc trưng cho màng PPy đã tổng hợp được nghiên cứu dựa trên phổ FTIR (hình 2) với phạm vi dải sóng khảo sát từ 500 đến 2000  $cm^{-1}$  cho mẫu PPy@30. Tất cả các dao động của các nhóm liên kết đặc trưng cho cấu trúc của màng PPy đều xuất hiện. Cụ thể: các đỉnh ở vị trí 1540 và 1486  $cm^{-1}$  được cho là các liên kết kéo căng C=C và C-C trong các chuỗi chính của PPy [18].

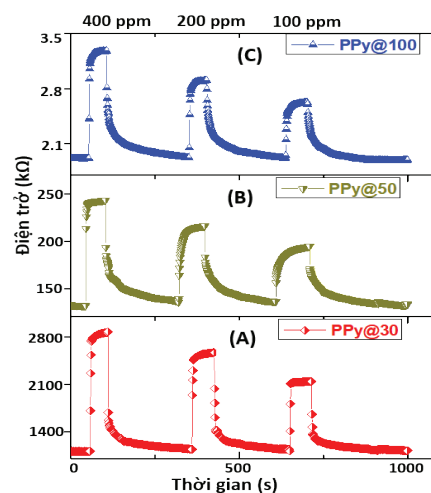


Hình 2. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của mẫu màng PPy@30.

Đáng chú ý, đỉnh ở xung quanh vị trí 1096  $cm^{-1}$  được quy cho dao động uốn cong trong mặt phẳng của các nhóm bất nguồn từ chuỗi PPy được proton hóa [19], điều đó cho thấy sự tồn tại của các trạng thái polaron trong màng PPy được tổng hợp cũng như các proton xảy ra ở các nguyên tử nitơ trong các vòng pyrrole. Các đỉnh ở vị trí số sóng cỡ 1040 và 923  $cm^{-1}$  lần lượt đặc trưng cho các dao động C-H bên trong mặt phẳng và các dao động C-H bên ngoài mặt phẳng. Các dao động rung lắc được tìm thấy ở số sóng 784  $cm^{-1}$  và các đỉnh ở 1306 và 1187  $cm^{-1}$  thể hiện cho các dao động kéo căng của liên kết C-N [20]. Sự xuất hiện của đỉnh 675  $cm^{-1}$  được gán cho các dao động của  $Fe^{2+}$  hoặc C-H [21]. Điều này gợi ý rằng, sự khử  $Fe^{3+}$  thành  $Fe^{2+}$  đã xảy ra trong quá trình oxy hóa các monome pyrrole bằng trùng hợp pha hơi và sau đó tạo ra các trạng thái pha tạp. Như vậy, các màng PPy đã được tổng hợp thành công với sự pha tạp của Fe và Cl vào trong màng.

### 3.2. Đặc trưng nhạy khí $NH_3$ ở nhiệt độ phòng

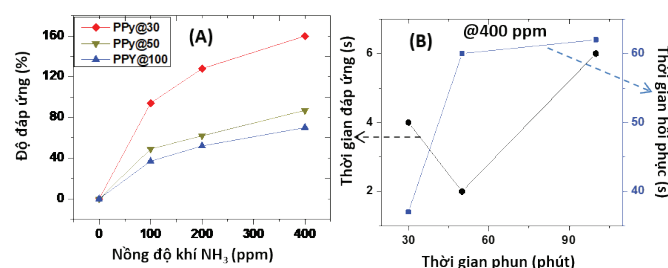
Ở nhiệt độ phòng, lớp phủ  $FeCl_3$  trên bề mặt đế  $Al_2O_3$  khi được tiếp xúc với khí  $NH_3$  không có sự thay đổi điện trở. Kiểm tra đặc trưng  $I-V$  cho tất cả các lớp màng PPy tổng hợp được đều cho đặc tuyến của tiếp xúc Ohmic. Hình 3 là điện trở đáp ứng theo thời gian của các mẫu PPy@30, PPy@50 và PPy@100 khi tiếp xúc với các nồng độ khí  $NH_3$  ở 400, 200 và 100 ppm trong môi trường khí mang là không khí khô, tại nhiệt độ phòng. Các kết quả chỉ ra rằng, điện trở ban đầu của các mẫu giảm theo sự tăng thời gian phun phủ từ 30 đến 100 phút, nghĩa là tính dẫn điện của các màng PPy tăng. Điều này gợi ý rằng, nồng độ pha tạp vào trong các lớp màng PPy tăng theo sự tăng của thời gian phun phủ. Mặt khác, các lớp màng PPy đều cho đáp ứng thuận nghịch với khí  $NH_3$ , cụ thể là điện trở đáp ứng tăng khi có mặt khí  $NH_3$  và trở lại trạng thái ban đầu khi ngắt khí  $NH_3$ . Hơn nữa, khí  $NH_3$  lại là khí khử, vì vậy PPy là bán dẫn loại p.



Hình 3. Điện trở đáp ứng theo thời gian của các mẫu. (A) PPy@30, (B) PPy@50 và (C) PPy@100 khi tiếp xúc với các nồng độ khí  $NH_3$  khác nhau 100, 200 và 400 ppm.

Độ đáp ứng của các mẫu PPy@30, PPy@50 và PPy@100 theo các nồng độ 100, 200 và 400 ppm khí NH<sub>3</sub> được chỉ ra trong hình 4A. Có thể thấy rằng, khi nồng độ khí NH<sub>3</sub> tăng từ 100 đến 400 ppm thì độ đáp ứng của tất cả các mẫu đều tăng, cụ thể là mẫu PPy@30 tăng từ 94-160%; PPy@50 tăng từ 49-87; PPy@100 tăng từ hồng ngoại biến đổi Fourier 37-70%. Trong đó, mẫu PPy@30 cho độ đáp ứng với khí NH<sub>3</sub> vượt trội hơn các mẫu khác ở tất cả các nồng độ được khảo sát và độ đáp ứng cao nhất đạt được khoảng 160% khi tiếp xúc với 400 ppm khí NH<sub>3</sub>.

Thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục của các mẫu PPy@30, PPy@50 và PPy@100 khi tiếp xúc với 400 ppm khí NH<sub>3</sub> được chỉ ra trên hình 4B. Có thể thấy, các cảm biến khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng dựa trên các lớp màng PPy đều cho thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục khá tốt. Trong đó, thời gian đáp ứng của tất cả các mẫu màng PPy là rất nhanh và dao động trong khoảng từ 2 đến 6 giây; thời gian hồi phục tăng từ 37 đến 62 giây khi tăng thời gian phun phủ từ 30 đến 100 phút và mẫu PPy@30 cho thời gian hồi phục tốt nhất khoảng 37 giây.



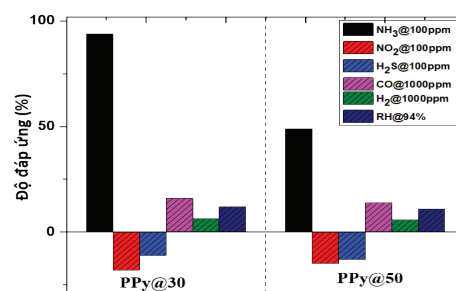
**Hình 4. Độ đáp ứng (A) của các mẫu PPy@30; PPy@50; PPy@100 theo các nồng độ khí NH<sub>3</sub> khác nhau: 100, 200 và 400 ppm. Thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục (B) của các mẫu PPy@30, PPy@50, PPy@100 khi tiếp xúc với 400 ppm khí NH<sub>3</sub>.**

Các thông số đặc trưng cho cảm biến khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng trong nghiên cứu này được so sánh với những công bố quốc tế (bảng 1). Từ bảng tổng hợp cho thấy, các tham số về đặc trưng nhạy khí của màng PPy ở trong nghiên cứu này là khá tốt (độ đáp ứng cao, thời gian đáp ứng và hồi phục ngắn) so với kết quả công bố gần đây. Điều này cho thấy, những lớp màng PPy cấu trúc dạng đám hạt nano thưa và tấm nano là những vật liệu hứa hẹn nhiều tiềm năng cho ứng dụng phát hiện khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng.

**Bảng 1. Tổng hợp các đặc trưng nhạy khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng dựa trên các màng PPy có hình thái khác nhau.**

| Hình thái của màng PPy | Nồng độ khí (ppm) | Độ đáp ứng |                              | Thời gian đáp ứng (giây) | Thời gian hồi phục (giây) | Tài liệu tham khảo |
|------------------------|-------------------|------------|------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------|
|                        |                   | $R_s/R_a$  | $100 \times (R_s - R_a)/R_a$ |                          |                           |                    |
| Hạt nano               | 200               | 1,12       | 12                           | 1                        | -                         | [12]               |
| Dây nano               | 300               | 1,25       | 25                           | 900                      | -                         | [9]                |
| Sợi nano               | 150               | 1,53       | 53                           | 15                       | -                         | [14]               |
| Hạt nano               | 100-400           | 1,94-2,60  | 94-160                       | 4 (400 ppm)              | 37 (400 ppm)              | Nghiên cứu này     |
| Tấm nano               | 100-400           | 1,49-1,87  | 49-87                        | 2 (400 ppm)              | 60 (400 ppm)              |                    |

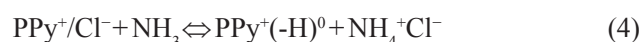
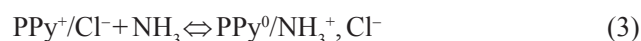
Độ chọn lọc của cảm biến dựa trên lớp màng PPy được xem xét thông qua độ đáp ứng của mẫu với lần lượt các khí NH<sub>3</sub>@100 ppm; NO<sub>2</sub>@100 ppm; H<sub>2</sub>S@100 ppm; H<sub>2</sub>@1000 ppm; CO@1000 ppm và độ ẩm RH@94% ở nhiệt độ phòng (hình 5). Kết quả cho thấy, cả hai mẫu PPy@30 và PPy@50 đều cho độ đáp ứng cao nhất với khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng. Tuy nhiên, mẫu dạng đám hạt nano thưa (PPy@30) cho độ chọn lọc với khí NH<sub>3</sub> tốt hơn nhiều so với mẫu dạng tấm nano (PPy@50) ở cùng điều kiện khảo sát như nhau.



**Hình 5. Độ đáp ứng của các mẫu PPy@30 và PPy@50 với các loại khí khác nhau NH<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>, CO và độ ẩm.**

### 3.3. Cơ chế nhạy khí

Về cơ chế nhạy khí, các cảm biến màng PPy do đóng góp của pha tạp Cl<sup>-</sup> có thể xem như là bán dẫn loại *p* khi tương tác với các khí oxy hóa/khử. Vì vậy, khi tương tác với khí khử NH<sub>3</sub> thì PPy có thể nhận điện tử từ phân tử khí NH<sub>3</sub>, điều này làm trung hòa tâm tạp (Cl<sup>-</sup>) hay là giảm tâm tạp như ở phương trình (3). Một cơ chế khác có thể liên quan bởi sự dịch chuyển proton (H<sup>+</sup>) giữa PPy và NH<sub>3</sub> thông qua anion NH<sub>4</sub><sup>+</sup> và tâm tạp (Cl<sup>-</sup>), như được chỉ ra trong phương trình (4). Cơ chế nhạy khí của mẫu PPy có thể được mô tả theo như tài liệu [18].



Vì vậy, độ dẫn điện của mẫu PPy bị giảm (hay điện trở tăng) khi tương tác với khí khử NH<sub>3</sub> và sẽ tăng đối với khí oxy hóa như NO<sub>2</sub>. Hơn nữa, mẫu màng PPy@30 có cấu trúc đám hạt nano phân bố thưa sẽ có diện tích bề mặt riêng lớn, điều này mang lại nhiều vị trí tương tác khí và độ dẫn điện phù hợp, dẫn đến độ nhạy khí của màng cao vượt bậc so với các mẫu dạng tấm nano và đám hạt nano phân bố chặt. Đồng thời, diện tích bề mặt riêng lớn làm cho khí dễ dàng khuếch tán và giải phóng nhanh trong quá trình hồi phục, do đó thời gian hồi phục của mẫu PPy@30 là tốt nhất.

### 4. Kết luận

Màng nhạy khí dựa trên vật liệu PPy đã được tổng hợp thành công bằng việc sử dụng muối FeCl<sub>3</sub>, vừa đóng vai trò là chất oxy hóa, vừa đóng vai trò là chất pha tạp, để thu được các hình thái dạng đám hạt nano và tấm nano. Tất cả các mẫu đều cho độ đáp ứng tốt với khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng, trong



đó mẫu dạng đám hạt (PPy@30) với độ dẫn điện phù hợp và diện tích bề mặt riêng lớn cho độ đáp ứng tốt nhất; thời gian đáp ứng ngắn dao động từ 2 đến 6 giây và thời gian hồi phục nhanh từ 37 đến 62 giây. Ngoài ra, các mẫu màng PPy tổng hợp được đều cho độ chọn lọc tốt với khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng. Kết quả thu được chứng minh rằng, thời gian phun phủ đã ảnh hưởng đến hình thái bề mặt và nồng độ pha tạp vào trong các lớp màng PPy và tính chất này đóng góp nhiều vào các đặc trưng nhạy khí NH<sub>3</sub> ở nhiệt độ phòng.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi đề tài khoa học và công nghệ mã số UTEHY.L.2023.21. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Verma, R. Gupta, A.S. Verma, et al. (2023), “A review of composite conducting polymer-based sensors for detection of industrial waste gases”, *Sensors and Actuators Reports*, **5**, pp.100143-100166, DOI: 10.1016/j.snr.2023.100143.
- [2] M. Neghab, A. Mirzaei, F.K. Shouroki, et al. (2018), “Ventilatory disorders associated with occupational inhalation exposure to nitrogen trihydride (ammonia)”, *Ind. Health*, **56(5)**, pp.427-435, DOI: 10.2486/indhealth.2018-0014.
- [3] S. Redant, X. Beretta-Piccoli, A. Mugisha, et al. (2019), “Hyperammonemia, the last indication of high-volume hemodiafiltration in adult and children: A structured review”, *Blood Purif.*, **48(4)**, pp.330-335, DOI: 10.1159/000501390.
- [4] B. Yeole, T. Sen, D. Hansora, et al. (2016), “Polypyrrole/metal sulphide hybrid nanocomposites: Synthesis, characterization and room temperature gas sensing properties”, *Materials Research*, **19(5)**, pp.999-1007, DOI: 10.1590/1980-5373-mr-2015-0502.
- [5] Q. Shi, W. Wang, M. Chen, et al. (2019), “Ammonia induces treg/Th1 imbalance with triggered NF-κB pathway leading to chicken respiratory inflammation response”, *Sci. Total Environ.*, **659**, pp.354-362, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.375.
- [6] Z. Cheng, E.A.O. Connor, Q. Jia, et al. (2014), “Chronic ammonia exposure does not influence hepatic gene expression in growing pigs”, *Animal*, **8(2)**, pp.331-337, DOI: 10.1017/S1751731113002127.
- [7] L. Hao, C. Dong, L. Zhang, et al. (2022), “Polypyrrole nanomaterials: Structure, preparation and application”, *Polymers*, **14(23)**, pp.5139-5167, DOI: 10.3390/polym14235139.
- [8] X. Liu, W. Zheng, R. Kumar, et al. (2022), “Conducting polymer-based nanostructures for gas sensors”, *Coordination Chemistry Reviews*, **462**, DOI: 10.1016/j.ccr.2022.214517.
- [9] S.C. Hernandez, D. Chaudhuri, W. Chen, et al. (2007), “Single polypyrrole nanowire ammonia gas sensor”, *Electroanalysis*, **19(19-20)**, pp.2125-2130, DOI: 10.1002/elan.200703933.
- [10] H.T. Hien, C.V. Tuan, D.T.A. Thu, et al. (2019), “Influence of surface morphology and doping of PPy film simultaneously polymerized by vapour phase oxidation on gas sensing”, *Synthetic Metals*, **250**, pp.35-41, DOI: 10.1016/j.synthmet.2019.02.013.
- [11] Y. Harima, X. Jiang, R. Patil, et al. (2007), “Influence of film structure on mobilities of charge carriers in conducting polymers”, *Electrochimica Acta.*, **52(28)**, pp.8088-8095, DOI: 10.1016/j.electacta.2007.07.007.
- [12] J.Y. Hong, H.Y. Nand, J. Jang (2010), “Kinetic study of the formation of polypyrrole nanoparticles in water-soluble polymer/metal cation systems: A light-scattering analysis”, *Small*, **6(5)**, pp.679-686, DOI: 10.1002/sml.200902231.
- [13] H. Yoon, M. Chang, J. Jang (2006), “Sensing behaviors of polypyrrole nanotubes prepared in reverse microemulsions: Effects of transducer size and transduction mechanism”, *The Journal of Physical Chemistry B*, **110(29)**, pp.14074-14077, DOI: 10.1021/jp061423b.
- [14] X. Yang, L. Li (2010), “Polypyrrole nanofibers synthesized via reactive template approach and their NH<sub>3</sub> gas sensitivity”, *Synthetic Metals*, **160(11)**, pp.1365-1367, DOI: 10.1016/j.synthmet.2010.04.015.
- [15] L. Zhang, F. Meng, Y. Chen, et al. (2009), “A novel ammonia sensor based on high density, small diameter polypyrrole nanowire arrays”, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **142(1)**, pp.204-209, DOI: 10.1016/j.snb.2009.07.042.
- [16] A. Jain, A.N. Nabeel, S. Bhagwat, et al. (2023), “Fabrication of polypyrrole gas sensor for detection of NH<sub>3</sub> using an oxidizing agent and pyrrole combinations: Studies and characterizations”, *Heliyon*, **9(7)**, pp.17611-17621, DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e17611.
- [17] K. Nguyen, B. Trung, C. Tuan, et al. (2023), “Ammonia gas-sensing behavior of uniform nanostructured PPy film prepared by simple-straightforward in situ chemical vapor oxidation”, *Open Physics*, **21**, pp.232-245, DOI: 10.1515/phys-2022-0232.
- [18] M. Setka, J. Drbohlavova, J. Hubalek (2017), “Nanostructured polypyrrole-based ammonia and volatile organic compound sensors”, *Sensors* **17(3)**, pp.562-590, DOI: 10.3390/s17030562.
- [19] M.T. Ramesan, V. Santhi (2017), “In situ synthesis, characterization, conductivity studies of polypyrrole/silver doped zinc oxide nanocomposites and their application for ammonia gas sensing”, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, **28(24)**, pp.18804-18814, DOI: 10.1007/s10854-017-7830-5.
- [20] S. Kanaparthi, S.G. Singh (2019), “Solvent-free fabrication of a room temperature ammonia gas sensor by frictional deposition of a conducting polymer on paper”, *Organic Electronics*, **68**, pp.108-112, DOI: 10.1016/j.orgel.2019.01.053.
- [21] P. Gemeiner, J. Kuliček, M. Mikula, et al. (2015), “Polypyrrole-coated multi-walled carbon nanotubes for the simple preparation of counter electrodes in dye-sensitized solar cells”, *Synthetic Metals*, **210**, pp.323-331, DOI: 10.1016/j.synthmet.2015.10.020.

# Nano bạc nâng cao hiệu quả tái sinh chồi từ mẫu cấy cánh hoa Thu hải đường (*Begonia × tuberhybrida* Voss) thông qua con đường tổng hợp carbohydrate

Hoàng Đắc Khải<sup>1</sup>, Nguyễn Viết Hưng<sup>1</sup>, Hoàng Thanh Tùng<sup>2</sup>, Vũ Quốc Luận<sup>1</sup>, Đỗ Mạnh Cường<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Như Mai<sup>1</sup>, Hoàng Thị Như Phương<sup>2</sup>, Đoàn Văn Thu<sup>1</sup>, Đỗ Thanh Tuấn<sup>1</sup>, Dương Tấn Nhựt<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Khoa học Sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 9/621 Võ Nguyên Giáp, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

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

Ngày nhận bài 20/3/2022; ngày chuyển phản biện 23/3/2022; ngày nhận phản biện 11/4/2022; ngày chấp nhận đăng 19/4/2022

## Tóm tắt:

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hóa hiệu quả tái sinh chồi từ mẫu cấy cánh hoa Thu hải đường trên môi trường bổ sung nano bạc (AgNPs). Kết quả cho thấy, các mẫu cánh hoa được nuôi cấy trên môi trường bổ sung 0,8 mg/l Thidiazuron (TDZ) cho hiệu quả tái sinh chồi cao hơn đáng kể so với các loại cytokinin khác được sử dụng. Trong khi đó, bổ sung 1,5 mg/l AgNPs kết hợp 0,8 mg/l TDZ đã gia tăng số lượng chồi tái sinh cao gấp 1,67 lần so với đối chứng không bổ sung AgNPs. Sự hiện diện của 1,5 mg/l AgNPs trong môi trường nuôi cấy đã kích thích gia tăng sinh khối tươi và khô của cụm chồi (421,49 và 24,73 mg, tương ứng) cao hơn đáng kể so với nghiệm thức đối chứng (241,92 và 12,49 mg, tương ứng). Phân tích hàm lượng carbohydrate trong mẫu cấy bằng UV-Vis cho thấy, trong hầu hết các giai đoạn tái sinh *in vitro* cây Thu hải đường, AgNPs đã kích thích gia tăng sự tích lũy tinh bột (ngày 5, 10, 20 và 25) và đường (ngày 15, 20 và 25) trong mẫu cấy. Các kết quả hiện tại chỉ ra rằng, AgNPs thúc đẩy quá trình tích lũy tinh bột và chuyển hóa thành đường trong mẫu cấy cánh hoa cây Thu hải đường, tạo ra nguồn năng lượng cần thiết cho quá trình tái sinh chồi *in vitro*.

**Từ khóa:** nano bạc, Thu hải đường, tinh bột, vi nhân giống.

**Chỉ số phân loại:** 1.4, 4.6

## Silver nanoparticles enhanced shoot regeneration from *Begonia × tuberhybrida* Voss petal explants via carbohydrate synthesis pathway

Đắc Khải Hoàng<sup>1</sup>, Việt Hưng Nguyễn<sup>1</sup>, Thanh Tùng Hoàng<sup>2</sup>, Quốc Luận Vũ<sup>1</sup>, Mạnh Cường Đỗ<sup>1</sup>, Thị Như Mai Nguyễn<sup>1</sup>, Thị Như Phương Hoàng<sup>2</sup>, Văn Thu Đoàn<sup>1</sup>, Thanh Tuấn Đỗ<sup>1</sup>, Tấn Nhựt Dương<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute 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

<sup>2</sup>Dalat University, 1 Phu Dong Thien Vuong Street, Ward 8, Da Lat City, Lam Dong Province, Vietnam

Received 20 March 2022; revised 11 April 2022; accepted 19 April 2022

## Abstract:

This study was carried out to optimise the shoot regeneration efficiency from *Begonia × tuberhybrida* Voss petals on medium supplemented with silver nanoparticles (AgNPs). The results showed that the petal explants cultured on the medium supplemented with 0.8 mg/l Thidiazuron (TDZ) had significantly higher bud regeneration efficiency than other cytokinins investigated. Meanwhile, the addition of 1.5 mg/l AgNPs combined with 0.8 mg/l TDZ increased the number of regenerated shoots 1.67-fold higher than the control without adding AgNPs. The presence of 1.5 mg/l AgNPs in the culture medium stimulated a significantly higher increase in the fresh and dry biomass of shoot clusters (421.49 and 24.73 mg, respectively) compared to the control (241.92 and 12.49 mg, respectively). Analysis of the carbohydrate content in explants by UV-Vis showed that during most of the *in vitro* regeneration stages, AgNPs stimulated the accumulation of starch (days 5, 10, 20 and 25) and sugars (days 15, 20 and 25) in the explants. The present results indicate that AgNPs promote starch accumulation and conversion to sugar in *Begonia × tuberhybrida* Voss petal explants, which provide the necessary energy source for *in vitro* shoot regeneration.

**Keywords:** *Begonia × tuberhybrida* Voss, micropropagation, silver nanoparticles, starch.

**Classification numbers:** 1.4, 4.6

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

## 1. Đặt vấn đề

Thu hải đường (*Begonia*) là một trong những chi thực vật đa dạng nhất trong giới thực vật [1, 2]. Hiện nay, hơn 1800 loài đã được công nhận và theo dự đoán, tổng số loài thực sự trên thế giới có thể lên đến 2500 loài [2]. Dựa trên sự đa dạng về màu sắc, hình dáng và kích thước của hoa và lá, nhiều loài Thu hải đường từ lâu đã được nhân trồng rộng rãi như một loại hoa chậu cảnh mang lại giá trị kinh tế cao. Cho đến nay, nuôi cấy thực vật *in vitro* đã trở thành phương thức nhân giống chủ đạo trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau nhằm tạo ra các cây giống sạch bệnh có chất lượng đồng đều với hệ số nhân giống lớn trong thời gian ngắn [3]. Trong vi nhân giống cây Thu hải đường, các nguồn mẫu cấy ban đầu thường được sử dụng như lá [4, 5], cuống lá [5-7], thân [6, 8], phát hoa [9, 10] hay cuống hoa [11, 12]. Tuy nhiên, nguồn mẫu cấy cánh hoa vẫn chưa được nghiên cứu nhiều, trong khi cánh hoa là nguồn mẫu cấy có nhiều ưu điểm như là số lượng nhiều, không làm tổn hại cây mẹ khi thu mẫu [13]. Nghiên cứu đầu tiên nuôi cấy thành công cánh hoa Thu hải đường được thực hiện bởi F.M. Velasco và cs (2018) [13]; tuy nhiên, hiệu quả tái sinh của quy trình chỉ đạt mức trung bình. Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần được thực hiện để nâng cao tần số tái sinh từ mẫu cấy cánh hoa Thu hải đường.

Những năm gần đây, AgNPs đã được sử dụng trong nuôi cấy *in vitro* để làm chất khử trùng bề mặt mẫu cấy [6, 14-18]; ngoài ra, AgNPs cũng được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để tăng hiệu quả tái sinh *in vitro* trên các đối tượng cây trồng khác nhau như hoa Đồng tiền [19], Trầu tiên [20]; lan Hồ điệp [21]; Dâu tây [22]; sâm Ngọc Linh [23]. Các nghiên cứu cho thấy rằng, bổ sung AgNPs vào môi trường nuôi cấy ở nồng độ thích hợp đã giúp tăng hiệu quả tái sinh. Tuy nhiên, ảnh hưởng của AgNPs lên sự thay đổi hàm lượng carbohydrate trong mẫu cấy thực vật chưa được nghiên cứu trước đây, mặc dù carbohydrate tổng hợp trong mẫu cấy liên quan trực tiếp đến hiệu quả tái sinh *in vitro* [7]. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tác động của AgNPs trong môi trường nuôi cấy lên hiệu quả tái sinh chồi và sự thay đổi về hàm lượng carbohydrate trong mẫu cấy cánh hoa trong suốt giai đoạn tái sinh *in vitro* cây Thu hải đường.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu thực vật

Nguồn mẫu được sử dụng trong các thí nghiệm là các cánh hoa tầng thứ 2 (tính từ ngoài vào, đường kính 3 cm) được thu nhận từ hoa cây Thu hải đường 4 tháng tuổi được trồng tại vườn ươm Phòng Sinh học Phân tử và Chọn tạo giống cây trồng, Viện Khoa học Sự sống.

### 2.2. Dung dịch nano bạc (AgNPs)

Dung dịch nano bạc (AgNPs) nồng độ 500 ppm với các hạt có kích thước trung bình  $\leq 20$  nm do Viện Công nghệ Môi trường tổng hợp theo phương pháp của H.N. Chau và cs (2008) [24] được sử dụng trong các thí nghiệm có liên quan.

### 2.3. Môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy sử dụng trong nghiên cứu này là môi trường MS cơ bản bổ sung 8 g/l agar, 30 g/l sucrose, pH 5,8. Các chất điều hòa sinh trưởng thực vật và AgNPs với các nồng độ khác nhau được bổ sung vào môi trường tùy theo mục đích từng thí nghiệm. Môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1 atm trong thời gian 30 phút.

### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

**Khử trùng bề mặt mẫu cấy:** Cánh hoa Thu hải đường đã thu nhận được rửa bằng dung dịch tẩy rửa Sunlight (Unilever, Việt Nam) và rửa dưới vòi nước chảy trong 20 phút, ngâm với cồn 70° trong 30 giây, rửa lại bằng nước vô trùng 4 lần. Sau đó, các mẫu tiếp tục được khử trùng bằng dung dịch 40 g/l  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  trong thời gian 15 phút [13]. Cuối cùng, các cánh hoa được rửa sạch lại bằng nước cất vô trùng 4 lần để sử dụng cho các thí nghiệm.

**Phương pháp nhuộm màu tinh bột:** Mẫu cấy cánh hoa Thu hải đường ở giai đoạn 0 và 5 ngày nuôi cấy được rửa sạch bằng nước cất, cắt thành lát mỏng (30-40  $\mu\text{m}$ ) và đặt lên lam kính đã có sẵn một giọt nước. Tiếp theo, mẫu được nhuộm bằng dung dịch kali-iodua trong 5 phút; cuối cùng, mẫu được rửa sạch lại bằng nước cất và quan sát dưới kính hiển vi quang học (Leica, Mỹ) [8].

**Ảnh hưởng của cytokinin lên hiệu quả tái sinh chồi *in vitro*:** Các cánh hoa cây Thu hải đường được cấy trên môi trường MS có bổ sung cytokinin (CK) riêng lẻ ở các nồng độ khác nhau gồm 6-Benzyladenine - BA (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mg/l), Kinetin - KIN (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mg/l) hoặc Thidiazuron - TDZ (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/l), đối chứng là môi trường MS không bổ sung CK. Các chỉ tiêu theo dõi gồm tỷ lệ tái sinh chồi (%), số chồi/mẫu, khối lượng tươi và khô của cụm chồi (mg) được ghi nhận sau 60 ngày nuôi cấy.

**Ảnh hưởng của nano bạc lên hiệu quả tái sinh chồi *in vitro*:** Các cánh hoa cây Thu hải đường được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,8 mg/l TDZ (kết quả tốt nhất từ thí nghiệm 1) và AgNPs với các nồng độ khác nhau (0; 0,5;



1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ppm), nhằm khảo sát tác động của AgNPs đến khả năng tái sinh chồi *in vitro*. Đối chứng là các cánh hoa được nuôi cấy trên môi trường không bổ sung AgNPs. Các chỉ tiêu theo dõi gồm tỷ lệ tái sinh chồi (%), số chồi/mẫu, khối lượng tươi và khô của cụm chồi (mg) được ghi nhận sau 60 ngày nuôi cấy.

**Xác định hàm lượng tinh bột trong mẫu cây bằng phương pháp phân tích quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis):** Hàm lượng tinh bột trong mẫu cây nghiệm thức tối ưu và đối chứng trong thí nghiệm 2 được định lượng như mô tả của B. Fernandes và cs (2012) [25]. Theo đó, tinh bột trong mẫu được thủy phân thành maltodextrin bởi  $\alpha$ -amylase (3000 U/ml) và sau đó được thủy phân thành glucose bằng amyloglucosidase (3300 U/ml). Hàm lượng glucose trong mẫu được xác định bằng cách sử dụng thuốc thử GOPOD (glucose oxidase-peroxidase) sản phẩm có độ hấp thụ tối đa ở 510 nm, D-glucose được sử dụng làm đối chứng. Dung dịch mẫu trắng được chuẩn bị gồm 0,1 ml nước cất có bổ sung 3,0 ml GOPOD. Tổng hàm lượng tinh bột (I) (% w/w DW) được xác định theo công thức:  $I = A \times F / W \times 90$ . Trong đó:  $A$  là hệ số hấp thụ của dung dịch thử so với mẫu trắng;  $F$  là hệ số chuyển đổi từ giá trị độ hấp thụ sang giá trị glucose;  $W$  là khối lượng mẫu thử (mg).

**Xác định hàm lượng đường khử trong mẫu cây bằng phương pháp phân tích quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis):** Hàm lượng đường khử của mẫu cây nghiệm thức tối ưu và đối chứng trong thí nghiệm 2 được xác định bằng cách sử dụng thuốc thử 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) tạo ra sản phẩm có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 540 nm, nước cất được sử dụng làm đối chứng. D-glucose được sử dụng để xây dựng đường chuẩn [26]. Hàm lượng đường (S) (mg/g DW) được xác định theo công thức:  $S = A \times n \times V/m$ . Trong đó:  $A$  là hàm lượng đường khử trong dung dịch mẫu đã pha loãng (mg/g);  $n$  là hệ số pha loãng;  $V$  là thể tích dung dịch chuẩn (ml);  $m$  là khối lượng mẫu thử (g).

## 2.5. Điều kiện thí nghiệm

Mẫu trong các bình nuôi cấy được đặt trong phòng nuôi ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm tương đối 55-60%, chiếu sáng bằng đèn huỳnh quang với cường độ  $40\text{-}45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  và thời gian chiếu sáng được thiết lập 16 giờ/ngày.

## 2.6. Xử lý số liệu

Số liệu sau khi thu thập ứng với từng chỉ tiêu theo dõi được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và phân tích thống kê SPSS 16.0 dựa trên tiêu chuẩn phép thử Duncan với  $p < 0,05$  [27].

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Ảnh hưởng của cytokinin lên khả năng tái sinh chồi của mẫu cánh hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*

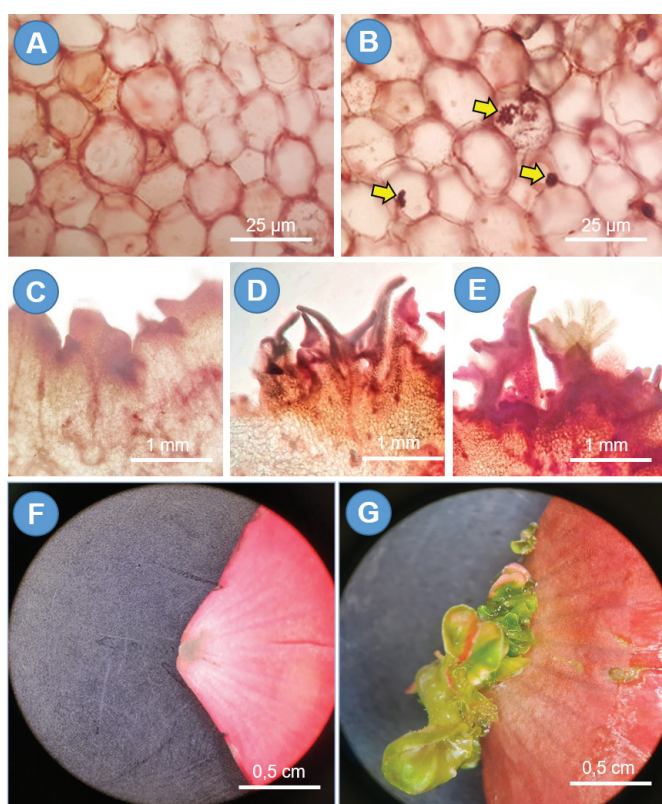
Kết quả ghi nhận được cho thấy, mẫu cánh hoa cây Thu hải đường được nuôi cấy trên môi trường bổ sung các loại CK khác nhau (BA, KIN, TDZ) cho khả năng tái sinh chồi khác nhau (bảng 1).

**Bảng 1.** Ảnh hưởng của cytokinin lên khả năng tái sinh chồi của mẫu cánh hoa cây Thu hải đường sau 60 ngày nuôi cấy.

| CK  | Nồng độ (mg/l) | Tỷ lệ tái sinh (%)  | Số chồi/mẫu        | Cụm chồi             |                     |
|-----|----------------|---------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
|     |                |                     |                    | Khối lượng tươi (mg) | Khối lượng khô (mg) |
| ĐC  | 0,0            | -                   | -                  | -                    | -                   |
|     | 0,5            | 34,44 <sup>gh</sup> | 4,00 <sup>f</sup>  | 53,91 <sup>h</sup>   | 1,95 <sup>fg</sup>  |
|     | 1,0            | 44,45 <sup>de</sup> | 4,78 <sup>ef</sup> | 63,49 <sup>gh</sup>  | 2,76 <sup>ef</sup>  |
| BA  | 1,5            | 68,89 <sup>b</sup>  | 7,11 <sup>d</sup>  | 100,24 <sup>f</sup>  | 4,55 <sup>d</sup>   |
|     | 2,0            | 34,44 <sup>gh</sup> | 1,70 <sup>g</sup>  | 21,64 <sup>i</sup>   | 0,95 <sup>h</sup>   |
|     | 2,5            | 32,22 <sup>hi</sup> | 2,00 <sup>g</sup>  | 25,69 <sup>i</sup>   | 1,10 <sup>h</sup>   |
|     | 0,5            | 20,00 <sup>k</sup>  | 5,89 <sup>e</sup>  | 76,32 <sup>g</sup>   | 3,54 <sup>e</sup>   |
|     | 1,0            | 35,56 <sup>gh</sup> | 7,22 <sup>d</sup>  | 96,26 <sup>f</sup>   | 4,54 <sup>d</sup>   |
| KIN | 1,5            | 48,89 <sup>cd</sup> | 8,00 <sup>d</sup>  | 103,58 <sup>f</sup>  | 4,33 <sup>d</sup>   |
|     | 2,0            | 37,78 <sup>fg</sup> | 4,67 <sup>ef</sup> | 62,38 <sup>gh</sup>  | 2,29 <sup>fg</sup>  |
|     | 2,5            | 42,22 <sup>ef</sup> | 3,56 <sup>f</sup>  | 46,24 <sup>h</sup>   | 1,67 <sup>gh</sup>  |
|     | 0,2            | 28,89 <sup>i</sup>  | 9,22 <sup>c</sup>  | 124,38 <sup>e</sup>  | 6,14 <sup>c</sup>   |
|     | 0,4            | 53,33 <sup>c</sup>  | 11,33 <sup>b</sup> | 151,87 <sup>d</sup>  | 7,31 <sup>b</sup>   |
| TDZ | 0,6            | 66,67 <sup>b</sup>  | 12,00 <sup>b</sup> | 158,25 <sup>cd</sup> | 7,35 <sup>b</sup>   |
|     | 0,8            | 75,56 <sup>a</sup>  | 17,00 <sup>a</sup> | 241,92 <sup>a</sup>  | 12,49 <sup>a</sup>  |
|     | 1,0            | 65,56 <sup>b</sup>  | 12,00 <sup>b</sup> | 170,80 <sup>b</sup>  | 7,17 <sup>b</sup>   |

Các giá trị trong cùng một cột được đi kèm với các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,05$  trong phép thử Duncan. ĐC: Đối chứng.

Trên môi trường không bổ sung CK (đối chứng), mẫu cây không cảm ứng tái sinh chồi. Đối với môi trường nuôi cấy bổ sung BA, hiệu quả tái sinh chồi (tỷ lệ tái sinh chồi, số chồi/mẫu, khối lượng tươi và khô của cụm chồi) tăng tỷ lệ thuận khi tăng nồng độ BA 0,5-1,5 mg/l. Ở nồng độ 1,5 mg/l BA, tỷ lệ tái sinh chồi đạt cao nhất (68,89%). Ngược lại, khi nồng độ BA vượt quá 1,5 mg/l, hiệu quả tái sinh chồi giảm đáng kể (bảng 1). Trên môi trường bổ sung 1,5 mg/l KIN, hiệu quả tái sinh chồi cao hơn các nồng độ KIN khác; tuy nhiên, tỷ lệ tái sinh chồi chỉ đạt 48,89% (bảng 1). Trong khi đó, môi trường bổ sung TDZ cho hiệu quả tái sinh chồi cao hơn đáng kể so với các nghiệm thức sử dụng BA và KIN. Cụ thể, nghiệm thức 0,8 mg/l TDZ cho tỷ lệ tái sinh chồi (75,56%), số chồi/mẫu (17,00 chồi), khối lượng tươi cụm chồi (241,92 mg) và khối lượng khô cụm chồi (12,49 mg) đạt cao nhất (bảng 1). Chồi thu được trong nghiệm thức này có màu xanh đậm và kích thước đồng đều (hình 1G).



**Hình 1. Các giai đoạn tái sinh chồi *in vitro* từ mẫu cây cánh hoa Thu hải đường trên môi trường bổ sung 0,8 mg/l TDZ.** (A) Quan sát mô học cho thấy không có sự tích lũy tinh bột trong mẫu cây ban đầu; (B) Các hạt tinh bột tích lũy trong mô (mũi tên) sau 5 ngày nuôi cấy; (C) Sự hình thành chồi sơ khởi sau 15 ngày nuôi cấy; (D) Sự hình thành chồi sau 20 ngày nuôi cấy; (E) Sự hình thành chồi với các phát thể lá rõ ràng sau 30 ngày nuôi cấy; (F) Mẫu cây cánh hoa ở ngày nuôi cấy đầu tiên; (G) Sự tái sinh chồi trực tiếp trên gốc cánh hoa sau 30 ngày nuôi cấy.

Quan sát mô học cho thấy, sau 5 ngày nuôi cấy trên môi trường bổ sung 0,8 mg/l TDZ, sự tích lũy các hạt tinh bột đã được quan sát thấy trong mẫu cây cánh hoa, trong khi, sự tích lũy này hầu như không được ghi nhận trong mẫu cây ban đầu (hình 1A và 1B). Sự tích lũy tinh bột là điều kiện cần thiết cho sự tái sinh *in vitro* của mẫu cây [7]. Sau 15 ngày nuôi cấy, các chồi sơ khởi đã bắt đầu xuất hiện tại góc mẫu cây cánh hoa (hình 1C). Các chồi hai lá mầm đã xuất hiện sau 20 ngày nuôi cấy (hình 1D) và các chồi hình thành phát thể lá rõ ràng sau 30 ngày nuôi cấy (hình 1E và 1G), ngược lại không có sự tái sinh chồi trong nghiệm thức đối chứng đã được quan sát (hình 1F).

A. Awal và cs (2013) [12] đã báo cáo rằng, các mẫu cây cánh hoa Thu hải đường (*B. x hiemalis* Fotsch) đã không có khả năng tái sinh chồi trên môi trường MS bổ sung BA hoặc TDZ ở tất cả các nồng độ được khảo sát. Trong khi, nghiên cứu của F.M. Velasco và cs (2018) [13] đã tái sinh chồi cây Thu hải đường (*B. eliator*) gián tiếp thông qua mô sẹo từ mẫu cây cánh hoa thành công trên hai giống 'Heidi' và 'Gloriosa', với tỷ lệ tái sinh lần lượt là 57,2 và 46,4%. Các

kết quả này chỉ ra rằng, kiểu gen là một trong những yếu tố quan trọng quyết định đến khả năng tái sinh *in vitro* của mẫu cây cánh hoa Thu hải đường. Trong nghiên cứu này, cánh hoa Thu hải đường nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,8 mg/l TDZ cho tỷ lệ tái sinh chồi đạt tối ưu (75,56%).

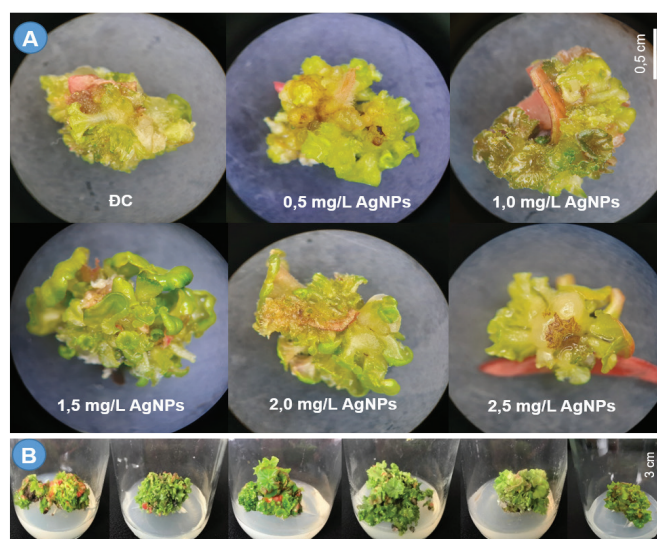
### 3.2. Ảnh hưởng của nano bạc (AgNPs) lên khả năng tái sinh chồi của mẫu cánh hoa Thu hải đường nuôi cấy *in vitro*

Kết quả ghi nhận được cho thấy, AgNPs có ảnh hưởng đáng kể lên khả năng tái sinh chồi từ mẫu cây cánh hoa nuôi cấy *in vitro* sau 30 và 60 ngày nuôi cấy (bảng 2 và hình 2A, 2B). Ở nồng độ AgNPs thấp (0,5 mg/l), hiệu quả tái sinh chồi không có sự khác biệt đáng kể so với đối chứng không bổ sung AgNPs. Trong khi đó, trên môi trường có chứa 1,5 mg/l AgNPs, các chỉ tiêu tái sinh và sinh trưởng như tỷ lệ tái sinh (78,89%), số lượng chồi (28,44 chồi/mẫu), khối lượng tươi (421,49 mg), khối lượng khô (24,73 mg) đạt cao nhất (bảng 2 và hình 2B). Tuy nhiên, hiệu quả tái sinh và sinh trưởng của mẫu cây đã giảm đáng kể khi bổ sung AgNPs với nồng độ

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nano bạc (AgNPs) lên khả năng tái sinh chồi của mẫu cánh hoa cây Thu hải đường sau 60 ngày nuôi cấy.**

| Nồng độ AgNPs (mg/l) | Tỷ lệ tái sinh (%)  | Số chồi            | Cụm chồi             |                     |
|----------------------|---------------------|--------------------|----------------------|---------------------|
|                      |                     |                    | Khối lượng tươi (mg) | Khối lượng khô (mg) |
| 0,0                  | 75,56 <sup>bc</sup> | 17,00 <sup>c</sup> | 241,92 <sup>c</sup>  | 12,49 <sup>c</sup>  |
| 0,5                  | 73,33 <sup>c</sup>  | 17,11 <sup>c</sup> | 244,12 <sup>c</sup>  | 12,85 <sup>c</sup>  |
| 1,0                  | 78,89 <sup>ab</sup> | 21,44 <sup>b</sup> | 309,47 <sup>b</sup>  | 17,12 <sup>b</sup>  |
| 1,5                  | 78,89 <sup>ab</sup> | 28,44 <sup>a</sup> | 421,49 <sup>a</sup>  | 24,73 <sup>a</sup>  |
| 2,0                  | 65,55 <sup>d</sup>  | 13,89 <sup>d</sup> | 183,22 <sup>d</sup>  | 9,48 <sup>d</sup>   |
| 2,5                  | 48,89 <sup>e</sup>  | 9,34 <sup>e</sup>  | 120,18 <sup>e</sup>  | 5,82 <sup>e</sup>   |

Các giá trị trong cùng một cột được đi kèm với các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,05$  trong phép thử Duncan.



**Hình 2. Ảnh hưởng của nano bạc (AgNPs) lên sự tái sinh chồi *in vitro* từ mẫu cây cánh hoa Thu hải đường.** (A) Sự tái sinh chồi sau 30 ngày nuôi cấy; (B) Sự tái sinh chồi sau 60 ngày nuôi cấy. DC: Đối chứng.

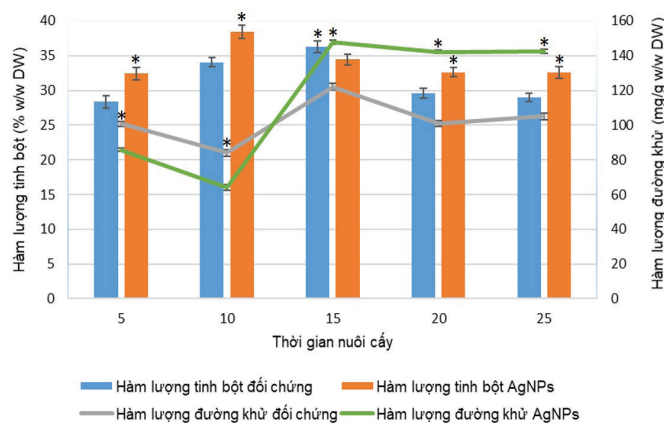


cao (2,0 mg/l và 2,5 mg/l). Như vậy, việc bổ sung 1,5 mg/l AgNPs vào môi trường nuôi cấy đã gia tăng số lượng chồi tái sinh cao gấp 1,67 lần so với đối chứng.

Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với các nghiên cứu ứng dụng AgNPs cho mục đích gia tăng hiệu quả tái sinh *in vitro* trên nhiều đối tượng cây trồng như cây hoa Đồng tiền [19], cây Dâu tây [22], lan Hồ điệp [21], cây Trầu tiên [20]; cây Chuối [28]; cây sâm Ngọc Linh [23]. Bên cạnh đó, các cơ chế sinh hóa có liên quan cũng đã được chứng minh. Theo đó, việc bổ sung AgNPs vào môi trường nuôi cấy có tác dụng ức chế hoạt động của enzyme sinh tổng hợp etylen; do đó, giảm sự sản sinh quá mức khí etylen trong bình nuôi cấy gây ức chế sự nhân nhanh chồi cây Dâu tây [22]. Tuy nhiên, ảnh hưởng của AgNPs lên sự thay đổi hàm lượng carbohydrate trong mẫu cây thực vật chưa được nghiên cứu trước đây, mặc dù carbohydrate tổng hợp trong mẫu cây liên quan trực tiếp đến hiệu quả tái sinh *in vitro* [7]. Do đó, nghiên cứu sâu hơn được thực hiện trong thí nghiệm tiếp theo nhằm đánh giá tác động AgNPs lên sự thay đổi về hàm lượng carbohydrate trong mẫu cây cánh hoa Thu hải đường trong suốt giai đoạn tái sinh *in vitro*.

### 3.3. Ảnh hưởng của nano bạc (AgNPs) lên sự thay đổi hàm lượng carbohydrate trong mẫu cây cánh hoa cây Thu hải đường

Kết quả phân tích UV-Vis cho thấy rằng, tổng hàm lượng tinh bột tích lũy trong mẫu cây tăng lên rõ rệt ở giai đoạn đầu nuôi cấy ở cả nghiệm thức bổ sung 1,5 mg/l AgNPs và đối chứng (hình 3). Hàm lượng tinh bột đạt mức cao nhất ở ngày nuôi cấy thứ 10 trong nghiệm thức có bổ sung AgNPs (38,42%), trong khi đó, ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung AgNPs, hàm lượng tinh bột đạt mức cao nhất (38,28%) ở thời điểm muộn hơn (ngày thứ 15). Các kết quả chỉ ra rằng, AgNPs đẩy nhanh sự tích lũy tinh bột trong mô cây, tương ứng với sự hình thành chồi sơ khởi sớm hơn so với nghiệm thức đối chứng.



**Hình 3. Sự thay đổi hàm lượng carbohydrate trong mẫu cây cánh hoa cây Thu hải đường nuôi cấy trên môi trường bổ sung nano bạc (AgNPs) và đối chứng (không bổ sung AgNPs). Dấu \* biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p < 0,05$  trong phép thử Duncan.**

Trong giai đoạn tiếp theo, tổng lượng tinh bột trong mẫu cây sau 15, 20 và 25 ngày nuôi cấy không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê được ghi nhận ở nghiệm thức bổ sung AgNPs (34,43, 34,63 và 34,60%, tương ứng). Kết quả tương tự về hàm lượng tinh bột cũng được ghi nhận trên mẫu đối chứng ở ngày thứ 20 và 25 (29,58 và 29,00%, tương ứng).

Phân tích lượng đường khử trong mẫu cây ở nghiệm thức 1,5 mg/l AgNPs cho thấy hàm lượng đường đạt cực đại ở ngày nuôi cấy thứ 15 (147,80 mg/g), tương ứng với giai đoạn suy giảm hàm lượng tinh bột. Trong giai đoạn tiếp theo, hàm lượng có sự suy giảm trong mẫu cây ở ngày nuôi cấy thứ 20 và 25; tuy nhiên, hàm lượng đường vẫn duy trì mức  $>140$  mg/g (hình 3). Kết quả tương tự cũng được ghi nhận đối với nghiệm thức đối chứng, sự gia tăng hàm lượng đường cao nhất được ghi nhận ở ngày nuôi cấy thứ 15 và giảm dần sau đó ở ngày thứ 20 và 25 (hình 3).

So sánh hàm lượng tinh bột giữa hai nghiệm thức cho thấy AgNPs đã kích thích gia tăng sự tích lũy tinh bột trong mẫu cây ở hầu hết các giai đoạn tái sinh *in vitro* cây Thu hải đường (5, 10, 20 và 25 ngày). Trong khi đó, so với đối chứng mẫu cây ở nghiệm thức bổ sung AgNPs có hàm lượng đường thấp hơn ở giai đoạn 5 và 10 ngày nuôi cấy nhưng cao hơn đáng kể ở giai đoạn 15, 20 và 25 ngày nuôi cấy (bảng 2). Kết quả chứng minh rằng, tinh bột được tích lũy trong mô và chuyển hóa thành đường là yếu tố cần thiết cho các giai đoạn tái sinh và phát triển chồi *in vitro*.

Theo A. Bach và cs (2018) [29], đường trong mô thực vật là nguồn nguyên liệu để tổng hợp polysaccharide và cung cấp năng lượng cần thiết cho quá trình phân chia và dẫn dài của tế bào. Trong nuôi cấy *in vitro*, hàm lượng carbohydrate là nguồn năng lượng cần thiết cho quá trình biệt hóa và tăng sinh tế bào trong suốt quá trình phát sinh cơ quan của thực vật [8, 29]. Trong nghiên cứu này, AgNPs trong môi trường nuôi cấy đã thúc đẩy quá trình tích lũy tinh bột và chuyển hóa thành đường trong mẫu cây cánh hoa tạo ra nguồn năng lượng cần thiết cho quá trình tái sinh chồi *in vitro* cây Thu hải đường.

## 4. Kết luận

Nghiên cứu này chỉ ra rằng, AgNPs được bổ sung vào môi trường nuôi cấy giúp tăng khả năng tái sinh chồi và sinh trưởng của chồi Thu hải đường trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Mẫu cây cánh hoa Thu hải đường được nuôi cấy trong môi trường MS có bổ sung 0,8 mg/l TDZ và 1,5 mg/l AgNPs cho tỷ lệ tái sinh chồi, số chồi và khối lượng cụm chồi đạt tối ưu. Xét trên khía cạnh sinh hóa, AgNPs có tác dụng trong việc gia tăng tích lũy tinh bột và chuyển thành đường trong mẫu cây để cung cấp nguồn năng lượng cần thiết cho giai đoạn tái sinh chồi và tăng sinh cụm chồi. Các thông tin từ nghiên cứu hiện tại đề xuất ứng dụng AgNPs phục vụ cho công tác vi nhân giống cây Thu hải đường và nhiều đối tượng cây trồng có giá trị kinh tế khác.



## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện từ kinh phí hỗ trợ của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam theo mã số NCXS01.03/22-24. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. Phutthai, M. Hughes (2016), "A new species and a new record in *Begonia* sect. *Platycentrum* (Begoniaceae) from Thailand", *Garden's Bulletin, Singapore*, **68**(1), pp.99-107.
- [2] H. Tian, B. Lv, T. Ding, et al. (2018), "Auxin-BR interaction regulates plant growth and development", *Frontiers in Plant Science*, **8**, DOI: 10.3389/fpls.2017.02256.
- [3] D.T. Nhut (2011), *Plant Biotechnology: Basic Research and Application Episode 1*, Agricultural Publishing House, Ho Chi Minh City, 532pp (in Vietnamese).
- [4] D.V. Khiem, L.T.N. Lan, D.T. Nhut (2004), "Rapid micropropagation of *Begonia tuberosa* by young leaf tissue culture and acclimatization in greenhouse", *Academia Journal of Biology*, **26**(3), pp.56-63 (in Vietnamese).
- [5] S. Kumaria, M. Kehie, S.S.D. Bhowmik, et al. (2012), "In vitro regeneration of *B. rubrovenia* var. *meisneri*. C.B. Clarke - A rare and endemic ornamental plant of Meghalaya, India", *Indian Journal of Biotechnology*, **11**(3), pp.300-303.
- [6] H.T. Tung, H.T. Van, H.G. Bao, et al. (2021a) "Silver nanoparticles enhanced efficiency of explant surface disinfection and somatic embryogenesis in *Begonia tuberosa* via thin cell layer culture", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **19**(2), pp.337-347.
- [7] H.D. Khai, N.Q. Vinh, D.M. Dung, et al. (2021), "Alterations in endogenous hormone levels and energy metabolism promoted the induction, differentiation and maturation of *Begonia* somatic embryos under clinorotation", *Plant Science*, **312**, DOI: 10.1016/j.plantsci.2021.111045.
- [8] B.S. Mangat, M.K. Pelekis, A.C. Cassells (1990), "Changes in the starch content during organogenesis in *in vitro* cultured *Begonia rex* stem explants", *Physiologia Plantarum*, **79**(2), pp.267-274.
- [9] D.T. Nhut, N.T. Hai, M.X. Phan, et al. (2005), "Shaking culture systems and bioreactor in micropropagation of *Begonia tuberosa*", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **3**(3), pp.363-372.
- [10] L.T. Bien, N.B. Nam, N.T. Tai, et al. (2013), "Effect of light-emitting diodes and explant types on shoot induction and regeneration from transverse thin cell layer of *Begonia* spp", *Vietnam National Biotechnology Conference*, pp.701-705 (in Vietnamese).
- [11] Y.Y. Mendi, P. Curuk, E. Kocaman, et al. (2009), "Regeneration of begonia plantlets by direct organogenesis", *African Journal of Biotechnology*, **8**(9), pp.1860-1863.
- [12] A. Awal, A.B.A. Ahmed, R.M. Taha, et al. (2013), "Effect of adenine, sucrose and plant growth regulators on the indirect organogenesis and on *in vitro* flowering in *Begonia* × *hiemalis* Fotsch" *Australian Journal of Crop Science*, **7**(5), pp.691-698.
- [13] F.M. Velasco, H.G. Rosas, A.M.C. González, et al. (2018), "In vitro cultivation of petals of four varieties of *Begonia elatior*", *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, **9**(6), pp.1207-1216, DOI: 10.29312/remexca.v9i6.1585.
- [14] D.T. Nhut, D.B. Trinh, D.M. Cuong, et al. (2018), "Study on silver nanoparticles as a novel explant disinfectant for micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.)", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **16**(1), pp.87-97 (in Vietnamese).
- [15] T. Hieu, H.T. Tung, C.D. Nguyen (2018), "Establishing aseptic explant source for *Passiflora edulis* Sims. and *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*", *Hue University Journal of Science: Natural Science*, **127**(1C), pp.71-84 (in Vietnamese).
- [16] D.M. Cuong, H.T. Tung, H.D. Khai, et al. (2020), "Increasing the somatic embryogenesis frequency of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. by disinfection of leaf explant using nano silver and the addition of nano silver in culture medium", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **18**(3), pp.517-527 (in Vietnamese).
- [17] I. Andújar, N. González, J.C.G. Ramos, et al. (2020), "Argovit™ silver nanoparticles reduce contamination levels and improve morphological growth in the *in vitro* culture of *Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied.", *SN Applied Sciences*, **2**, DOI: 10.1007/s42452-020-03948-9.
- [18] V.T. Mo, L.K. Cuong, H.T. Tung, et al. (2020), "Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from the seaweed *Kappaphycus striatus*", *Acta Physiologiae Plantarum*, **42**, DOI: 10.1007/s11738-020-03102-3.
- [19] H.T.M. Ngan, T.D.H. Trinh D.M. Cuong, et al. (2019), "Limitation of hyperdricity and enhanced survival rate of *Gerbera jamesonii* plantlets cultured in vitro on medium supplemented with silver nanoparticles", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **17**(1), pp.115-124.
- [20] B.T.T. Phuong, N.P. Lan, D.T.K. Trang, et al. (2020), "Effect of nanosilver on the *in vitro* propagation of *Asarum glabrum* Merr.", *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **62**(6), pp.19-23 (in Vietnamese).
- [21] D.H. Gioi, B.T.T. Huong (2019), "Study on use of silver nanoparticles in *Phalaenopsis* orchid (*Phalaenopsis* sp.) tissue culture", *Vietnam National University of Forestry*, **1**, pp.19-24 (in Vietnamese).
- [22] H.T. Tung, T.T. Thuong, D.M. Cuong, et al. (2021b), "Silver nanoparticles improved explant disinfection, *in vitro* growth, runner formation and limited ethylene accumulation during micropropagation of strawberry (*Fragaria* × *ananassa*)", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **145**(2), pp.393-403, DOI: 10.1007/s11240-021-02015-4.
- [23] D.M. Cuong, P.C. Du, H.T. Tung, et al. (2021), "Silver nanoparticles as an effective stimulant in micropropagation of *Panax vietnamensis* - a valuable medicinal plant", *Plant Cell Tiss Organ Culture*, **146**, pp.577-588.
- [24] H.N. Chau, L.A. Bang, N.Q. Buu, et al. (2008), "Some results in manufacturing of nanosilver and investigation of its application for disinfection", *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, **9**(2), pp.241-248.
- [25] B. Fernandes, G. Dragone, A.P. Abreu, et al. (2012) "Starch determination in *Chlorella vulgaris* - A comparison between acid and enzymatic methods", *Journal of Applied Phycology*, **24**, pp.1203-1208.
- [26] T. Krivorotova, J. Sereikaite (2014), "Determination of fructan exohydrolase activity in the crude extracts of plants", *Electronic Journal Biotechnology*, **17**, pp.329-333.
- [27] D.B. Duncan (1955), "Multiple range and multiple F tests", *Biometrics*, **11**(1), pp.1-42.
- [28] B.T.T. Huong, T.D. Xuan, K.H. Trung, et al. (2021), "Influences of silver nanoparticles *in vitro* morphogenesis of specialty king banana (*Musa* spp.) in Vietnam", *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, **22**(33-34), pp.163-175.
- [29] A. Bach, A. Kapczyńska, K. Dziurka, et al. (2018), "The importance of applied light quality on the process of shoot organogenesis and production of phenolics and carbohydrates in *Lachenalia* sp. cultures *in vitro*", *South African Journal of Botany*, **114**, pp.14-19.

# Xạ khuẩn có khả năng nuôi cấy trong đất ô nhiễm dioxin, khả năng sinh laccase và tiềm năng ứng dụng trong xử lý sinh học

Đào Thị Ngọc Ánh<sup>1\*</sup>, Bùi Thị Khánh Ly<sup>2</sup>, Trần Hương Quỳnh<sup>3</sup>, Nguyễn Thị Nguyệt<sup>2</sup>, Hồ Ngọc Anh<sup>2</sup>, Vi Thị Kim Chi<sup>2</sup>, Phạm Ngọc Long<sup>4</sup>, Cung Thị Ngọc Mai<sup>2</sup>, Nguyễn Phương Minh<sup>3</sup>, Lê Thị Nhi Công<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

<sup>3</sup>Viện Hóa học Môi trường Quân sự, Bộ Quốc phòng, xã An Khánh, huyện Hoài Đức, Hà Nội, Việt Nam

<sup>4</sup>Công ty Cổ phần Hemotek, SunriseA, The Manor Central Park, Nguyễn Xiển, phường Đại Kim, quận Hoàng Mai, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 5/11/2023; ngày chuyển phản biện 9/11/2023; ngày nhận phản biện 30/11/2023; ngày chấp nhận đăng 2/12/2023

## Tóm tắt:

Xạ khuẩn đóng vai trò quan trọng trong hệ vi sinh vật của đất ô nhiễm chất độc hóa học, chúng là một trong những nhóm vi sinh vật chiếm ưu thế. Xạ khuẩn có khả năng phát triển, chuyển hóa và phân hủy các chất ô nhiễm hữu cơ bền vững, thuốc trừ sâu, hydrocarbon thơm đa vòng (PAH) và loại màu thuốc nhuộm... Trong nghiên cứu này, phenanthrene và màu dệt nhuộm được sử dụng làm đối tượng nghiên cứu nhằm xác định khả năng phân hủy và loại màu của xạ khuẩn phân lập được từ đất ô nhiễm dioxin tại Sân bay A So, tỉnh Thừa Thiên Huế. Kết quả phân tích xạ khuẩn trong mẫu ô nhiễm cho thấy, ở độ sâu 20-30 cm số lượng xạ khuẩn nhiều hơn so với ở độ sâu 150-180 cm. Trong 26 chủng xạ khuẩn được khảo sát, có 5 chủng sinh laccase với hoạt tính lớn hơn 20 U/l, trong đó cao nhất là chủng *Streptomyces* sp. XAS3 đạt 468,06 U/l. Chủng *Streptomyces* sp. XAS3 phân hủy 42,04% phenanthrene sau 3 tuần; và loại màu 16/18 loại thuốc nhuộm màu được khảo sát, hiệu quả loại màu cao nhất, đạt 26,72±0,94% với màu thuốc nhuộm anthraquinone acid blue 62 sau 20 phút phản ứng. Kết quả thu được cho thấy tiềm năng ứng dụng vào xử lý sinh học phân hủy các chất ô nhiễm của xạ khuẩn từ đất ô nhiễm tại Sân bay A So.

**Từ khóa:** dioxin, hydrocarbon thơm đa vòng, laccase, loại màu thuốc nhuộm, xạ khuẩn, xử lý sinh học.

**Chỉ số phân loại:** 1.6, 2.7

## Culturable actinomycetes in dioxin-contaminated soil, laccase-producing ability and potential for application in bioremediation

Thi Ngọc Anh Dao<sup>1\*</sup>, Thi Khanh Ly Bui<sup>2</sup>, Huong Quynh Tran<sup>3</sup>, Thi Nguyet Nguyen<sup>2</sup>, Ngọc Anh Ho<sup>2</sup>, Thi Kim Chi Vi<sup>2</sup>, Ngọc Long Phạm<sup>4</sup>, Thi Ngọc Mai Cung<sup>2</sup>, Phương Minh Nguyễn<sup>3</sup>, Thi Nhi Công Lê<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Animal Science, Vietnam National University of Agriculture, Trau Quỳ Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>Institute of Military Environmental Chemistry, Ministry of National Defence, An Khanh Commune, Hoài Đức District, Hanoi, Vietnam

<sup>4</sup>Hemotek Joint Stock Company, SunriseA, The Manor Central Park, Nguyễn Xiển Street, Đại Kim Ward, Hoàng Mai District, Hanoi, Vietnam

Received 5 November 2023; revised 30 November 2023; accepted 2 December 2023

## Abstract:

Actinomycetes play an important role in microbial community in contaminated soil, they are one of the dominant groups. Actinomycetes have the ability to metabolise and degrade persistent organic pollutants such as pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and decolour textile dyes... In this study, phenanthrene and textile dyes were used as subjects to determine the degradation and decolourisation ability of actinomycetes which were isolated from dioxin-contaminated soil at A So airbase, Thua Thien Hue province. The results of quantifying culturable actinomycetes in dioxin-contaminated soil showed that at a depth of 20-30 cm the number of actinomycetes was greater than at a depth of 150-180 cm. Among the 26 tested actinomycete strains, there were 5 laccase-producing strains with laccase activity greater than 20 U/l, of which the highest was *Streptomyces* sp. XAS3 reached 468.06 U/l. *Streptomyces* sp. XAS3 degraded 42.04% phenanthrene after 3 weeks of incubation; and decoloured 16 out of 18 surveyed textile dyes, the highest decolourisation efficiency reaching 26.72±0.94% with an anthraquinone dye acid blue 62 after 20 minutes of reaction. The results show the potential of the actinomycete isolated from dioxin-contaminated soil at A So airport for application in bioremediation of pollutants.

**Keywords:** actinomycetes, bioremediation, dioxin, laccase, polycyclic aromatic hydrocarbon, textile dye decolourisation.

**Classification numbers:** 1.6, 2.7

\*Tác giả liên hệ: Email: daoanh0710@gmail.com; daoanh@vnua.edu.vn

## 1. Đặt vấn đề

Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như chăm sóc sức khỏe, dược phẩm, xử lý môi trường..., nhóm này có khả năng sinh tổng hợp đa dạng các chất chuyển hóa có hoạt tính sinh học khác nhau, cùng với nhiều loại enzyme có giá trị kinh tế. Ngoài ra, xạ khuẩn đóng vai trò quan trọng trong hệ sinh thái của đất ô nhiễm chất độc hóa học, chúng thường là một trong những nhóm chiếm ưu thế [1]. Xạ khuẩn cho thấy vai trò quan trọng trong quá trình xử lý sinh học chất ô nhiễm do chúng duy trì ưu thế trong quá trình xử lý ô nhiễm [2]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về khả năng phân hủy dioxin hay các chất ô nhiễm vòng thơm khác chủ yếu tập trung vào các chủng vi khuẩn, số lượng chủng xạ khuẩn được công bố ít hơn nhiều so với các đại diện vi khuẩn.

Trong những năm qua, đã có nhiều kết quả nghiên cứu về sự phân hủy thuốc trừ sâu bởi xạ khuẩn. *Streptomyces* và xạ khuẩn không phải *Streptomyces* thuộc các chi *Arthrobacter*, *Frankia*, *Gordonia*, *Kocuria*, *Nocardioide*s và *Rhodococcus* là những loại xạ khuẩn có nhiều công bố về khả năng phân hủy thuốc trừ sâu. Những vi sinh vật này thể hiện khả năng phát triển, chuyển hóa và phân hủy một số họ thuốc trừ sâu, bao gồm hợp chất hữu cơ (chlor-pyrifos, dimethoate), organochlorine (endosulfan, lindane, pentachlorophenol, pentachloronitrobenzene, hexachlorobenzene), triazine (atrazine, simazine, terbutylazine), các hợp chất pyrethroid tổng hợp (deltameth-rin, cypermethrin) và benzimidazole (carbendazim) [3]. Các nghiên cứu cho thấy, *Terrabacter* sp. DBF63 có khả năng phân hủy các đồng loại của polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins và dibenzofurans (PCDD/Fs) là 2-CDD; 2,3- CDD; 2-CDF; 2,8-DCDF với nồng độ 10 µg/ml trong 18 giờ có thể phân hủy được 75-85%. *Rhodococcus opacus* SAO 101 được chứng minh là có thể phân hủy các hydrocarbon thơm đa vòng khác nhau như naphthalene dibenzofuran (DF) và dibenzo-*p*-dioxin (DD) [4].

Trong số các enzyme tham gia vào quá trình phân hủy các chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy, enzyme laccase xạ khuẩn có tiềm năng lớn trong xử lý sinh học nhưng vẫn còn ít được tập trung nghiên cứu. Laccase (benzenediol: oxygen oxidoreductase, E.C 1.10.3.2) là một enzyme đa đồng thuộc nhóm các blue-oxidase. Laccase thuộc nhóm oxidoreductase, enzyme laccase xúc tác quá trình oxy hóa đơn điện tử của một phổ rộng các cơ chất. Quá trình oxy hóa cơ chất được kết hợp với quá trình khử 4 electron của

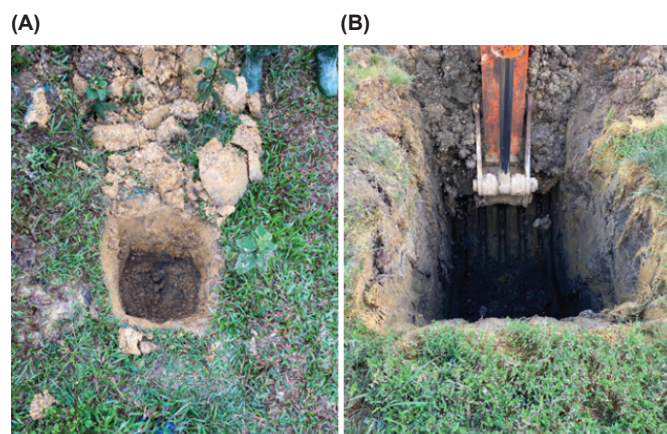
O<sub>2</sub> thành H<sub>2</sub>O [5]. Enzyme laccase được biết đến với khả năng tấn công các thành phần phenolic của lignin và các chất ô nhiễm của nước thải, hydrocarbon thơm đa vòng (PAH), loại màu thuốc nhuộm gây ô nhiễm trong ngành dệt may... Do đó, enzyme này có vai trò quan trọng trong xử lý sinh học [6]. Ngoài ra, hình thái dạng sợi của xạ khuẩn tạo điều kiện cho sự xâm nhập và lan rộng trong quá trình tăng trưởng, dẫn đến sự phân hủy hiệu quả hơn. Hơn nữa, chúng còn sinh tổng hợp các enzyme ngoại bào phân giải cellulose, hemi-cellulose và lignin [7].

Nhiều nghiên cứu khác nhau về các phương pháp nhằm tăng cường và tăng hiệu quả của quá trình xử lý sinh học các chất ô nhiễm, trong đó, tăng cường sinh học với xạ khuẩn là một cách tiếp cận thân thiện với môi trường. Actinobacteria đã được chứng minh là có nhiều trong đất bị ô nhiễm và có khả năng chuyển hóa các chất gây ô nhiễm để chúng phát triển. Hơn nữa, tiềm năng của xạ khuẩn trong việc phân hủy các chất ô nhiễm hữu cơ bền vững, thuốc trừ sâu, PAH và loại màu thuốc nhuộm đã được chứng minh trong một số công trình đã được công bố trước đây, cho thấy tiềm năng của chúng như một nhân tố để tăng cường sinh học phân hủy các chất ô nhiễm [6-8]. Trong nghiên cứu này, phenanthrene (một loại PAH) và màu dệt nhuộm được sử dụng làm mẫu nghiên cứu nhằm xác định khả năng phân hủy và loại màu của xạ khuẩn phân lập được từ đó đánh giá tiềm năng ứng dụng vào xử lý sinh học của chúng nghiên cứu.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu và đối tượng

Vật liệu nghiên cứu là mẫu đất ô nhiễm dioxin được thu thập tại Sân bay A So, huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế. 5 mẫu được lấy ở độ sâu 20-30 cm, 5 mẫu ở độ sâu 150-180 cm (hình 1).



Hình 1. Mẫu đất ô nhiễm tại Sân bay A So, Thừa Thiên Huế. (A) Độ sâu 20-30 cm; (B) Độ sâu 150-180 cm.



Đối tượng nghiên cứu là chủng xạ khuẩn có khả năng sinh laccase và khử màu thuốc nhuộm.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Xác định số lượng xạ khuẩn từ đất ô nhiễm dioxin:** Môi trường Gause có cải tiến được sử dụng để xác định số lượng và sàng lọc, nuôi cấy xạ khuẩn với các thành phần (g/l):  $\text{KNO}_3$  2;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,45;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,15;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  0,35;  $\text{NaCl}$  1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0,25;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,01; tinh bột 10; Agar 15 [9], bổ sung thêm 0,01%  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ . Đếm số lượng xạ khuẩn trong đất theo phương pháp đếm số đơn vị hình thành khuẩn lạc trên môi trường Gause cải tiến, có bổ sung dung dịch được chiết từ đất ô nhiễm dioxin chứa hỗn hợp các thành phần gồm chất diệt cỏ và đồng dạng dioxin 2, 3, 7, 8-TCDD. Dịch chiết đất được sử dụng như nguồn cơ chất bổ sung dùng trong phân lập xạ khuẩn từ mẫu đất ô nhiễm dioxin. Cụ thể như sau: 10 g mẫu đất sau khi đồng nhất được bổ sung vào bình tam giác thể tích 250 ml chứa 90 ml nước muối sinh lý vô trùng, lắc 150 vòng/phút trong 15 phút tại nhiệt độ phòng. Dung dịch đất tiếp tục được pha loãng theo dãy số thập phân đến  $10^{-5}$ . 100  $\mu\text{l}$  dung dịch ở mỗi độ pha loãng được cấy trải trên đĩa petri chứa môi trường Gause cải tiến đã bổ sung dịch chiết đất, mẫu sau đó nuôi tại  $30^\circ\text{C}$ . Sau 5-7 ngày nuôi cấy, quan sát và kiểm đếm các khuẩn lạc có đặc điểm hình thái đặc trưng của xạ khuẩn (khuẩn lạc hình dạng phóng xạ, hình vòng tròn đồng tâm; khuẩn lạc khô, rắn chắc, mép khuẩn lạc hằn sâu vào môi trường, bề mặt khuẩn lạc có lỗ...).

**Xác định hoạt tính laccase:** Hoạt tính laccase được xác định dựa trên sự oxy hóa 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) tạo thành hợp chất được hấp thụ ánh sáng mạnh tại bước sóng 420 nm [10]. Các chủng xạ khuẩn được nuôi trong môi trường Gause lỏng ở  $30^\circ\text{C}$ , lắc 200 vòng/phút. Sau mỗi 24 giờ, 1 ml dịch nuôi cấy được thu và ly tâm 10.000 vòng/phút ở  $4^\circ\text{C}$  để xác định hoạt tính laccase. Một lượng dung dịch chứa enzyme được ủ với 1 mM ABTS trong đệm sodium acetate 33,4 mM, pH 3, trong thể tích phản ứng 1 ml. Phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ phòng trong 2 phút. Dung dịch phản ứng được tiến hành đo ở bước sóng 420 nm tại 0 và 2 phút bằng máy quang phổ UV-Vis [11]. Một đơn vị hoạt tính laccase là lượng enzyme cần thiết để tạo thành 1  $\mu\text{M}$  sản phẩm từ ABTS trong thời gian 1 phút, ở điều kiện thí nghiệm.

**Xác định khả năng phân hủy phenanthrene:** Phenanthrene ( $\text{C}_{14}\text{H}_{10}$ ) là một chất thuộc nhóm PAH có chứa 3 vòng benzen, trong nghiên cứu này phenanthrene được sử dụng như PAH mẫu nhằm xác định khả năng phân hủy bởi chủng xạ khuẩn

có hoạt tính laccase. Chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường Gause cải tiến có bổ sung phenanthrene là mẫu thí nghiệm, mẫu đối chứng là môi trường có lượng tương tự phenanthrene nhưng không bổ sung chủng xạ khuẩn. Thí nghiệm được tiến hành trong bình tam giác thể tích 250 ml chứa 50 ml môi trường nuôi cấy, các bình thí nghiệm và đối chứng được giữ ở cùng điều kiện ở  $30^\circ\text{C}$ , lắc ở tốc độ 150 vòng/phút trong 3 tuần. Mẫu được thu nhận sau 3 tuần để xác định dư lượng phenanthrene.

Mẫu nuôi cấy được đem chiết phân lớp với dung môi hexane theo tỷ lệ 1:1. Lắc trong 30 phút, gạn, hút pha trong phía trên, lặp lại bước chiết với hexane 3 lần. Gộp dung dịch đem cô quay thu được cao chiết. Định lượng phenanthrene trên thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (UPLC) theo phương pháp sau: Cao chiết thu được đem hoà tan với 1 ml dung môi acetonitrile; sử dụng cột phân tích ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C18 với các điều kiện như nhiệt độ cột  $30^\circ\text{C}$ ; tốc độ dòng 0,1 ml/phút; thể tích bơm mẫu: 2,0  $\mu\text{l}$ ; pha động acetonitrile/nước theo tỷ lệ 7:3; thời gian chạy 40 phút và đo bằng đầu dò DAD, bước sóng 254 nm [12]. Nồng độ phenanthrene được xác định dựa vào đường chuẩn được xây dựng trong khoảng nồng độ 5-1000  $\mu\text{g/ml}$ . Sự khác biệt về nồng độ phenanthrene giữa mẫu thí nghiệm và đối chứng là cơ sở xác định khả năng phân hủy sinh học bởi chủng xạ khuẩn nghiên cứu. Thí nghiệm được lặp lại hai lần.

**Xác định khả năng loại màu thuốc nhuộm:** Các thuốc nhuộm được sử dụng để đánh giá hiệu quả loại màu bằng enzyme laccase sinh tổng hợp bởi xạ khuẩn gồm các màu với bước sóng hấp thụ cực đại như sau: acid green 27 (620 nm), nova yellow S3R (418 nm), mega fix turquoise BES (430 nm), nova yellow FN2R (430 nm), drimaren yellow CLRR (480 nm), sirius direct searlet BY (490 nm), acid red 299 (520 nm), drimaren red CL5B (540 nm), methyl orange (578 nm), megafix red EBR (540 nm), IN13 (560 nm), acid blue 113 (560 nm), terasil red FBN (592 nm), acid blue 62 (595 nm), direct black CLS (600 nm), acid blue 281 (600 nm), mega fix NAVY FBN (602 nm), nova navy SG (620 nm).

Tổng thể tích phản ứng loại màu thuốc nhuộm là 5 ml bao gồm enzyme laccase thô (hoạt tính 200 U/l), màu thuốc nhuộm (nồng độ 10 mg/l), dung dịch đệm sodium acetate 20 mM pH4. Mẫu đối chứng có chứa màu thuốc nhuộm (nồng độ 10 mg/l), dung dịch đệm sodium acetate 20 mM pH4 và enzyme thô bị biến tính nhiệt ở  $100^\circ$  trong 20 phút. Hiệu

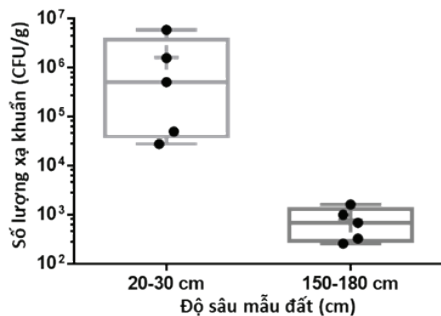
quả loại màu thuốc nhuộm được đánh giá sau 20 phút phản ứng. Độ hấp thụ màu được xác định bằng máy đo quang phổ UV-Vis 752N tại các bước sóng phù hợp với từng màu. Các thí nghiệm được lặp lại hai lần. Khả năng loại màu được xác định theo công thức: % loại màu =  $\frac{(OD_{\text{đối chứng}} - OD_{\text{thí nghiệm}})}{OD_{\text{đối chứng}}} \times 100\%$ .

**Phân tích số liệu:** Số liệu được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 6.01. Sự khác biệt giữa các mẫu thử được xác định thông qua t-test, F-test hoặc one-way ANOVA tùy từng thí nghiệm cụ thể. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các mẫu khi  $p < 0,05$ .

### 3. Kết quả

#### 3.1. Khảo sát nhóm xạ khuẩn trong mẫu đất ô nhiễm dioxin tại Sân bay A So, tỉnh Thừa Thiên Huế

Mẫu đất ô nhiễm dioxin được thu thập tại 2 khoảng độ sâu khác nhau 20-30 cm (mẫu đất khô, tơi và có màu nâu vàng) và 150-180 cm (mẫu đất ướt, bết và có màu xám đen) (hình 1). Các mẫu này được đồng nhất và sử dụng để xác định số lượng xạ khuẩn tổng số có thể nuôi cấy được trên môi trường có chứa chất ô nhiễm. Kết quả phân tích đơn vị hình thành khuẩn lạc cho thấy, xạ khuẩn trong mẫu ở độ sâu 20-30 cm có số lượng lớn hơn so với mẫu ở độ sâu 150-180 cm. Số lượng trung bình của 5 mẫu ở độ sâu 20-30 cm là  $1,63 \times 10^6$  CFU/g, trong khi với 5 mẫu ở độ sâu 150-180 cm là  $7,84 \times 10^2$  CFU/g (hình 2). Phân tích F-test xác định số lượng xạ khuẩn ở 2 nhóm mẫu là khác nhau đáng kể về mặt thống kê với  $p < 0,0001$ .



Hình 2. Số lượng xạ khuẩn có thể nuôi cấy được trong mẫu đất ô nhiễm dioxin.

#### 3.2. Khả năng sinh tổng hợp laccase của các chủng xạ khuẩn phân lập được

Các chủng xạ khuẩn phân lập được khảo sát khả năng sinh laccase trên môi trường Gause dịch, mẫu xác định hoạt tính laccase là mẫu dịch nuôi cấy được ly tâm loại bỏ sinh khối. Hoạt tính laccase của mỗi chủng được theo dõi trong 10 ngày nuôi cấy liên tiếp, kết quả nghiên cứu được thể hiện tại bảng 1. Các chủng được khảo sát cho thấy khả năng sinh tổng hợp laccase với mức độ khác nhau, tuy nhiên số lượng

chủng có hoạt tính cao trên 20 U/l có 5/26 chủng, chiếm tỷ lệ 19,2% bao gồm: XAS3, X4, X8.5, X9.1 và X10.6 (bảng 1). Chủng XAS3 cho thấy khả năng sinh hoạt tính laccase cao nhất trong bộ giống được sàng lọc, hoạt tính cao nhất đạt 468,06 U/l sau 8 ngày nuôi cấy. Chủng XAS3 được phân loại thuộc chi *Streptomyces* dựa trên trình tự mã hóa gen 16S rDNA và được đặt tên là *Streptomyces* sp. XAS3. Chủng cho hoạt tính laccase cao thứ hai là X8.5, chủng này sinh laccase cao nhất sau 9 ngày đạt 138,19 U/l. Ngày đạt hoạt tính cao nhất khác nhau giữa các chủng xạ khuẩn, tuy nhiên thường trong khoảng 7-10 ngày nuôi cấy (bảng 1).

Bảng 1. Khảo sát khả năng sinh laccase của các chủng xạ khuẩn được phân lập từ đất ô nhiễm dioxin.

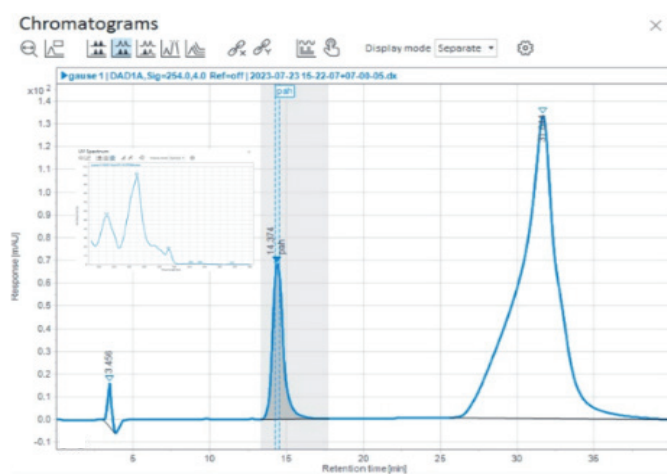
| Ký hiệu chủng | Ngày thu mẫu nuôi cấy khảo sát hoạt tính laccase |       |        |        |        |        |        |        |        |        |
|---------------|--------------------------------------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|               | 1                                                | 2     | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     |
| X1            | 1,81                                             | 2,29  | 2,5    | 1,74   | 1,46   | 2,01   | 2,08   | 2,57   | 3,19   | 2,85   |
| X1.1          | 1,74                                             | 2,15  | 1,88   | 1,74   | 2,64   | 1,53   | 1,32   | 1,67   | 1,39   | 1,6    |
| X1.2          | 1,6                                              | 2,15  | 0,9    | 1,39   | 1,11   | 1,04   | 0,9    | 0,83   | 0,63   | 1,04   |
| X1.3          | 1,39                                             | 1,6   | 1,18   | 1,04   | 0,97   | 0,97   | 0,56   | 0,83   | 0,83   | 1,74   |
| X1.4          | 0,07                                             | 0,07  | 1,18   | 0,63   | 0,69   | 0,69   | 1,39   | 1,6    | 0,42   | 0,56   |
| X1.5          | 0                                                | 0,07  | 1,11   | 0,35   | 0,76   | 0,69   | 1,39   | 2,29   | 4,03   | 3,82   |
| X2            | 1,25                                             | 2,01  | 1,6    | 1,67   | 1,32   | 1,74   | 1,6    | 1,74   | 1,46   | 1,74   |
| XAS3          | 2,08                                             | 90,28 | 140,97 | 239,58 | 299,31 | 328,47 | 352,08 | 468,06 | 288,89 | 230,56 |
| X4            | 0                                                | 0,14  | 35,97  | 56,25  | 34,03  | 50,69  | 78,47  | 77,08  | 84,03  | 93,75  |
| X5            | 0,07                                             | 0,14  | 1,74   | 1,32   | 1,6    | 1,74   | 2,71   | 2,5    | 2,5    | 2,5    |
| XV6.2         | 0                                                | 0,14  | 1,81   | 1,25   | 1,39   | 1,53   | 2,29   | 2,15   | 2,5    | 2,01   |
| X7            | 0,07                                             | 0,14  | 1,88   | 1,67   | 1,67   | 1,88   | 3,19   | 2,57   | 2,36   | 2,08   |
| X8.1          | 0                                                | 0     | 0,97   | 0,76   | 0,9    | 1,04   | 1,67   | 1,32   | 1,53   | 1,32   |
| X8.2          | 0,07                                             | 0,07  | 1,67   | 1,32   | 1,25   | 1,67   | 2,78   | 2,22   | 2,15   | 1,94   |
| X8.3          | 0                                                | 0,07  | 1,6    | 1,39   | 1,6    | 1,81   | 3,13   | 2,57   | 2,64   | 2,64   |
| X8.4          | 0                                                | 0     | 1,04   | 0,83   | 0,76   | 0,76   | 0,9    | 0,56   | 0,63   | 0,63   |
| X8.5          | 1,81                                             | 13,21 | 59,72  | 56,25  | 54,17  | 56,32  | 139,58 | 120,83 | 138,19 | 135,42 |
| X9.1          | 0,07                                             | 0     | 12,01  | 12,15  | 12,01  | 12,43  | 25,63  | 24,1   | 26,53  | 17,22  |
| X9.2          | 1,11                                             | 7,92  | 1,04   | 0,63   | 1,04   | 0,69   | 1,11   | 0,35   | 0,97   | 0,28   |
| X10.1         | 1,145                                            | 2,33  | 1,705  | 1,285  | 1,565  | 1,945  | 2,185  | 10,035 | 3,54   | 4,585  |
| X10.2         | 0,8                                              | 0,315 | 0,14   | 0,245  | 0,245  | 0,21   | 0      | 0,245  | 0,21   | 0,035  |
| X10.3         | 1,425                                            | 2,535 | 2,12   | 2,775  | 1,945  | 1,84   | 2,19   | 1,6    | 1,98   | 1,285  |
| X10.4         | 0                                                | 0,07  | 1,53   | 1,39   | 1,74   | 1,88   | 3,4    | 2,99   | 3,33   | 3,19   |
| X10.5         | 0                                                | 0,14  | 2,08   | 1,74   | 1,94   | 2,15   | 3,26   | 2,92   | 3,13   | 2,29   |
| X10.6         | 0,07                                             | 0,07  | 2,36   | 2,22   | 1,74   | 1,88   | 30,07  | 64,65  | 62,29  | 47,22  |
| X10.7         | 0,59                                             | 1,18  | 1,945  | 1,91   | 2,255  | 2,155  | 2,71   | 2,19   | 2,33   | 1,98   |

Dữ liệu thể hiện hoạt tính laccase (U/l) dưới dạng số trung bình của hai lần đo.

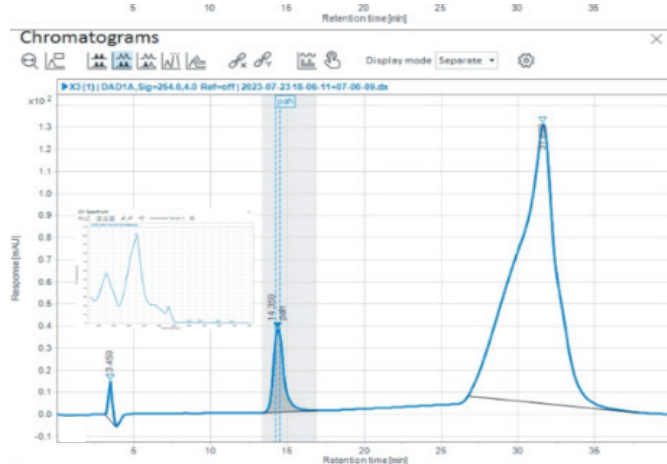
### 3.3. Khả năng phân hủy phenanthrene của chủng xạ khuẩn sinh laccase *Streptomyces* sp. XAS3

Phenanthrene được sử dụng như PAH mẫu cho khảo sát khả năng phân hủy sinh học bởi chủng xạ khuẩn sinh laccase *Streptomyces* sp. XAS3. Dư lượng phenanthrene trong mẫu thí nghiệm và mẫu đối chứng được phân tích bằng máy sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC) và tính toán nồng độ dựa vào đường chuẩn đã được xây dựng theo phương trình sau  $Y=19,8587x + 11,9106$  với  $R^2=0,9999$ . Phổ phân tích mẫu chiết phenanthrene từ mẫu thí nghiệm và đối chứng được thể hiện tại hình 3. Hình ảnh phổ cho thấy, dịch chiết từ hai loại mẫu chứa phenanthrene có cùng thời gian lưu và phổ UV của chất chiết và kết quả đặc trưng cho phenanthrene.

(A)

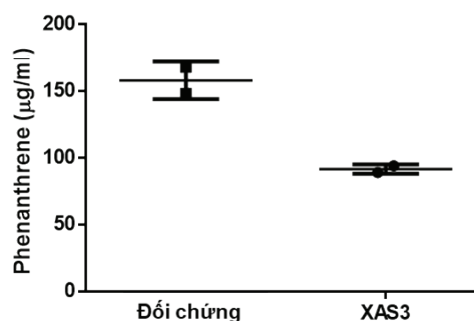


(B)



**Hình 3. Phổ phân tích sắc ký lỏng siêu hiệu năng. (A)** Mẫu đối chứng; **(B)** Mẫu phân hủy sinh học phenanthrene bởi *Streptomyces* sp. XAS3.

Sau 3 tuần nuôi cấy trên môi trường có bổ sung phenanthrene, XAS3 phân hủy được 42,04% phenanthrene so với mẫu đối chứng. Hàm lượng phenanthrene còn lại trong mẫu nuôi cấy với XAS3 sau 3 tuần là  $91,74 \pm 3,439 \mu\text{g/ml}$ , trong khi mẫu đối chứng đạt  $158,3 \pm 14,06 \mu\text{g/ml}$  (hình 4).



**Hình 4. Khả năng phân hủy phenanthrene của *Streptomyces* sp. XAS3.** XAS3: *Streptomyces* sp. XAS3. Biểu đồ thể hiện giá trị trung bình và độ lệch chuẩn,  $n=2$ , t-test với  $p<0,05$ .

### 3.4. Khả năng loại màu thuốc nhuộm của laccase thô sinh tổng hợp bởi *Streptomyces* sp. XAS3

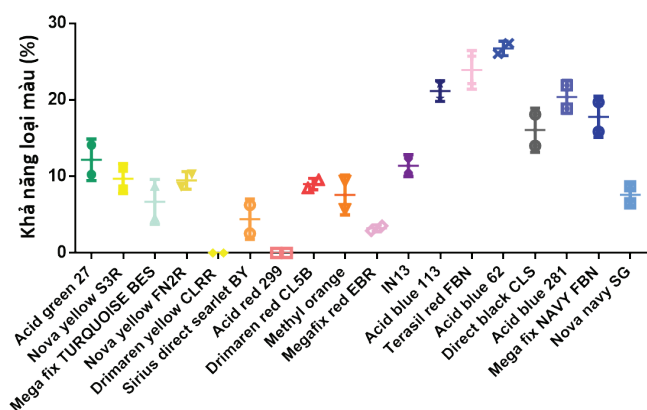
Khảo sát khả năng loại màu thuốc nhuộm màu được sử dụng trong ngành dệt may sử dụng dịch lên men có hoạt tính laccase (laccase thô) của chủng *Streptomyces* sp. XAS3 được tiến hành với 18 loại thuốc nhuộm khác nhau. Sự khác biệt màu sắc so với mẫu đối chứng sau 20 phút phản ứng được thể hiện tại hình 5. Bằng mắt thường có thể quan sát sự thay đổi màu của một số thuốc nhuộm, đáng chú ý là nhóm màu xanh có xu hướng được loại màu nhanh hơn so với nhóm màu vàng và đỏ.



**Hình 5. Sự thay đổi màu của các thuốc nhuộm sau 20 phút phản ứng với dịch laccase thô của *Streptomyces* sp. XAS3. (A)** Mẫu thí nghiệm; **(B)** Mẫu đối chứng.

Hiệu quả loại màu được xác định thông qua phần trăm lượng màu loại bỏ so với đối chứng, mỗi màu được xác định tại bước sóng đặc trưng riêng. Sau 20 phút loại màu, 16/18 loại thuốc nhuộm thử nghiệm được loại màu với hiệu suất khác nhau, kết quả thể hiện tại hình 6 với giá trị trung bình và độ lệch chuẩn, phân tích one-way ANOVA với  $p<0,0001$ . Trong đó, acid blue 62 cho thấy hiệu quả loại màu cao nhất, đạt  $26,72 \pm 0,94\%$ . Có tổng số 6/18 thuốc nhuộm bị loại bỏ trên 15% màu bởi laccase thô của XAS3 bao gồm acid blue 113, terasil red FBN, direct black CLS, acid blue 281, mega fix NAVY FBN và acid blue 62 (hình 6). Trong khi đó, các màu như: drimaren yellow CLRR, acid red 299 hoàn toàn không bị loại màu sau 20 phút ở điều kiện pH 4, nhiệt độ phòng và xúc tác phản ứng với laccase 200 U/l.





Hình 6. Khả năng loại màu của laccase sinh tổng hợp bởi *Streptomyces* sp. XAS3.

#### 4. Bàn luận

Xạ khuẩn là nhóm vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp đa dạng các chất chuyển hóa có hoạt tính sinh học cùng với nhiều loại enzyme có giá trị. Đất ô nhiễm chất diệt cỏ/dioxin tại Việt Nam là nguồn vi sinh vật đặc thù với nhiều tiềm năng ứng dụng trong xử lý sinh học môi trường, mặc dù vậy, nhóm xạ khuẩn chưa được tập trung khai thác. Trong nghiên cứu này, nhận thấy sự khác biệt số lượng xạ khuẩn có thể nuôi cấy được ở các tầng đất với độ sâu khác nhau, cùng với việc xác định được số lượng đáng kể ở độ sâu 1,8 m trong điều kiện đất ngập nước tại Sân bay A So, cho thấy tiềm năng ứng dụng nhóm xạ khuẩn trong xử lý sinh học theo phương pháp chôn lấp tích cực khi điều kiện trong hố chôn lấp phù hợp cho sự tồn tại, sinh trưởng và phát triển của nhóm vi sinh vật này. Tuy nhiên, cần nhiều nghiên cứu cụ thể hơn và sử dụng những công cụ nghiên cứu hiện đại, cập nhật hơn (ví dụ như phân tích chỉ thị phân tử 16S rRNA amplicon) để đánh giá mức độ đa dạng của nhóm vi sinh vật này trong đất ô nhiễm dioxin đặc thù.

Có một vài công bố trước đây liên quan đến xạ khuẩn phân lập từ đất ô nhiễm dioxin và khả năng sinh laccase của chúng [13, 14], các chủng này có nguồn gốc từ đất ô nhiễm tại Sân bay Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Với nguồn đất ô nhiễm tại Sân bay A So, tỉnh Thừa Thiên Huế như trong nghiên cứu này cũng cho thấy sự có mặt của các chủng xạ khuẩn có khả năng sinh laccase. Tuy nhiên, tỷ lệ các chủng có hoạt tính cao trên tổng số chủng phân lập được thấp, chỉ 2 chủng cho hoạt tính trên 100 U/l trong bộ giống phân lập được. Các chủng còn lại vẫn xác định được laccase, tuy nhiên hoạt tính không cao. Mặc dù vậy, khả năng sinh laccase của các chủng trong nghiên cứu này cao hơn một số

chủng cũng được phân lập từ đất ô nhiễm đã được công bố trước đây, ví dụ như xạ khuẩn từ đất ô nhiễm dioxin tại Sân bay Biên Hòa với hoạt tính laccase khi sàng lọc dao động 0,38-0,8 U/l [13]. Điều này cho thấy khả năng sinh laccase bởi xạ khuẩn là đặc điểm khá phổ biến, tuy nhiên hiệu suất sinh laccase tùy thuộc vào đặc tính từng chủng cụ thể.

Một số chủng xạ khuẩn cho thấy vai trò quan trọng trong phân hủy các chất ô nhiễm, các công bố đã chứng minh khả năng phân hủy dioxin và các chất ô nhiễm khác của xạ khuẩn như ứng dụng chủng *Rhodococcus opacus* vào quá trình tăng cường sinh học để loại bỏ dioxin [15]. Trong nghiên cứu về các gen chức năng tham gia quá trình loại bỏ clo của vi khuẩn phân hủy các hợp chất vòng thơm, đã nhận thấy một số chủng xạ khuẩn phân lập được trong một mô hình vi sinh vật bán kỵ khí đều có thể sử dụng naphthalene làm nguồn năng lượng và carbon duy nhất [16]. Trong nhóm xạ khuẩn thì chi *Streptomyces* là chi có nhiều đại diện đã được chứng minh khả năng phân hủy các chất PAH cũng như các chất ô nhiễm khác [6]. Chủng XAS3 thuộc chi *Streptomyces* cũng cho thấy khả năng phân hủy PAH với hơn 42% phenanthrene bị loại bỏ, thời gian phân hủy phenanthrene của XAS3 khá dài, tuy nhiên kết quả được trình bày là kết quả sàng lọc ban đầu, thu được trong điều kiện chưa tối ưu.

Laccase từ xạ khuẩn có các đặc điểm nổi trội so với các nguồn khác như khả năng chịu nhiệt, chịu dung môi, độ bền cao [6]. Các nghiên cứu về đặc tính laccase từ xạ khuẩn còn ít, đánh giá tổng quan sâu về laccase của xạ khuẩn hiện tại còn giới hạn, các nghiên cứu chính chủ yếu tập trung vào chi *Streptomyces*. Chi này có nhiều chủng được công bố với khả năng loại màu, cả màu nhóm azo và anthraquinone [17]. Quá trình loại màu bởi xạ khuẩn thông qua hai con đường chính là hấp phụ trên sinh khối và chuyển hóa sinh học. Màu bị loại bỏ có thể do một số enzyme khác nhau như: laccase, manganese peroxidase (MnP) hay azoreductase... [18], trong đó laccase và MnP là các enzyme ngoại bào. Nghiên cứu thực hiện với dịch lên men đã loại bỏ sinh khối của chủng XAS3 cho thấy, chỉ có mặt của laccase mà không có MnP, do đó khả năng loại màu bởi dịch lên men XAS3 được cho là xúc tác loại màu bởi laccase có trong dịch lên men. Kết quả sàng lọc cho thấy, laccase sinh tổng hợp bởi XAS3 có khả năng loại bỏ cả màu azo và anthraquinone. Mặc dù hiệu quả loại màu cao nhất nhận thấy ở acid blue 62, màu thuộc nhóm anthraquinone, nghiên cứu không xác định được quy luật hay xu hướng trong hiệu quả loại màu của laccase XAS3 theo cấu trúc của thuốc nhuộm màu. Để

tìm ra xu hướng cũng như nâng cao hiệu quả loại màu, sàng lọc với nhiều loại thuốc nhuộm màu hơn và bổ sung thêm các chất trung gian cho laccase là các hướng nghiên cứu tiếp tục được triển khai.

## 5. Kết luận

Xạ khuẩn có mặt trong đất ô nhiễm dioxin tại Sân bay A So, tỉnh Thừa Thiên Huế với số lượng không giống nhau ở các tầng đất với độ sâu khác nhau. Các chủng xạ khuẩn có nguồn gốc từ đất ô nhiễm được khảo sát có khả năng sinh laccase, hoạt tính cao nhất đạt được sau 7-10 ngày nuôi cấy. Chủng chọn lọc *Streptomyces* sp. XAS3 sinh laccase cao có khả năng phân hủy phenanthrene và dịch laccase thô thu được có khả năng loại màu thuốc nhuộm thuộc cả nhóm azo và anthraquinone.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Tran, H. Nguyen, T. Nguyen, et al. (2022), "Microbial communities along 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzodioxin concentration gradient in soils polluted with agent orange based on metagenomic analyses", *Microb. Ecol.*, **85**, pp.197-208, DOI: 10.1007/s00248-021-01953-y.
- [2] S. Saibu, S.A. Adebuseye, G.O. Oyetibo (2023), "Soil microbiome response to 2-chlorodibenzo-*p*-dioxin during bioremediation of contaminated tropical soil in a microcosm-based study", *J. Hazard. Mater.*, **451**, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.131105.
- [3] C.I. Mawang, A.S. Azman, A.S.M. Fuad, et al. (2021), "Actinobacteria: An eco-friendly and promising technology for the bioaugmentation of contaminants", *Biotechnol. Rep.*, **32**, DOI: 10.1016/j.btre.2021.e00679.
- [4] H. Habe, K. Ide, M. Yotsumoto, et al. (2002), "Degradation characteristics of a dibenzofuran-degrader *Terrabacter* sp. strain DBF63 toward chlorinated dioxins in soil", *Chemosphere*, **48**(2), pp.201-207, DOI: 10.1016/S0045-6535(02)00064-4.
- [5] L. Karthik (2022), *Actinobacteria: Microbiology to Synthetic Biology*, Springer Singapore, DOI: 10.1007/978-981-16-5835-8.
- [6] L. Arregui, M. Ayala, X.G. Gil, et al. (2019), "Laccases: Structure, function, and potential application in water bioremediation", *Microb. Cell Fact.*, **18**(1), pp.1-33, DOI: 10.1186/s12934-019-1248-0.
- [7] L. Limaye, R. Patil, P. Ranadive, et al. (2017), "Application of potent actinomycete strains for bio-degradation of domestic agro-waste by composting and treatment of pulp-paper mill effluent", *Adv. Microbiol.*, **7**(1), pp.94-108, DOI: 10.4236/aim.2017.71008.
- [8] T. Alves, R. Fernandes, W. Batista, et al. (2014), "Laccases from actinobacteria - What we have and what to expect", *Advances in Microbiology*, **4**(6), pp.285-296, DOI: 10.4236/aim.2014.46035
- [9] G.F. Gause, T.P. Preobrazhenskaya, M.A. Sveshnikova (1983), "A guide for the determination of actinomycetes - Genera *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, and *Chainia*", *Nauk. Moscow.*, **22**, pp.52-71.
- [10] F. Sheikhi, M.R. Ardakani, N. Enayatizamir, et al. (2012), "The determination of assay for laccase of *Bacillus subtilis* WPI with two classes of chemical compounds as substrates", *Indian J. Microbiol.*, **52**(4), pp.701-707, DOI: 10.1007/s12088-012-0298-3.
- [11] M. Gunne, V.B. Urlacher (2012), "Characterization of the alkaline laccase Ssl1 from *Streptomyces sviveus* with unusual properties discovered by genome mining", *PLOS ONE*, **7**(12), pp.1-8, DOI: 10.1371/journal.pone.0052360.
- [12] G.M. Titato, F.M. Lanças (2006), "Optimization and validation of HPLC-UV-DAD and HPLC-APCI-MS methodologies for the determination of selected PAHs in water samples", *J. Chromatogr. Sci.*, **44**(1), pp.35-40, DOI: 10.1093/chromsci/44.1.35.
- [13] N.Q. Huy, N.B. Huu, N.T.T. Ngan, et al. (2012), "Producing extracellular enzymes peroxidase, laccase and degrading aromatic compounds by actinomycete strain XKBH1", *Vietnam J. Sci. Technol.*, **50**(3) (in Vietnamese).
- [14] N. Kimura, Y. Urushigawa (2001), "Metabolism of dibenzo-*p*-dioxin and chlorinated dibenzo-*p*-dioxin by a gram-positive bacterium, *Rhodococcus opacus* SAO101", *J. Biosci. Bioeng.*, **92**(2), pp.138-143, DOI: 10.1016/S1389-1723(01)80214-0.
- [15] S. Kaiya, S. Utsunomiya, S. Suzuki, et al. (2012), "Isolation and functional gene analyses of aromatic-hydrocarbon-degrading bacteria from a polychlorinated-dioxin-dechlorinating process", *Microbes Environ.*, **27**(2), pp.127-135, DOI: 10.1264/jsme2.ME11283.
- [16] C. Sun, J. Xiao, L. Bai, et al. (2023), "Defined and natural PAH contaminations shift PAH-degrading bacterial community in rhizosphere of ornamental plant species *Echinacea purpurea* L.", *Environ. Technol. Innov.*, **31**, DOI: 10.1016/j.eti.2023.103189.
- [17] B. Chakravarthi, V. Mathkala, U.M.D. Palempalli (2021), "Degradation and detoxification of Congo red azo dye by immobilized laccase of *Streptomyces sviveus*", *J. Pure Appl. Microbiol.*, **15**(2), pp.864-876, DOI: 10.22207/JPAM.15.2.41.
- [18] N.H. Adenan, Y.Y. Lim, A.S.Y. Ting (2022), "Removal of triphenylmethane dyes by *Streptomyces bacillaris*: A study on decolorization, enzymatic reactions and toxicity of treated dye solutions", *J. Environ. Manage.*, **318**, DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.115520.

# Đánh giá khả năng kháng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin của pinostrobin từ cao chiết Trâm tròn (*Syzygium glomeratum*)

Mai Thị Ngọc Lan Thanh<sup>1\*</sup>, Hoàng Anh Hoàng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Y - Dược, Trường Đại học Thủ Dầu Một, 6 Trần Văn Ôn, phường Phú Hòa, TP Thủ Dầu Một, tỉnh Bình Dương, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 268 Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 6/10/2023; ngày chuyển phản biện 9/10/2023; ngày nhận phản biện 31/10/2023; ngày chấp nhận đăng 3/11/2023

## Tóm tắt:

Tụ cầu vàng kháng methicillin (MRSA), mầm bệnh phổ biến nhất trong môi trường bệnh viện và cộng đồng, có thể gây nhiễm trùng nghiêm trọng và thậm chí gây tử vong. Pinostrobin được tách chiết từ cao ethanol Trâm tròn có hoạt tính kháng MRSA. Nghiên cứu này thực hiện nhằm khảo sát khả năng kháng *Staphylococcus aureus* kháng MRSA từ tinh chất pinostrobin. Sử dụng phương pháp bàn cờ để xác định khả năng hợp lực của pinostrobin và vancomycin trong hoạt tính kháng MRSA. Kết quả xác định được pinostrobin có khả năng hợp lực với vancomycin kháng MRSA với chỉ số nồng độ ức chế phân đoạn (FIC) = 0,5. Sử dụng phương pháp nhuộm với crystal violet để thử nghiệm khả năng ức chế hình thành biofilm của pinostrobin trên MRSA. Kết quả cho thấy, pinostrobin không có khả năng ức chế hình thành biofilm trên MRSA. Sử dụng phương pháp lai miễn dịch với kháng thể đơn dòng bất protein PBP2a cho thấy, pinostrobin ức chế sự biểu hiện của protein PBP2a trên MRSA. Pinostrobin được thu nhận từ chi Trâm, có khả năng kháng MRSA và khả năng hợp lực với vancomycin, bước đầu xác định đích tác động của pinostrobin trên MRSA là protein PBP2a.

Từ khóa: hoạt tính kháng khuẩn, pinostrobin, tụ cầu vàng kháng methicillin.

Chỉ số phân loại: 1.6, 3.5

## Evaluation of the ability of pinostrobin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from *Syzygium glomeratum* extract

Thi Ngọc Lan Thanh Mai<sup>1\*</sup>, Hoang Anh Hoang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medical, Thu Dau Mot University, 6 Tran Van On Street, Phu Hoa Ward, Thu Dau Mot City, Binh Duong Province, Vietnam

<sup>2</sup>Faculty of Chemical Engineering, Ho Chi Minh University of Technology, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 268 Ly Thuong Kiet Street, Ward 14, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 6 October 2023; revised 31 October 2023; accepted 3 November 2023

## Abstract:

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), the most common pathogen in hospital and community environments, can cause serious and even fatal infections. Pinostrobin is isolated from the ethanol extract of *Syzygium glomeratum*, which has anti-MRSA activity. This research was conducted with the purpose of evaluating the anti-MRSA activity of pinostrobin. The checkerboard method was used for the determination of synergism between pinostrobin and vancomycin in anti-MRSA activity. The results show that pinostrobin has the ability to synergise with vancomycin anti-MRSA through the fractional inhibitory concentration index FIC index equals 0.5. The crystal violet-based assay is used to evaluate the MRSA biofilm formation of pinostrobin. The results show that the pinostrobin did not cause inhibition of MRSA biofilm formation. Using the PBP2a latex agglutination test to determine the absence of PBP2a protein when MRSA was grown in culture medium-supplied pinostrobin shows that pinostrobin inhibited the expression of PBP2a protein in the cell wall of MRSA. Pinostrobin was purified from the *Syzygium* genus, which has the potency of anti-MRSA activity and the synergism with vancomycin, initially processing the inhibition of expression PBP2a protein in the cell wall of MRSA.

Keywords: anti-bacterial activity, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, pinostrobin.

Classification numbers: 1.6, 3.5

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



## 1. Đặt vấn đề

Các bệnh nhiễm khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng MRSA rất khó điều trị, các bệnh nhiễm khuẩn liên quan là nhiễm trùng máu, nhiễm trùng phổi... do các yếu tố độc lực là vấn đề trong y tế toàn cầu hiện nay [1]. Ngoài ra, MRSA có hai cơ chế kháng kháng sinh phổ biến hiện nay đối với nhóm  $\beta$ -lactam là biểu hiện enzym  $\beta$ -lactamase và protein PBP2a [2]. Nghiên cứu tỷ lệ tử vong trong vòng 30 ngày đối với bệnh viêm phổi bệnh viện từ 18,7 đến 40,8% tại 10 nước châu Á, trong đó MRSA chiếm 82,1% trong tổng số các chủng *S. aureus* phân lập [3]. Năm 2017, Tổ chức Y tế thế giới (WHO) xác định các bệnh nhiễm MRSA là đối tượng ưu tiên nghiên cứu và phát triển các phương pháp điều trị mới [4].

Vancomycin là tiêu chuẩn vàng trong điều trị các bệnh có liên quan đến MRSA [5]. Chủng MRSA kháng vancomycin (VRSA) được báo cáo chiếm tỷ lệ 6,1% [6]. Trong khoảng 30 năm trở lại đây, các nghiên cứu mới trong việc tìm ra loại kháng sinh mới chưa thực sự thành công, các nghiên cứu dạng sửa đổi dựa vào khung nguyên bản của thuốc kháng sinh thế hệ cũ chiếm chủ yếu.

Dựa vào những lý do trên, nghiên cứu các nguồn kháng sinh mới hoặc các phương pháp mới để kiểm soát vi khuẩn kháng kháng sinh, đặc biệt dạng siêu kháng thuốc là cần thiết [7]. Trong các khuynh hướng nghiên cứu thuốc mới hiện nay thì khả năng kết hợp các hợp chất thực vật với các kháng sinh [8] hoặc kết hợp các hợp chất thực vật với nhau [9] đang được quan tâm nghiên cứu.

Cao chiết ethanol Trâm tròn cho hoạt tính kháng MRSA với giá trị nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) bằng 1 mg/ml [10-12], tinh chất pinostrobin được xem là tinh chất chính được tách chiết từ cao ethanol toàn phần với hiệu suất bằng  $12,79 \pm 0,21$  mg pinostrobin/1 g bột lá khô. Do đó, câu hỏi nghiên cứu được đặt ra là có hay không pinostrobin có liên quan đến khả năng kháng, khả năng hợp lực với kháng sinh vancomycin trên hoạt tính kháng MRSA của cao ethanol toàn phần Trâm tròn. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu xác định hoạt tính sinh học của pinostrobin trong phối hợp với vancomycin đối với *Staphylococcus aureus* kháng MRSA.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* kháng MRSA ATCC® 33591, chủng vi khuẩn *Staphylococcus aureus* nhạy methicillin (MSSA) ATCC® 6538 được cung cấp bởi Microbiologics của Hoa Kỳ. Pinostrobin được tách chiết từ cao ethanol toàn phần Trâm tròn (*Syzygium glomeratum*) bộ phận làm cao gồm lá và cành non, được lưu trữ tại Khoa Y - Dược, Trường Đại học Thủ Dầu Một.

### 2.2. Phương pháp xác định hoạt tính kháng MRSA bằng phương pháp vi pha loãng

MIC là nồng độ thấp nhất ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn ở mức có thể quan sát được [13]. Phương pháp pha loãng dây nồng độ trên đĩa 96 giếng được thực hiện nhằm mục đích xác định MIC. Sử dụng đĩa nuôi cấy 96 giếng, mỗi giếng được bổ sung gồm các thành phần: 90  $\mu$ l môi trường lỏng Muller-Hinton (MHB), 10  $\mu$ l dịch vi khuẩn có nồng độ  $10^6$  CFU/ml, 100  $\mu$ l dung dịch pinostrobin được hòa tan trong DMSO 20%, thể tích cuối trong mỗi giếng là 200  $\mu$ l.

Trên đĩa 96 giếng, các giếng được bố trí theo sơ đồ thí nghiệm, dung dịch pinostrobin được pha loãng với độ pha loãng 2X thành một dãy từ 51,2  $\mu$ g/ml đến 1,6  $\mu$ g/ml. Các giếng đối chứng gồm: Giếng chỉ có môi trường Muller-Hinton lỏng (MHB); giếng chứa môi trường MHB và chủng vi khuẩn; giếng chứa môi trường MHB, vi khuẩn, DMSO; giếng chứa môi trường MHB, vi khuẩn, kháng sinh. Các giếng sẽ được ủ hiệu khí ở 37°C trong vòng 24 giờ trong tủ nuôi vi sinh. Sau thời gian ủ, quan sát bằng mắt thường so với đối chứng, xác định giếng không có sự tăng trưởng của vi khuẩn, sau đó giếng có nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ được nhận định là giếng có giá trị MIC của dung dịch pinostrobin. Trong mỗi giếng lấy 150  $\mu$ l dịch trải trên 3 đĩa Muller Hinton agar (MHA), mỗi đĩa 50  $\mu$ l dịch, sau đó tiếp tục được ủ trong tủ ấm ở 37°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, vi khuẩn không hiện diện hoặc mật độ tế bào vi khuẩn trên đĩa nhỏ hơn 300 CFU/ml thì xác định nồng độ thấp nhất trong dãy pha loãng của cao phân đoạn trong giếng khảo sát là MIC [14]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, trên cùng một sơ đồ thí nghiệm trên 3 đĩa 96 giếng.

### 2.3. Phương pháp xác định khả năng hợp lực của pinostrobin với vancomycin

FICI là chỉ số xác định khả năng hợp lực dựa trên phương pháp bàn cờ. Hoạt động ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn do sự kết hợp của pinostrobin với kháng sinh vancomycin được quan sát tại các giếng mà không có sự tăng trưởng của MRSA [15]. Thí nghiệm được bố trí lặp lại như thí nghiệm xác định giá trị MIC của cao phân đoạn. Các giếng được bố trí phối hợp pinostrobin và vancomycin theo sơ đồ thí nghiệm. Mỗi giếng gồm: 90  $\mu$ l môi trường lỏng Muller-Hinton, 10  $\mu$ l dịch vi khuẩn có nồng độ  $10^6$  CFU/ml, 50  $\mu$ l dung dịch pinostrobin (A), 50  $\mu$ l dung dịch vancomycin (B), thể tích cuối trong mỗi giếng là 200  $\mu$ l. Sau đó, đĩa 96 giếng được ủ trong tủ nuôi vi sinh ở 37°C, trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, vi khuẩn không hiện diện hoặc mật độ tế bào vi khuẩn trên đĩa nhỏ hơn 300 CFU/ml được kiểm tra lại bằng phương pháp trải trên môi trường MHA. Trong mỗi giếng lấy 150  $\mu$ l dịch trải trên 3 đĩa Muller Hinton agar (MHA), mỗi đĩa 50  $\mu$ l dịch, sau đó tiếp tục được ủ trong tủ ấm ở 37°C trong 24 giờ (mỗi đĩa 50  $\mu$ l dịch), các đĩa này sẽ tiếp tục được ủ trong 24 giờ, ở 37°C trong tủ nuôi vi sinh. Sau thời gian ủ, đĩa trải không có sự hiện diện của vi khuẩn thì

giá trị nồng độ của cao phân đoạn/tinh chất và giá trị nồng độ của kháng sinh trong giếng khảo sát được sử dụng để tính toán chỉ số FIC theo công thức (1):

$$FICI = FIC A + FIC B = \frac{MIC A \text{ trong sự kết hợp}}{MIC A} + \frac{MIC B \text{ trong sự kết hợp}}{MIC B} \quad (1)$$

Nếu  $FICI \leq 0,5$  chỉ ra sự hợp lực; Nếu  $0,5 < FICI \leq 0,75$  chỉ ra khả năng cộng hợp (addition); Nếu  $0,75 < FICI \leq 1$  chỉ ra hợp lực một phần (partial synergy); Nếu  $2 < FICI$  chỉ ra khả năng không có tương tác (antagonism) [15-17]. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần, trên cùng một sơ đồ thí nghiệm trên 3 đĩa 96 giếng.

**Bảng 1. Sơ đồ thí nghiệm giữa pinostrobin và vancomycin.**

|   | 1                                      | 2      | 3        | 4        | 5              | 6             | 7                                       | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|----------------------------------------|--------|----------|----------|----------------|---------------|-----------------------------------------|---|---|----|----|----|
| E | TSB                                    | TSB+VK | DMSO 20% | DMSO 10% | VAN 16 (µg/ml) | VAN 8 (µg/ml) | Pino 1...pino 6 (51,2 µg/ml, DMSO 20%)  |   |   |    |    |    |
| F | TSB                                    | TSB+VK | DMSO 20% | DMSO 10% | VAN 16 (µg/ml) | VAN 8 (µg/ml) | SCTT EA1...SCTT EA6 (2 mg/ml, DMSO 20%) |   |   |    |    |    |
| G | pinostrobin (1,2,3) x VAN (8, 4, 2, 1) |        |          |          |                |               |                                         |   |   |    |    |    |
| H | SCTT Ea (1,2,3) x VAN (8, 4, 2, 1)     |        |          |          |                |               |                                         |   |   |    |    |    |

TSB: Môi trường lỏng Tryptone soy; VK: Vi khuẩn; VAN: Vancomycin; Pino 1: Pinostrobin (51,2 µg/ml); pino 6: Pinostrobin pha loãng theo dãy từ pino 1 (pha loãng 32 lần so với pino 1).

Theo bảng 1, cách ký hiệu trong sơ đồ thí nghiệm như sau: Pino1 là pinostrobin có nồng độ bằng 51,2 µg/ml. Sau mỗi giếng, nồng độ pha loãng theo dãy với độ pha loãng 2X đến pino 6 bằng 1,6 µg/ml được mô tả trong phương pháp. SCTT EA1 là cao phân đoạn ethyl acetate Trâm tròn có nồng độ bằng 2 mg/ml. Sau mỗi giếng, nồng độ pha loãng theo dãy với độ pha loãng 2X đến SCTT Ea 6 bằng 0,0625 mg/ml được mô tả trong phương pháp. Mỗi giếng trong sơ đồ thí nghiệm có thể tích cuối bằng 200 µl.

Giếng đối chứng chỉ có một biến gồm: 90 µl môi trường TSB, 10 µl dịch vi khuẩn có mật độ  $10^5$  CFU/ml, 100 µl dung dịch khảo sát (được ký hiệu trên sơ đồ). Kết hợp giữa pinostrobin và kháng sinh vancomycin được thực hiện ở dãy G trên đĩa 96 giếng. Kết hợp giữa cao phân đoạn ethyl acetate Trâm tròn với vancomycin được thực hiện ở dãy H trên đĩa 96 giếng. Các thử nghiệm được khảo sát trên chủng MRSA. Giếng kết hợp có hai biến là pinostrobin/cao phân đoạn ethyl acetate Trâm tròn với vancomycin gồm: 90 µl môi trường TSB, 10 µl dịch vi khuẩn có mật độ  $10^5$  CFU/ml, 50 µl pinostrobin/cao phân đoạn ethyl acetate Trâm tròn (được ký hiệu trên sơ đồ), 50 µl kháng sinh vancomycin có nồng độ được ký hiệu trên sơ đồ thí nghiệm.

#### 2.4. Phương pháp xác định khả năng ức chế sự hình thành màng sinh học trên MRSA bằng chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM)

MIC là nồng độ thấp nhất ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn ở mức có thể quan sát được nên việc ức chế sự tăng trưởng có khả năng ảnh hưởng đến sự hình thành biofilm vì

vậy khả năng ức chế hình thành biofilm của pinostrobin trên MRSA được kiểm tra ở nồng độ dưới MIC cụ thể  $\frac{1}{2}$  MIC và  $\frac{1}{4}$  MIC, nhằm xác định khả năng ức chế biofilm trên MRSA của pinostrobin.

Mỗi đĩa petri có chứa tấm thủy tinh có đường kính 4x4 (cm) đã vô trùng được bổ sung các dung dịch gồm: pinostrobin, 10 µl dịch vi khuẩn nuôi qua đêm sao cho mật độ tế bào vi khuẩn trong đĩa bằng  $10^5$  CFU/ml, thêm môi trường TSB có 1% glucose để thể tích cuối cùng trong đĩa bằng 10 ml. Đối chứng đĩa petri có tấm thủy tinh vô trùng chỉ chứa môi trường TSB và 1% glucose với dịch vi khuẩn; đối chứng thứ hai là môi trường TSB có 1% glucose bổ sung kháng sinh cefoxitin ở nồng độ 128 µg/ml và dịch vi khuẩn. Tiếp tục ủ trong tủ ấm ở 35°C, trong vòng 24 giờ. Tiếp theo các đĩa và phiến kính được nhuộm với crystal violet theo phương pháp của E. Mataraci và cs (2012) [18] gồm các bước sau:

Sau khi ủ, môi trường nuôi được loại bỏ và các tấm thủy tinh được rửa ba lần bằng 250 µl PBS, để khô. Tiếp theo, 200 µl dung dịch methanol 99% được bổ sung vào đĩa có chứa tấm thủy tinh trong 20 phút để cố định tế bào vi khuẩn. Sau đó, dung môi methanol được loại bỏ, để khô trong 15 phút. Cuối cùng, các tấm thủy tinh được nhuộm với crystal violet 0,1% (v/v với nước) trong 5 phút. Sử dụng nước cất để rửa vết bẩn dư thừa, sau đó để khô. Bổ sung 250 µl ethanol 95° trong 10 phút. Kết quả được đọc dựa vào sự bắt màu tím trên tấm thủy tinh khi có sự hình thành màng sinh học, nếu tấm thủy tinh không bắt màu tím chứng tỏ không có sự hình thành màng sinh học.

Sau cùng các phiến kính được dán trên băng định carbon và được đưa vào thiết bị phun xạ phủ platinum (Pt). Các mẫu sau đó được đưa vào buồng chụp và tiến hành chụp ảnh SEM bằng máy FESEM S4800 (Hitachi, Nhật).

#### 2.5. Phương pháp xác định khả năng ức chế biểu hiện protein PBP2a của pinostrobin trên chủng MRSA bằng Oxoid PBP2' Latex Agglutination kit

Oxoid PBP2' Latex Agglutination kit là một kit thử nghiệm dựa trên ngưng kết miễn dịch nhanh nhằm phát hiện protein PBP2' (còn được gọi là protein PBP2a) là protein nhận diện chủng vi MRSA. Kit Oxoid PBP2' Latex thuận lợi là xác định trực tiếp sự xuất hiện protein PBP2a. Các thành phần của kit do hãng cung cấp gồm có kháng thể đơn dòng kháng trực tiếp PBP2', dung dịch chiết 1, dung dịch chiết 2, các thẻ, que trải.

Chuẩn bị MRSA xử lý với pinostrobin: ống eppendorf có chứa môi trường TSB và một khuẩn lạc MRSA được nuôi qua đêm ở 37°C, mật độ tế bào đạt  $10^9$  CFU/ml. Sau đó, chuẩn bị ống eppendorf khác bổ sung 10 µl dịch vi khuẩn nuôi qua đêm, 250 µl cao phân đoạn ở nồng độ trong ống bằng giá trị MIC, 240 µl môi trường TSB, thể tích cuối trong mỗi ống bằng 500 µl. Tiếp theo, ủ ống eppendorf trong

vòng 6 giờ, ở 37°C, trong tủ nuôi vi sinh. Cách chuẩn bị ống eppendorf này nhằm xử lý tế bào MRSA trước tác động của pinostrobin. Ống đối chứng gồm: 10 µl dịch vi khuẩn nuôi qua đêm, 250 µl cefoxitin ở nồng độ 128 µg/ml, 240 µl môi trường TSB. Sau thời gian nuôi các ống eppendorf được ly tâm tốc độ 6000 vòng/phút, trong thời gian 5 phút, loại bỏ môi trường nuôi, thu cặn. Các cặn trong ống được hòa lại với 100 µl dung dịch đệm PBS. Các ống này sẽ là nguyên liệu để chiết PBP2a trên chủng MRSA, sau khi MRSA bị xử lý với pinostrobin.

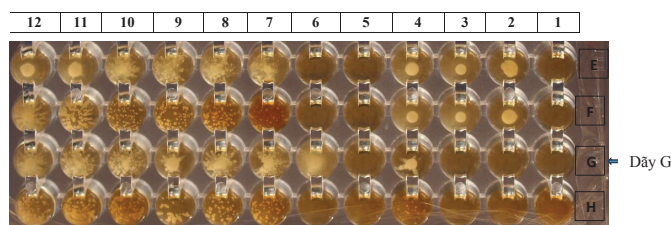
Phương pháp chiết PBP2a và phản ứng kết tủa do sự kết hợp kháng thể - kháng nguyên PBP2a (theo hướng dẫn từ nhà sản xuất): Cho 4 giọt dung dịch chiết 1 (thành phần trong kit) vào tube mới, bổ sung 5 µl dịch vi khuẩn MRSA đã chuẩn bị ở trên. Sau đó, đặt tube vào nước nóng trên 95°C, trong vòng 3 phút. Sau 3 phút, di chuyển các tube ra khỏi bể gia nhiệt và làm nguội đến nhiệt độ phòng. Tiếp theo, thêm 1 giọt dung dịch chiết 2 vào tube và trộn đều. Sau khi trộn đều, ly tâm hỗn hợp trên tốc độ 4500 vòng/phút trong vòng 5 phút. Sau đó loại cặn, thu dịch. Dung dịch thu được sẽ được tiếp tục khảo sát trên thẻ. 50 µl dịch thu được cho vào mỗi vòng trên thẻ khảo sát, một giọt dung dịch Latex có chứa kháng thể đơn dòng kháng PBP2a được thêm vào một vòng trên thẻ. Dùng que trải để trộn đều hỗn hợp trên, sau đó tiếp tục lắc đều các thẻ trong 3 phút cho đến khi nhìn thấy ngưng kết dưới điều kiện ánh sáng bình thường. Kết quả được thu nhận dựa trên sự tủa trên thẻ, sự tủa được giải thích là do sự ngưng kết miễn dịch giữa kháng thể đơn dòng bắt PBP2a và PBP2a thu được từ vách tế bào MRSA, cường độ tủa được so sánh với đối chứng; đối chứng âm là không thấy tủa trên vòng không bổ sung kháng thể đơn dòng bắt PBP2a; đối chứng dương là sự tủa do ngưng kết miễn dịch giữa kháng thể đơn dòng bắt PBP2a và PBP2a thu được từ vách tế bào MRSA [19].

Xử lý thống kê kết quả thu được bằng phần mềm STATGRAPHICS Centurion XV (Statpoint Technologies, Hoa Kỳ). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn.

### 3. Kết quả và bàn luận

Khảo sát khả năng kháng MRSA và khả năng hợp lực giữa pinostrobin và vancomycin được tiến hành bằng phương pháp vi pha loãng và phương pháp bàn cờ. Thí nghiệm được tiến hành theo sơ đồ bảng 1. Kết quả chỉ ra khả năng hợp lực với vancomycin được trình bày ở hình 1, bảng 2.

Theo sơ đồ bố trí thí nghiệm bảng 1, từ giếng số 7 ở dãy E đến giếng số 12 ở dãy E hiện diện sự tăng trưởng của MRSA, nên giá trị MIC của pinostrobin được xác định lớn hơn 51,2 µg/ml. Ở dãy G là sự hợp lực giữa pinostrobin và vancomycin, từ giếng số 1 đến giếng số 3 và 5 không có sự tăng trưởng của MRSA. Dựa vào hình 1, chỉ số FIC được tính toán dựa trên giếng số 3 của dãy G.



**Hình 1. Thí nghiệm khả năng hợp lực của pinostrobin với vancomycin.**

**Bảng 2. Chỉ số FIC của pinostrobin và vancomycin.**

| Nồng độ ức chế tối thiểu (µg/ml) | 1              | 2     | 3           | 4     |
|----------------------------------|----------------|-------|-------------|-------|
| MIC pinostrobin-vanco            | 12,80          | 12,80 | 12,80       | 12,80 |
| MIC pinostrobin                  | 51,20          | 51,20 | 51,20       | 51,20 |
| MIC vanco-pinostrobin            | 2,00           | 1,00  | 0,50        | 0,25  |
| MIC vanco                        | 2,00           | 2,00  | 2,00        | 2,00  |
| FIC pinostrobin                  | 0,25           | 0,25  | 0,25        | 0,25  |
| FIC vancomycin                   | 1,00           | 0,50  | 0,25        | 0,12  |
| FICI                             | 1,25           | 0,75  | <b>0,50</b> | 0,37  |
|                                  | <b>Hợp lực</b> |       |             |       |

MIC pinostrobin-vanco: Giá trị MIC của pinostrobin trong sự hợp lực với vancomycin; MIC vanco-pinostrobin: Giá trị MIC của vancomycin trong sự hợp lực với pinostrobin; MIC pinostrobin: Giá trị MIC của pinostrobin; MIC vanco: giá trị MIC của vancomycin; FIC pinostrobin: chỉ số hợp lực của pinostrobin, FIC vancomycin: Chỉ số hợp lực của vancomycin.

Ở dãy G là sự hợp lực giữa pinostrobin và vancomycin, các giếng làm đục môi trường chứng tỏ có sự hiện diện của MRSA.

Các chất có hoạt tính kháng khuẩn yếu thường tham gia làm chất trợ trong các liệu pháp kháng khuẩn, pinostrobin đã được báo cáo có hoạt tính kháng khuẩn yếu. Đồng thời, kết quả trong thí nghiệm xác định pinostrobin có khả năng hợp lực với vancomycin thông qua chỉ số FIC bằng 0,5. Công thức hợp lực giữa pinostrobin và vancomycin cho hoạt tính kháng MRSA được xác định theo nồng độ tương ứng là 12,8 µg/ml; 0,5 µg/ml (1:1). Trong đó, nồng độ của pinostrobin trong sự hợp lực giảm 4 lần so với giá trị MIC của pinostrobin một mình, nồng độ của vancomycin trong sự hợp lực giảm 4 lần so với giá trị MIC của vancomycin một mình. Hơn nữa, tính chất pinostrobin là chất chính trong cao Trâm tròn đã được báo cáo, cao phân đoạn Trâm tròn cho hoạt tính hợp lực với vancomycin, điều đó chứng minh hoạt tính hợp lực với kháng sinh vancomycin của cao phân đoạn Trâm tròn có liên quan đến tính chất pinostrobin.

Pinostrobin theo các nghiên cứu trước xác định hoạt tính kháng MRSA trung bình yếu. Nghiên cứu của L.R. Christena và cs (2015), chứng minh pinostrobin có tính hợp lực với ciprofloxacin, với công thức hợp lực theo nồng độ tương ứng là 15 µg/ml : 0,125 µg/ml (1:1), giá trị MIC của ciprofloxacin trong sự hợp lực với pinostrobin bằng 0,125 µg/ml, giảm 128 lần so với giá trị MIC của kháng sinh [20].



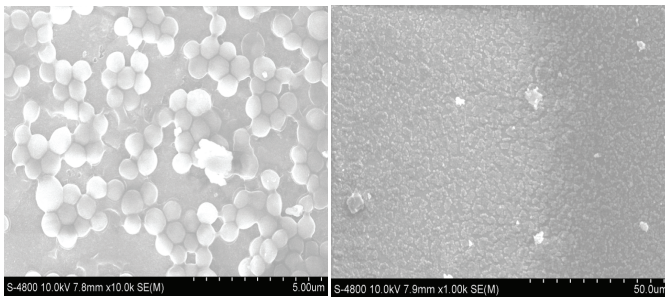
Pinostrobin được xác định có vai trò ức chế kênh bơm thuốc trên chủng MRSA. Tuy nhiên, sự hợp lực của pinostrobin với vancomycin vẫn chưa được đề cập. Trong thử nghiệm này, pinostrobin được xác định là có sự hợp lực với vancomycin. Tác dụng hợp lực là hai chất ức chế hai chặng khác nhau của cùng một con đường tổng hợp [13], vancomycin có đích tác động là tiền chất tổng hợp vách tế bào MRSA, vì vậy pinostrobin có thể ức chế một đích tác động có cùng con đường tổng hợp vách tế bào MRSA. Kết quả này đã xác định một vai trò mới của pinostrobin trong hoạt tính ức chế vi khuẩn MRSA. Dựa trên những kết quả đã có, đề tài tiếp tục khảo sát hoạt tính ức chế sự hình thành biofilm, ức chế biểu hiện protein PBP2a của pinostrobin trên MRSA nhằm tìm kiếm đích tác động của pinostrobin trên MRSA.

#### Ức chế hình thành màng sinh học

MRSA được nuôi trong môi trường TSB và 1% glucose bổ sung pinostrobin ở các nồng độ lần lượt 25,6  $\mu\text{g/ml}$ , 12,8  $\mu\text{g/ml}$ . Ở hình 2 là MRSA trong màng sinh học ở đối chứng môi trường không bổ sung pinostrobin. Các tế bào MRSA trong màng sinh học có hình thái tế bào tròn, vách tế bào rõ đặc trưng, các tế bào xếp như chùm nho.

Độ phóng đại x10.0K

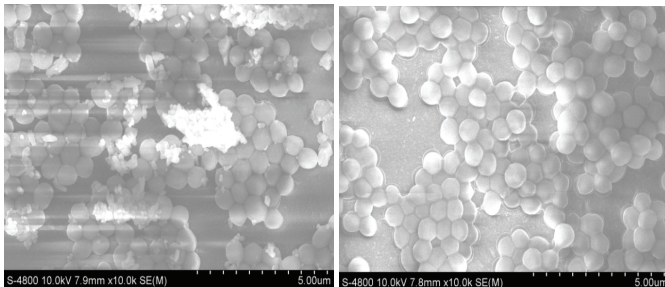
Độ phóng đại x1.0K



**Hình 2.** Màng sinh học của chủng MRSA. MRSA được nuôi trong môi trường TSB+1% glucose.

Độ phóng đại x10.0K 25,6 mg/l

Độ phóng đại x10.0K 12,8 mg/l

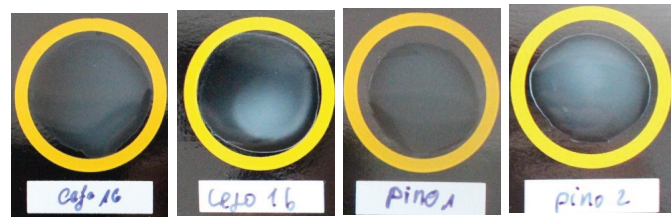


**Hình 3.** Môi trường TSB+1% glucose được bổ sung tinh chất pinostrobin.

Ở hình 3, MRSA hình thành màng sinh học trong môi trường nuôi có bổ sung pinostrobin, Tế bào MRSA mật độ tế bào tương đồng với đối chứng, hình dạng tế bào tròn, vách tế bào rõ đặc trưng tương đồng với đối chứng. Kết quả xác định pinostrobin không có khả năng ức chế hình thành màng sinh học trên MRSA ở các nồng độ khảo sát.

#### Ức chế biểu hiện protein PBP2a trên chủng MRSA

Các chủng MRSA lâm sàng thường có cơ chế kháng kháng sinh phổ biến là biểu hiện gen *mecA* thông qua protein PBP2a. Thử nghiệm xác định sự hiện diện của protein PBP2a trên chủng MRSA khi chủng MRSA được nuôi trong môi trường có bổ sung pinostrobin được thực hiện bằng kit Latex Agglutination.



Vòng 1: MRSA được nuôi trong môi trường có bổ sung cefoxitin (0,016 mg/ml) đối chứng, không có kháng thể bắt PBP2a, vòng 2: MRSA được nuôi trong môi trường có bổ sung cefoxitin (0,016 mg/ml) đối chứng, có kháng thể bắt PBP2a, vòng 3: MRSA được nuôi trong môi trường có bổ sung pinostrobin với nồng độ bằng  $\frac{1}{2}$  MIC (25,6  $\mu\text{g/ml}$ ) (pino1), vòng 4: MRSA được nuôi trong môi trường S có bổ sung pinostrobin với nồng độ pinostrobin bằng  $\frac{1}{4}$  MIC (12,8  $\mu\text{g/ml}$ ) (pino2).

**Hình 4.** Thử nghiệm xác định sự hiện diện PBP2a trên chủng MRSA.

Dựa vào hình 4, khi vi khuẩn được nuôi trong môi trường TSB có bổ sung kháng sinh cefoxitin ở nồng độ bằng 0,016mg/ml đây là nồng độ cảm ứng biểu hiện PBP2a, ở vòng 2 kết quả chỉ ra có sự tủa của kháng thể bắt kháng nguyên PBP2a. So với vòng 1 là đối chứng âm không có kháng thể bắt PBP2a. Tương tự, ở vòng 3 không thấy rõ cường độ tủa của kháng thể bắt PBP2a tương đương đối chứng âm (vòng 1), chứng tỏ pinostrobin ở nồng độ 25,6  $\mu\text{g/ml}$  có khả năng ức chế sự biểu hiện PBP2a. Ngược lại, ở vòng 4 cường độ tủa của kháng thể bắt kháng nguyên PBP2a tương đương đối chứng dương (vòng 2), chứng tỏ pinostrobin ở nồng độ bằng 12,8  $\mu\text{g/ml}$  không có khả năng ức chế sự biểu hiện của protein PBP2a trên MRSA.

Protein PBP2a là enzyme tham gia vào quá trình tổng hợp vách tế bào trên chủng MRSA. Kết quả xác định được pinostrobin ở nồng độ 25,6  $\mu\text{g/ml}$  ức chế sự biểu hiện của protein PBP2a trên MRSA.

#### 4. Kết luận

Các chất có hoạt tính kháng khuẩn yếu thường tham gia làm chất trợ trong các liệu pháp kháng khuẩn. Pinostrobin là một chất kháng khuẩn yếu, nhưng có khả năng hợp lực mạnh với vancomycin đã được xác định trong hoạt tính kháng MRSA với công thức hợp lực giữa pinostrobin và vancomycin được xác định theo tỷ lệ tương ứng bằng 25,6. Kết quả trong nghiên cứu chỉ ra khả năng đích tác động của pinostrobin trên MRSA có thể là tiền chất tổng hợp vách tế bào.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Bremer, G. Fletcher, C. Osborne (2004), “Staphylococcus aureus”, *New Zealand Institute for Crop and Food Research Limited Private Bag*, **4704**, pp.1-6.
- [2] E. Palavecino (2007), “Clinical, epidemiological, and laboratory aspects of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections”, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Protocols*, **391**, pp.1-19, DOI: 10.1007/978-1-59745-468-1\_1.
- [3] D.R. Chung, J.H. Song, S.H. Kim, et al. (2011), “High prevalence of multidrug-resistant nonfermenters in hospital-acquired pneumonia in Asia”, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **184**(12), pp.1409-1417, DOI: 10.1164/rccm.201102-0349OC.
- [4] World Health Organization (2017), “Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics”, <https://remed.org/wp-content/uploads/2017/03/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-2017.pdf>, accessed 3 August 2023.
- [5] T. Morrisette, S. Alosaimy, J.C. Abdul-Mutakabbir, et al. (2020), “The evolving reduction of vancomycin and daptomycin susceptibility in MRSA-salvaging the gold standards with combination therapy”, *Antibiotics*, **9**(11), DOI: 10.3390/antibiotics9110762.
- [6] A.M. Spagnolo, P. Orlando, D. Panatto, et al. (2014), “*Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin in healthcare settings”, *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, **55**(4), pp.137-144.
- [7] G.D. Wright, A.D. Sutherland (2007), “New strategies for combating multidrug-resistant bacteria”, *Trends in Molecular Medicine*, **13**(6), pp.260-267, DOI: 10.1016/j.molmed.2007.04.004.
- [8] M. Ayaz, F. Ullah, A. Sadiq, et al. (2019), “Synergistic interactions of phytochemicals with antimicrobial agents: Potential strategy to counteract drug resistance”, *Chemico-Biological Interactions*, **308**, pp.294-303, DOI: 10.1016/j.cbi.2019.05.050.
- [9] B.C.L. Chan, C. Lau, C. Jolival, et al. (2011), “Chinese medicinal herbs against antibiotic-resistant bacterial pathogens”, *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, **2**, pp.773-781.
- [10] M.T.N.L. Thanh, T.V. Thanh, H.A. Hoang (2022), “Synergism of *Syzygium glomerulatum* G., *Carallia brachiata* L., *Grewia asiatica* L. extracts against MRSA ATCC 33591”, *Can Tho Journal of Medicine and Pharmacy*, **55**, pp.66-73, DOI: 10.58490/ctump.2022i55.382 (in Vietnamese).
- [11] M.T.N.L. Thanh, P.M. Thien, N.T. Vy, et al. (2019), “Antibacterial activity of ethylacetate fraction from methanol Tram tron *Syzygium glomerulatum* extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)”, *Vietnam Journal of Preventive Medicine-VJPM*, **29**(2), pp.120-128 (in Vietnamese).
- [12] T.N.L.M. Thanh, H.A. Hoang, T.V. Truong (2020), “Antibacterial activity of Tram tron *Syzygium glomerulatum* extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”, *Chemical Engineering*, **78**, pp.235-240, DOI: 10.3303/CET2078040.
- [13] Ministry of Health (2015), *Instructions for Antibiotic Use*, Medical Publishing House, 277pp (in Vietnamese).
- [14] P. Wayne (2010), “Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 20th informational supplement”, *CLSI Document M100-S20*, pp.100-121.
- [15] R.L. White, D.S. Burgess, M. Manduru, et al. (1996), “Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: Time-kill, checkerboard, and E test”, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **40**(8), pp.1914-1918, DOI: 10.1128/aac.40.8.1914.
- [16] A.A. Issam, S. Zimmermann, J. Reichling, et al. (2015), “Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens”, *Phytomedicine*, **22**(2), pp.245-255, DOI: 10.1016/j.phymed.2014.11.019.
- [17] C.F. Kuok, S.O. Hoi, C.F. Hoi, et al. (2017), “Synergistic antibacterial effects of herbal extracts and antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A computational and experimental study”, *Experimental Biology and Medicine*, **242**(7), pp.731-743, DOI: 10.1177/1535370216689828.
- [18] E. Mataraci, S. Dosler (2012), “*In vitro* activities of antibiotics and antimicrobial cationic peptides alone and in combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms”, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **56**(12), pp.6366-6371, DOI: 10.1128/AAC.01180-12.
- [19] E.M. Marlowe, A.J. Linscott, M. Kanatani, et al. (2002), “Practical therapeutic application of the oxoid PBP2’ latex agglutination test for the rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in blood cultures”, *American Journal of Clinical Pathology*, **118**(2), pp.287-291, DOI: 10.1309/L6WV-6KLB-BWMH-APEV.
- [20] L.R. Christena, S. Subramaniam, M. Vidhyalakshmi, et al. (2015), “Dual role of pinostrobin-a flavonoid nutraceutical as an efflux pump inhibitor and antibiofilm agent to mitigate food borne pathogens”, *RSC Advances*, **5**(76), pp.61881-61887, DOI: 10.1039/C5RA07165H.

# Cập nhật danh lục họ Ráy ở Việt Nam

Trần Văn Tiến<sup>1\*</sup>, Nguyễn Văn Du<sup>2</sup>, Trịnh Xuân Thành<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 25/3/2025; ngày chuyển phản biện 27/3/2025; ngày nhận phản biện 17/4/2025; ngày chấp nhận đăng 24/4/2025

## Tóm tắt:

Họ Ráy (Araceae) ở Việt Nam là một trong những họ thực vật thuộc lớp một lá mầm có mức độ đa dạng sinh học rất cao về thành phần loài. Trong những năm gần đây, nhờ vào sự phát triển của các phương pháp nghiên cứu hiện đại và sự quan tâm ngày càng tăng đối với hệ thực vật bản địa, số lượng loài thuộc họ Ráy được phát hiện và ghi nhận tại Việt Nam đã gia tăng đáng kể. Bài báo này tổng hợp và trình bày một danh lục cập nhật gồm 153 loài thuộc 24 chi trong họ Ráy, được phát hiện và xác định trong thời gian gần đây tại nhiều vùng sinh thái khác nhau trên cả nước. Tất cả các loài đều được giới thiệu kèm theo danh pháp chính xác và năm công bố, đảm bảo tính khoa học và tính pháp lý của thông tin. So với cuốn *Thực vật chí họ Ráy* xuất bản năm 2017, danh lục này đã bổ sung thêm nhiều loài mới và ghi nhận mới, góp phần quan trọng vào việc hoàn thiện cơ sở dữ liệu về thành phần loài của họ Ráy tại Việt Nam. Những phát hiện này không chỉ nâng cao hiểu biết về sự đa dạng của họ Ráy mà còn khẳng định rõ nét hơn về mức độ phong phú và độc đáo của hệ thực vật Việt Nam.

**Từ khóa:** danh lục thực vật, đa dạng loài, họ Ráy (Araceae), một lá mầm, Việt Nam.

**Chỉ số phân loại:** 1.6, 4.7

## Updated checklist of Araceae in Vietnam

Van Tien Tran<sup>1\*</sup>, Van Du Nguyen<sup>2</sup>, Xuan Thanh Trinh<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Institute of Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 25 March 2025; revised 17 April 2025; accepted 24 April 2025

## Abstract:

The Araceae family in Vietnam is one of the most biologically diverse families of monocotyledonous plants in terms of species composition. In recent years, thanks to advancements in modern research methods and growing interest in native plant species, the number of Araceae species discovered and recorded in Vietnam has significantly increased. This article compiles and presents an updated checklist of 153 species belonging to 24 genera of the Araceae family, which have been identified and documented recently across various ecological regions of the country. All species are listed with their correct scientific names and the year of publication, ensuring both scientific accuracy and legal validity of the information. Compared to the *Flora of Araceae* published in 2017, this checklist includes many newly recorded and newly described species, making a valuable contribution to the improvement of the database of Araceae species in Vietnam. These findings not only enhance our understanding of the diversity within the Araceae family but also further affirm the richness and uniqueness of Vietnam's flora.

**Keywords:** Araceae, monocotyledons, plant checklist, species diversity, Vietnam.

**Classification numbers:** 1.6, 4.7

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



## 1. Đặt vấn đề

Họ Ráy (Araceae) ở Việt Nam là một họ khá lớn trong lớp thực vật một lá mầm (Monocotyledoneae), hiện có tới hơn 153 loài. Trong những năm gần đây, liên tục có các phát hiện các taxon mới của họ này ở Việt Nam, làm cho số lượng loài tăng lên từ 70 loài [1], 85 loài [2], 135 loài [3] và số loài dự đoán là có thể tới 160 loài. Mặc dù đã được nghiên cứu từ rất lâu nhưng do đặc thù về mặt hình thái và sinh học cũng như về phân bố và nơi sống như ra hoa, ra lá vào các thời gian khác nhau trong năm, đa dạng về địa hình phân bố từ vùng duyên hải tới vùng núi cao, đa dạng về nơi sống có thể sống trên cạn, nơi ngập nước, phụ sinh trên cây gỗ... Do đó, hằng năm các thông tin về nơi phân bố, nơi sống và thành phần loài của họ Ráy ở Việt Nam vẫn luôn được cập nhật. Từ những năm 1994 tới nay, nhiều công trình bổ sung về thành phần loài cho họ Ráy đã được công bố. Trong đó phải kể tới các công bố mới về chi Nưa ở Việt Nam của W.L.A. Hettterscheid (1994) [4], W.L.A. Hettterscheid và cs (2001) [5], J. Bogner và cs (2008) [6] đã mô tả một loài Thiên niên kiện mới từ mẫu thu được từ Vườn quốc gia Bạch Mã (TP Huế)... Ở miền Bắc, V.D. Nguyen và cs (2006) [7] đã cùng với các nhà thực vật quốc tế có những công bố mới về thành phần họ Ráy như mô tả loài *Hapaline locii* V.D. Nguyen & Croat ở Lào Cai (Văn Bàn); 2 loài thuộc chi Nam Tinh (*Arisaema*) ở Hà Giang và Cao Bằng [8], 1 loài thuộc chi *Rhaphidophora* [9], 1 loài mới thuộc chi *Steudnera* ở Lai Châu [9], một số loài mới cho khoa học thuộc các chi khác nhau đã được các nhà khoa học mô tả từ mẫu thu được ở cả 3 miền Bắc, Trung và Nam Bộ... và nhiều loài bổ sung cho hệ thực vật Việt Nam [8-15]. Ngoài ra, một số nhà thực vật ở TP Hồ Chí Minh cũng tham gia nghiên cứu các taxon trong họ Ráy và mô tả một số loài mới thuộc các chi *Arisaema*, *Typhonium*, *Amorphophallus* được phát hiện ở khu vực Nam Trung Bộ và Nam Bộ [16-19], qua đó góp phần đáng kể làm cho số lượng loài thuộc họ Ráy ngày càng tăng lên.

Trong bài báo này, chúng tôi thống kê lại toàn bộ 153 loài Ráy bản địa thuộc 24 chi đã được ghi nhận ở Việt Nam. Do giới hạn độ dài bài viết, chúng tôi chỉ giới thiệu tên khoa học, năm công bố và tên Việt Nam của các chi, các loài. Hầu như tất cả các loài được thống kê ở đây đều đã được kiểm chứng qua các chuyến điều tra thực địa, thu thập và nghiên cứu mẫu cũng như tham khảo các tài liệu được công bố gần đây.

## 2. Đối tượng, nội dung và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là các taxon bậc chi, loài và dưới loài hoang dại trong họ Ráy (Araceae) được ghi nhận có mặt tại Việt Nam.

### 2.2. Nội dung

- Nghiên cứu về thành phần loài, thống kê các loài đã được ghi nhận trong các tài liệu khoa học liên quan tới họ Ráy ở Việt Nam.

- Nghiên cứu danh pháp gồm: tên khoa học đúng, chính xác, năm công bố, tên tiếng Việt (nếu có).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Tra cứu các tài liệu chuyên khảo để ghi nhận, chỉnh lý danh pháp thực vật của các taxon, tham khảo các bài báo khoa học mới công bố gần đây.

- Nghiên cứu mẫu tiêu bản, mẫu sống ngoài thực địa: Sử dụng phương pháp hình thái so sánh trong công tác định loại các taxon, đối chiếu với các tài liệu chuyên khảo.

## 3. Kết quả cập nhật danh lục các loài họ Ráy (Araceae) ở Việt Nam

### *Aglaonema* Schott, 1829 - Vạn niên thanh

1. *Aglaonema brevispathum* (Engl.) Engl. 1915 - Vạn niên thanh mo ngắn.
2. *Aglaonema cochinchinense* Engl. 1915 - Vạn niên thanh Nam Bộ.
- 3a. *Aglaonema costatum* N.E. Br. 1892 - Vạn niên thanh lá dóm.
- 3b. *Aglaonema costatum* form. *immaculatum* (Ridl.) Nicolson, 1969 - Vạn niên thanh lá sọc.

### *Aglaonema modestum* Schott ex Engl. 1898.

### *Aglaonema ovatum* Engl. 1898 - Vạn niên thanh lá hình trứng.

### *Aglaonema simplex* (Blume) Blume, 1837.

### *Aglaodorum* Schott, 1858 - Vạn niên thanh cửa sông

### *Aglaodorum griffithii* (Schott) Schott, 1858 - Mái dầm.

### *Alocasia* (Schott) G. Don, 1839 - Ráy

8. *Alocasia cucullata* (Lour.) G. Don, 1839 - Chim mỷ vú.
9. *Alocasia evrardii* Gagnep. 1942 - Ráy σ-va-di.
10. *Alocasia lecomtei* Engl. in Engl. & K. Krause, 1920 - Ráy lê côm tê.
11. *Alocasia longiloba* Miq. 1856 - Ráy lá dài.
12. *Alocasia macrorrhizos* (L.) G. Don, 1839 - Ráy lá to.
13. *Alocasia odora* (Roxb.) C. Koch, 1854 - Ráy.
14. *Alocasia vietnamensis* V.D. Nguyen & De Kok, 2013 - Ráy Việt Nam.

### *Amorphophallus* Blume ex Decne. 1834 - Nưa

15. *Amorphophallus coudercii* (Bogner) Bogner, 1986 - Nưa couder.
16. *Amorphophallus corrugatus* N.E. Br. 1912 - Nưa đầu nhần.
17. *Amorphophallus crinitus* A. Galloway, Luu, Malkm.-Huss., Prehler & Claudel, 2019.
18. *Amorphophallus dzuii* Hett. 2001 - Nưa dư.
19. *Amorphophallus fallax* (Serebryanyi) Hett. & C. Claudel, 2012 - Nưa già.
20. *Amorphophallus glossophyllus* Hett. 1994 - Nưa lá hình lưỡi.
21. *Amorphophallus harmandii* Engl. et Gehrm. - Nưa harmand.
22. *Amorphophallus interruptus* Engl. & Gehrm. 1911 - Nưa hoa vũng.

23. *Amorphophallus konjac* K. Koch, 1858 - Nưa konjac.
  24. *Amorphophallus krausei* Engl. & Gehrm. 1911.
  25. *Amorphophallus kuznetsovii* Serebryanyi, 1995 - Nưa kuznetsov.
  26. *Amorphophallus lacourii* Linden & André, 1878 - Nưa lacour.
  27. *Amorphophallus lanceolatum* Serebryanyi, 1995 - Nưa lá hình mác.
  28. *Amorphophallus lanuginosus* Hett. 1994 - Nưa lông.
  29. *Amorphophallus mekongensis* Engl. & Gehrm. 1911 - Nưa mê công.
  30. *Amorphophallus opalinus* Serebryanyi & Hett. 2023 - Blumea.
  31. *Amorphophallus orchroleucus* Hett. & V.D. Nguyen, 2001 - Nưa mo vàng.
  32. *Amorphophallus opertus* Hett. 1994 - Nưa mo mở ít.
  33. *Amorphophallus paeoniifolius* (Dennst.) Nicolson, 1977 - Nưa chuông.
  34. *Amorphophallus pilosus* Hett. 1994 - Nưa có sợi.
  35. *Amorphophallus pseudoharmandii* (Engl.) Hett. 2012.
  36. *Amorphophallus scaber* Serebryanyi & Hett. 1994.
  37. *Amorphophallus sinuatus* Hett. & V.D. Nguyen, 2003.
  38. *Amorphophallus synandrifer* Hett. & V.D. Nguyen, 2001 - Nưa hoa đực khối.
  39. *Amorphophallus tenuistylis* Hett. 1994 - Nưa nùm nhụy mỏng.
  40. *Amorphophallus umbrinus* A. Galloway, Luu, Malkm.-Huss., Prehsler & Claudel, 2019.
  41. *Amorphophallus verticillatus* Hett. 1994 - Nưa hoa đực vũng.
  42. *Amorphophallus yunnanensis* Engl. & Gehrm. 1911 - Nưa Vân Nam.
  43. *Amorphophallus tonkinensis* Engl. & Gehrm. 1911 - Nưa Bắc Bộ.
  44. *Amorphophallus villosus* A. Galloway, Luu, Malkm.-Huss., Prehsler & Claudel, 2019.
  45. *Amorphophallus yuloensis* H. Li, 1988.
- Amydrium Schott, 1863 - Chi Ráy a mi rum**
46. *Amydrium hainanense* (C.C. Ting & C.Y. Wu ex H. Li & al.) H. Li, 1979 - Ráy a mi rum Hải Nam.
  47. *Amydrium sinensis* (Engl.) H. Li 1979. Fl. Reip. Pop. Sin. 13(2): 23, pl. 4(8-10) - Ráy a mi rum Trung Quốc, Vân Trùng Trung Quốc.
- Anadendrum Schott, 1857 - Chi Thăng mộc**
48. *Anadendrum chlorospathum* V.D. Nguyen, Q.D. Dinh & P.C.Boyce, 2019. Blumea 64: 191.
  49. *Anadendrum microstachyum* (De Vriese & Miq.) Backer & Alderw. 1920.
- Arisaema Mart. 1831 - Nam tinh**
50. *Arisaema averyanovii* V.D. Nguyen & P.C. Boyce, 2005 - Nam tinh Averyanov.
  51. *Arisaema balansae* Engl. 1920 - Nam tinh balansae.
  52. *Arisaema claviforme* P. Bruggeman, J. Ponert, R. Rybková, T.B. Vuong, 2013.
  53. *Arisaema condaoense* V.D. Nguyen, 2000 - Nam tinh Côn Đảo.
  54. *Arisaema consanguineum* Schott, 1859.
  55. *Arisaema decipiens* Schott, 1857 - Nam tinh bóng.
  56. *Arisaema franchetianum* Engl. 1881 - Nam tinh.
  57. *Arisaema garrettii* Gagnep. 1941 - Nam tinh garret.
  58. *Arisaema honbaensis* Luu, Tich, G. Tran & V.D. Nguyen, 2013 - Nam tinh Hòn Bà.
  59. *Arisaema liemiana* Luu, H.T. Van, H.C. Nguyen & V.D. Nguyen, 2020. Phytotaxa 000:000-000.
  60. *Arisaema lihengianum* J. Murata & S.K. Wu, 2003.
  61. *Arisaema menglaense* Y.H. Ji, H. Li & Z.F. Xu, Ann. Bot. Fenn. 41:133 (2004).
  62. *Arisaema omkoiense* Gusman, 2001 - Nam tinh omkoi.
  63. *Arisaema parisifolia* J. Murata, 2005.
  64. *Arisaema pierreanum* Engl. 1920 - Nam tinh pi-e.
  65. *Arisaema petelotii* K. Krause, 1932 - Nam tinh pê tê lô.
  66. *Arisaema petiolulatum* Hook. f. 1893 - Nam tinh lá có cuống.
  67. *Arisaema pingbianense* H. Li, 1988 - Nam tinh pingbian.
  68. *Arisaema ramulosum* Alderw. 1922 - Nam tinh cao bằng.
  - 69a. *Arisaema rhizomatum* C.E.C. Fisch. 1936 - Nam tinh thân rễ.
  - 69b. *Arisaema rhizomatum* var. nudum C.E.C. Fisch. 1936.
  70. *Arisaema rostratum* V.D. Nguyen & P.C. Boyce, 2005 - Nam tinh trung đới dài.
  71. *Arisaema roxburghii* Kunth, 1841 - Nam tinh rô bắc ghi.
  72. *Arisaema victoriae* V.D. Nguyen, 2000 - Ráy vic-to.
  73. *Arisaema vietnamense* Luu, Q.B. Nguyen, H.C. Nguyen & T.Q.T. Nguyen, 2022 - Nam tinh Việt Nam.
- Colocasia Schott, 1832 - Khoai môn**
74. *Colocasia esculenta* (L.) Schott, 1832 - Khoai môn.
  75. *Colocasia gigantea* (Blume) Hook. f. 1893 - Dọc mùng, Bạc hà.
  76. *Colocasia lihengiae* C.L. Long & K.M. Liu, 2001 - Khoai sọ lý.
  77. *Colocasia menglaensis* J.T. Yin, H. Li & Z.F. Xu, 2004 - Khoai sọ cuống có lông.
  78. *Colocasia spongifolia* P. Matthew, V.D. Nguyen, Q. Fang & C.L. Long, 2022.
- Cryptocoryne Fisch. ex Wydler, 1830 - Mái dầm**
79. *Cryptocoryne annamica* Serebryanyi, 1991 - Mái dầm trung bộ.
  - 80a. *Cryptocoryne crispata* Engl. 1920 - Mái dầm.
  - 80b. *Cryptocoryne crispata* var. balansae (Gagnep.) N. Jacobsen, 1991.
  - 80c. *Cryptocoryne crispata* var. tonkinensis (Gagnep.) N. Jacobsen, 1991 - Mái dầm Bắc Bộ.
  81. *Cryptocoryne vietnamensis* Hertel & Muhlberg, 1994 - Mái dầm Việt Nam.

***Cyrtosperma* Griff. 1851 - Ráy đuôi lá dài**

82. *Cyrtosperma merkusii* (Hassk.) Schott, 1857.

***Epipremnum* Schott, 1857 - Thương cán**

83. *Epipremnum giganteum* (Roxb.) Schott, 1857 - Thương cán lá lớn.

84. *Epipremnum pinnatum* (L.) Engl. & K. Krause, 1908 - Thương cán lá lông chim.

***Hapaline* Schott, 1858 - Hấp linh**

85. *Hapaline benthamiana* Schott, 1858 - Hấp linh ben tham.

86. *Hapaline colaniae* Gagnep. 1941 - Hấp linh cô la.

87. *Hapaline ellipticifolia* C.Y. Wu & H. Li, 1977 - Hấp linh lá hình bầu dục.

88. *Hapaline locii* V.D. Nguyen & Croat, 2006 - Hấp linh lộc.

***Homalomena* Schott, 1832 - Thiên niên kiện**

89. *Homalomena occulta* (Lour.) Schott, 1832 - Thiên niên kiện hoa ẩn.

90. *Homalomena pendula* (Blume) Bakh.f. 1957 - Thiên niên kiện lá lớn.

91. *Homalomena piereana* Engl. & K. Krause, 1912 - Thiên niên kiện pi-e.

92. *Homalomena tonkinensis* Engl. 1879 - Thiên niên kiện Bắc Bộ.

93. *Homalomena vietnamense* J. Bogner & V.D. Nguyen, 2008 - Thiên niên kiện Việt Nam.

***Lasia* Lour. 1790 - Chóc gai**

94. *Lasia spinosa* (L.) Thw. 1864 - Chóc gai.

***Pistia* L. 1753 - Bèo cái**

95. *Pistia stratiotes* L. 1753 - Bèo cái.

***Pothos* L. 1753 - Chi ráy leo**

96. *Pothos chinensis* (Raf.) Merr. 1948 - Ráy leo Trung Quốc.

97. *Pothos dzui* P.C. Boyce, 2000 - Ráy leo dư.

98. *Pothos gigantipes* Buchet ex P.C. Boyce, 2000 - Ráy leo thân to.

99. *Pothos grandis* Buchet ex P.C. Boyce & V.D. Nguyen, 1995 - Ráy leo lá bướ; Cơm lênh lá bướ.

100. *Pothos kerrii* Buchet ex P.C. Boyce, 2000 - Ráy leo keri.

101. *Pothos lancifolius* Hook. f. 1893 - Ráy leo lá rách.

102. *Pothos pilulifer* Buchet ex P.C. Boyce, 2000 - Ráy leo thân vuông.

103. *Pothos repens* (Lour.) Druce. 1917 - Ráy leo; Chân rết.

104. *Pothos scandens* L. 1753 - Ráy leo lá hẹp; Dây thần lẩn; Dây cù bện.

105. *Pothos touranensis* Gagnep. 1941 - Ráy leo đà nẵng.

106. *Pothos vietnamensis* V.D. Nguyen & P.C. Boyce, 2017 - Ráy leo Việt Nam.

***Pycnospatha* Thorel ex Gagnep. 1941 - Nưa gai**

107. *Pycnospatha arietina* Gagnep. 1941.

***Remusatia* Schott, 1832 - Ráy mô**

108. *Remusatia vivipara* (Roxb.) Schott, 1832 - Ráy mô đẹp.

***Rhaphidophora* Hassk. 1842 - Chi đuôi phượng**

109. *Rhaphidophora bonii* Engl. & K. Krause, 1908 - Đuôi phượng bon.

110. *Rhaphidophora chevalieri* Gagnep. 1941 - Đuôi phượng che-va-lie.

111. *Rhaphidophora crassicaulis* Engl. & K. Krause, 1908 - Đuôi phượng thân mập.

112. *Rhaphidophora decursiva* (Roxb.) Schott, 1857 - Lân tơ uyn.

113. *Rhaphidophora hongkongensis* Schott, 1857 - Đuôi phượng Hồng Kông.

114. *Rhaphidophora hookeri* Schott, 1857 - Tôm hùm; Cỏ ngom cuống dài.

115. *Rhaphidophora lacduongensis* V.D. Nguyen & B.H. Quang, 2015 - Trâm dài lạc dương.

116. *Rhaphidophora laichauensis* Gagnep. 1941 - Đuôi phượng Lai Châu.

117. *Rhaphidophora megaphylla* H. Li, 1977 - Đuôi phượng lá lớn.

118. *Rhaphidophora peepla* (Roxb.) Schott, 1857 - Đuôi phượng lá tròn.

119. *Rhaphidophora sonlanensis* V.D. Nguyen & P.C. Boyce, 2017.

120. *Rhaphidophora sulcata* Gagnep. 1941 - Đuôi phượng thân lõm.

121. *Rhaphidophora tonkinensis* Engl. & K. Krause, 1908 - Đuôi phượng Bắc Bộ.

***Sauromatum* Schott, 1832 - Bán hạ hoa chùy**

122. *Sauromatum horsfieldii* Miq. 1856 - Bán hạ lá bàn đạp.

***Schismatoglottis* Zoll. & Moritz. 1846 - Đoạn thiết**

123. *Schismatoglottis cadieri* Buchet & Gagnep. 1942 - Đoạn thiết cadier.

124. *Schismatoglottis harmandii* Engl. 1912 - Đoạn thiết harmandi.

***Scindapsus* Schott, 1832 - Dây bá**

125. *Scindapsus officinalis* (Roxb.) Schott, 1832 - Đậu bã (An Giang), Trao ba (Tây Ninh).

126. *Scindapsus hederaceus* (Zoll. & Moritz) Miq. 1856.

***Staudnera* K. Koch, 1862 - Khoai thơm**

127. *Staudnera colocasiifolia* K. Koch, 1862 - Khoai thơm lá khoai sọ.

128. *Staudnera henryana* Engl. 1920 - Khoai thơm.

129. *Staudnera hoanglienica* V.D. Nguyen, B.H. Quang & J. Bogner, 2018.

***Typhonium* Schott, 1829 - Bán hạ**

130. *Typhonium acetosella* Gagnep. 1942 - Bán hạ aceto.



131. *Typhonium bachmaense* V.D. Nguyen & Hett. 2001 - Bán hạ Bạch Mã.
132. *Typhonium blumei* Nicolson & Sivadasan, 1981 - Bán hạ lá nguyên.
133. *Typhonium circinnatum* Hett. & J. Mood, 2000 - Bán hạ mo cuộn.
134. *Typhonium cordifolium* S.Y. Hu 1968.
135. *Typhonium dongnaiense* Luu, Nguyen-Phi, H.T. Van 2017.
136. *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume, 1837 - Bán hạ roi.
137. *Typhonium hangiae* V.D. Nguyen, D.D. Nguyen, V.C. Nguyen, 2023 - Bán hạ hăng.
138. *Typhonium hayatae* Sriboonma & Murata 1994 - Bán hạ hay.
139. *Typhonium huense* V.D. Nguyen & T. Croat, 1997 - Bán hạ huế.
140. *Typhonium kbangense* V.D. Nguyen & D.Q. Diep, 2022 - Bán hạ kbang.
141. *Typhonium khonkaenense* A. Galloway & S. Charoenwong, 2015 - Bán hạ khon ka.
142. *Typhonium lineae* Hett. & V.D. Nguyen, 2001 - Bán hạ lá hẹp.
143. *Typhonium obtusum* Luu, X.B. Nguyen-Le & H.C. Nguyen, 2024 - Bán hạ tù.
144. *Typhonium penicillatum* V.D. Nguyen & Hett. 2001 - Bán hạ núm nhụy bàn chải.
145. *Typhonium phuocbinhense* V.D. Nguyen & T. Croat, 2020 - Bán hạ phước bình.
146. *Typhonium praelongum* Serebryanyi & Hett. 2023 - Bán hạ.
147. *Typhonium rhizomatum* A. Galloway & P. Schmidt, 2012 - Bán hạ thân rễ.
148. *Typhonium roxburghii* Schott, 1853.
149. *Typhonium stigmatilobatum* V.D. Nguyen, 2007 - Bán hạ núm nhụy xê thủy.
150. *Typhonium thatsonense* Luu & H.T. Van, 2017 - Bán hạ bảy núi.
151. *Typhonium vermiforme* V.D. Nguyen & T. Croat, 2010 - Bán hạ hoa công.
152. *Typhonium vietnamense* Luu et al. 2021 - Bán hạ Việt.
153. *Typhonium violifolium* Gagnep. 1942 - Bán hạ lá tím.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu cập nhật được 153 loài thuộc 24 chi trong họ Ráy, trong đó có nhiều loài được phát hiện và xác định trong thời gian gần đây tại nhiều vùng sinh thái khác nhau trên cả nước. So với cuốn *Thực vật chí họ Ráy* (2017), nghiên cứu đã bổ sung thêm nhiều loài mới và ghi nhận mới, góp phần quan trọng vào việc hoàn thiện cơ sở dữ liệu về thành phần loài của họ Ráy tại Việt Nam, đồng thời góp phần nâng cao hiểu biết về sự đa dạng của họ này và mức độ phong phú, độc đáo của hệ thực vật nước ta.

#### LỜI CẢM ƠN

Bài báo được hoàn thành dưới sự tài trợ kinh phí của đề tài dành cho cán bộ nghiên cứu cao cấp của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số đề tài: NVCC 09.06/25-25 (loại B). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F. Gagnepain (1942), *Flore Générale De l'Indo-Chine*, 6, Masson, Paris, pp.1075-1196 (in French).
- [2] H.H. Pham (2000), *Araceae - An illustrated Flora of Vietnam*, Tre Publishing House, 3, pp.334-367 (in Vietnamese).
- [3] V.D. Nguyen, H.Q. Bui (2015), "*Rhaphidophora lacduongensis* (Araceae), a new species from Lam Dong, Vietnam", *Blumea*, 59(3), pp.202-205, DOI: 10.3767/000651915x688416.
- [4] W.L.A. Hettterscheid (1994), "Notes on the genus *Amorphophallus* (Araceae) - 2. New species from tropical Asia", *Blumea*, 39(1/2), pp.237-281.
- [5] W.L.A. Hettterscheid, R.W.J.M.V.D. Ham (2001), "Notes on the genus *Amorphophallus* (Araceae) - 11. New and obsolete species from East Malaysia and continental Southeast Asia", *Blumea*, 46(2), pp.253-282.
- [6] J. Bogner, V.D. Nguyen (2008), "A new Homalomena species (Araceae) from Vietnam", *Willdenowia*, 38, pp.527-531, DOI: 10.3372/wi.38.38212.
- [7] V.D. Nguyen, T. Croat (2006), "New species of *Hapaline* (Araceae) from Vietnam", *Aroideana*, 29, pp.103-106.
- [8] V.D. Nguyen, P.C. Boyce (2005), "Two new species of the genus *Arisaema* (Araceae) from Northern Vietnam", *Folia Malaysiana*, 6(1&2), pp.35-40.
- [9] V.D. Nguyen, H.Q. Bui, M.T. Ha, et al. (2017a), "*Rhaphidophora sonlaensis* (Araceae), a new species from northern Vietnam", *Ann. Bot. Fennici*, 54, pp.111-115, DOI: 10.5735/085.054.0317.
- [10] P.J. Matthews, V.D. Nguyen, Q. Fang, et al. (2022), "*Colocasia spongifolia* sp. nov. (Araceae) in southern China and central Vietnam", *Phytotaxa*, 541(1), pp.1-9, DOI: 10.11646/phytotaxa.541.1.1.
- [11] V.D. Nguyen, V.D. Nguyen, P.C. Boyce (2017b), "*Pothos vietnamensis* sp. nov. (Araceae-Pothoideae-Potheae) from Vietnam", *Nordic Journal of Botany*, 35(3), pp.276-280, DOI: 10.1111/njb.01434.
- [12] V.D. Nguyen, H.Q. Bui, V.T. Tran, et al. (2018), "*Stuednera hoanglienica* (Colocasiaceae-Araceae), a new species from northern Vietnam", *Phytotaxa*, 376(5), pp.223-226.
- [13] V.D. Nguyen, T. Croat (2010), "A new species of *Typhonium* (Araceae) from Vietnam", *JSTOR*, 20(2), pp.195-197, DOI: 10.3897/phytokeys.238.
- [14] V.D. Nguyen, X.P. Vu (2004), "One new species of the genus *Arisaema* C. Mart. (Araceae) for flora of Vietnam", *Journal of Biology*, 26(4A), pp.54-56 (in Vietnamese).
- [15] V.D. Nguyen, H.T. Luu, Q.D. Nguyen, et al. (2016), "*Amorphophallus kienluongensis* (Araceae), a new species from the Mekong delta, Southern Vietnam", *Blumea*, 61(1), pp.1-3, DOI: 10.3767/000651916X690395.
- [16] H.T. Luu, H.C. Nguyen, T.Q.T. Nguyen, et al. (2022), "*Arisaema vietnamense* (Section Nepenthioidea, Araceae): A new species from Vietnam", *Academy Journal of Biology*, 44(1), pp.1-9, DOI: 10.15625/2615-9023/16646.
- [17] H.T. Van, V.S. Le, P.N. Nguyen, et al. (2021), "A new species and a new record of *Typhonium* (Araceae) from southern Vietnam", *Phytotaxa*, 527(3), pp.201-208, DOI: 10.11646/phytotaxa.527.3.4.
- [18] H.T. Van, P.N. Nguyen, H.T. Luu (2017a), "A new species of *Arisaema* (Araceae) from Vietnam", *Phytotaxa*, 277(1), pp.090-094, DOI: 10.11646/phytotaxa.527.3.4.
- [19] H.T. Van, P.N. Nguyen, N.L. Vu, et al. (2017b), "*Typhonium dongnaiense* (Araceae), a new species from Vietnam", *Ann. Bot. Fennici*, 54, pp.405-408.

# Cường độ và độ bền của vữa sử dụng bã cà phê thay thế một phần cốt liệu nhỏ

Nguyễn Đăng Nguyên<sup>1</sup>, Mai Thị Hồng<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Dũng<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Xây dựng Dân dụng và Công nghiệp, Trường Đại học Xây dựng Hà Nội, 55 Giải Phóng, phường Đồng Tâm, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Kỹ thuật, Công nghệ và Truyền thông, Trường Đại học Hồng Đức, 565 Quang Trung, phường Đông Vệ, TP Thanh Hóa, tỉnh Thanh Hóa, Việt Nam

Ngày nhận bài 14/4/2025; ngày chuyển phản biện 18/4/2025; ngày nhận phản biện 13/5/2025; ngày chấp nhận đăng 16/5/2025

## Tóm tắt:

Việt Nam là một quốc gia tiêu thụ cà phê lớn, qua đó tạo ra lượng bã cà phê (BCP) đáng kể. Trong khi đó, cát tự nhiên ngày càng cạn kiệt và cần thiết phải tìm kiếm các vật liệu khác để thay thế. Nghiên cứu này khảo sát khả năng sử dụng BCP thay thế một phần cát trong sản xuất vữa với hàm lượng lần lượt là 0, 2,5, 5, 7,5 và 10% theo khối lượng. Các tính chất cơ lý được đánh giá gồm: cường độ chịu nén khi ngâm trong nước và dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5%, độ hút nước, co khô và giãn nở do sun phát. Kết quả cho thấy, việc thay thế cát bằng BCP làm giảm cường độ chịu nén của vữa, đồng thời làm tăng độ hút nước, độ co khô và độ giãn nở sun phát. Các mẫu vữa có hàm lượng BCP từ 7,5% trở lên có hiện tượng phát triển cường độ chậm tại các ngày tuổi ban đầu và chúng còn có cường độ tương đương hoặc cao hơn khi ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  so với các mẫu vữa ngâm trong nước. Mặt khác, tất cả các mẫu vữa chứa BCP vẫn đạt cường độ chịu nén 17-44 MPa tại 28 ngày tuổi, tương đương với các mẫu vữa thông thường đang được sử dụng hiện nay.

**Từ khóa:** ăn mòn sun phát, bã cà phê, cường độ chịu nén, độ hút nước, vữa xây dựng.

**Chỉ số phân loại:** 2.1, 2.5

## Strength and durability of mortar containing spent coffee grounds as a part of fine aggregate

Dang- Nguyen Nguyen<sup>1</sup>, Thi-Hong Mai<sup>2</sup>, Van-Dung Nguyen<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Building and Industrial Construction, Hanoi University of Civil Engineering, 55 Giai Phong Street, Dong Tam Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Faculty of Engineering, Technology, and Communication, Hong Duc University, 565 Quang Trung Street, Dong Ve Ward, Thanh Hoa City, Thanh Hoa Province, Vietnam

Received 14 April 2025; revised 13 May 2025; accepted 16 May 2025

## Abstract:

Vietnam is a major coffee-consuming country, generating a significant amount of spent coffee grounds. Meanwhile, natural sand is increasingly depleted, making it necessary to seek alternative materials. This study investigates the potential of using spent coffee grounds as a partial replacement for sand in mortar production, with replacement levels of 0, 2.5, 5, 7.5, and 10% by weight. The evaluated properties include compressive strength after immersion in water and 5%  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  solution, water absorption, drying shrinkage, and sulfate expansion. The results show that replacing sand with spent coffee grounds reduces the compressive strength of mortar, while increasing water absorption, drying shrinkage, and sulfate expansion. Mortar samples containing 7.5% or more spent coffee grounds exhibited slower strength development at early ages and demonstrated equal or even higher strength when immersed in a  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  solution compared to those cured in water. On the other hand, all mortar samples containing spent coffee grounds achieved compressive strengths ranging from 17 to 44 MPa at 28 days, which is comparable to conventional mortars commonly used in practice.

**Keywords:** compressive strength, mortar, spent coffee grounds, sulfate corrosion, water absorption.

**Classification numbers:** 2.1, 2.5

\*Tác giả liên hệ: Email: nguyenvandung@hdu.edu.vn

## 1. Đặt vấn đề

Bã cà phê đã qua sử dụng là một loại chất thải rắn phát sinh trực tiếp từ quá trình tiêu thụ cà phê, một trong những sản phẩm được giao dịch phổ biến nhất trên toàn cầu. Lượng lớn BCP từ các quán cà phê thường bị thải bỏ vào các bãi chôn lấp, gây áp lực lên hệ thống xử lý chất thải và góp phần vào tình trạng thất thoát, lãng phí thực phẩm toàn cầu. Theo dự báo, lượng thực phẩm thất thoát sẽ đạt tới 2,1 tỷ tấn vào năm 2030, với tổn thất kinh tế ước tính lên tới 1,5 nghìn tỷ USD [1]. Tuy nhiên, vấn đề này cũng mở ra cơ hội trị giá 700 tỷ USD trong việc tìm kiếm giải pháp, bao gồm việc khám phá các thị trường mới cho chất thải hữu cơ [1]. Khoảng 7,4 triệu tấn BCP được sản xuất hằng năm trên toàn thế giới [2]. Do hàm lượng cao các hợp chất hữu cơ, BCP đòi hỏi một lượng lớn oxy để phân hủy cấu trúc hữu cơ hiệu quả hơn theo thời gian và phát thải một lượng lớn khí nhà kính như carbon dioxide ( $\text{CO}_2$ ) và methane ( $\text{CH}_4$ ) trong quá trình phân hủy [3, 4]. Ngoài ra, caffeine, tannin và polyphenol trong BCP rất độc hại đối với môi trường [5]. Do đó, việc tìm kiếm các giải pháp để tái chế loại chất thải này thành các sản phẩm có giá trị sử dụng là hết sức cần thiết.

Trong những thập kỷ gần đây, nhiều nghiên cứu đã tìm kiếm các phương pháp xử lý BCP thân thiện với môi trường. J. McNutt và cs (2019) [6] đã thực hiện một tổng quan về các khả năng ứng dụng BCP trong các ngành công nghiệp khác nhau. Trong số những ứng dụng này, một số nghiên cứu đã đề xuất việc tái chế BCP vào các vật liệu xây dựng như gốm, bê tông và vữa. Phương pháp này có ưu điểm đặc biệt vì khi BCP được kết hợp vào vật liệu xây dựng, chúng sẽ trở nên vô hại và được trung hòa, từ đó giúp giải quyết các vấn đề môi trường liên quan. Trên thế giới cũng đã có một số nghiên cứu ứng dụng BCP trong lĩnh vực xây dựng. BCP có thể được phối trộn với một số chất kết dính và vật liệu phế thải khác để sản xuất vật liệu làm nền đường [7]. Ngoài ra, BCP còn được sử dụng trong sản xuất gạch như một loại phụ gia, giúp tăng khả năng hấp thụ nước và giảm độ dẫn nhiệt của gạch [8]. Ở tỷ lệ 1-2% BCP so với trọng lượng đất sét, gạch có cường độ chịu nén và có khả năng cách nhiệt thấp hơn so với gạch đất sét đối chứng không chứa BCP. Tuy nhiên, khi tăng tỷ lệ BCP lên 3-5%, gạch có mật độ thấp hơn, độ rỗng cao hơn, nhờ đó cải thiện đáng kể khả năng cách nhiệt nhưng vẫn đảm bảo độ bền cơ học phù hợp. Tỷ lệ BCP tối ưu là 3%, khi đó cường độ chịu nén của gạch còn cao hơn so với gạch đất sét thông thường [9].

Ngoài ra, BCP còn được nghiên cứu ứng dụng làm vật liệu cách âm [10], làm cốt liệu cho gốm đất sét nhẹ [11], hoặc sử dụng trong thạch cao để giảm độ dẫn nhiệt và khả năng khuếch tán nhiệt [12]. Một số nghiên cứu còn hướng đến việc phát triển vật liệu xây dựng bền vững bằng cách sử dụng tro của BCP để thay thế một phần xi măng Portland [13].

Nghiên cứu của S. Na và cs (2021) [14] đã khảo sát ảnh hưởng của BCP đến tính chất cơ học của vữa xi măng thông qua các tỷ lệ phối trộn khác nhau (0, 1, 1,5, 5 và 10% khối lượng xi măng). BCP được xử lý thành than hoạt tính bằng phương pháp carbon hóa vật lý ở nhiệt độ 600°C trong thời gian 1 giờ. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, với hàm lượng than hoạt tính dưới 1,5%, vữa không những đạt được cường độ chịu nén sớm cao hơn mà còn thể hiện khả năng chịu nén vượt trội so với mẫu chuẩn. Mặc dù kết quả nghiên cứu mở ra triển vọng ứng dụng BCP trong vữa xi măng, nhưng quy trình carbon hóa đòi hỏi tiêu tốn lượng lớn năng lượng, làm hạn chế tính khả thi trong thực tế. Gần đây, J.D. Lee và cs (2023) [15] điều tra tính khả thi của việc kết hợp BCP khô chưa qua xử lý trong vữa xây dựng. Các mẫu vữa đã được chế tạo với các tỷ lệ BCP theo khối lượng xi măng là 0,6, 0,9, 1,8, 3,0 và 6,0% tương ứng với các tỷ lệ thay thế cát theo thể tích là 1, 1,5, 3, 5 và 10%. Kết quả nghiên cứu cho thấy, các mẫu có 0,6 và 0,9% BCP thể hiện xu hướng hoàn toàn khác so với mẫu đối chứng, với mức giảm 24,5% và tăng 8,3% về cường độ nén, tương ứng. Đối với các mẫu có hơn 3,0% BCP, tính chất hút nước cao của BCP dẫn đến sự suy giảm cường độ do quá trình thủy hóa không hoàn chỉnh.

Cà phê là mặt hàng được giao dịch nhiều thứ hai trên thế giới sau dầu mỏ và Việt Nam là một trong những quốc gia sản xuất cà phê lớn trên thế giới, chỉ đứng sau Brazil. Điều này đồng nghĩa với việc lượng BCP thải ra tại Việt Nam là vô cùng lớn. Vì vậy, việc tìm ra giải pháp tái chế để biến loại chất thải này thành một nguồn tài nguyên có giá trị là cần thiết. Ngành xây dựng có tiềm năng lớn trong việc nâng cao tỷ lệ tái chế loại vật liệu phế thải này, góp phần thúc đẩy phát triển bền vững từ góc độ môi trường. Bên cạnh đó, quá trình đô thị hóa, phát triển cơ sở hạ tầng và xây dựng nhà ở cũng làm gia tăng nhu cầu sử dụng các nguyên vật liệu tự nhiên đang ngày càng khan hiếm, điển hình là cát.

Cát tự nhiên ngày càng khan hiếm, trong khi lượng lớn BCP được thải ra hàng ngày gây ô nhiễm môi trường. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng ứng dụng thực tế của BCP trong sản xuất vữa xây dựng. Khác với phần lớn các nghiên cứu trước thường sử dụng BCP đã qua xử lý nhiệt, nghiên cứu này tập trung vào việc ứng dụng trực tiếp BCP chưa qua xử lý. Trong nghiên cứu này, BCP được sử dụng để thay thế cát với các hàm lượng 0, 2,5, 5, 7,5 và 10%. Ảnh hưởng của hàm lượng BCP lên một số tính chất của vữa được khảo sát bao gồm: (1) cường độ chịu nén, (2) độ hút nước, (3) độ co khô, (4) độ giãn nở sun phát và (5) khả năng chịu nén trong môi trường sun phát.

## 2. Vật liệu và chương trình thí nghiệm

### 2.1. Vật liệu thí nghiệm

Các loại vật liệu sử dụng để chế tạo các mẫu vữa trong nghiên cứu này bao gồm: xi măng PCB40, vôi, cát sông tự nhiên, BCP và nước. Cụ thể, nghiên cứu sử dụng xi măng



PCB40 được sản xuất tại Nhà máy xi măng Bim Sơn, có khối lượng riêng là 3,12 tấn/m<sup>3</sup>. Thành phần hóa học chính của xi măng được thể hiện trong bảng 1. Xi măng chủ yếu bao gồm SiO<sub>2</sub> và CaO, với tổng hàm lượng lên đến 77,75% theo khối lượng. Vôi bột có khối lượng riêng là 2,21 tấn/m<sup>3</sup> được bổ sung với một lượng nhỏ (1% so với tổng hàm lượng chất kết dính) cho các mẫu có chứa BCP nhằm tăng khả năng đông kết nhanh của vữa. Cát tự nhiên được mua trên thị trường có khối lượng riêng là 2,62 tấn/m<sup>3</sup>; khối lượng thể tích ở trạng thái khô tự nhiên là 1,45 tấn/m<sup>3</sup>; độ ẩm là 0,53%; và độ hút nước là 0,42%. Cát được sàng trước khi sử dụng để loại bỏ các hạt có kích thước lớn hơn 1,25 mm và nhỏ hơn 0,15 mm. BCP được thu gom từ các cửa hàng cá phê trên địa bàn TP Thanh Hóa, sau đó được rửa sạch nhằm loại bỏ các tạp chất và phơi khô. BCP trong nghiên cứu này có khối lượng riêng khoảng 900 kg/m<sup>3</sup>, điều này chứng tỏ chúng có độ xốp cao tương tự như kết quả từ nghiên cứu trước [15]. Thành phần hóa học chính của BCP có thể được tìm thấy trong bài báo của B. Janissen và cs (2018) [16]. Trước khi sử dụng BCP được ngâm trong dung dịch NaOH 2% trong 2 giờ, tiếp theo là đun sôi ở nhiệt độ 90-100°C trong 2 giờ nhằm loại bỏ nốt các tạp chất còn lại như đường và sữa. Sau đó, BCP được đổ lên sàng có mắt lưới 0,15 mm để cho nước thoát hết. Như vậy, BCP sử dụng trong nghiên cứu này ở điều kiện bão hòa nước, điều này rất quan trọng vì BCP có độ rỗng cao, nếu sử dụng ở trạng thái khô cần bổ sung lượng nước lớn do độ hút nước của BCP cao. Hình 1 là hình ảnh của BCP sau khi trải qua các bước xử lý sơ bộ như đã mô tả ở trên. Phụ gia siêu dẻo loại F, với thành phần chính là Naphthalene Formaldehyde Sulfonate và khối lượng riêng là 1,15 tấn/m<sup>3</sup> được sử dụng để điều chỉnh tính công tác của vữa nhằm đạt được đường kính chảy xòe trong khoảng 16±2 cm, đảm bảo theo tiêu chuẩn TCVN 4314:2022 [17].

**Bảng 1.** Thành phần hóa học chính của xi măng.

|         | SiO <sub>2</sub> | Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | CaO   | MgO  | SO <sub>3</sub> | K <sub>2</sub> O | LMKN* |
|---------|------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------|------|-----------------|------------------|-------|
| Xi măng | 22,30            | 6,68                           | 4,73                           | 55,45 | 2,40 | 1,28            | 0,74             | 0,45  |

LMKN\*: Lượng mất khi nung.



**Hình 1.** Bã cà phê được thu gom và sơ chế.

## 2.2. Thành phần cấp phối

Các mẫu vữa trong nghiên cứu này được thiết kế theo phương pháp thể tích tuyệt đối, với thành phần chi tiết được trình bày trong bảng 2. Vôi bột được sử dụng để thay thế 1,0% khối lượng xi măng cho các mẫu có BCP. Quá trình thực nghiệm đã chỉ ra rằng, các mẫu có BCP chậm đông rắn, vì vậy cần sử dụng thêm vôi bột để cải thiện khả năng này. Các mẫu được thiết kế với tỷ lệ cốt liệu trên chất kết dính là 2,0. Cốt liệu trong các mẫu vữa bao gồm cát và BCP, với tỷ lệ thay thế BCP cho cát lần lượt là 0, 2,5, 5, 7,5 và 10% theo khối lượng. Các mẫu vữa được ký hiệu là BCPx, trong đó “BCP” là viết tắt của BCP đã qua sử dụng và “x” biểu thị tỷ lệ phần trăm khối lượng BCP thay thế cát trong hỗn hợp. Tất cả các mẫu đều sử dụng phụ gia siêu dẻo để cải thiện tính công tác và không chế độ chảy xòe của các mẫu vữa như đã trình bày ở trên. Tất cả các hỗn hợp vữa được thiết kế với tỷ lệ nước trên chất kết dính (N/CKD) không đổi là 0,4. Mục tiêu của việc thiết kế hỗn hợp vữa thí nghiệm này là để đánh giá sự ảnh hưởng của hàm lượng BCP thay thế cát lên một số tính chất của vữa xây dựng như cường độ chịu nén, độ hút nước, độ co khô và khả năng chống ăn mòn sun phát (độ giãn nở sun phát và cường độ chịu nén khi ngâm trong dung dịch Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5%).

**Bảng 2.** Thành phần hỗn hợp theo tỷ lệ.

| Hỗn hợp | Nước/<br>chất kết<br>dính | Tỷ lệ các vật liệu (kg/m <sup>3</sup> ) |     |        |              |       |                     |
|---------|---------------------------|-----------------------------------------|-----|--------|--------------|-------|---------------------|
|         |                           | Xi măng                                 | Vôi | Cát    | Bã cà<br>phê | Nước  | Phụ gia<br>siêu dẻo |
| BCP00   | 0,40                      | 671,4                                   | 0,0 | 1342,7 | 0,0          | 268,5 | 6,7                 |
| BCP2.5  |                           | 648,2                                   | 6,5 | 1276,7 | 32,7         | 261,9 | 6,5                 |
| BCP5.0  |                           | 633,1                                   | 6,4 | 1215,0 | 63,9         | 255,8 | 6,4                 |
| BCP7.5  |                           | 618,6                                   | 6,2 | 1156,0 | 93,7         | 250,0 | 6,2                 |
| BCP10   |                           | 604,9                                   | 6,1 | 1099,7 | 122,2        | 244,4 | 6,1                 |

## 2.3. Chuẩn bị mẫu và phương pháp thí nghiệm

Dựa trên thành phần được trình bày trong bảng 2, tất cả các vật liệu bao gồm xi măng, vôi, cát và BCP đều được chuẩn bị và cân chính xác trước khi tiến hành trộn trong phòng thí nghiệm. Hình 2 minh họa các vật liệu được chuẩn bị cho một mẻ trộn. Hỗn hợp cốt liệu mịn (bao gồm cát tự nhiên và BCP) và chất kết dính (xi măng và vôi) được cho vào trộn đều trong vòng hai phút. Sau đó, nước đã được pha sẵn với phụ gia siêu dẻo được thêm vào hỗn hợp và trộn cho đến khi đạt được độ đồng nhất. Thí nghiệm xác định độ lưu động của vữa được thực hiện theo tiêu chuẩn TCVN 3121-3:2003 [18] để đảm bảo tất cả các mẫu đạt độ chảy trong khoảng 16±2 cm bằng cách điều chỉnh lượng phụ gia siêu dẻo. Khi đạt được độ chảy mong muốn, hỗn hợp vữa được đổ vào khuôn thép với các kích thước khác nhau tùy theo mục đích thí nghiệm. Hình 3 là hỗn hợp vữa được đúc trong các khuôn thép khác nhau.



Hình 2. Vật liệu khô để trộn.



Hình 3. Các mẫu vữa được chuẩn bị.

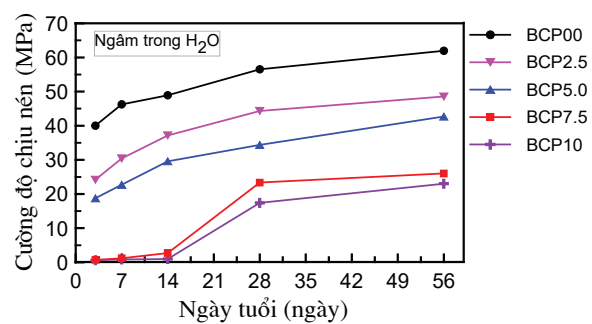
Độ hút nước của vữa được xác định ở 28 và 56 ngày tuổi theo TCVN 3121-18:2003 [18] sử dụng các mẫu vữa có kích thước  $50 \times 50 \times 50$  mm. Độ co khô của vữa được xác định tại 1, 3, 7, 14, 28 và 56 ngày tuổi theo TCVN 8824:2011 [19] sử dụng các mẫu vữa kích thước  $25 \times 25 \times 285$  mm. Độ giãn nở sun phát được xác định ở 1, 3, 7, 14, 28 và 56 ngày khi ngâm các mẫu vữa kích thước  $25 \times 25 \times 285$  mm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% xác định theo ASTM C1012 [20]. Giá trị trong bài báo là giá trị trung bình số học của ít nhất 3 mẫu vữa ở mỗi độ tuổi thử nghiệm.

Sử dụng các khuôn thép có kích thước  $40 \times 40 \times 160$  mm để đúc các mẫu chuẩn bị cho thí nghiệm xác định cường độ chịu nén. Các mẫu vữa được tháo khuôn sau một ngày kể từ khi đúc và được bảo dưỡng trong nước và ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% để xác định cường độ chịu nén và khả năng chịu lực trong môi trường xâm thực sun phát. Các thí nghiệm xác định cường độ chịu nén được thực hiện theo quy trình trong TCVN 3121-11:2003 [18]. Cường độ chịu nén được xác định tại các mốc 3, 7, 14, 28 và 56 ngày.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Cường độ chịu nén

Cường độ chịu nén là thông số quan trọng dùng để đánh giá khả năng chịu lực của vữa. Trong nghiên cứu này, cường độ chịu nén của các mẫu vữa chứa BCP thay thế cát được xác định tại 3, 7, 14, 28 và 56 ngày tuổi và được thể hiện ở hình 4. Có thể thấy, cường độ chịu nén phát triển tăng dần theo thời gian như quan sát thấy ở hình 4. Ở 28 ngày tuổi, giá trị cường độ chịu nén của các mẫu vữa với hàm lượng BCP ở mức 0, 2,5, 5, 7,5 và 10% đo được lần lượt là 56,53, 44,34, 34,37, 23,35 và 17,4 MPa. Ở 56 ngày tuổi, cường độ chịu nén của các mẫu với cùng mức hàm lượng BCP này lần lượt đạt 61,95, 48,55, 42,69, 26,03 và 23,02 MPa. Sự gia tăng cường độ chịu nén theo thời gian chủ yếu do quá trình thủy hóa của xi măng diễn ra liên tục, góp phần làm cho cấu trúc của vữa trở nên đặc chắc hơn, từ đó nâng cao cường độ cơ học của vữa. Điều này cũng tương đồng với thực nghiệm của J.D. Lee và cs (2023) [15] về sử dụng BCP trong vữa xi măng.



Hình 4. Sự phát triển cường độ chịu nén của các mẫu vữa theo thời gian.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, mẫu vữa không chứa BCP đạt cường độ chịu nén cao nhất so với các mẫu sử dụng BCP thay thế cát. Việc thay thế cát tự nhiên bằng BCP làm giảm đáng kể cường độ chịu nén của vữa, đặc biệt rõ rệt ở tỷ lệ thay thế 7,5 và 10%. Cụ thể, cường độ chịu nén sau 28 ngày của các mẫu vữa chứa 2,5, 5, 7,5 và 10% BCP đã giảm lần lượt 21,56, 39,20, 58,70 và 69,22% so với mẫu vữa không chứa BCP. Nguyên nhân là do BCP có cấu trúc xốp, rỗng và độ hút nước cao, làm giảm độ đặc chắc của vữa khi hàm lượng thay thế tăng.

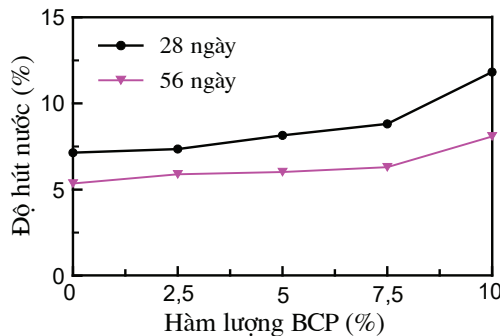
Điều đặc biệt quan sát thấy ở hình 4 là các mẫu vữa với hàm lượng BCP từ 7,5 đến 10% có sự phát triển cường độ chậm trước 14 ngày đầu và chỉ thực sự có cường độ chịu nén sau 14 ngày tuổi. Mặc dù cường độ chịu nén của các mẫu chứa BCP thấp hơn đáng kể so với mẫu đối chứng (SCG00), tại tuổi 28 ngày, các mẫu vữa chứa BCP dao động từ 17,4 đến 44,34 MPa, vượt quá phạm vi yêu cầu từ 7,5 đến 30 MPa đối với vữa thông thường theo TCVN 4314:2022 [17]. Điều này cho thấy, BCP có thể được sử dụng với hàm lượng phù hợp trong sản xuất vữa tùy theo yêu cầu về cường độ cụ thể đối với mỗi công trình trong thực tế.

#### 3.2. Độ hút nước

Độ hút nước của vữa là chỉ tiêu gián tiếp phản ánh khả năng chống thấm và chống xâm thực của các tác nhân ăn mòn hóa học theo S.P. Zhang và cs (2014) [21]. Khi độ hút



nước thấp, độ rỗng của vật liệu giảm, từ đó cải thiện khả năng chống thấm, ngăn ngừa sự phát triển của nấm mốc, rong rêu và góp phần kéo dài tuổi thọ công trình. Hình 5 thể hiện sự thay đổi độ hút nước của các mẫu vữa tại 28 và 56 ngày với các hàm lượng BCP khác nhau. Kết quả cho thấy, độ hút nước giảm theo thời gian bảo dưỡng, do quá trình thủy hóa liên tục làm tăng độ đặc chắc của vữa. Tuy nhiên, việc sử dụng BCP thay thế cát trong cấp phối lại làm tăng độ hút nước của vữa. Ở 28 ngày tuổi, các giá trị độ hút nước lần lượt là 7,14; 7,35; 8,15; 8,81 và 11,82%, ứng với các hàm lượng BCP là 0; 2,5; 5; 7,5 và 10%. Đến ngày thứ 56, các giá trị độ hút nước giảm xuống còn 5,35; 5,88; 6,02; 6,30 và 8,08%. Khi thay thế 2,5% cát bằng BCP, độ hút nước tăng nhẹ 3,0% ở 28 ngày tuổi so với mẫu đối chứng (BCP00). Tuy nhiên, sự gia tăng đáng kể về độ hút nước được ghi nhận khi hàm lượng BCP từ 5, 7,5 đến 10% với mức tăng lần lượt là 14,09; 23,40 và 65,54% ở 28 ngày tuổi so với mẫu đối chứng (BCP00). Sự gia tăng độ hút nước theo hàm lượng BCP cũng được quan sát trong nghiên cứu của M. Guendouz và cs (2023) [22], tuy nhiên mức tăng trong nghiên cứu đó lớn hơn đáng kể so với nghiên cứu này. Khả năng hút nước cao hơn của BCP so với cát tự nhiên là nguyên nhân làm tăng độ hút nước của các mẫu vữa chứa BCP so với hỗn hợp đối chứng (BCP00).

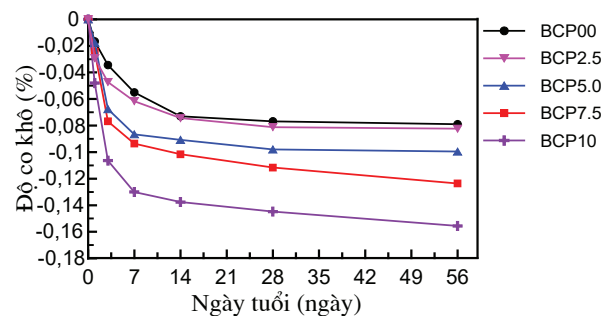


Hình 5. Ảnh hưởng của hàm lượng bã cà phê đến độ hút nước.

### 3.3. Độ co khô

Độ co khô là sự thay đổi chiều dài của mẫu vữa theo thời gian với kết quả đo được thể hiện trên hình 6. A.C.L. Wong và cs (2007) [23] cho rằng, độ co khô chủ yếu phát sinh từ sự mất nước do bay hơi, dẫn đến giảm thể tích của vữa. Quá trình này diễn ra mạnh ở giai đoạn đầu khi phản ứng thủy hóa xi măng xảy ra mãnh liệt, sinh nhiệt và làm thoát hơi nước dư thừa trong hỗn hợp, khiến kích thước mẫu bị thu nhỏ. Ở các giai đoạn sau, khi phần lớn xi măng đã phản ứng và tạo ra các sản phẩm thủy hóa ổn định, cấu trúc vật liệu trở nên bền vững hơn, dẫn đến tốc độ co khô giảm rõ rệt. Hình 6 cho thấy, độ co khô chủ yếu diễn ra trong 14 ngày đầu tiên, đặc biệt là trong 7 ngày đầu, sau đó chậm lại và dần đạt trạng thái ổn định ở các ngày tuổi sau. Đáng chú ý, độ co khô có xu hướng tăng theo hàm lượng BCP sử dụng trong cấp phối vữa. Tại thời điểm 28 ngày tuổi, độ co khô của các mẫu chứa BCP lần lượt là -0,0768; -0,0812;

-0,0980; -0,1116 và -0,1448%, tương ứng với hàm lượng BCP là 0; 2,5; 5; 7,5 và 10%. Đến ngày thứ 56, các giá trị này tăng nhẹ lên -0,0790; -0,0824; -0,0996; -0,1236 và -0,1556%. Việc thay thế 2,5% cát bằng BCP dẫn đến mức tăng độ co khô khiêm tốn, khoảng 5,73% sau 28 ngày so với mẫu đối chứng. Tuy nhiên, khi tỷ lệ BCP được nâng lên 5, 7,5 và 10%, độ co khô tăng đáng kể, lần lượt đạt mức 27,60, 45,31 và 88,54% so với mẫu không chứa BCP. Độ co khô cao hơn ở các mẫu chứa BCP so với mẫu đối chứng được lý giải là do BCP có độ rỗng và khả năng hút nước lớn hơn so với cát tự nhiên. Điều này khiến BCP giữ lại một lượng nước dư không tham gia vào quá trình thủy hóa. Khi mẫu khô dần, nước bị hút ra khỏi các lỗ rỗng, làm giảm thể tích của vật liệu và dẫn đến sự gia tăng độ co khô.



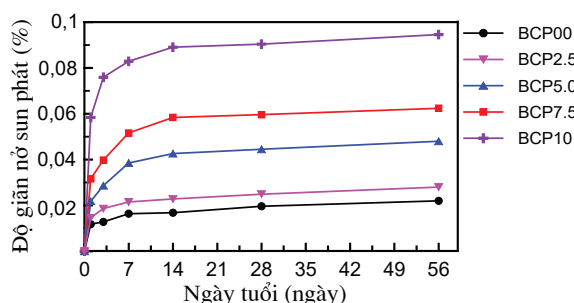
Hình 6. Ảnh hưởng của hàm lượng bã cà phê đến độ co khô.

### 3.4. Độ giãn nở sun phát

Độ giãn nở sun phát là một chỉ tiêu quan trọng trong đánh giá độ bền của vật liệu xây dựng, đặc biệt trong điều kiện môi trường có chứa ion sun phát như nước ngầm, đất hoặc không khí. Hình 7 thể hiện sự thay đổi độ giãn nở sun phát (hay còn gọi là sự thay đổi về chiều dài) của các mẫu vữa BCP00, BCP2.5, BCP5.0, BCP7.5 và BCP10 khi được ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% trong 56 ngày, với các mốc thời gian đo tại ngày 1, 3, 7, 14, 28 và 56. Kết quả cho thấy, độ giãn nở của các mẫu tăng theo thời gian, với tốc độ giãn nở nhanh trong 14 ngày đầu và chậm lại ở các giai đoạn sau. Điều này phản ánh đặc điểm phản ứng giữa các sản phẩm hydrat hóa xi măng và ion sun phát diễn ra mạnh ở giai đoạn đầu. Tại thời điểm 28 ngày, sự thay đổi chiều dài của các mẫu vữa với tỷ lệ thay thế BCP là 0, 2,5, 5,0, 7,5 và 10% lần lượt được ghi nhận là 0,0196; 0,0249; 0,0445; 0,0596 và 0,0904%. Đến ngày thứ 56, các giá trị này tăng lên lần lượt là 0,0220; 0,0280; 0,0480; 0,0624 và 0,0946% tương ứng với các mức thay thế BCP. Có nghĩa là mức độ giãn nở sun phát tăng đáng kể khi hàm lượng BCP trong vữa tăng. Khi các muối sun phát thâm nhập vào mẫu vữa, các ion sun phát có thể phản ứng với các hợp chất trong xi măng, đặc biệt là canxi hydroxit được sinh ra trong quá trình thủy hóa, tạo thành khoáng ettringite và thạch cao. Ettringite và thạch cao được coi là tác nhân chính gây ra sự giãn nở, nứt vỡ và suy giảm độ bền cơ học của vật liệu theo thời gian [24-27]. Như thể hiện trong hình 7, khả năng chống xâm



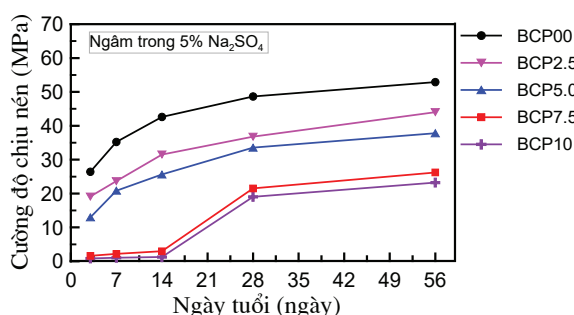
nhập ion sun phát của các mẫu vữa giảm khi mức thay thế BCP tăng. Hiện tượng này là do cấu trúc xốp và độ hút nước cao hơn của BCP như đã đề cập trước đó, dẫn đến độ rỗng cao hơn của vữa và độ hút nước cao, tạo điều kiện thuận lợi cho các phản ứng sinh ra ettringite và thạch cao. Do đó, các mẫu vữa chứa BCP không nên sử dụng trong các môi trường có tác nhân ăn mòn hóa học như ion sun phát.



Hình 7. Ảnh hưởng của hàm lượng bã cà phê đến độ giãn nở sun phát.

### 3.5. Cường độ nén khi ngâm trong dung dịch $\text{Na}_2\text{SO}_4$

Hình 8 thể hiện sự thay đổi giá trị cường độ chịu nén của các mẫu vữa khi ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5%. Có thể nhận thấy rằng, cường độ chịu nén của các mẫu nhìn chung tăng dần theo thời gian ngâm mẫu. Tuy nhiên, khi hàm lượng BCP tăng, cường độ chịu nén của các mẫu lại có xu hướng giảm. Cường độ chịu nén tăng theo thời gian chủ yếu là kết quả của quá trình thủy hóa xi măng tiếp diễn, giúp cấu trúc vữa ngày càng đặc chắc và cải thiện khả năng chịu lực. Ngược lại, sự suy giảm cường độ khi tăng hàm lượng BCP được cho là do đặc tính xốp, rỗng và khả năng hút nước cao của vật liệu này, làm giảm độ liên kết và tính đặc của cấu trúc vữa. Tuy nhiên, cũng tương tự như khi ngâm mẫu trong nước, điều thú vị là cường độ của vữa với mức hàm lượng từ 7,5 đến 10% thì tăng chậm trong 14 ngày đầu và cường độ chỉ phát triển mạnh sau 14 ngày.

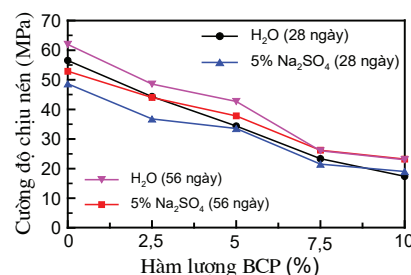


Hình 8. Sự phát triển của cường độ chịu nén khi ngâm trong  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5%.

Ở 28 ngày tuổi, giá trị cường độ chịu nén của các mẫu vữa ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% với hàm lượng BCP ở mức 0; 2,5; 5; 7,5 và 10% đo được lần lượt là 48,64; 36,78; 33,55; 21,52 và 19,02 MPa. Vào 56 ngày tuổi, cường độ chịu nén của các mẫu ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% với cùng mức hàm lượng BCP này lần lượt đạt 52,89; 44,02;

37,81; 26,21 và 23,22 MPa. Mặc dù cường độ chịu nén của các mẫu vữa khi ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% đều giảm khi tăng hàm lượng BCP, nhưng cường độ chịu nén nhỏ nhất là mẫu BCP10 là 19,02 MPa tại 28 ngày tuổi vẫn lớn hơn cường độ yêu cầu cho vữa mác M15.

Hình 9 thể hiện so sánh cường độ chịu nén của vữa ở 28 và 56 ngày tuổi khi ngâm vữa trong nước và dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5%. Có thể thấy rằng, các mẫu vữa chứa BCP từ 0 đến 5% khi ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% cho cường độ chịu nén thấp hơn đáng kể so với khi ngâm trong nước. Tuy nhiên, với mẫu vữa hàm lượng BCP từ 7,5 đến 10%, cường độ chịu nén trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% lại tương đương với mẫu ngâm trong nước và thậm chí cao hơn (cụ thể ở 28 ngày tuổi với mẫu BCP7.5). Hiện tượng này có thể được lý giải là do ở hàm lượng BCP cao, mẫu vữa có nhiều lỗ rỗng hơn, dễ bị tấn công bởi  $\text{SO}_4^{2-}$ , dẫn đến sự hình thành thạch cao, sau đó là ettringite thông qua phản ứng giữa thạch cao và các sản phẩm thủy hóa của xi măng. Cả thạch cao và ettringite đều có tính trương nở làm tăng đáng kể thể tích pha rắn trong vữa, lấp đầy các lỗ rỗng và cải thiện cường độ của mẫu vữa. Các nghiên cứu sâu hơn có thể được tiến hành để giải thích rõ hơn hiện tượng này.



Hình 9. So sánh cường độ chịu nén của vữa khi ngâm trong nước và  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5%.

## 4. Kết luận

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng tái sử dụng BCP để thay thế cho một phần cát tự nhiên trong cấp phối vữa. Một số kết luận chính được rút ra từ kết quả thực nghiệm như sau:

1) Cường độ chịu nén của các mẫu vữa tăng theo thời gian và giảm khi tăng hàm lượng BCP. Tại 28 ngày tuổi, các mẫu vữa với hàm lượng BCP là 0; 2,5; 5; 7,5 và 10% có giá trị cường độ chịu nén lần lượt là 56,5; 44,3; 34,4; 23,4 và 17,4 MPa, đảm bảo yêu cầu kỹ thuật theo TCVN 4314:2022.

2) Độ hút nước của mẫu vữa giảm theo thời gian và tăng theo hàm lượng BCP. Khi hàm lượng BCP là 2,5% thì độ hút nước tăng nhẹ 3,0% so với mẫu đối chứng và tăng lên hơn 14,09% khi hàm lượng BCP từ 5% trở lên.

3) Độ co khô và độ giãn nở sun phát của các mẫu vữa tăng nhanh ở 14 ngày đầu và có xu hướng ổn định ở các ngày tuổi về sau. Khi tăng hàm lượng BCP thay thế cát, độ co khô và độ giãn nở sun phát tăng. Tại thời điểm 28 ngày,

sự thay đổi chiều dài của các mẫu vữa với tỷ lệ thay thế BCP là 0, 2,5, 5,0, 7,5 và 10% lần lượt là 0,0196, 0,0249, 0,0445, 0,0596 và 0,0904%.

4) Với mức hàm lượng BCP từ 0 đến 5%, cường độ chịu nén khi ngâm trong nước cho giá trị cao hơn so với khi ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5%. Tuy nhiên, khi hàm lượng BCP từ 7,5 đến 10%, cường độ chịu nén của mẫu ngâm trong dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5% tương đương với mẫu ngâm trong nước và thậm chí còn cao hơn.

5) Trong điều kiện tài nguyên cát ngày càng khan hiếm, BCP có thể là một lựa chọn tiềm năng để thay thế một phần cát tự nhiên. Tuy nhiên, vữa chứa BCP không nên sử dụng trong môi trường bị xâm thực sun phat. Tỷ lệ BCP cần được xác định theo yêu cầu chịu lực của từng cấu kiện, đảm bảo đáp ứng các tiêu chuẩn kỹ thuật đặt ra. Với cấu kiện không chịu tải lớn như tường, lớp trát hoặc nền nhà, có thể dùng tỷ lệ BCP cao hơn; trong khi đó, các kết cấu chịu lực nên dùng tỷ lệ BCP ở mức thấp.

## LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn các giảng viên Bộ môn Kỹ thuật công trình, Trường Đại học Hồng Đức và học viên cao học Nguyễn Hữu Nam đã hỗ trợ trong suốt quá trình thí nghiệm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] E. Hegnsholt, S. Unnikrishnan, M.P. Larsen, et al. (2018), *Tackling The 1.6-Billion-Ton Food Loss and Waste Crisis*, The Boston Consulting Group, Food Nation, State of Green, pp.1-10.

[2] A. Arulrajah, T.A. Kua, C. Phetchuay, et al. (2016), "Spent coffee grounds-fly ash geopolymer used as an embankment structural fill material", *Journal of Materials in Civil Engineering*, **28**(6), DOI: 10.1061/(ASCE)MT.1943-5533.0001496.

[3] C. Corro, U. Pal, S. Cebada (2014), "Enhanced biogas production from coffee pulp through deligninocellulosic photocatalytic pretreatment", *Energy Science & Engineering*, **2**(4), pp.177-187, DOI: 10.1002/ese3.44.

[4] S.I. Mussatto, E.M.S. Machado, S. Martins, et al. (2011), "Production, composition, and application of coffee and its industrial residues", *Food Bioprocess Technology*, **4**, pp.661-672, DOI: 10.1007/s11947-011-0565-z.

[5] J. Kim, H. Kim, G. Baek, et al. (2017), "Anaerobic co-digestion of spent coffee grounds with different waste feedstocks for biogas production", *Waste Management*, **60**, pp.322-328, DOI: 10.1016/j.wasman.2016.10.015.

[6] J. McNutt, Q. He (2019), "Spent coffee grounds: A review on current utilisation", *Journal of Industrial Engineering and Chemistry*, **71**, pp.78-88, DOI: 10.1016/j.jiec.2018.11.010.

[7] A. Arulrajah, F. Maghoolpilehrood, M.M. Disfani, et al. (2014), "Spent coffee grounds as a non-structural embankment fill material: Engineering and environmental considerations", *Journal of Cleaner Production*, **72**, pp.181-186, DOI: 10.1016/j.jclepro.2014.03.010.

[8] D.E. Quesada, C.M. García, M.L.M. Cartas, et al. (2011a), "The use of different forms of waste in the manufacture of ceramic bricks", *Applied Clay Science*, **52**(3), pp.270-276, DOI: 10.1016/j.clay.2011.03.003.

[9] D.E. Quesada, L.P. Villarejo, F.J.I. Godino, et al. (2011b), "Incorporation of coffee grounds into clay brick production", *Advances in Applied Ceramics*, **110**(4), pp.225-232, DOI: 10.1179/1743676111Y.0000000006.

[10] F. Andreola, A. Borghi, S. Pedrazzi, et al. (2019), "Spent coffee grounds in the production of lightweight clay ceramic aggregates in view of urban and agricultural sustainable development", *Materials*, **12**(21), DOI: 10.3390/ma12213581.

[11] B.Y. Yun, H.M. Cho, Y.U. Kim, et al. (2020), "Circular reutilisation of coffee waste for sound absorbing panels: A perspective on material recycling", *Environmental Research*, **184**, DOI: 10.1016/j.envres.2020.109281.

[12] A. Lachheb, A. Allouhi, M.E. Marhoune, et al. (2019), "Thermal insulation improvement in construction materials by adding spent coffee grounds: An experimental and simulation study", *Journal of Cleaner Production*, **209**, pp.1411-1419, DOI: 10.1016/j.jclepro.2018.11.140.

[13] M. Saberian, J. Li, A. Donnoli, et al. (2021), "Recycling of spent coffee grounds in construction materials: A review", *Journal of Cleaner Production*, **289**, DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.125837.

[14] S. Na, S. Lee, S. Youn (2021), "Experiment on activated carbon manufactured from waste coffee grounds on the compressive strength of cement mortars", *Symmetry*, **13**(4), DOI: 10.3390/sym13040619.

[15] J.D. Lee, J. Kim, S. Lee (2023), "Study of recycled spent coffee grounds as aggregates in cementitious materials", *Recent Progress in Materials*, **5**(1), DOI: 10.21926/rpm.2301007.

[16] B. Janissen, T. Huynh (2018), "Chemical composition and valued-adding applications of coffee industry by-products: A review", *Resources Conservation & Recycling*, **128**, pp.110-117, DOI: 10.1016/j.resconrec.2017.10.001.

[17] Ministry of Science and Technology (2022a), *Vietnamese Standard TCVN 4314:2022, Mortar for Masonry - Specification* (in Vietnamese).

[18] Ministry of Science and Technology (2022b), *Vietnamese Standard TCVN 3121:2022, Mortar for Masonry - Test methods* (in Vietnamese).

[19] Ministry of Science and Technology (2011), *TCVN 8824:2011, Cements - Test Method for Drying Shrinkage of Mortar, Vietnamese Standard* (in Vietnamese).

[20] ASTM International (2009), *ASTM C1012/C1012m-09, Standard Test Method for Length Change of Hydraulic-Cement Mortars Exposed to A Sulfate Solution*, West Conshohocken, PA, USA, DOI: 10.1520/C1012\_C1012M-09.

[21] S.P. Zhang, L. Zong (2014), "Evaluation of relationship between water absorption and durability of concrete materials", *Advances in Materials Science and Engineering*, **2014**, pp.1-8, DOI: 10.1155/2014/650373.

[22] M. Guendouz, D. Boukheikhal, Z. Triki, et al. (2023), "Effect of using spent coffee grounds wastes as aggregates on physical and thermal properties of sand concrete", *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, **9**(3), pp.3256-3264.

[23] A.C.L. Wong, P.A. Childs, R. Berndt, et al. (2007), "Simultaneous measurement of shrinkage and temperature of reactive powder concrete at early-age using fibre Bragg grating sensors", *Cement and Concrete Composites*, **29**, pp.490-497, DOI: 10.1016/j.cemconcomp.2007.02.003.

[24] S. Diamond (1996), "Delayed ettringite formation - Processes and problems", *Cement and Concrete Composites*, **18**(3), pp.205-215, DOI: 10.1016/0958-9465(96)00017-0.

[25] M.M.A. Elahi, C.R. Shearer, A.N.R. Reza, et al. (2021), "Improving the sulfate attack resistance of concrete by using supplementary cementitious materials (SCMs): A review", *Construction and Building Materials*, **281**, DOI: 10.1016/j.conbuildmat.2021.122628.

[26] P.K. Mehta (1983), "Mechanism of sulfate attack on portland cement concrete - Another look", *Cement and Concrete Research*, **13**(3), pp.401-406, DOI: 10.1016/0008-8846(83)90040-6.

[27] M.M. Rahman, M.T. Bassuoni (2014), "Thaumasite sulfate attack on concrete: Mechanisms, influential factors and mitigation", *Construction and Building Materials*, **73**, pp.652-662, DOI: 10.1016/j.conbuildmat.2014.09.034.

# Nghiên cứu chế tạo vật liệu hấp phụ dầu từ rơm biến tính bằng copolymer glycidyl methacrylate và lauryl methacrylate

Lê Đức Mạnh<sup>1\*</sup>, Vũ Thị Ngọc Ánh<sup>1</sup>, Phạm Hoàng Nhật Huy<sup>2</sup>, Đinh Thị Vân<sup>1</sup>, Mai Quang Tuyền<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga, Chi nhánh phía Nam, đường 3/2, phường 11, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

<sup>2</sup>Trường Đại học Tôn Đức Thắng, 19 Nguyễn Hữu Thọ, phường Tân Hưng, quận 7, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/10/2023; ngày chuyển phản biện 6/10/2023; ngày nhận phản biện 30/10/2023; ngày chấp nhận đăng 6/11/2023

## **Tóm tắt:**

Bài báo trình bày quy trình chế tạo vật liệu hấp phụ dầu từ rơm thông qua biến tính bề mặt bằng copolymer glycidyl methacrylate (GMA) và lauryl methacrylate (LMA). Để tạo ra vật liệu thân thiện môi trường, có khả năng hấp thu chọn lọc dầu cao, nhóm nghiên cứu đã tiến hành đồng trùng hợp copolymer GMA và LMA trong dung dịch, sau đó ghép copolymer này lên sợi rơm đã xử lý kiềm. Các phân tích bằng máy quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR), phân tích nhiệt trọng lượng (TGA) và kính hiển vi điện tử quét (SEM) cho thấy sự biến đổi rõ rệt về cấu trúc hóa học và hình thái bề mặt của rơm sau biến tính. Đặc biệt, vật liệu đạt được tính siêu kỵ nước với góc tiếp xúc lên tới 161°, đồng thời vẫn duy trì khả năng nổi tốt trên mặt nước. Kết quả thử nghiệm hấp thu dầu theo tiêu chuẩn ASTM F726-12 cho thấy, vật liệu có thể hấp thu đến 14,9 g dầu FO/g vật liệu. Vật liệu cũng thể hiện hiệu quả trong việc tách dầu khỏi mặt nước, cho thấy tiềm năng lớn trong ứng dụng xử lý sự cố tràn dầu và nước thải nhiễm dầu với chi phí thấp và hiệu suất cao.

**Từ khóa:** copolymer glycidylmethacrylate, góc tiếp xúc, lớp phủ polymer kỵ nước, rơm siêu kỵ nước, vật liệu hấp phụ dầu, xử lý dầu tràn.

**Chỉ số phân loại:** 2.4, 2.5, 2.7

## Study on the synthesis of oil adsorbent materials from straw and glycidyl methacrylate-lauryl methacrylate copolymer

Duc Manh Le<sup>1\*</sup>, Thi Ngọc Anh Vu<sup>1</sup>, Hoang Nhat Huy Pham<sup>2</sup>, Thi Van Dinh<sup>1</sup>, Quang Tuyen Mai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Southern Branch of the Joint Russia - Vietnam Tropical Science and Technology Research Center, 3/2 Street, Ward 11, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Ton Duc Thang University, 19 Nguyen Huu Tho Street, Tan Hung Ward, District 7, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 3 October 2023; revised 30 October 2023; accepted 6 November 2023

## **Abstract:**

This article presents a method for synthesising oil-adsorbent materials from rice straw through surface modification using a glycidyl methacrylate (GMA) and lauryl methacrylate (LMA) copolymer. Aiming to develop an environmentally friendly material with high oil selectivity, the authors carried out a free radical copolymerisation of GMA and LMA in solution, followed by grafting the copolymer onto alkali-treated straw fibres. Fourier transform infrared spectrometry (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA), and scanning electron microscopy (SEM) analyses revealed significant changes in the chemical structure and surface morphology of the straw after modification. Notably, the resulting material exhibited superhydrophobic properties, with a water contact angle reaching up to 161°, while maintaining excellent buoyancy in water. Oil absorption test results performed in accordance with ASTM F726-12 demonstrated that the modified straw could absorb up to 14.9 g of fuel oil (FO) per gram of dry material. The material proves effective in separating oil from the water surface, confirming its strong potential for use in oil spill response and treatment of oil-contaminated wastewater with low cost and high efficiency.

**Keywords:** contact angle, glycidylmethacrylate copolymer, hydrophobic polymer coating, oil absorbent, oil spill treatment, superhydrophobic straw.

**Classification numbers:** 2.4, 2.5, 2.7

\*Tác giả liên hệ: Email: ducmanh89@gmail.com



## 1. Đặt vấn đề

Ô nhiễm dầu đang là vấn đề bảo động hiện nay trên thế giới, nó đến từ nhiều nguồn khác nhau, trong đó phổ biến nhất là từ hoạt động khai thác và vận chuyển dầu của con người. Tác hại của tình trạng ô nhiễm dầu đến môi trường là vô cùng nghiêm trọng, chúng sẽ tác động trực tiếp đến hệ sinh thái môi trường biển và những sinh vật biển trong vùng bị ô nhiễm [1]. Ngoài ra, chất thải dầu là những hợp chất tồn tại rất bền trong môi trường tự nhiên, khi con người tiếp xúc hoặc tiêu thụ những sinh vật biển ở vùng này sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe, gây ra những bệnh ngoài da, hô hấp hoặc thậm chí là tác nhân gây ung thư [2, 3]. Nhìn chung, nhiều phương pháp xử lý dầu đã được ứng dụng và nghiên cứu như: cơ học [4], sinh học [5], hóa học [6, 7], đốt cháy tại chỗ. Trong đó, loại bỏ dầu tràn bằng các vật liệu hấp phụ được quan tâm sử dụng nhiều hơn cả bởi tính an toàn, dễ triển khai, quá trình vận hành cho phép thu gom trực tiếp dầu từ nước mà không có tác động tiêu cực đến môi trường [8]. Phần lớn sự hấp phụ dầu thường xảy ra ở các lỗ trống vì tại đây phần diện tích bề mặt có sẵn rất lớn. Cuối cùng, các phân tử dầu bám chặt vào bề mặt bên trong các lỗ trống và bị giữ lại bên trong vật liệu. Khả năng hấp phụ dầu của vật liệu được cho là nhờ vào tác dụng của lực Van Der Waals giữa các nhóm ưa dầu và dầu nổi trên mặt nước [9, 10]. Các vật liệu hấp phụ sử dụng trong kỹ thuật này rất đa dạng, bao gồm các vật liệu hữu cơ tự nhiên như: thực vật dạng sợi, kapok, rom rạ, vật liệu hữu cơ tổng hợp (polypropylene và polyurethane hoặc những vật liệu có nguồn gốc từ khoáng vật vô cơ tự nhiên như: perlite, graphite, vermiculite, đất sét, diatomite). Nhìn chung, một vật liệu hấp phụ dầu lý tưởng cần có các đặc tính như: khả năng hấp thu cao, độ chọn lọc dầu/nước cao, độ xốp cao, khả năng nổi cao, chi phí thấp, thân thiện với môi trường.

Trong những năm gần đây, vật liệu hấp phụ có nguồn gốc tự nhiên được nghiên cứu và phát triển vì tính sẵn có, giá thành thấp và đa dạng [11]; các nhà khoa học đã ứng dụng nhiều phương pháp biến tính khác nhau như kiềm hóa, acetyl hóa, trùng hợp... nhằm tạo ra vật liệu có tính ứng dụng trong xử lý dầu tràn.

Rơm được coi là phụ phẩm của nông nghiệp, rẻ tiền và rất dồi dào, chúng có rất ít giá trị kinh tế, một phần nhỏ được sử dụng làm thức ăn chăn nuôi và trồng trọt, còn lại phần lớn sẽ được đốt lấy tro làm phân bón. Quá trình đốt sinh ra một lượng lớn khói bụi, gây ra ô nhiễm nguồn không khí, ảnh hưởng đến sức khỏe con người [12, 13]. Việc tìm cách sản xuất các loại vật liệu từ rơm rạ nhằm nâng cao giá trị kinh tế của chúng ngày càng được quan tâm nghiên cứu. Chế tạo vật liệu hấp phụ dầu với tính chất ưa dầu/ky nước bằng phương pháp biến tính rơm được coi là một hướng đi mới, có nhiều tiềm năng ứng dụng. Tuy nhiên, do rơm có thành phần chủ yếu từ cellulose với các nhóm hydroxyl trên mạch cacbon, vì vậy chúng có tính ưa nước. Để chế tạo vật liệu hấp phụ dầu có tính chất ưa dầu/ky nước, thông thường

người ta phải biến tính bề mặt vật liệu bằng các tác nhân hóa học nhằm thu được tính chất như mong muốn.

Trong nghiên cứu của P.X. Yu và cs (2020) [14], các tác giả đã chế tạo vật liệu hấp phụ dầu bằng cách ghép polystyrene và liên kết octadecanoyl siêu kỵ nước. Tuy nhiên, vật liệu thu được có dạng bột và dễ vỡ nên khó ứng dụng trong thực tế, ngoài ra quy trình chế tạo phức tạp nên cũng hạn chế tiềm năng ứng dụng của sản phẩm.

Kế thừa các nghiên cứu trước đó của chính nhóm tác giả [15-18], trong nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu hấp phụ dầu thân thiện với môi trường trên cơ sở biến tính sợi rom bằng dung dịch poly-(GMA-co-LMA). Theo đó, nhóm epoxy của polymer nhờ khả năng phản ứng tốt sẽ tạo các liên kết cộng hóa trị bền với nhóm hydroxyl của cellulose giúp polymer bám chặt vào bề mặt vật liệu. Bên cạnh đó, các nhóm thế alkyl đóng vai trò là tác nhân tạo cho vật liệu tính chất siêu kỵ nước và ưa dầu nhằm tăng khả năng hấp thu chọn lọc dầu khỏi nước. Vật liệu hấp phụ thu được bằng phương pháp này có khả năng hấp thu dầu cao với quy trình chế tạo đơn giản, có thể áp dụng với số lượng lớn. Hình thái cấu trúc bề mặt của vật liệu, độ bền lớp phủ polymer kỵ nước, các tính chất kỵ nước, khả năng hấp thu dầu chọn lọc, khả năng hấp thu các loại dầu khác nhau cũng đã được nghiên cứu.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Trong bài báo này, các tác giả sử dụng các hoá chất và vật liệu sau: monome glycidylmethacrylat (GMA, 98%, Sigma Aldrich), laurylmethacrylat (LMA, 98%, Sigma Aldrich), azobisisobutyronitril (AIBN, 99%, Aladin), isopropanol (99%, Scharlau), ethylmethyleketon (MEK, 99%, Scharlau), acetone (99%, Scharlau), methanol (99%, Scharlau), sodium hydroxide (98%, Trung Quốc), rom được lấy ở cánh đồng thuộc tỉnh Tiền Giang.

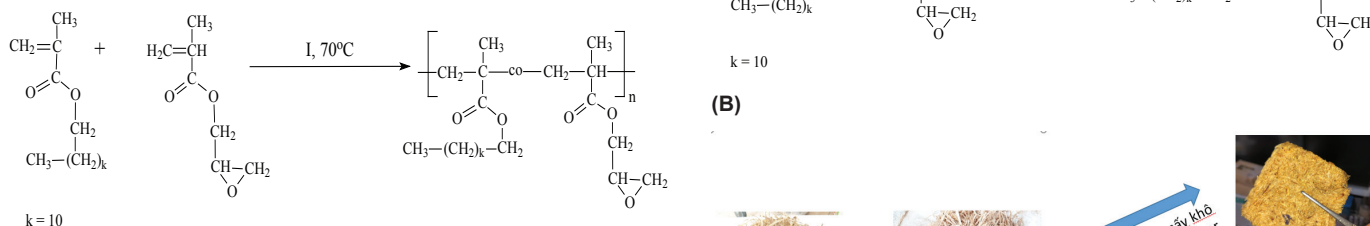
Để đánh giá khả năng hấp thu dầu của vật liệu, chúng tôi cho vật liệu hấp thu các loại dầu có độ nhớt khác nhau, bao gồm dầu hạt cải (nhãn hiệu Simply); dầu động cơ (nhãn hiệu Mobil 15W-40); dầu thô Bạch Hổ (nhiệt độ nóng chảy (mp) = 22,35°C); dầu đốt (FO) (nhiệt độ nóng chảy 22,35°C) được lấy từ Nhà máy lọc dầu Dung Quất. Độ nhớt của các loại dầu được đo bằng máy đo nhớt kế Brookfield KU-2 (Hoa Kỳ) tại Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga. Khối lượng riêng và độ nhớt của các loại dầu được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1. Khối lượng riêng và độ nhớt của các loại dầu.**

| Loại dầu            | Khối lượng riêng g.(cm <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup> /nhiệt độ đo (°C) | Độ nhớt/nhiệt độ đo, (cP)/(°C) |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Dầu hạt cải         | 0,915/20                                                              | 140/25                         |
| Dầu động cơ         | 0,88/15                                                               | 220,5/33                       |
| Dầu thô, mp=22,35°C | 0,8467/20                                                             | 164/33                         |
| Dầu FO, mp=22,35°C  | 0,991/15                                                              | 255/33                         |

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Tổng hợp copolymer:** Copolymer GMA và LMA được tổng hợp bằng phương pháp đồng trùng hợp gốc tự do trong dung dịch. Sơ đồ quy trình tổng hợp được thể hiện trên hình 1.



Hình 1. Sơ đồ phản ứng trùng hợp copolymer poly-(GMA-co-LMA).

Chất khơi mào phản ứng là AIBN, dung môi là MEK. Phản ứng đồng trùng hợp diễn ra ở 70°C trong 24 giờ. Nồng độ monomer là 1 mol/l, tỷ lệ monomer GMA:LMA là 2,3:1. Quy trình tổng hợp và tính chất của polymer được đánh giá theo các nghiên cứu [15-18].

**Chế tạo vật liệu hấp phụ dầu từ rơm và dung dịch polymer poly-(GMA-co-LMA):** Rơm được loại bỏ tạp chất, cắt ngắn khoảng 2-3 cm, sau đó nghiền nhỏ bằng máy nghiền, sản phẩm cuối cùng có dạng hình sợi dài 0,5-3 cm. Các mẫu rơm này được chia làm 2 nhóm, sau đây gọi là nhóm 1 và nhóm 2A.

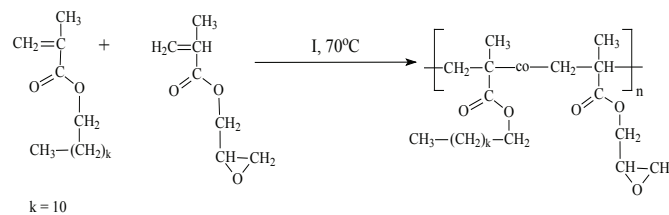
Các mẫu nhóm 2A được ngâm trong dung dịch NaOH nồng độ 10% trong 1 giờ ở nhiệt độ thường, sau đó được vớt ra và rửa lại nhiều lần bằng nước cất đến khi pH bằng 7. Vật liệu sau khi rửa sạch được sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 105°C đến khối lượng không đổi, thu được các mẫu nhóm 2.

Các mẫu rơm nhóm 1 và nhóm 2 được ngâm trong dung dịch poly-(GMA-co-LMA) có nồng độ 0,5-1,5% trong dung môi MEK trong khoảng thời gian 30 phút, sau đó được vớt ra, sấy ở các nhiệt độ từ 80 đến 160°C trong 30 phút. Vật liệu biến tính sau đó được bảo quản bằng bình hút ẩm ở điều kiện nhiệt độ phòng. Quy trình chế tạo và biến tính vật liệu được thể hiện ở hình 2.

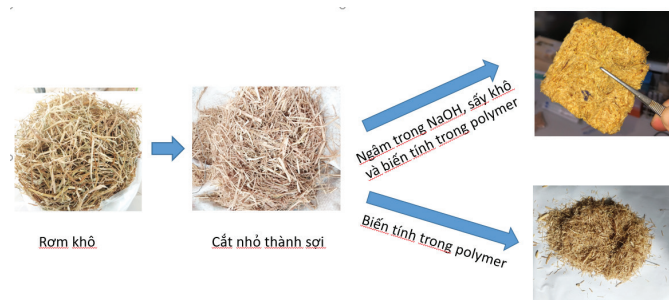
**Nghiên cứu các tính chất hóa lý của vật liệu hấp phụ dầu:** Hình thái bề mặt sợi rơm trước và sau khi biến tính được đánh giá bằng phương pháp chụp kính hiển vi điện tử SEM S-4800 (Hitachi S-4800, Hitachi). Mẫu polymer có khả năng dẫn điện kém được làm sạch bằng dung dịch đệm 0,1 M cacodylic acid pH 7,3, sau đó được phủ một lớp kim loại Platin bằng phương pháp bốc bay chân không, lớp phủ kim loại có độ dày 50-100 Angstrom.

Phương pháp nhiệt quét vi sai được tiến hành đo với mẫu poly-(GMA-co-LMA) và các mẫu rơm trước và sau khi biến tính trên máy LabSys Evo TG-DSC 1600 Setaram, tốc độ gia nhiệt 10°C/phút trong khoảng 25÷550°C.

(A)



(B)



Hình 2. Sơ đồ phản ứng ghép mạch poly-(GMA-co-LMA) lên cellulose (A) và quy trình chế tạo vật liệu hấp phụ dầu từ rơm (B).

Phương pháp phổ hồng ngoại FTIR được thực hiện trên máy Perkin Elmer, model Spectrum Two, được sử dụng để đánh giá cấu trúc của cellulose trên các mẫu rơm ban đầu, mẫu rơm sau khi ngâm trong NaOH, mẫu rơm sau khi biến tính bằng NaOH và phủ polymer GMA-co-LMA.

**Nghiên cứu tính chất ưa dầu/kỵ nước của vật liệu:** Tính chất kỵ nước của vật liệu hấp phụ dầu được đánh giá bằng cách đo góc tiếp xúc trên bề mặt của mẫu trước và sau khi biến tính. Góc tiếp xúc được đo trên thiết bị OCA-20ES của Hãng Data physic (Đức), trên mỗi mẫu đo ít nhất 5 điểm, thể tích giọt nước là 9 µl, các giá trị đo trên cùng mẫu lệch nhau không quá 5°, góc tiếp xúc là giá trị trung bình giữa các lần đo.

Độ hấp thu nước và hấp thu dầu được đo theo phương pháp của tiêu chuẩn ASTM 726-12. Độ hút nước của vật liệu được tiến hành như sau:

Đối với vật liệu dạng tấm: Đối với mỗi nồng độ polymer cắt 4 mẫu thử nghiệm có kích thước 6x6 cm từ mẫu có kích thước lớn hơn đã được biến tính và đặt trong bình có thể tích 4 lít và chứa nước đến 1/2 bình và đậy kín. Các thùng sau đó được đặt cố định trên bàn lắc ngang và lắc với vận tốc 150 chu kỳ/phút với biên độ lắc 2,5 cm trong thời gian 15 phút. Sau khi máy ngừng lắc, để bình ổn định trong 2 phút và bắt đầu kiểm tra độ nổi của mẫu. Tất cả những mẫu không nổi sau thử nghiệm này đều được đánh giá là không đạt tiêu chuẩn. Các mẫu nổi được vớt ra bằng vợt lưới thép,

giữ trong khoảng 30 giây để cho trôi nước trên bề mặt, sau đó mang đi cân. Độ hấp thụ nước  $A_w$  (g/g) được tính theo công thức  $A_w = (m_w - m_{dry})/m_{dry}$ .

trong đó:  $m_w$  là khối lượng mẫu sau khi hấp thụ nước,  $m_{dry}$  là khối lượng mẫu khô.

Đối với các mẫu vật liệu dạng xơ: Cân 4 đến 10 g vật liệu hoặc không quá 150 cm<sup>3</sup> vật liệu hấp phụ dầu dạng xơ, cho vào bình thủy tinh 4 lít đã được rót nước đến 1/2 bình. Bình đựng được đặt lên bàn lắc hoặc thiết bị tương tự và lắc với tốc độ 150 chu kỳ/phút, biên độ 2,5 cm trong khoảng thời gian 15 phút. Kết thúc quá trình lắc giữ cho hệ thống ổn định trong 2 phút và bắt đầu quan sát. Nếu trên 10% lượng chất hấp phụ chìm dưới nước thì chất hấp phụ này không vượt qua thử nghiệm. Dùng vợt lưới vớt mẫu vật liệu ra, để cho chảy nước trong vòng 30 giây và tiến hành cân mẫu. Lượng nước hấp thụ được tính theo công thức tương tự như đối với vật liệu dạng tấm.

Các thử nghiệm khả năng hút dầu của vật liệu được chia làm thử nghiệm nhanh (ngâm mẫu trong dầu trong thời gian 15 phút) và thử nghiệm dài (ngâm mẫu trong dầu thử nghiệm trong 24 giờ). Thử nghiệm được tiến hành bằng cách ngâm mẫu có kích thước tối thiểu 13x13 cm trong chậu có chứa dầu, sao cho độ dày của lớp dầu tối thiểu là 2,5 cm. Sau thời gian thử nghiệm, dùng kẹp gấp mẫu ra khỏi dầu và giữ nguyên trong 30 giây để loại bỏ các giọt dầu không bám trên mẫu. Sau đó nhanh chóng đặt mẫu vào đĩa cân để cân và đảm bảo rằng không để rơi giọt dầu nào. Độ hấp thụ dầu  $A_o$  (g/g) của vật liệu được tính bằng số gam dầu hấp thụ trong mỗi gam vật liệu khô.

$$A_o = (m_o - m_{dry})/m_{dry}$$

trong đó:  $m_o$  là khối lượng mẫu sau khi hấp thụ dầu,  $m_{dry}$  là khối lượng mẫu khô.

Thử nghiệm khả năng hút dầu khỏi mặt nước: Rót khoảng 100 ml nước cất vào cốc 250 ml, rót thêm khoảng 30 ml dầu FO vào cốc nước, phần dầu do nhẹ hơn sẽ nổi lên

trên mặt nước. Tiếp tục thả mẫu rơm đã biến tính vào cốc trên và quan sát khả năng hút dầu của vật liệu. Sau khoảng 30 phút vớt mẫu rơm ra và đánh giá khả năng hấp thụ dầu khỏi mặt nước.

### 3. Kết quả và bàn luận

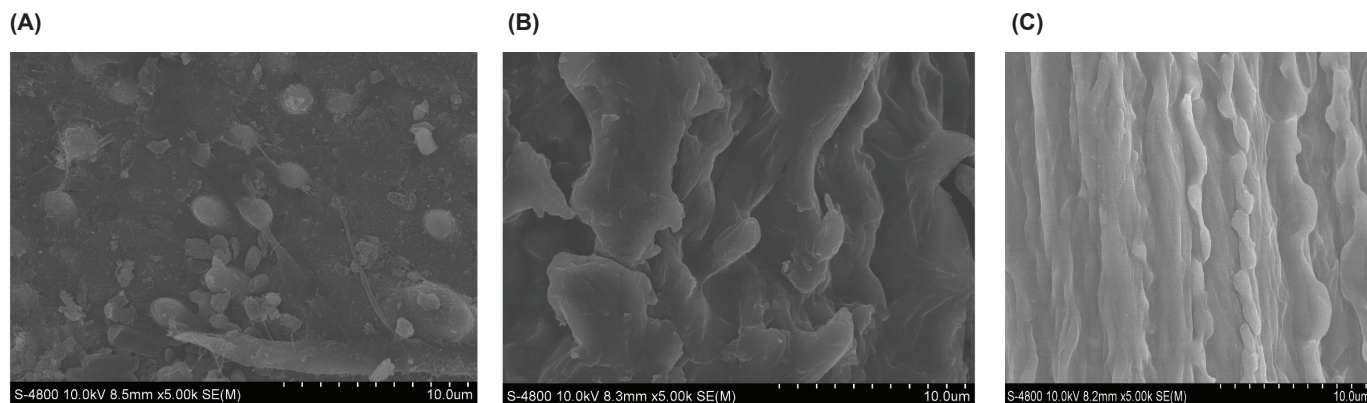
#### 3.1. Phân tích hình chụp kính hiển vi điện tử quét

Để nghiên cứu về tính chất bề mặt của vật liệu, phương pháp SEM được tiến hành với rơm qua từng giai đoạn chế tạo vật liệu (hình 3).

Hình 3A khảo sát bề mặt rơm thô gồm cấu trúc gồm các rãnh, hạt không đồng nhất tạo thành do các thành phần tạo nên cấu trúc bề mặt rơm như các lớp lignin, hemicellulose, tạp chất bề mặt. Các thành phần này được loại bỏ sau đó khi rơm được ngâm trong dung dịch NaOH nồng độ 10% trong khoảng 1 giờ tạo nên bề mặt nhẵn bóng với các sợi cellulose có kích thước lớn từ việc bung nở của các bó cellulose trong cấu trúc vật liệu sau khi loại bỏ tạp chất hình 3B. Hình ảnh vi sai vật liệu sau quá trình điều chế 3C cho thấy ảnh vi mô polymer liên kết với các phân tử cellulose. Hình thái trong hình 3C cho thấy, các bề mặt sau liên kết là các bề mặt nhẵn có nghĩa là chúng đồng nhất.

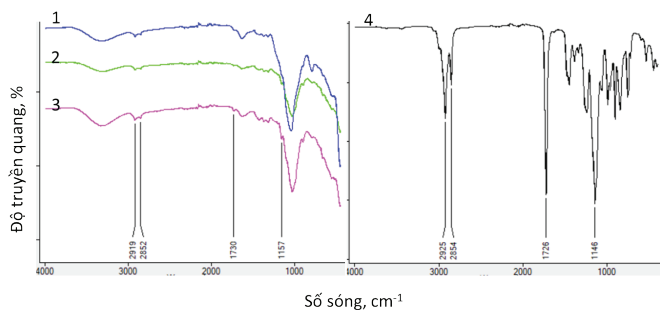
#### 3.2. Phân tích phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

Hình 4 so sánh dữ liệu phổ FTIR của mẫu polymer và 3 mẫu rơm trước, sau khi xử lý. Nhận thấy rằng, trên 3 phổ đều có sự xuất hiện của 2 dải hấp thụ 3300 và 2915 cm<sup>-1</sup> lần lượt tương ứng với dao động kéo dài của nhóm OH và C-H trong cấu trúc cellulose. Các dải hấp thụ cực đại chứng minh cho dao động kéo dài O-C-O tại 1095, 1027, 1152 cm<sup>-1</sup> đều quan sát thấy trong 3 mẫu vật liệu tương ứng A, B, C. Phổ FTIR của mẫu 4B, 4C có sự khác biệt về cường độ, đặc biệt sự xuất hiện của đỉnh hấp thụ 1734 cm<sup>-1</sup> (mẫu 4C) tương ứng với giao động của nhóm C=O, chứng minh sự có mặt của polymer lên bề mặt cellulose.



**Hình 3. Hình ảnh kính hiển vi điện tử quét của: (A) Mẫu rơm thô; (B) Rơm sau khi xử lý trong NaOH; (C) Rơm sau khi xử lý trong NaOH và biến tính bởi poly-(GMA-co-LMA).**





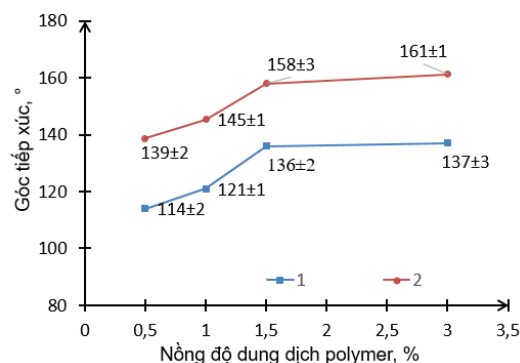
**Hình 4. Phổ hồng ngoại biến đổi Fourier của:** 1) Mẫu rơm ban đầu; 2) Mẫu rơm xử lý trong NaOH; 3) Mẫu rơm xử lý trong NaOH và phủ polymer poly-(GMA-co-LMA); 4) Mẫu polymer poly-(GMA-co-LMA).

### 3.3. Phân tích nhiệt trọng lượng

Từ kết quả phân tích TGA ở hình 5 thấy rằng, thay đổi đáng kể được quan sát ở các đường phân tích nhiệt trọng của mẫu biến tính. Cả 3 mẫu đều quan sát thấy khối lượng không đáng kể bắt đầu mất đi trong khoảng 80-89°C, tương ứng với 4,4-5,9% khối lượng hơi nước còn giữ lại trong mẫu. Tiếp theo diễn ra quá trình phân hủy cellulose, ở mẫu rơm thô nhiệt độ phân hủy là 307,89°C tương ứng với khối lượng giảm đi 49,95%. Đối với mẫu xử lý trong NaOH và biến tính trong poly-(GMA-co-LMA), nhiệt độ phân hủy cao hơn mẫu rơm thô (335,90°C với mẫu B, 337,54°C mẫu C), khối lượng hao hụt của mẫu B và C tương ứng là 74,48 và 69,24%. Ngoài ra, trong mẫu vật liệu sau biến tính bằng poly-(GMA-co-LMA) không quan sát thấy điểm phân hủy nhiệt của polymer, điều này có thể liên quan đến lượng polymer phủ trên mẫu không đáng kể so với khối lượng mẫu rơm sau khi xử lý.

### 3.4. Phân tích khả năng kỵ nước

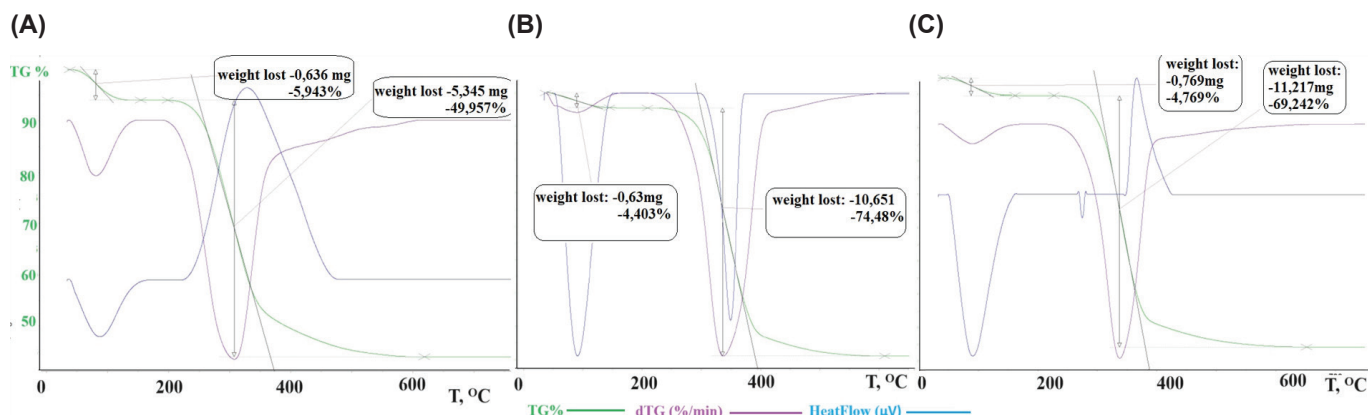
Để đánh giá quy trình biến tính vật liệu phù hợp, các mẫu rơm trước và sau khi xử lý trong dung dịch NaOH đã được sử dụng để biến tính trong dung dịch poly-(GMA-co-LMA) với nồng độ khác nhau.



**Hình 6. Sự thay đổi góc tiếp xúc trên bề mặt mẫu rơm theo nồng độ dung dịch polymer.** 1: Rơm thô biến tính trong poly-(GMA-co-LMA); 2: Mẫu rơm xử lý trong NaOH và biến tính trong poly-(GMA-co-LMA).

Kết quả phân tích hình 6 cho thấy, sau khi biến tính trong dung dịch polymer, cả 2 loại mẫu đều đạt được trạng thái kỵ nước với góc tiếp xúc lớn hơn 100°. Khi tăng nồng độ dung dịch từ 0,5 đến 3%, góc tiếp xúc cũng tăng lên đáng kể. Đặc biệt ở nồng độ dung dịch polymer 1,5 và 3%, góc tiếp xúc trên các mẫu nhóm 1 đạt lần lượt 136 và 138°, các mẫu nhóm 2 đạt trạng thái siêu kỵ nước (góc tiếp xúc  $\geq 150^\circ$ ). Các mẫu nhóm 2 đạt trạng thái siêu kỵ nước sau khi phủ polymer là nhờ sự gia tăng về độ nhám bề mặt của các bó sợi cellulose sau khi chúng được xử lý trong dung dịch NaOH. Như đã nói ở trên (hình 3), sau khi xử lý trong dung dịch NaOH, các thành phần hữu cơ trên sợi rơm bị phân hủy và để lộ ra các bó sợi cellulose với bề mặt xù xì khiến độ nhám bề mặt tăng lên đáng kể.

Việc tăng tính chất kỵ nước của vật liệu đồng thời cũng làm giảm độ hút nước của chúng (bảng 2). Kết quả ở bảng 2 cho thấy, đối với các mẫu rơm chưa biến tính, nhờ tính chất ưa nước vốn có, chúng nhanh chóng dính ướt và chìm xuống đáy cốc. Đối với các mẫu rơm biến tính trong dung dịch polymer nhưng không qua xử lý NaOH, độ hút nước



**Hình 5. Phân tích nhiệt trọng lượng của các mẫu.** (A) Mẫu rơm ban đầu; (B) Mẫu rơm sau khi xử lý trong NaOH; (C) Rơm sau khi xử lý bằng NaOH và biến tính trong poly-(GMA-co-LMA).

đạt 5,53-6,23 g/g và lượng mẫu chìm dưới đáy cốc chiếm 12,73-13,53%. Như vậy, các mẫu này không vượt qua được thử nghiệm đánh giá độ nổi theo tiêu chuẩn ASTM 726-12, do có lượng mẫu chìm sau thử nghiệm lớn hơn 10%.

**Bảng 2. Kết quả thử nghiệm độ hút nước và độ nổi của vật liệu theo tiêu chuẩn ASTM 726-12.**

| Nồng độ dung polymer biến tính (%) | Độ hút nước của vật liệu (g/g) |       | Lượng mẫu chìm (%) |       |
|------------------------------------|--------------------------------|-------|--------------------|-------|
|                                    | Mẫu 1                          | Mẫu 2 | Mẫu 1              | Mẫu 2 |
| 0                                  | Mẫu chìm hoàn toàn             |       |                    |       |
| 0,5                                | 6,23                           | 0,79  | 13,53              | 0,27  |
| 1,0                                | 5,96                           | 0,60  | 13,79              | 0,04  |
| 1,5                                | 5,53                           | 0,59  | 12,73              | 0,03  |

Ngược lại, các mẫu rom nhóm 2 sau khi ghép polymer, ta nhận thấy sự giảm rõ rệt về lượng nước hấp thu và lượng mẫu chìm sau khi thử nghiệm so với các mẫu nhóm 1. Như vậy, các mẫu nhóm 2 đều vượt qua thử nghiệm với lượng nước hấp thu từ 0,59 đến 0,79 g/g và lượng mẫu chìm  $0,27 \div 0,03\%$ . Việc các sợi rom có bề mặt đạt tính chất siêu kỵ nước khiến giảm đáng kể khả năng bám dính của nước lên bề mặt và nước thẩm thấu vào bên trong các bó sợi cellulose. Bên cạnh đó, các sợi rom sau khi xử lý trong NaOH và sấy khô sẽ đan xen vào nhau tạo thành các khối xộp, điều này làm gia tăng khả năng lưu trữ dầu bên trong đồng thời cũng giảm diện tích bề mặt tiếp xúc của vật liệu với nước. Các thử nghiệm tiếp theo về khả năng hút dầu của vật liệu sẽ được thực hiện trên các mẫu nhóm 2.

### 3.5. Phân tích khả năng hút dầu

Để đánh giá độ hút dầu của vật liệu, mẫu rom sau khi biến tính đã được ngâm các loại dầu có độ nhớt và khối lượng riêng khác nhau và đo lượng dầu hấp thu được theo thời gian ngâm mẫu. Từ kết quả thử nghiệm cho thấy, hệ số hấp thu dầu tối đa của vật liệu thay đổi trong khoảng từ 6,1 đến 14,9 g/g tùy thuộc vào khối lượng riêng và độ nhớt của từng loại dầu (bảng 3).

**Bảng 3. Đánh giá khả năng hấp thu các loại dầu khác nhau của vật liệu hấp.**

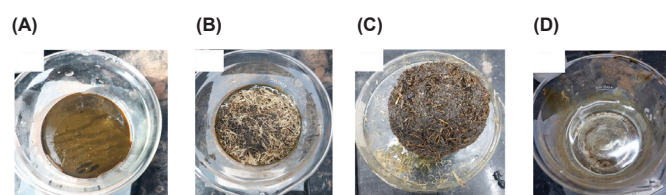
| Loại dầu    | Thời gian thử nghiệm |        |         |         |         |       |        |
|-------------|----------------------|--------|---------|---------|---------|-------|--------|
|             | 0 phút               | 5 phút | 10 phút | 30 phút | 60 phút | 4 giờ | 24 giờ |
| Dầu hạt cải | 0                    | 6,8    | 6,8     | 6,8     | 6,8     | 6,8   | 6,8    |
| Dầu thô     | 0                    | 5,5    | 5,4     | 5,7     | 5,9     | 5,7   | 6,1    |
| Dầu động cơ | 0                    | 8,0    | 10,4    | 10,7    | 11,0    | 11,3  | 11,7   |
| Dầu FO      | 0                    | 5,6    | 13,1    | 12,5    | 13,7    | 13,9  | 14,9   |

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, đối với các mẫu dầu có khối lượng riêng và độ nhớt thấp và trung bình (dầu hạt cải) thì lượng dầu hấp thu nhanh chóng bão hòa sau 5-10 phút ngâm mẫu, tiếp tục thử nghiệm thì đều không thấy sự gia tăng đáng kể về khối lượng dầu hấp thu. Ngược lại, đối với các mẫu dầu nặng, có độ nhớt và khối lượng riêng cao (dầu thô, dầu FO và dầu động cơ), trong khoảng thời gian thử

thử nghiệm, tốc độ hấp thu dầu của vật liệu diễn ra chậm hơn và chúng cần nhiều thời gian hơn để lượng dầu hấp thu có thể đạt tối đa. Khối lượng dầu hấp thu được của vật liệu phụ thuộc nhiều vào khối lượng riêng và độ nhớt của chúng. Dầu hạt cải và dầu thô có khối lượng riêng và độ nhớt thấp nhất nên khối lượng dầu hấp thu của vật liệu chỉ đạt lần lượt là 6,8 và 6,1 g/g. Khi khối lượng riêng của vật liệu tăng thì đối với cùng lượng thể tích dầu hấp thu được, khối lượng dầu cũng tăng theo.

Bên cạnh đó, độ nhớt của dầu cao cũng sẽ giúp dầu bám dính vào các sợi vật liệu hấp thu tốt hơn, lớp màng dầu tạo thành trên bề mặt vật liệu cũng dày hơn, vì vậy, lượng dầu thu được sẽ lớn hơn. Điều này giải thích lý do tại sao mặc dù dầu động cơ có khối lượng riêng thấp hơn khối lượng riêng của dầu hạt cải, tuy nhiên do dầu động cơ có độ nhớt cao hơn của dầu hạt cải (bảng 1), nên lượng dầu động cơ mà vật liệu hấp thu được đạt đến 11,7 g/g, cao hơn so với dầu hạt cải là 6,8 g/g. Như vậy, trong trường hợp sử dụng vật liệu để thu gom các loại dầu có độ nhớt cao như dầu FO, dầu động cơ thì thời gian ngâm mẫu cần lâu hơn so với các loại dầu nhẹ khác.

Hình 7 mô tả thí nghiệm kiểm tra khả năng tách dầu khỏi nước của tấm vật liệu hấp phụ sau khi biến tính. Từ kết quả khảo sát thấy rằng, đối với mẫu rom đã biến tính, khi thả lên bề mặt chất lỏng thì mẫu nổi và từ từ hấp thu dầu vào trong. Sau khoảng thời gian 30 phút thì lượng dầu trên mặt nước đã được hấp thu hoàn toàn (hình 7D). Như vậy, nhờ việc biến tính bằng dung dịch polymer poly-(GMA-co-LMA), chúng tôi đã chế tạo được loại vật liệu hấp phụ dầu từ nguồn nguyên liệu sẵn có và rẻ tiền là rom. Loại vật liệu này có tiềm năng lớn trong việc ứng dụng xử lý các sự cố dầu tràn và nước thải nhiễm dầu.



**Hình 7. Thử nghiệm khả năng hút dầu FO khỏi mặt nước của vật liệu. (A)** Cốc nước chứa dầu FO trên bề mặt; **(B)** Thả mẫu rom trên bề mặt dầu; **(C)** Mẫu rom sau khi hấp thu dầu; **(D)** Nước sau khi đã tách dầu.

## 4. Kết luận

Các sự cố tràn dầu và nước thải nhiễm dầu thường gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến môi trường và hệ sinh thái khu vực ô nhiễm. Việc phát triển một loại vật liệu xử lý dầu tràn thân thiện với môi trường và chi phí thấp ngày càng trở nên cấp thiết. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày phương pháp chế tạo vật liệu hấp phụ dầu được chế tạo từ rom thông qua việc tạo lớp phủ polymer poly-(GMA-co-LMA) siêu kỵ nước lên bề mặt các sợi rom. Vật liệu thu được sau khi biến tính, nhờ có lớp phủ polymer chứa nhóm alkyl mạch dài

ura dầu/ky nước, vì vậy đã mang lại tính chất siêu kỵ nước với góc tiếp xúc đạt đến 161°. Bên cạnh đó, vật liệu cũng thể hiện khả năng hút dầu đạt đến 14,9 g/g đối với dầu FO. Ngoài ra, vật liệu cũng cho thấy khả năng tách dầu khỏi mặt nước một cách hiệu quả, chứng minh tiềm năng ứng dụng của vật liệu trong xử lý các sự cố tràn dầu.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Sở Khoa học và Công nghệ TP Hồ Chí Minh theo hợp đồng số 56/2021/HĐ-QKHCN ngày 29/12/2021. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Hamidi, M.A. Makarem, M.R. Rahimpour (2023), "Generation and characteristics of mineral oils and hydrocarbons wastewater from petroleum industries", *Advanced Technologies in Wastewater Treatment*, pp.1-27, DOI: 10.1016/B978-0-323-99916-8.00003-1.
- [2] S. Miko (2021), "Community health impacts after a jet fuel leak contaminated a drinking water system: Oahu, Hawaii, November 2021", *Journal of Water and Health*, **21**(7), pp.956-971, DOI: 10.2166/wh.2023.109.
- [3] A. Bronnert, M. Castegnaro (2007), "Genotoxic activity and induction of biotransformation enzymes in two human cell lines after treatment by Erika fuel extract", *Environ. Toxicol. Phar.*, **23**(1), pp.89-95, DOI: 10.1016/j.etap.2006.07.006.
- [4] N. Mahesh, K.N. Baluprithviraj, G. Sudha, et al. (2023), "Implementation of Bluetooth based boat system to clean oil spill in Coastline", *2023 International Conference on Innovative Data Communication Technologies and Application (ICIDCA)*, pp.936-940, DOI: 10.1109/ICIDCA56705.2023.10099537.
- [5] P. Alvernia (2021), "The use of bioremediation technology on oil-contaminated soil", *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, **755**, DOI: 10.1088/1755-1315/755/1/012061.
- [6] Y.K. Adofo, E. Nyankson, B.A. Tuffour (2022), "Dispersants as an oil spill clean-up technique in the marine environment: A review", *Heliyon*, **8**(8), DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10153.
- [7] D. Angelova, I. Uzunov, S. Uzunova, et al. (2011), "Kinetics of oil and oil products adsorption by carbonized rice husks", *Chem. Eng. J.*, **172**(1), pp.306-311, DOI: 10.1016/j.cej.2011.05.114.

- [8] A. Zaker, Z.Y. Chen (2023), "An efficient superhydrophobic sludge-based activated char sponge for oil/water separation", *Bioresource Technology Reports*, **21**, DOI: 10.1016/j.biteb.2023.101373.
- [9] M.O. Adebajo, R.L. Frost, J.T. Klopogge, et al. (2003), "Porous materials for oil spill clean up: A review of synthesis and absorbing properties", *J. Porous Mat.*, **10**, pp.159-170, DOI: 10.1023/A:1027484117065.
- [10] C.P. Karan, R.S. Regasamy, D. Das (2011), "Oil spill cleanup by structured fibre assembly", *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, **36**(2), pp.190-200.
- [11] N.T. Tung, N.T. Duc, P.T.T. Ha, et al. (2022), "The graft copolymerization of butyl acrylate and lauryl methacrylate onto sawdust: Potential materials for oil spill cleanup", *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, **46**, pp.385-394, DOI: 10.1007/s40995-022-01282-w.
- [12] R.R. Romasanta (2017), "How does burning of rice straw affect CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O emissions? A comparative experiment of different on-field straw management practices", *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **239**, pp.143-153, DOI: 10.1016/j.agee.2016.12.042.
- [13] K. Daljeet, N.K. Bhardwaj, R.K. Lohchab (2016), "Prospects of rice straw as a raw material for paper making", *Waste Management*, **60**, pp.127-139, DOI: 10.1016/j.wasman.2016.08.001.
- [14] P.X. Yu, X. Wang, K.M. Zhang, et al. (2020), "Continuous purification of simulated wastewater based on rice straw composites for oil/water separation and removal of heavy metal ions", *Cellulose*, **27**, pp.5223-5239, DOI: 10.1007/s10570-020-03135-4.
- [15] E. Bryuzgin, V. Klimov, M.D. Le, et al. (2020), "The superhydrophobic state stability of coatings based on copolymers of glycidyl methacrylate and alkyl methacrylates on cotton fabric surface", *Fibers and Polymers*, **21**(5), pp.1032-1038, DOI: 10.1007/s12221-020-9741-y.
- [16] E.V. Bryuzgin, V.V. Klimov, M.D. Le, et al. (2017), "Superhydrophobic behavior of lauryl methacrylate copolymers on the cotton fabric surface", *Surface Innovations*, **5**(3), pp.147-153, DOI: 10.1680/jsuin.17.00012.
- [17] V.V. Klimov, E.V. Bryuzgin, M.D. Le, et al. (2016), "An investigation of the hydrophobic property stability of grafted polymeric coatings on a cellulose material surface", *Polymer Science Series D*, **9**(4), pp.364-367, DOI: 10.1134/S1995421216040080.
- [18] O.V. Kolyaganova, V.V. Klimov, E.V. Bryuzgin, et al. (2022), "Modification of wood with copolymers based on glycidyl methacrylate and alkyl methacrylates for imparting superhydrophobic properties", *J. Appl. Polym. Sci.*, **139**(7), DOI: 10.1002/app.51636.



# Tối ưu quy trình Tetra primer ARMS PCR xác định đa hình đơn nucleotide rs1799929 của gen *NAT2* ở người tại một số tỉnh, thành phố của Việt Nam

Triệu Tiến Sang<sup>1\*</sup>, Trần Văn Khoa<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Phong<sup>1</sup>, Tạ Thị Bình<sup>2</sup>, Phạm Xuân Thế Anh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bộ môn Sinh học và Di truyền Y học, Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, phường Phúc La, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Sức khỏe nghề nghiệp và Môi trường, 57 Lê Quý Đôn, phường Phạm Đình Hổ, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

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

Ngày nhận bài 7/3/2025; ngày chuyển phản biện 10/3/2025; ngày nhận phản biện 20/3/2025; ngày chấp nhận đăng 26/3/2025

## **Tóm tắt:**

Đa hình đơn nucleotide (SNP) rs1799929 trên gen *NAT2* được xác định có liên quan đến quá trình chuyển hóa thuốc và nguy cơ mắc một số bệnh lý nghiêm trọng. Nghiên cứu này đã xây dựng quy trình xác định SNP rs1799929 trên gen *NAT2* bằng kỹ thuật Tetra primer - Amplification refractory mutation system polymerase chain reaction (T-ARMS PCR). Mục tiêu của nghiên cứu nhằm tối ưu hóa và ứng dụng kỹ thuật này để phát hiện SNP rs1799929 của gen *NAT2*. Chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật T-ARMS PCR để khuếch đại vùng gen chứa SNP và đối chiếu với phương pháp giải trình tự Sanger nhằm kiểm chứng kết quả. Kết quả cho thấy, quy trình đã được tối ưu hóa thành công, bao gồm việc điều chỉnh nhiệt độ gắn mỗi và nồng độ mỗi để đảm bảo độ chính xác và đặc hiệu cao. Đặc biệt, phương pháp phát hiện SNP bằng T-ARMS PCR có độ tương đồng 100% với phương pháp giải trình tự Sanger, khẳng định độ tin cậy của phương pháp này. Kết quả của nghiên cứu là tiền đề áp dụng cho các nghiên cứu tiếp theo với cỡ mẫu lớn hơn.

**Từ khóa:** chuyển hóa thuốc, đa hình đơn nucleotide rs1799929, *NAT2*, T-ARMS PCR.

**Chỉ số phân loại:** 2.6, 3.1, 3.3

## Optimisation of the Tetra primer ARMS PCR protocol for detecting the single-nucleotide polymorphism rs1799929 of the *NAT2* gene in humans from some provinces, cities in Vietnam

Tien Sang Trieu<sup>1\*</sup>, Van Khoa Tran<sup>1</sup>, Van Phong Nguyen<sup>1</sup>, Thi Binh Ta<sup>2</sup>, Xuan The Anh Pham<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology and Medical Genetics, Vietnam Military Medical University, 160 Phung Hung Street, Phuc La Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Institute of Occupational Health and Environment, 57 Le Quy Don Street, Pham Dinh Ho Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

<sup>3</sup>University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 7 March 2025; revised 20 March 2025; accepted 26 March 2025

## **Abstract:**

The single-nucleotide polymorphism (SNP) rs1799929 in the *NAT2* gene has been identified as being associated with drug metabolism and the risk of some serious diseases. This study developed a protocol to detect the SNP rs1799929 in the *NAT2* gene using the Tetra primer - Amplification refractory mutation system polymerase chain reaction (T-ARMS PCR) technique. The objective of the study was to optimise and apply this technique for the detection of the *NAT2* rs1799929 SNP. We employed the T-ARMS PCR technique to amplify the gene region containing the SNP and compared the results with the Sanger sequencing method for validation. The study demonstrated that the protocol was successfully optimised, including adjustments of annealing temperature and primer concentrations to ensure high accuracy and specificity. Notably, the SNP detection by T-ARMS PCR showed 100% concordance with the Sanger sequencing method, confirming the reliability of this technique. The results of this study provide a foundation for application in further studies with larger sample sizes.

**Keywords:** drug metabolism, *NAT2*, SNP rs1799929, T-ARMS PCR.

**Classification numbers:** 2.6, 3.1, 3.3

\*Tác giả liên hệ: Email: trieusangk83@yahoo.com.vn

## 1. Đặt vấn đề

Enzyme chuyển hóa thuốc đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh hiệu quả điều trị và nguy cơ độc tính của thuốc. Trong đó, N-acetyltransferase 2 (*NAT2*) là một enzyme chuyển hóa thuốc quan trọng thuộc nhóm pha II, tham gia vào quá trình acetyl hóa nhiều loại thuốc như: isoniazid, procainamide, hydralazine và các hợp chất ngoại sinh khác [1].

Gen *NAT2* có nhiều đa hình đơn nucleotide (SNPs), trong đó rs1799929 là một trong những biến thể quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt động enzyme. Sự thay đổi trình tự nucleotide tại vị trí này có thể làm thay đổi tốc độ acetyl hóa của *NAT2*, dẫn đến nhóm cá thể được phân thành 3 nhóm: (i) nhóm chuyển hóa nhanh (rapid acetylators), (ii) nhóm chuyển hóa trung bình (intermediate acetylators) và (iii) nhóm chuyển hóa chậm (slow acetylators) [2]. Kiểu gen chuyển hóa chậm có thể gây ra hiện tượng tích lũy thuốc, làm tăng nguy cơ tác dụng phụ và độc tính của thuốc; trong khi kiểu gen chuyển hóa nhanh lại làm giảm hiệu quả điều trị do thuốc bị thải trừ quá nhanh [3]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các đa hình gen *NAT2*, bao gồm rs1799929, có liên quan đến nguy cơ mắc một số bệnh lý nghiêm trọng. Chẳng hạn, các biến thể *NAT2* làm giảm hoạt động enzyme có thể liên quan đến nguy cơ nhiễm độc gan khi sử dụng thuốc điều trị lao, do sự chậm trễ trong quá trình chuyển hóa và đào thải thuốc chống lao [4]. Ngoài ra, sự thay đổi trong quá trình acetyl hóa còn được báo cáo có liên quan đến nguy cơ mắc ung thư bàng quang, ung thư phổi, đặc biệt ở những người tiếp xúc với amin thơm từ khói thuốc lá [5].

Dữ liệu từ Ngân hàng Gen NCBI (dbSNP) cho thấy, trong quần thể châu Á, tần suất alen T của SNP rs1799929 khoảng 0,4028 và alen C khoảng 0,5972 [6]. Theo cân bằng Hardy-Weinberg, tần suất xuất hiện các kiểu gen TT:TC:CC được ước tính xấp xỉ 0,0009:0,0569:0,9422. Sự khác biệt về tần suất alen giữa các quần thể cho thấy ý nghĩa của việc nghiên cứu SNP rs1799929 trong từng quần thể cụ thể, nhằm phục vụ cho y học và dự báo nguy cơ bệnh lý.

SNP có thể được phát hiện bằng nhiều phương pháp khác nhau, trong đó T-ARMS PCR là phương pháp được đánh giá cao bởi tính đơn giản, nhanh chóng và chi phí thấp. Phương pháp này giúp phát hiện chính xác kiểu gen dựa trên trình tự mỗi đặc hiệu, cho phép phân biệt alen đột biến và alen bình thường trong cùng một phản ứng polymerase chain reaction (PCR) [7]. Tuy nhiên, cho đến nay phương pháp này vẫn chưa được nghiên cứu ứng dụng để xác định SNP rs1799929 trên quần thể người Việt Nam.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố quan trọng đến quy trình T-ARMS PCR xác định SNP rs1799929 trên gen *NAT2* ở người tại

một số tỉnh, thành phố của Việt Nam, đồng thời xác định độ chính xác của phương pháp này thông qua đối chiếu với phương pháp chuẩn (giải trình tự gen). Kết quả nghiên cứu sẽ là cơ sở để ứng dụng trong dược lý di truyền, hỗ trợ điều trị thuốc và giúp tối ưu hóa phác đồ điều trị cho các bệnh nhân trong tương lai.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

20 mẫu máu toàn phần được thu thập ngẫu nhiên từ các cá nhân (độ tuổi 18-60 và không phân biệt giới tính) trong cộng đồng tại các tỉnh Lạng Sơn, Nghệ An, Hòa Bình. Mẫu máu được bảo quản trong ống chứa chất chống đông EDTA nồng độ 1,5 mg/ml máu và trữ đông ở -20°C cho đến khi sử dụng.

Do tần suất kiểu gen TT tại vị trí đa hình rs1799929 rất thấp (khoảng 0,0009). Việc lựa chọn cỡ mẫu nghiên cứu là 20 mẫu ở đây nhằm đảm bảo có sự xuất hiện của các mẫu với kiểu gen CT và CC tại vị trí đa hình rs1799929.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Tách chiết DNA từ mô máu:** DNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu toàn phần bằng bộ kit TopPURE® Serum Viral DNA/RNA Co-Extraction (Công ty ABT - Việt Nam). Độ tinh sạch và nồng độ DNA sau tách chiết được kiểm tra bằng phương pháp đo độ hấp thụ ánh sáng (OD), sử dụng hệ thống SpectraMax QuickDrop. Mẫu DNA sau đó được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

**Thiết kế trình tự mỗi:** Các oligonucleotide sử dụng cho T-ARMS PCR được thiết kế bằng phần mềm Primer-BLAST (bảng 1) dựa trên trình tự gen *NAT2* tham chiếu trên NCBI: NC\_000008.11:18400294-18400646, Homo sapiens chromosome 8, GRCh38.p14.

**Bảng 1. Trình tự các oligonucleotide sử dụng trong nghiên cứu.**

| Primer    | Trình tự                           | Tm (°C) | Sản phẩm                                         |
|-----------|------------------------------------|---------|--------------------------------------------------|
| N2.481 Fo | 5'-AGTTAACAATAACAGCACTGGCATGGTT-3' | 65,7    |                                                  |
| N2.481 Ro | 5'-ATGTTGGAGACGTCTGCAGGTATGTAIT-3' | 67,2    | Fo-Ro: 353 bp                                    |
| N2.481 Fi | 5'-GACAGAAGAGAGAGGAATCTGGTCCC-3'   | 69,4    | Fo-Ri (Alen C): 188 bp<br>Fi-Ro (Alen T): 220 bp |
| N2.481 Ri | 5'-AATATACTGCTCTCTCTGATTGGTCAAA-3' | 66,6    |                                                  |

**Xác định nhiệt độ gắn mỗi và thể tích mỗi tối ưu:** Đối với thí nghiệm tối ưu nhiệt độ gắn mỗi, dải nhiệt độ từ 52,0-61,9°C đã được thiết lập cho chu trình PCR (bảng 2). Trong thí nghiệm này, chúng tôi khảo sát nhiệt độ gắn mỗi cho từng cặp mỗi đơn N2.481 Fo - N2.481 Ro, N2.481 Fo - N2.481 Ri và N2.481 Fi - N2.481 Ro. Sản phẩm PCR sau đó được điện di trên gel agarose 1,5%, nhuộm RedSafe và chụp bằng hệ thống chụp ảnh gel để phân tích kết quả.

**Bảng 2. Thành phần và điều kiện phản ứng polymerase chain reaction đơn môi.**

| Thành phần                | Thể tích (μl) | Nồng độ    |
|---------------------------|---------------|------------|
| GoTaq Green Master mix 2X | 6,25          |            |
| Nước deion                | 2,75          |            |
| Môi xuôi                  | 0,5           | 10 pmol/μl |
| Môi ngược                 | 0,5           | 10 pmol/μl |
| DNA khuôn                 | 2,5           | 20 ng/μl   |
| Tổng                      | 12,5          |            |

Chu trình: 95°C - 5 phút, (95°C-45 giây, gradient-45 giây, 72°C-35 giây)×40, 72°C-5 phút.

Trong thí nghiệm tối ưu thể tích môi, chúng tôi đã đồng hóa nồng độ của 4 môi về mức 10 pmol/μl. Sau khi tìm được nhiệt độ gắn môi thích hợp, chúng tôi tiến hành khảo sát hiệu quả phản ứng với các thể tích môi khác nhau. Cụ thể, chúng tôi đã tiến hành khảo sát tại các thể tích môi N2.481 Fi - N2.481 Ri gấp đôi thể tích môi N2.481 Fo - N2.481 Ro (với 2i=0=1 μl), thể tích môi N2.481 Fi - N2.481 Ri bằng với thể tích môi N2.481 Fo - N2.481 Ro (với i=0=1 μl) để tìm ra lượng tối ưu cho phản ứng.

**Nhân bản đoạn gen NAT2 bằng PCR:** Phản ứng nhân bản đoạn gen NAT2 được thực hiện trên hệ thống máy PCR của Hãng Eppendorf (Đức). Các thành phần trong phản ứng PCR gồm: 6,25 μl Master Mix 2X, 0,75 μl nước deion, các môi N2.481 Fo, N2.481 Ro, N2.481 Fi và N2.481 Ri, 2,5 μl DNA khuôn trong tổng thể tích 12,5 μl. Chu trình nhiệt cho PCR gồm 3 giai đoạn: biến tính ban đầu 95°C trong 5 phút; 40 chu kỳ: 95°C trong 30 giây, gắn môi trong 30 giây, 72°C trong 35 giây; thời gian kéo dài chuỗi 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2,5% để kiểm tra kết quả.

**Giải trình tự Sanger:** Đoạn gen NAT2 chứa SNP được khuếch đại bằng cặp môi N2.481 Fo - N2.481 Ro được sử dụng để giải trình tự trên máy SeqStudio bằng bộ kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing của Hãng Thermo Fisher Scientific (Hoa Kỳ).

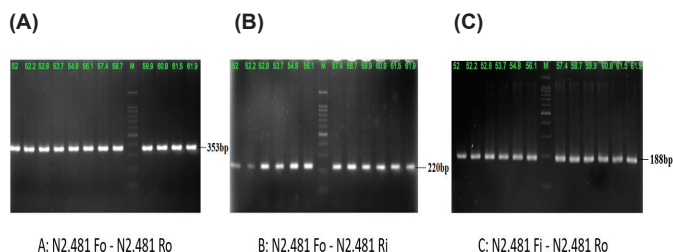
Thành phần mỗi phản ứng Sanger gồm 50 ng DNA; 1,5 μl BigDye; 2 μl Buffer; 10 pM môi N2.481 Fo và nước deion trong tổng thể tích 10 μl với chu trình nhiệt như sau: 96°C-1 phút; 25 chu kỳ (96°C-10 giây, 50°C-5 phút, 60°C-4 phút); giữ ở 4°C. Sản phẩm được tinh sạch bằng phương pháp tủa EtOH/EDTA. DNA sau đó được đem đi điện di mao quản. Trình tự nucleotide của mỗi đoạn gen sau khi giải trình tự được xác định cả 2 chiều (xuôi và ngược) bằng phần mềm Bioedit Sequence Alignment Editor.

**Đạo đức nghiên cứu:** Nghiên cứu được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học, Viện Sức khỏe nghề nghiệp và Môi trường thông qua ngày 29/03/2024 (Số Giấy chứng nhận: 01/GCN-HĐĐĐ). Việc lấy mẫu được thực hiện theo đúng quy định và chỉ với mục đích phục vụ cho nghiên cứu.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ gắn môi đến hiệu suất polymerase chain reaction nhân bản đoạn gen NAT2

Chúng tôi đã thực hiện PCR với 12 nhiệt độ gắn môi để xác định nhiệt độ gắn môi tối ưu cho PCR nhân bản đoạn gen NAT2 chứa SNP rs1799929 với từng cặp môi đặc hiệu (hình 1).



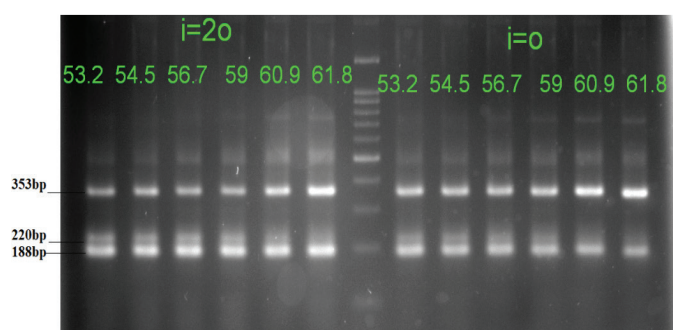
**Hình 1. Tối ưu nhiệt độ gắn môi cho PCR nhân bản đoạn gen NAT2 chứa đa hình đơn nucleotide rs1799929.** (A) Phản ứng PCR thực hiện ở các nhiệt độ khác nhau cho cặp môi N2.481Fo-N2.481Ro nhân bản đoạn gen chứa nội kích thước 353bp; (B) Phản ứng PCR thực hiện ở các nhiệt độ khác nhau cho cặp môi N2.481Fo-N2.481Ri nhân bản đoạn gen chứa alen T đa hình rs1799929 kích thước 220bp; (C) Phản ứng PCR thực hiện ở các nhiệt độ khác nhau cho cặp môi N2.481Fi-N2.481Ro nhân bản đoạn gen chứa alen C đa hình rs1799929 kích thước 188bp.

Kết quả điện di ở hình 1A cho thấy, PCR với cặp môi N2.481 Fo - N2.481 Ro ở dải nhiệt độ 52-61,9°C cho các băng điện di có kích thước 353 bp sắc nét, sáng rõ và đồng đều ở tất cả các băng, chứng tỏ nhiệt độ khảo sát không ảnh hưởng tới hiệu suất PCR. Với cặp môi N2.481 Fo - N2.481 Ri (hình 1B), trong dải nhiệt 52-61,9°C đều xuất hiện 1 băng duy nhất kích thước 220 bp, riêng ở khoảng nhiệt 52-52,2°C xuất hiện các băng điện di mờ. Khi tăng dần nhiệt độ 52,8-61,9°C, các băng điện di sáng và sắc nét hơn. Đối với cặp môi N2.481 Fi - N2.481 Ro (hình 1C) trong dải nhiệt 52-61,9°C, đều cho các băng điện di duy nhất với kích thước 188 bp rõ nét và tương đồng tại tất cả các băng. Như vậy, kết hợp kết quả 3 thí nghiệm cho thấy, có thể lựa chọn nhiệt độ gắn môi phù hợp cho T-ARMS PCR nhân bản đoạn gen NAT2 chứa SNP rs1799929 trong khoảng 52,8-61,9°C.

#### 3.2. Ảnh hưởng kết hợp của việc lựa chọn tỷ lệ thể tích môi và nhiệt độ gắn môi đến hiệu suất T-ARMS PCR nhân bản đoạn gen NAT2

Ở hình 2, trong khoảng nhiệt độ gắn môi từ 53,2-61,8°C, chúng tôi đã khảo sát tỷ lệ thể tích môi cho T-ARMS PCR xác định SNP rs1799929. Kết quả cho thấy, trong dải nhiệt độ 53,2-56,7°C, khi sử dụng cặp môi N2.481 Fi - N2.481 Ri với thể tích gấp đôi so với cặp môi N2.481 Fo - N2.481 Ro, các băng DNA điện di sản phẩm PCR thu được 3 band rõ ràng nhất và phù hợp với kích thước dự kiến. Dựa trên các kết quả này, nghiên cứu lựa chọn nhiệt độ gắn môi tối ưu là 54,5°C và tỷ lệ cặp môi N2.481 Fi - N2.481 Ri gấp đôi thể tích so với với cặp môi N2.481 Fo - N2.481 Ro cho phản ứng ARMS-PCR xác định đa hình rs1799929.





**Hình 2. Tối ưu nhiệt độ gắn mồi và thể tích mồi cho T-ARMS PCR nhân bản đoạn gen *NAT2* chứa đa hình đơn nucleotide rs1799929.**  
o=i=1μl: Tỷ lệ thể tích cặp mồi N2.481 Fi, N2.481 Ri bằng cặp mồi N2.481 Fo, N2.481 Ro; 2o=i=1μl: Tỷ lệ thể tích cặp mồi N2.481 Fi, N2.481 Ri gấp đôi so với cặp mồi N2.481 Fo, N2.481 Ro.

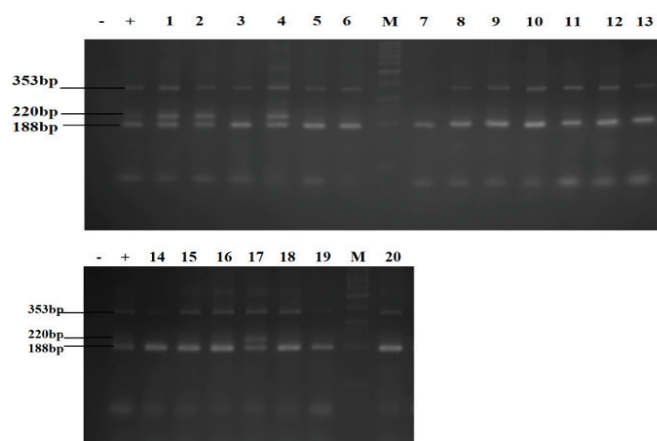
Thành phần phản ứng và chu trình nhiệt tối ưu cho T-ARMS PCR xác định đa hình rs1799929 được trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3. Quy trình Tetra primer - Amplification refractory mutation system polymerase chain reaction xác định đa hình đơn nucleotide rs1799929 trên gen *NAT2*.**

| Thành phần                | Thể tích (μl) | Nồng độ (pmol/μl) | Chu trình nhiệt                                                              |
|---------------------------|---------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| GoTaq Green Master mix 2X | 6,25          |                   |                                                                              |
| Nước deion                | 0,75          |                   |                                                                              |
| N2.481 Fo                 | 0,5           | 10                |                                                                              |
| N2.481 Ro                 | 0,5           | 10                |                                                                              |
| N2.481 Fi                 | 1             | 10                | 95°C-5 phút; (95°C-30 giây; 54,5°C-30 giây; 72°C-35 giây) x40; 72°C -10 phút |
| N2.481 Ri                 | 1             | 10                |                                                                              |
| DNA khuôn 2,5 20 ng/μl    |               |                   |                                                                              |
| Tổng                      | 12,5          |                   |                                                                              |

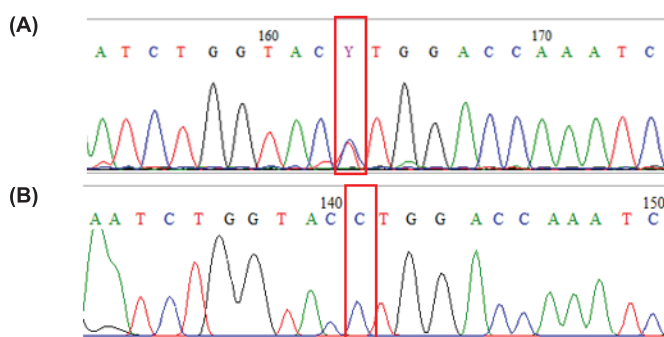
### 3.3. Xác định độ chính xác của phương pháp phát hiện đa hình đơn nucleotide rs1799929 trên *NAT2* bằng T-ARMS PCR

Để đánh giá độ chính xác của quy trình T-ARMS PCR, chúng tôi đã thử nghiệm trên 20 mẫu đại diện và so sánh với phương pháp chuẩn (giải trình tự gen). Kết quả T-ARMS PCR xác định SNP rs1799929 (hình 3) cho thấy, các mẫu 3, 5 - 16, 18, 19 và 20 xuất hiện hai băng DNA kích thước 188 và 353 bp, chứng tỏ các mẫu này mang kiểu gen C/C. Trong khi đó, mẫu 1, 2, 4 và 17 xuất hiện cả ba băng DNA 188, 220 và 353 bp chứng tỏ các mẫu mang kiểu gen C/T. Tất cả các mẫu đại diện không mang kiểu gen T/T (đặc trưng bởi hai băng DNA 220 và 353 bp).



**Hình 3. Kết quả xác định đa hình đơn nucleotide rs1799929 trên *NAT2* bằng T-ARMS PCR trên 20 mẫu nghiên cứu.** (-): Đối chứng âm; (+): Đối chứng dương; M: 100 bp DNA Ladder Hãng Vazyme (Trung Quốc; Làn 1-20: Sản phẩm T-ARMS PCR của 20 mẫu nghiên cứu.

Để kiểm chứng kết quả của phản ứng ARMS-PCR, chúng tôi đã đối chiếu một số mẫu đại diện với phương pháp giải trình tự Sanger. Kết quả cho thấy, mẫu đại diện số 1 xuất hiện 2 peak mang kiểu gen CT và mẫu đại diện số 3 xuất hiện 1 peak mang kiểu gen CC (hình 4). Qua đó, khẳng định sự đồng nhất về kết quả giữa hai phương pháp trên các mẫu đại diện.



**Hình 4. Kết quả giải trình tự đoạn gen *NAT2* chứa đa hình đơn nucleotide rs1799929.** (A) Mẫu đại diện số 1 mang kiểu gen CT; (B) Mẫu đại diện số 3 mang kiểu gen CC.

## 4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành tối ưu hóa phản ứng T-ARMS PCR nhằm xác định SNP rs1799929 của gen *NAT2* ở người tại một số tỉnh thành của Việt Nam. Kết quả thu được từ phương pháp ARMS-PCR trong nghiên cứu đã được kiểm chứng bằng phương pháp giải trình tự Sanger trên một số mẫu đại diện. Độ tương đồng 100% giữa hai phương pháp khẳng định tính chính xác và khả năng ứng dụng của quy trình. Phương pháp T-ARMS PCR là một công cụ hiệu quả trong xác định SNP nhờ tính đặc hiệu cao [8], so với các phương pháp truyền thống như giải trình tự

Sanger hoặc PCR-RFLP, T-ARMS PCR cho phép phát hiện SNP nhanh chóng mà không cần bước xử lý enzyme cắt giới hạn hay phân tích trình tự, giúp đơn giản hóa quy trình, tiết kiệm thời gian, giảm thiểu sai sót và tiết kiệm chi phí nghiên cứu. Ngoài ra, phương pháp này có thể được triển khai trên các hệ thống PCR tiêu chuẩn, không yêu cầu trang thiết bị phức tạp như giải trình tự gen.

Tuy nhiên, T-ARMS PCR cũng có một số hạn chế. Một trong những hạn chế lớn nhất của T-ARMS PCR là tính nhạy cảm cao với điều kiện phản ứng, đặc biệt là nồng độ muối và nhiệt độ gắn muối. Chỉ cần sự khác biệt nhỏ trong nồng độ muối hoặc nhiệt độ annealing cũng có thể gây ra kết quả dương tính giả hoặc âm tính giả, do mỗi bắt cặp không đặc hiệu hoặc không đủ khả năng khuếch đại trình tự đích [9]. Việc tối ưu hóa điều kiện phản ứng là bắt buộc nhưng lại tốn thời gian và đòi hỏi kỹ thuật cao, đặc biệt khi áp dụng cho các mẫu có trình tự giàu GC hoặc chứa các cấu trúc bậc hai phức tạp.

Bên cạnh đó, việc thiết kế mỗi phức tạp cũng là một nhược điểm của T-ARMS PCR. Phải thiết kế 4 muối cho mỗi phản ứng, trong đó mỗi đặc hiệu đột biến cần có điểm gắn chính xác tại nucleotide 3' để phân biệt mẫu đột biến và mẫu bình thường. Nếu mỗi không được thiết kế tốt, sẽ dẫn tới hiện tượng cross-amplification hoặc nền không đặc hiệu cao, làm giảm độ đặc hiệu của phản ứng [7].

Bên cạnh phương pháp T-ARMS PCR, một số kỹ thuật khác cũng được ứng dụng để xác định các biến thể của gen *NAT2* tại Việt Nam. Một nghiên cứu khi so sánh giữa RFLP và giải trình tự gen, hai phương pháp này đều có thể xác định chính xác các biến thể gen *NAT2* trên đối tượng bệnh nhân lao ở Việt Nam [10]. Tuy nhiên, điểm hạn chế của RFLP là cần nhiều bước thao tác và phụ thuộc vào việc lựa chọn enzyme cắt giới hạn, trong khi T-ARMS PCR khắc phục được những hạn chế đó, rút ngắn thời gian, tiết kiệm chi phí mà vẫn đảm bảo độ chính xác cao. Do đó, ứng dụng T-ARMS PCR vào nghiên cứu SNP rs1799929 trên gen *NAT2* là hoàn toàn hợp lý và khả thi.

Từ những kết quả này, chúng tôi đề xuất áp dụng quy trình để phân tích đa hình trên cỡ mẫu lớn hơn nhằm thu thập thông tin về tần suất kiểu gen, tạo tiền đề cho các nghiên cứu về dịch tễ học và di truyền học nhằm sàng lọc và phân loại kiểu gen liên quan đến chuyển hóa trong quần thể người Việt Nam.

Quy trình T-ARMS PCR xác định SNP rs1799929 trên gen *NAT2* đã được tối ưu hóa thành công với nhiệt độ gắn muối 54,5°C và tỷ lệ thể tích cặp mỗi N2.481 Fi - N2.481

Ri gấp đôi so với cặp mỗi N2.481 Fo - N2.481 Ro. Quy trình cho kết quả khuếch đại đặc hiệu, các băng DNA rõ nét, kích thước đúng như dự kiến. Đặc biệt, phương pháp đạt độ chính xác 100% khi so sánh với giải trình tự Sanger trên các mẫu đại diện, khẳng định độ tin cậy và khả năng ứng dụng thực tiễn cao.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài nhánh thuộc đề tài nghiên cứu khoa học và công nghệ cấp nhà nước: “Nghiên cứu xây dựng bộ chỉ số hóa sinh cơ bản về độc chất học môi trường trên người Việt Nam tuổi lao động”, mã số: ĐTDL.CN.39/21. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Viện Sức khỏe nghề nghiệp và Môi trường, Bộ môn Sinh học và Di truyền Y học, Học viện Quân y đã tạo điều kiện hỗ trợ thực hiện nghiên cứu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.W. Nebert, R.A. McKinnon, A. Puga (1996), “Human drug-metabolizing enzyme polymorphisms: Effects on risk of toxicity and cancer”, *DNA and Cell Biology*, **15**(4), pp.273-280, DOI: 10.1089/dna.1996.15.273.
- [2] D.W. Hein (2002), “Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: Role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis”, *Mutation Research*, **506**, pp.65-77, DOI: 10.1016/s0027-5107(02)00153-7.
- [3] T. Surarak, S. Chumnumwat, W. Nosoongnoen, et al. (2024), “Efficacy, safety, and pharmacokinetics of isoniazid affected by *NAT2* polymorphisms in patients with tuberculosis: A systematic review”, *Clinical and Translational Science*, **17**(4), DOI: 10.1111/cts.13795.
- [4] A. Headriawan, A.A. Pramono, A. Sukadi, et al. (2021), “*NAT2* gene rs1041983 is associated with anti-tuberculosis drug induced hepatotoxicity among pediatric tuberculosis in Bandung, Indonesia”, *The Application of Clinical Genetics*, **14**, pp.297-303, DOI: 10.2147/TACG.S303668.
- [5] K. Zhu, A. Xu, W. Xia, et al. (2021), “Association between *NAT2* polymorphism and lung cancer risk: A systematic review and meta-analysis”, *Frontiers in Oncology*, **11**, DOI: 10.3389/fonc.2021.567762.
- [6] National Center for Biotechnology Information (2024), *Reference SNP (rs) Report*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1799929>, accessed 31 December 2024.
- [7] R.F. Medrano, C.A.D. Oliveira (2014), “Guidelines for the tetra-primer ARMS-PCR technique development”, *Molecular Biotechnology*, **56**(7), pp.599-608, DOI: 10.1007/s12033-014-9734-4.
- [8] Y.M. Lo (1998), “The amplification refractory mutation system”, *Methods in Molecular Medicine*, **16**, pp.61-69, DOI: 10.1385/0-89603-499-2:61.
- [9] S. Ye, S. Dhillon, X. Ke, et al. (2001), “An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms”, *Nucleic Acids Research*, **29**(17), DOI: 10.1093/nar/29.17.e88.
- [10] T.H.N. Pham, H.N. Kieu, T.T. Nguyen, et al. (2019), “Establishing the genotyping method for *NAT2* polymorphism in Vietnamese tuberculoma patients”, *VNU Journal of Science: Medical and Pharmaceutical Sciences*, **35**(1), pp.96-103, DOI: 10.25073/2588-1132/vnumps.4137 (in Vietnamese).

# Đánh giá mô hình hỗn hợp vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào (DTaP) tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế

Nguyễn Thị Thu Hoa\*, Nguyễn Xuân Khánh Hà, Dương Khánh Minh, Nguyễn Thị Lan Phương, Dương Hữu Thái

*Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, 9 Pasteur, phường Xương Huân, TP Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam*

Ngày nhận bài 14/4/2025; ngày chuyển phản biện 15/4/2025; ngày nhận phản biện 12/5/2025; ngày chấp nhận đăng 19/5/2025

## Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm đánh giá mô hình hỗn hợp giữa các kháng nguyên bạch hầu, uốn ván (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế) hấp phụ trên nhôm hydroxide với các kháng nguyên ho gà vô bào hấp phụ riêng lẻ (rPT, FHA) từ Bionet (Thái Lan) để tạo thành vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào (DTaP). Mô hình hỗn hợp vắc xin DTaP được đánh giá dựa trên việc xác định các đặc điểm vật lý, độ hấp phụ và cường độ hấp phụ của các kháng nguyên bạch hầu, uốn ván hấp phụ đơn lẻ hay đồng thời và vắc xin DTaP bằng cách sử dụng thiết bị đo Nano Particle Analyzer SZ-100, Flow Cytometer và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Nghiên cứu đã lựa chọn được tá chất alhydrogel 1,3% (Croda, Đan Mạch) cũng như xác định pH 6,2 và thời gian hấp phụ 120 phút là tối ưu đối với mô hình hấp phụ kháng nguyên bạch hầu, uốn ván. Sau hỗn hợp, vắc xin DTaP bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C duy trì được sự ổn định về các đặc tính vật lý và độ hấp phụ trong thời gian khảo sát. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để xây dựng công nghệ hỗn hợp vắc xin phối hợp nhiều kháng nguyên tại Việt Nam, mở ra hướng phát triển các vắc xin 5, 6 thành phần dựa trên nền tảng vắc xin DTaP.

Từ khóa: ho gà vô bào, mô hình hỗn hợp, vắc xin DTaP.

Chỉ số phân loại: 3.1, 3.3

## Evaluation of Diphtheria-Tetanus-Acellular pertussis (DTaP) vaccine combination model at Institute of Vaccines and Medical Biologicals

Thi Thu Hoa Nguyen\*, Xuan Khanh Ha Nguyen, Khanh Minh Duong, Thi Lan Phuong Nguyen, Huu Thai Duong

*Institute of Vaccines and Medical Biologicals, 9 Pasteur Street, Xuong Huan Ward, Nha Trang City, Khanh Hoa Province, Vietnam*

Received 14 April 2025; revised 12 May 2025; accepted 19 May 2025

## Abstract:

This study aimed to evaluate a combined formulation model of diphtheria and tetanus antigens (Institute of Vaccines and Medical Biologicals) adsorbed on aluminium hydroxide with individually adsorbed acellular pertussis antigens (rPT, FHA) from Bionet (Thailand) to develop a diphtheria-tetanus-acellular pertussis (DTaP) vaccine. The DTaP vaccine combination model was assessed based on the characterisation of physical properties, adsorption rate and adsorption capacity of the diphtheria, tetanus antigens either individually or simultaneously adsorbed and of the final DTaP vaccine by using a Nano Particle Analyser SZ-100, flow cytometer and transmission electron microscope (TEM). The study identified alhydrogel 1.3% (Croda, Denmark) as optimal adjuvant with adsorption conditions optimised at pH 6.2 and a 120-minute incubation time for diphtheria and tetanus antigens. Following the combination, the DTaP vaccine remained physically stable and retained its antigen adsorption characteristics when stored at 2-8°C over an observation period. The research results provide a foundation for establishing combination vaccine technology involving multiple antigens in Vietnam, paving the way for the development of pentavalent and hexavalent vaccines based on the DTaP vaccine platform.

Keywords: acellular pertussis, combination model, DTaP vaccine.

Classification numbers: 3.1, 3.3

\*Tác giả liên hệ: Email: [thuhoa1907@gmail.com](mailto:thuhoa1907@gmail.com)



## 1. Đặt vấn đề

Tiêm chủng là một trong những biện pháp chính để phòng ngừa và kiểm soát các bệnh truyền nhiễm ở người. Do khả năng sinh miễn dịch của một số kháng nguyên ở mức thấp nên thông thường người ta kết hợp với tá chất để cải thiện mức độ và thời gian bảo vệ do vắc xin tạo ra [1]. Năm 1926, các nhà khoa học lần đầu tiên chứng minh rằng kết tủa muối nhôm không hòa tan có thể tăng cường khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố bạch hầu [2]. Vắc xin bạch hầu-uốn ván-ho gà toàn tế bào (DTwP) là vắc xin phối hợp và hấp phụ với tá chất nhôm sử dụng cho người đầu tiên được cấp phép năm 1948 [3]. Từ đó đến nay, tá chất nhôm, thường là nhôm hydroxide hoặc nhôm phosphate đã được sử dụng phổ biến trong nhiều loại vắc xin khác nhau do hồ sơ an toàn, chi phí sản xuất tương đối thấp và khả năng liên kết với nhiều loại kháng nguyên [4]. Các tá chất có thể cải thiện hiệu quả và kéo dài thời gian bảo vệ của vắc xin [5]. Ngoài ra, tá chất có thể làm giảm lượng kháng nguyên cần thiết, giảm chi phí sản xuất [6] và giảm số lượng mũi tiêm chủng cần thiết.

Mức độ hấp phụ kháng nguyên là một thông số quan trọng cần kiểm soát và là chỉ số về tính nhất quán của các công thức vắc xin và các quy trình sản xuất tương ứng. Nguyên tắc cơ bản để phát triển quy trình sản xuất vắc xin phối hợp nhiều thành phần kháng nguyên hấp phụ tá chất nhôm, ngoài việc xác định công thức và tính tương thích giữa các thành phần trong vắc xin thì việc chọn lựa mô hình hỗn hợp thích hợp là một trong những yếu tố đóng vai trò quan trọng để tạo được một vắc xin an toàn và hiệu quả. D. Laera và cs (2023) [7] đã chỉ ra rằng, cách tiếp cận mô hình hấp phụ tuần tự và cạnh tranh các kháng nguyên cho kết quả tương tự về tính đồng nhất của sự phân bố kháng nguyên trên các hạt nhôm, trong khi đó mô hình hấp phụ riêng lẻ các kháng nguyên ban đầu có độ phân tán đa dạng cao hơn, sau đó đạt độ ổn định theo thời gian. Sự phân bố kháng nguyên trên các hạt nhôm là một tính năng động lực phát triển theo thời gian, ban đầu bị ảnh hưởng bởi cách tiếp cận mô hình hấp phụ cụ thể, nhưng cuối cùng dẫn đến sản phẩm đồng nhất [7]. Tuy nhiên, xét về các quy trình lai giữa nhiều mô hình hấp phụ cũng như các nghiên cứu tương tác ở cấp độ phân tử giữa tá chất nhôm và các kháng nguyên protein tương ứng, các nghiên cứu đặc thù và chuyên sâu vẫn còn khan hiếm.

Vắc xin DTaP do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế phát triển là sản phẩm sử dụng hai kháng nguyên bạch hầu, uốn ván có nguồn gốc các giải độc tố tinh chế được sản xuất tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, trong khi đó hai kháng nguyên ho gà vô bào là độc tố ho gà giải độc gen (rPT) và kháng nguyên ngưng kết hồng cầu dạng sợi (FHA) đã được hấp phụ sẵn với tá chất nhôm có nguồn gốc từ Công ty Bionet (Thái Lan). Do đó, để hỗn hợp bốn thành phần kháng nguyên này với nhau, chúng tôi tiến hành hấp phụ các giải độc tố bạch hầu và uốn ván với tá chất nhôm trước, sau đó phối trộn với hai thành phần rPT và FHA đã hấp phụ sẵn nhôm hydroxide. Đây có thể được coi là mô hình lai giữa hấp phụ riêng lẻ đối với hai kháng nguyên ho gà vô bào nhập từ Bionet và mô hình hấp phụ đồng thời đối với hai kháng nguyên bạch hầu, uốn ván của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế. Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá mô hình hỗn hợp vắc xin DTaP hấp phụ phù

hợp với các điều kiện sẵn có tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế nhằm xây dựng công nghệ hỗn hợp vắc xin phối hợp nhiều kháng nguyên tại Việt Nam, mở ra hướng phát triển các vắc xin 5, 6 thành phần dựa trên nền tảng vắc xin DTaP.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 5/2022 đến tháng 10/2023 tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế.

### 2.2. Kháng nguyên và tá chất

Kháng nguyên bạch hầu (D) lô số PD.0819 và kháng nguyên uốn ván (T) lô số PT.0519 có nguồn gốc từ Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế. Kháng nguyên độc tố ho gà tái tổ hợp (rPT-recombinant Pertussis Toxin), lô số AE 8004 và kháng nguyên ngưng kết hồng cầu dạng sợi (FHA-Filamentous Haemagglutinin), lô số AF 8002 có nguồn gốc từ Bionet, Thái Lan. Hai kháng nguyên ho gà rPT và FHA đều đã được hấp phụ với tá chất nhôm hydroxide với hàm lượng 0,7 mg  $Al^{3+}$ /ml. Tá chất alhydrogel 1,3% (Croda, Đan Mạch) với hàm lượng 6,1 mg  $Al^{3+}$ /ml, lô số 5621. Tá chất nhôm hydroxide với lô số 0122, có hàm lượng 5,9 mg  $Al^{3+}$ /ml do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế sản xuất.

### 2.3. Chuẩn bị các kháng nguyên đơn bạch hầu, uốn ván hấp phụ và vắc xin bạch hầu và uốn ván (DT), vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ

Các kháng nguyên đơn thành phần (D, T) hấp phụ, vắc xin DT và DTaP hấp phụ được chuẩn bị mỗi loại 3 lô (100 ml/lô) với hàm lượng trong 1 ml như sau: kháng nguyên bạch hầu hấp phụ chứa 45 Lf (D) và 0,6 mg  $Al^{3+}$ , kháng nguyên uốn ván hấp phụ chứa 20 Lf (T) và 0,6 mg  $Al^{3+}$ , vắc xin DT hấp phụ chứa 45 Lf (D), 20 Lf (T) và 0,6 mg  $Al^{3+}$ , vắc xin DTaP chứa 45 Lf (D), 20 Lf (T), 10  $\mu$ g rPT, 20  $\mu$ g FHA và 0,6 mg  $Al^{3+}$ .

### 2.4. Phương pháp phân tích

Các tá chất dùng trong nghiên cứu được xác định kích thước hạt, chỉ số phân bố hạt (PDI), điện thế Zeta trên thiết bị Nano Particle Analyzer SZ-100 (Horiba, Nhật Bản). Các mẫu kháng nguyên hấp phụ đơn thành phần và vắc xin hấp phụ được đo áp suất thẩm thấu trên thiết bị Osmomat (Gonotech, Đức). Áp suất thẩm thấu đạt yêu cầu khi mẫu đo có giá trị  $300 \pm 60$  mOsmol/kg [8]. Phương pháp TEM dùng phân tích cấu trúc, hình thái của tá chất và kháng nguyên đơn sau khi hấp phụ và vắc xin DT, DTaP được thực hiện tại Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương trên kính hiển vi điện tử truyền qua JEM1010, với hệ số phóng đại x50-x600.000, độ phân giải  $3A^{\circ}$ , điện áp gia tốc 40-100 kV. Mẫu được cố định, hút nước và polyme hóa trước khi cắt mỏng, sau đó đưa lên lưới đồng đã được phủ màng đỡ bằng collodion, nhuộm âm bản với uranyl acetate trước khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử.

Độ hấp phụ được xác định dựa theo tỷ lệ phần trăm giữa hàm lượng kháng nguyên hấp phụ trên tá chất so với hàm lượng kháng nguyên tổng số. Độ hấp phụ của các kháng nguyên thành phần trong vắc xin hấp phụ nhôm hydroxide phải đạt tối thiểu 80%.

Trong đó, hàm lượng D, T xác định bằng phương pháp lên bông [8], rPT, FHA xác định bằng phương pháp ELISA (phát triển bởi Bionet, Thái Lan), sử dụng kháng thể thứ nhất là JN1H 12 (đối với PT) và JN1H 11 (đối với FHA) của Viện Tiêu chuẩn và Kiểm soát Sinh học Quốc gia Anh (NIBSC), kháng thể thứ 2 là cộng hợp dê kháng chuột gắn PO (Abcam). Cường độ hấp phụ của kháng nguyên được xác định bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang, sử dụng máy Flow Cytometer BD Accuri™ C6 plus, Singapore để đo số tín hiệu huỳnh quang trên tổng số lượng hạt có trong mẫu của vùng được chọn có tín hiệu dương tính. Một tín hiệu huỳnh quang dương tính được quy định khi một phân tử kháng nguyên đã hấp phụ được gắn với một phân tử kháng thể đặc hiệu và phát tín hiệu sau khi kết hợp với kháng thể thứ cấp gắn huỳnh quang.

## 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm GraphPad Prism version 10 để xử lý số liệu. Tất cả kết quả được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình  $\pm$ SD. So sánh giữa hai nhóm được thực hiện bằng cách sử dụng ANOVA một chiều,  $p < 0,05$  được xác định là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

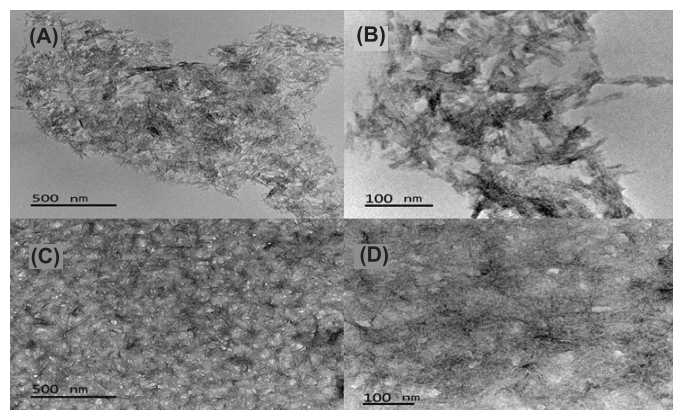
## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Đặc điểm của tá chất nhôm hydroxide thương mại alhydrogel 1,3% (Croda, Đan Mạch) và nhôm hydroxide (AH) do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế sản xuất

Trong nghiên cứu này, kết quả xác định được kích thước hạt trung bình của alhydrogel 1,3% (1548,7 nm) nhỏ hơn so với kích thước hạt trung bình AH của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế

**Bảng 1. Các đặc tính vật lý của tá chất nhôm thương mại alhydrogel 1,3% (Croda, Đan Mạch) và nhôm hydroxide do Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế sản xuất.**

| Loại                                      | pH             | Kích thước hạt (nm) | Phân bố hạt (PDI) | Điện thế Zeta (mV) |
|-------------------------------------------|----------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| Alhydrogel 1,3% (n=3)                     | 6,79 $\pm$ 0,1 | 1548,7 $\pm$ 135,1  | 0,24 $\pm$ 0,01   | 28,5 $\pm$ 1,2     |
| AH (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế) (n=3) | 6,61 $\pm$ 0,1 | 1854,3 $\pm$ 144,9  | 0,55 $\pm$ 0,01   | 22,4 $\pm$ 1,3     |



**Hình 1. Cấu trúc tá chất alhydrogel 1,3% Croda, Đan Mạch (A, B) và nhôm hydroxide của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (C, D) chụp bằng kính hiển vi điện tử truyền qua với thanh tỷ lệ 500 nm (A, C) và 100 nm (B, D).**

(1854,3 nm), trong khi đó chỉ số phân bố hạt (PDI) của alhydrogel 1,3% đạt 0,24 và AH của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế là 0,55. Điện thế Zeta của alhydrogel 1,3% đo được là +28,5 mV ở pH 6,79 và AH của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế là +22,4 ở pH 6,61 (bảng 1). Cấu trúc tá chất alhydrogel 1,3% (Croda) và AH của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế được ghi nhận dựa trên các kết quả chụp bằng kỹ thuật TEM (hình 1) cho thấy, hai loại tá chất nghiên cứu đều có cấu trúc dạng sợi tập hợp thành từng đám xấp xỉ của nhôm hydroxide tương tự như mô tả của C.T. Johnston và cs (2002) [9].

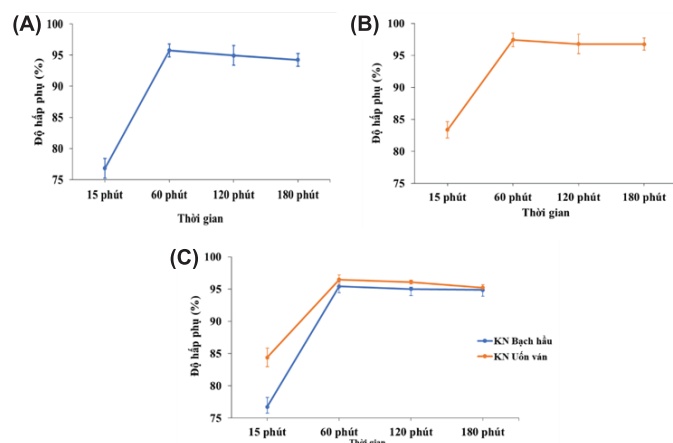
Mỗi một loại tá chất nhôm hydroxide khác nhau về cấu trúc, các chỉ số vật lý tùy thuộc vào phương pháp điều chế của từng nhà sản xuất nhưng nhìn chung nhôm hydroxide có cấu trúc dạng sợi với kích thước hạt sơ cấp là  $4,5 \times 2,2 \times 10$  nm [9]. Tuy nhiên, các hạt sơ cấp không tồn tại dưới dạng đơn lẻ mà tạo thành các tập hợp xấp xỉ có kích thước 1-10  $\mu$ m, thậm chí lên đến 20  $\mu$ m tùy thuộc vào phương pháp điều chế, phương pháp đo và các điều kiện thí nghiệm [10, 11]. Kích thước hạt của hai loại tá chất nghiên cứu đều nằm trong giới hạn, tương tự các nghiên cứu đã được J.R. Burdman và cs (1995) [12] công bố và sự khác biệt về kích thước hạt trung bình của hai loại tá chất không có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,056$ . Tuy nhiên, chỉ số phân bố hạt (PDI) của alhydrogel 1,3% và AH của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,00001$ . Kết quả chỉ ra rằng, PDI của alhydrogel 1,3% thấp và xấp xỉ bằng 1/2 so với PDI của AH (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế), nghĩa là độ đồng nhất các hạt của alhydrogel 1,3% tốt hơn so với AH (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế). Chỉ số PDI càng thấp, độ đồng nhất giữa các hạt càng cao và điều này giúp cho khả năng hấp phụ của kháng nguyên trên bề mặt hạt nhôm tốt hơn [13]. Ở pH trung tính, bề mặt các hạt nhôm hydroxide mang điện tích dương [14], trong khi đó điện tích bề mặt của hai kháng nguyên bạch hầu và uốn ván đều mang điện tích âm [14, 15]. Do đó, tá chất có điện thế Zeta càng dương thì khả năng tương tác tĩnh điện giữa tá chất và kháng nguyên càng lớn. Điện thế Zeta của alhydrogel 1,3% là +28,5 mV khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,0044$  so với điện thế Zeta của AH (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế) là +22,4 mV. Các kết quả đánh giá về kích thước hạt, phân bố hạt và điện thế Zeta kết hợp với hình ảnh cấu trúc của hai loại tá chất ghi nhận được cho thấy, alhydrogel 1,3% của Croda có khả năng cung cấp môi trường phù hợp cho việc hấp phụ hai kháng nguyên bạch hầu và uốn ván hơn so với tá chất AH của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế.

### 3.2. Độ hấp phụ và cường độ hấp phụ kháng nguyên bạch hầu, uốn ván trên tá chất alhydrogel 1,3%

Hai kháng nguyên rPT và FHA đã được hấp phụ trước đó từ nhà sản xuất Bionet, Thái Lan nên việc đánh giá độ hấp phụ và cường độ hấp phụ chỉ thực hiện đối với hai kháng nguyên bạch hầu và uốn ván. Kết quả chỉ ra rằng, khi sử dụng tá chất alhydrogel 1,3% trong cùng điều kiện pH 6,2, quá trình hấp phụ kháng nguyên bạch hầu hoặc uốn ván riêng lẻ hay hấp phụ đồng thời hỗn hợp hai kháng nguyên bạch hầu - uốn ván đều xảy ra tương tự như nhau, được thể hiện thông qua kết quả độ hấp phụ của từng kháng nguyên đều đạt mức trên 90% trong khoảng thời gian 60-180 phút (hình 2). Theo Dược điển Việt Nam V (2018) [8], vắc xin kết hợp



có sử dụng tá chất nhôm hydroxide thì độ hấp phụ của các kháng nguyên phải đạt ít nhất 80%. Theo P. Marrack và cs (2009) [16], tỷ lệ hấp phụ kháng nguyên cao như vậy cho phép kháng nguyên duy trì tại vị trí tiêm, tạo ra “hiệu ứng kho dự trữ” nhằm kích thích hệ thống miễn dịch kéo dài và hiệu quả.

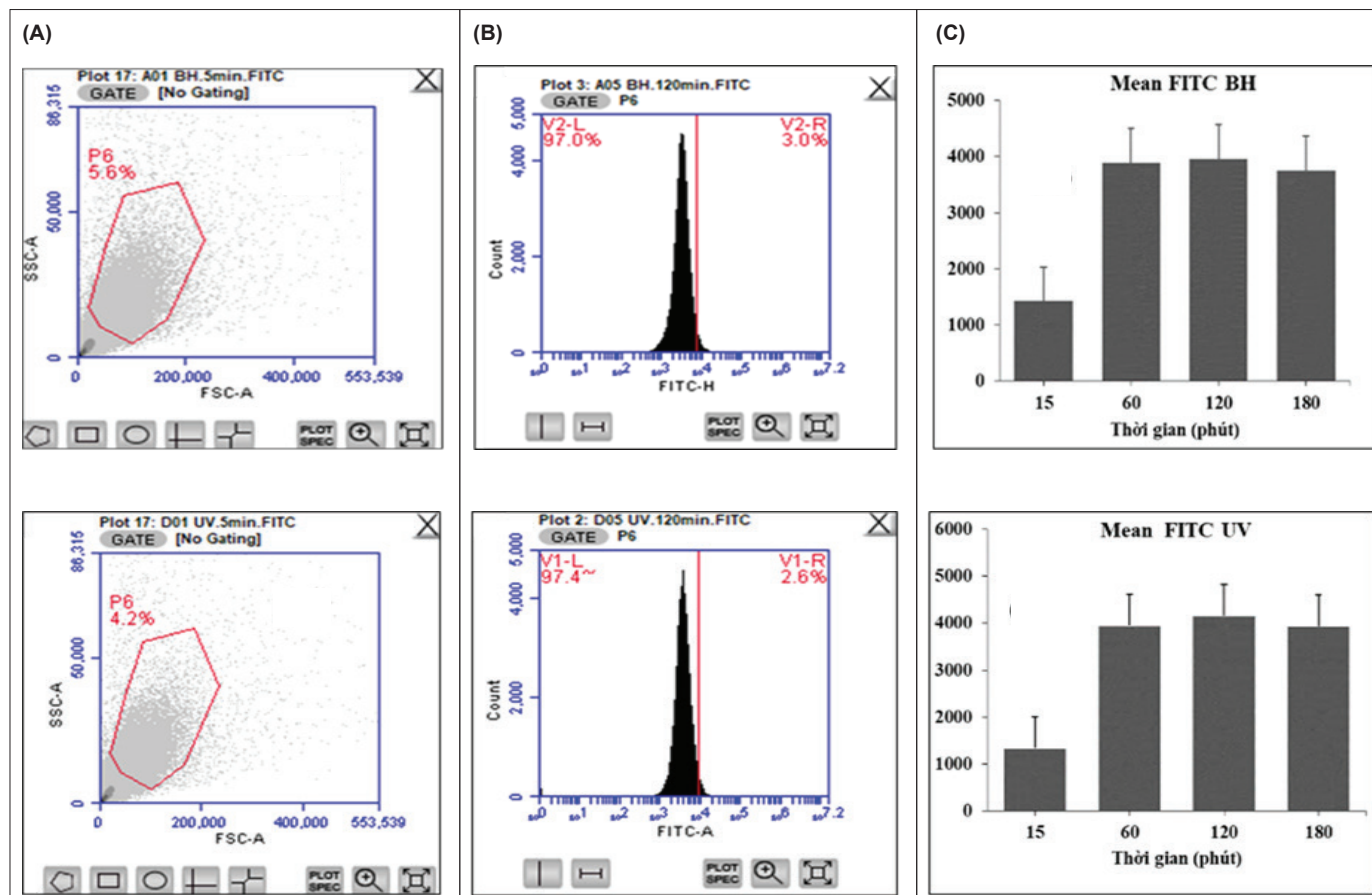


**Hình 2. Độ hấp phụ của kháng nguyên bạch hầu, uốn ván ở pH 6,2 (n=3) trên tá chất alhydrogel 1,3% (Croda, Đan Mạch).** (A) Kháng nguyên bạch hầu hấp phụ đơn; (B) Kháng nguyên uốn ván hấp phụ đơn; (C) Kháng nguyên bạch hầu và uốn ván hấp phụ đồng thời.

Đánh giá cường độ hấp phụ của hai kháng nguyên bạch hầu, uốn ván khi hấp phụ đồng thời trên tá chất alhydrogel 1,3% tại pH 6,2 cho thấy, cường độ huỳnh quang của kháng nguyên bạch hầu và uốn ván đều đạt mức cao nhất tương ứng với thời gian hấp phụ 60-120 phút và duy trì ở mức độ cao cho đến 180 phút. Như vậy, cường độ hấp phụ và độ hấp phụ của các kháng nguyên D và T đạt cao nhất đều được ghi nhận ở khoảng thời gian hấp phụ 60-180 phút ở pH 6,2 (hình 3C).

### 3.3. Đặc điểm vật lý của các sản phẩm sau hấp phụ riêng lẻ, hấp phụ đồng thời và phối trộn vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào

Các kết quả đo kích thước hạt, phân bố hạt, điện thế Zeta và áp suất thẩm thấu của các sản phẩm kháng nguyên bạch hầu, uốn ván hấp phụ riêng lẻ và đồng thời cũng như vắc xin DTaP cho thấy, khi duy trì pH trong khoảng 6,51-6,85, điện thế Zeta của các sản phẩm hấp phụ và vắc xin DTaP có xu hướng tăng dần nhưng vẫn ở mức âm nhẹ từ -1,6 đến -2,3 mV khi so sánh với các kháng nguyên bạch hầu, uốn ván tinh chế có điện thế Zeta lần lượt là -4,8 và -2,5 mV. Chỉ số kích thước hạt của các sản phẩm hấp phụ và vắc xin



**Hình 3. Cường độ huỳnh quang của kháng nguyên bạch hầu (BH) và kháng nguyên uốn ván (UV) khi hấp phụ đồng thời trên alhydrogel 1,3% tại pH 6,2.** (A) Vùng được chọn; (B) Cường độ huỳnh quang trung bình của kháng nguyên bạch hầu hoặc uốn ván sau hấp phụ 120 phút; (C) Cường độ huỳnh quang trung bình của kháng nguyên bạch hầu hoặc uốn ván ở các khoảng thời gian khác nhau.

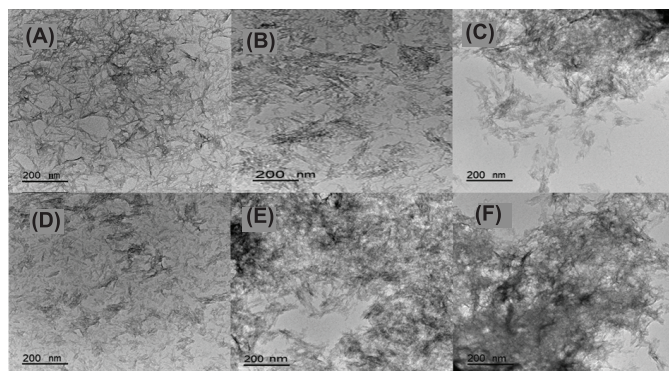


DTaP đều có xu hướng tăng lên, dao động trong khoảng 6716,3 đến 8348,6 nm so với 1547 nm của alhydrogel, cùng với đó sự phân bố hạt của các sản phẩm hấp phụ cũng tăng lên từ 0,24 (alhydrogel 1,3%) đến 0,51 (D\_hp), 0,63 (T\_hp) và 0,64 (DT\_hp) so với hạt tá chất cơ sở (bảng 2). Áp suất thẩm thấu của các sản phẩm hấp phụ riêng lẻ hay hấp phụ đồng thời và vắc xin DTap duy trì ở mức 282-296 mOsmol/kg, đạt yêu cầu về áp suất thẩm thấu và nằm trong khoảng tiêu chuẩn  $300 \pm 60$  mOsmol/kg đối với một sản phẩm tiêm dùng cho người theo yêu cầu của Dược điển Việt Nam V (2018) [8].

**Bảng 2. Tính chất vật lý của các sản phẩm sau hấp phụ và phối trộn.**

| Sản phẩm    | pH       | Điện thế Zeta (mV) | Kích thước hạt (nm) | Phân bố hạt | Áp suất thẩm thấu (mOsmol/kg) |
|-------------|----------|--------------------|---------------------|-------------|-------------------------------|
| D_hp (n=3)  | 6,51±0,1 | -2,1±0,2           | 7282,3±1132         | 0,51±0,2    | 282±30                        |
| T_hp (n=3)  | 6,63±0,1 | -2,3±0,2           | 6716,3±1047         | 0,625±0,2   | 287±30                        |
| DT_hp (n=3) | 6,67±0,1 | -1,8±0,2           | 8348,6±1168         | 0,64±0,2    | 296±30                        |
| DTaP (n=3)  | 6,85±0,1 | -1,6±0,2           | 7373,3±1152         | NA          | 285±30                        |

Kết quả trên TEM ghi nhận hình ảnh cấu trúc của các kháng nguyên sau hấp phụ hay vắc xin DTap đều cho thấy, hình ảnh các đám xốp gồm các sợi kết tụ lại với nhau tương tự như tá chất nhôm hydroxide mặc dù có những khác biệt về mật độ, hình thái của đám xốp tùy thuộc theo đó là các sản phẩm hấp phụ đơn lẻ (D\_hp, T\_hp, rPT, FHA), hấp phụ đồng thời (DT\_hp) hay vắc xin DTap (hình 4).



**Hình 4. Hình ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua với thanh tỷ lệ 200 nm của các kháng nguyên hấp phụ trên tá chất alhydrogel 1,3% và vắc xin DTap. (A, B, C, D) Kháng nguyên bạch hầu, uốn ván, rPT, FHA, hấp phụ đơn thành phần; (E) Kháng nguyên bạch hầu - uốn ván hấp phụ đồng thời; (F) Vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào.**

### 3.4. Đánh giá sự ổn định về tính chất vật lý và độ hấp phụ của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào

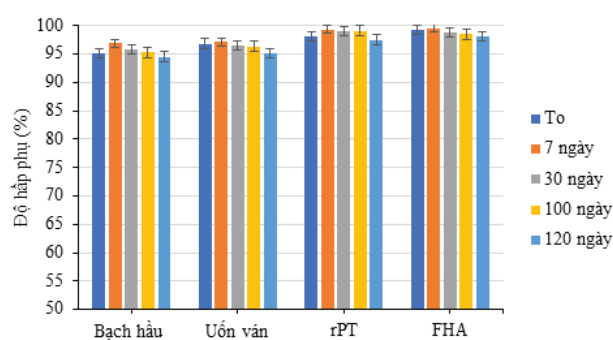
Mức độ ổn định của quy trình hỗn hợp vắc xin DTap được đánh giá thông qua việc theo dõi các đặc điểm vật lý của hỗn dịch vắc xin và độ hấp phụ của các kháng nguyên thành phần trong 120 ngày ở 2-8°C.

Đặc tính vật lý của hỗn dịch vắc xin cho thấy, vắc xin đạt yêu cầu về cảm quan theo tiêu chuẩn của Dược điển Việt Nam V (2018) [8] đối với vắc xin dạng hỗn dịch tiêm. Khi ở trạng thái lắng, vắc xin chia thành 2 lớp, phần dung dịch ở trên trong suốt, không màu, phần lắng cặn ở dưới có màu trắng xám. Sau khi lắc, vắc xin tạo thành hỗn dịch đồng nhất, màu trắng đục, không lẫn tiểu phần lạ. Các chỉ tiêu về pH, áp suất thẩm thấu, kích thước hạt của hỗn dịch vắc xin không có sự thay đổi đáng kể khi bảo quản ở 2-8°C trong 120 ngày sau khi phối trộn. Riêng về điện thế Zeta, sau 7 ngày phối trộn điện thế có khuynh hướng giảm dần và giảm mạnh sau 30 ngày (đạt -3,7 mV), sau đó tăng trở lại và duy trì ổn định ở mức -2,1 đến -2,3 mV sau 100-120 ngày. Điều đó chứng tỏ vắc xin DTap đạt đến trạng thái ổn định (bảng 3).

**Bảng 3. Đặc tính vật lý của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào bảo quản ở điều kiện 2-8°C trong khoảng thời gian 3 tháng.**

| Chỉ tiêu kiểm tra (n=3)  | Thời gian bảo quản ở 2-8°C |             |             |             |             |
|--------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                          | T0                         | 7 ngày      | 30 ngày     | 100 ngày    | 120 ngày    |
| Cảm quan                 | Đạt                        | Đạt         | Đạt         | Đạt         | Đạt         |
| pH                       | 6,85±0,1                   | 6,83±0,1    | 6,87±0,1    | 6,89±0,1    | 6,88±0,1    |
| Độ thẩm thấu (mOsmol/kg) | 281±30                     | 273±30      | 289±30      | 283±30      | 278±30      |
| Điện thế Zeta (mV)       | -1,7±0,2                   | -2,4±0,2    | -3,7±0,2    | -2,3±0,2    | -2,1±0,2    |
| Kích thước hạt (nm)      | 7085,6±1211                | 6978,6±1095 | 6752,6±1103 | 6865,3±1086 | 6917,5±1125 |

Kết quả độ hấp phụ cho thấy, tất cả các kháng nguyên thành phần bạch hầu, uốn ván, rPT, FHA trong vắc xin DTap đều đạt ở mức cao trên 90% trong thời gian bảo quản 120 ngày ở 2-8°C (hình 5) so với tiêu chuẩn quy định  $\geq 80\%$  đối với vắc xin kết hợp trong Dược điển Việt Nam V (2018) [8].



**Hình 5. Độ hấp phụ của các kháng nguyên thành phần trong vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào ở điều kiện bảo quản 2-8°C trong thời gian 120 ngày.**

Những kết quả ban đầu cho thấy, quy trình hỗn hợp vắc xin DTap tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế được thực hiện với việc bổ sung lần lượt 2 kháng nguyên rPT và FHA đã hấp phụ sẵn vào hỗn dịch kháng nguyên bạch hầu, uốn

ván hấp phụ đồng thời với tá chất alhydrogel 1,3% trong thời gian 120-180 phút trước đó đã tạo được sản phẩm vắc xin DTaP ở dạng hỗn dịch tiêm duy trì các đặc tính vật lý ổn định trong thời gian khảo sát 120 ngày ở 2-8°C. Các nghiên cứu toàn diện về tính ổn định của vắc xin DTaP đã cho thấy, vắc xin đạt yêu cầu về tất cả các chỉ tiêu chất lượng cho đến hết hạn dùng dự kiến là 24 tháng (kết quả không bao gồm trong nghiên cứu này) càng khẳng định mô hình hỗn hợp vắc xin DTaP của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế là hoàn toàn phù hợp.

#### 4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, tá chất alhydrogel 1,3% (Croda, Đan Mạch) là phù hợp cho hỗn hợp vắc xin DTaP với kháng nguyên bạch hầu, uốn ván (Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, Việt Nam) và kháng nguyên ho gà vô bào từ Bionet (Thái Lan). Các thông số tối ưu của quá trình hấp phụ kháng nguyên bạch hầu, uốn ván đã được xác định ở pH 6,2 và thời gian hấp phụ là 120 phút. Vắc xin DTaP ở nhiệt độ bảo quản 2-8°C duy trì được sự ổn định về các đặc tính vật lý và độ hấp phụ trong khoảng thời gian khảo sát 120 ngày. Đây là cơ sở khẳng định mô hình hỗn hợp vắc xin DTaP của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế là phù hợp. Tiếp theo nghiên cứu này, chúng tôi sẽ đánh giá tính an toàn và hiệu quả bảo vệ của vắc xin DTaP trên các mô hình động vật nhằm cung cấp đầy đủ các bằng chứng cho việc cấp phép thử nghiệm lâm sàng vắc xin trên người. Thành công của nghiên cứu sẽ mở ra hướng phát triển các vắc xin 5, 6 thành phần dựa trên nền tảng mô hình hỗn hợp vắc xin DTaP của Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế tại Việt Nam.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] G.L. Morefield (2011), "A rational, systematic approach for the development of vaccine formulations", *AAPS J.*, **13**(2), pp.191-200, DOI: 10.1208/s12248-011-9261-1.

[2] N. Petrovsky (2006), "Novel human polysaccharide adjuvants with dual Th1 and Th2 potentiating activity", *Vaccine*, **24**(2), DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.01.107.

[3] N.P. Klein (2014), "Licensed pertussis vaccines in the United States. History and current state", *Hum. Vaccin. Immunother.*, **10**(9), pp.2684-2690, DOI: 10.4161/hv.29576.

[4] H. HogenEsch (2013), "Mechanism of immunopotentiality and safety of aluminum adjuvants", *Front. Immunol.*, **3**(406), DOI: 10.3389/fimmu.2012.00406.

[5] W. Zhang, X. Zheng, N. Cheng, et al. (2016), "Isatis indigotica root polysaccharides as adjuvants for an inactivated rabies virus vaccine", *Int. J. Biol. Macromol.*, **87**, pp.7-15, DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.02.023.

[6] R. Bastola, J.E. Seo, T. Keum, et al. (2019), "Preparation of squalene oil-based emulsion adjuvants employing a self-emulsifying drug delivery system and assessment of mycoplasma hyopneumoniae-specific antibody titers in BALB/c mice", *Pharmaceutics*, **11**(12), DOI: 10.3390/pharmaceutics11120667.

[7] D. Laera, C. Scarpellini, S. Tavarini, et al. (2023), "Maturation of aluminium adsorbed antigens contributes to the creation of homogeneous vaccine formulations", *Vaccines*, **11**(1), DOI: 10.3390/vaccines11010155.

[8] Ministry of Health (2018), *Vietnamese Pharmacopoeia V* (in Vietnamese), 2200pp.

[9] C.T. Johnston, S.L. Wang, S.L. Hem (2002), "Measuring the surface area of aluminum hydroxide adjuvant", *J. Pharm. Sci.*, **91**(7), pp.1702-1706, DOI: 10.1002/jps.10166.

[10] G.L. Morefield, H. HogenEsch, J.P. Robinson, et al. (2004), "Distribution of adsorbed antigen in mono-valent and combination vaccines", *Vaccine*, **22**(15-16), pp.1973-1984, DOI: 10.1016/j.vaccine.2003.10.040.

[11] H. HogenEsch, D.T. O'Hagan, C.B. Fox (2018), "Optimizing the utilisation of aluminum adjuvants in vaccines: You might just get what you want", *NPJ Vaccines*, **3**, DOI: 10.1038/s41541-018-0089-x.

[12] J.R. Burdman, M.F. Powell, M.J. Newman (1995), *Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach*, Springer, pp.229-276, DOI: 10.1007/978-1-4615-1823-5.

[13] G. Guerrini, A. Vиви, S. Gioria, et al. (2021), "Physicochemical characterisation cascade of nanoadjuvant-antigen systems for improving vaccines", *Vaccines (Basel)*, **9**(6), DOI: 10.3390/vaccines9060544.

[14] G. Sam, S. Chen, K. Plain, et al. (2024), "Diphtheria toxoid particles as Q fever vaccine", *Adv. Funct. Mater.*, **34**, DOI: 10.1002/adfm.202309256.

[15] K. Rani, A.K.J. Raval, D. Kaushik, et al. (2020), "Formulation and evaluation of tetanus toxoid-loaded nanostructured lipid particles", *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, **7**(3), pp.462-469.

[16] P. Marrack, A.S. McKee, M.W. Munks (2009), "Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium", *Nat. Rev. Immunol.*, **9**(4), pp.287-293, DOI: 10.1038/nri2510.

# Thực trạng kiểm định định kỳ thiết bị y tế trong quá trình sử dụng tại các cơ sở y tế ở một số địa phương

Mai Xuân Thu\*, Nguyễn Thị Minh Hiếu, Trịnh Ngọc Thành, Nguyễn Minh Anh, Trần Ngọc Ánh, Phạm Thị Huệ, Đặng Quốc Nghĩa, Khương Anh Tuấn

*Viện Chiến lược và Chính sách Y tế, Bộ Y tế, 196 Hồ Tùng Mậu, phường Mai Dịch, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

Ngày nhận bài 14/12/2023; ngày chuyển phản biện 18/12/2023; ngày nhận phản biện 12/1/2024; ngày chấp nhận đăng 31/1/2024

## **Tóm tắt:**

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm mô tả thực trạng kiểm định định kỳ thiết bị y tế (TBYT) trong quá trình sử dụng tại các cơ sở y tế ở một số địa phương, từ đó xác định các khó khăn, bất cập và đề xuất giải pháp. Nghiên cứu sử dụng phương pháp mô tả cắt ngang, kết hợp nghiên cứu định lượng và định tính, thu thập số liệu từ tháng 9/2022 đến tháng 9/2023 tại các cơ quan quản lý, 10 đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định TBYT và 29 cơ sở y tế tại 3 tỉnh, thành phố là Thái Nguyên, Đà Nẵng và Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả cho thấy: (1) Chưa cơ sở y tế nào thực hiện kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật đối với 6 nhóm TBYT; (2) Chỉ có 66,0% TBYT thuộc phương tiện đo nhóm II và 86,0% TBYT phải kiểm định an toàn bức xạ đảm bảo việc kiểm định định kỳ đúng thời hạn; (3) Các cơ sở y tế gặp khó khăn về nguồn tài chính và định mức kinh phí sử dụng cho việc kiểm định TBYT cũng như kế hoạch bố trí sắp xếp vận hành của cơ sở y tế trong thời gian thực hiện kiểm định TBYT.

**Từ khóa:** cơ sở y tế, định kỳ, kiểm định, thiết bị y tế.

**Chỉ số phân loại:** 3.5

## Current status of periodic accreditation of medical devices during use at medical facilities in some provinces

Xuan Thu Mai\*, Thi Minh Hieu Nguyen, Ngoc Thanh Trinh, Minh Anh Nguyen, Ngoc Anh Tran, Thi Hue Pham, Quoc Nghia Dang, Anh Tuan Khuong

*Institute of Health Strategy and Policy, Ministry of Health, 196 Ho Tung Mau Street, Mai Dich Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam*

Received 14 December 2023; revised 12 January 2024; accepted 31 January 2024

## **Abstract:**

The objective of this study is to describe the current status of periodic accreditation of medical devices during use at medical facilities in some provinces, thereby identifying some related difficulties, shortcomings and proposing appropriate solutions. The study used a cross-sectional descriptive research design, combining both quantitative and qualitative research methods, to collect the data from September 2022 to September 2023 in management agencies, 10 medical equipment testing service providers, and 29 medical facilities in Thai Nguyen province, Da Nang city, and Ho Chi Minh city. The results showed that: (1) None of the medical facilities has accredited the safety and technical features of 6 groups of medical devices; (2) Only 66.0% of medical devices belong to group II measuring equipment and 86.0% of medical devices of radiation safety accreditation have ensured the periodic accreditation on time; (3) Medical facilities have faced difficulties in financial resources and funding norms used for medical device accreditation as well as the operation plans of medical facilities during the period of accreditation.

**Keywords:** accreditation, medical devices, medical facilities, periodic.

**Classification number:** 3.5

\*Tác giả liên hệ: Email: maixuanthu.hspi@gmail.com



## 1. Đặt vấn đề

Kiểm định TBYT là hoạt động kỹ thuật theo một quy trình nhất định, nhằm đánh giá và xác nhận sự phù hợp của sản phẩm, hàng hóa đối với yêu cầu quy định trong quy chuẩn kỹ thuật tương ứng, qua đó giúp các đơn vị quản lý và sử dụng giám sát an toàn và hiệu quả của TBYT [1]. Trong quá trình sử dụng tại các cơ sở y tế, TBYT cần được thực hiện kiểm định lần đầu trước khi đưa vào sử dụng, kiểm định định kỳ và kiểm định bất thường trong suốt quá trình sử dụng (khi TBYT xảy ra sự cố, sau một số quy trình khử nhiễm với hóa chất độc hại, sau sửa chữa lớn) [2]. Về danh mục TBYT phải thực hiện kiểm định, tại thời điểm nghiên cứu có 31 nhóm TBYT thuộc diện bắt buộc phải kiểm định trong quá trình sử dụng, gồm 6 nhóm TBYT phải kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật, 14 nhóm TBYT phải kiểm định an toàn bức xạ và 12 nhóm TBYT phải kiểm định phương tiện đo nhóm II. TBYT thông thường được kiểm định định kỳ 12 tháng/lần, một số nhóm TBYT có thời gian kiểm định dài hơn là 24 tháng/lần [3]. Tại thời điểm nghiên cứu, chỉ một số ít cơ sở công lập và tư nhân cung cấp dịch vụ kiểm định bức xạ và kiểm định phương tiện đo nhóm II đối với TBYT tại các cơ sở y tế, nhưng chưa cơ sở nào cung cấp dịch vụ kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật. Các nghiên cứu đánh giá liên quan về TBYT còn hạn chế về quy mô, nội dung về kiểm định TBYT còn ít được thực hiện. Bài báo này trình bày một phần kết quả của nghiên cứu “Đánh giá thực trạng kiểm định trang thiết bị Y tế trước và trong quá trình sử dụng tại các cơ sở y tế và đề xuất giải pháp” do Viện Chiến lược và Chính sách y tế thực hiện trong năm 2022-2023. Mục tiêu của bài báo nhằm mô tả thực trạng kiểm định định kỳ TBYT trong quá trình sử dụng tại các cơ sở y tế ở một số địa phương, từ đó xác định các khó khăn, bất cập tại các cơ sở y tế và đề xuất giải pháp xử lý.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

**Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, kết hợp nghiên cứu định lượng và định tính.

**Thời gian nghiên cứu:** Từ tháng 9/2022 đến tháng 9/2023.

**Địa điểm nghiên cứu:** Nghiên cứu thu thập số liệu tại các cơ quan quản lý tuyến Trung ương, 4 đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định TBYT tuyến Trung ương và lựa chọn có chủ đích 3 tỉnh/TP là Thái Nguyên, TP Đà Nẵng và TP Hồ Chí Minh. Tại mỗi địa phương, nghiên cứu thu thập số liệu tại

các cơ quan quản lý (Sở Y tế, Sở Khoa học và Công nghệ), 6 đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định TBYT và 29 cơ sở y tế công lập và tư nhân.

*Phương pháp thu thập thông tin:*

Đối với thu thập số liệu định lượng, nghiên cứu sử dụng bảng kiểm phân loại để đánh giá việc thực hiện kiểm định TBYT đối với từng TBYT tại các cơ sở y tế thực hiện khảo sát. Tại mỗi cơ sở y tế, nghiên cứu thực hiện khảo sát đối với 10 nhóm TBYT gồm: (1) 3/6 TBYT thuộc nhóm TBYT phải kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật (theo Thông tư số 33/2020/TT-BYT ngày 31/12/2020, được thay thế bởi Thông tư số 05/2022/TT-BYT ngày 1/8/2022) gồm máy thở, máy gây mê kèm thở, dao mổ điện [4, 5]; (2) 4/12 TBYT thuộc nhóm TBYT phải kiểm định đối với phương tiện đo nhóm II, gồm huyết áp kế thủy ngân/lò xo, phương tiện đo điện tim, phương tiện đo điện não, phương tiện đo tiêu cự kính mắt [6]; (3) 3/14 TBYT thuộc nhóm TBYT phải kiểm định an toàn bức xạ, gồm thiết bị chụp X-quang chẩn đoán, thiết bị chụp X-quang tăng sáng truyền hình, thiết bị chụp cắt lớp vi tính CT-Scanner [6]. Các nội dung thu thập trong bảng kiểm liên quan đến mức độ tuân thủ của cơ sở y tế về danh mục TBYT, thời gian, quy trình kiểm định và khó khăn, bất cập trong quá trình kiểm định TBYT đối với các TBYT bắt buộc. Các nghiên cứu viên sẽ trực tiếp kiểm tra hồ sơ và các tài liệu kèm theo TBYT, kiểm tra TBYT trực tiếp tại vị trí đặt máy, phỏng vấn nhân viên y tế phụ trách quản lý sử dụng TBYT của toàn bệnh viện và khoa/phòng đặt TBYT.

Đối với thu thập số liệu định tính, nghiên cứu thực hiện các cuộc thảo luận nhóm với các nhóm đối tượng thuộc cơ quan quản lý, đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định TBYT và đơn vị sử dụng TBYT về các vấn đề liên quan đến hoạt động kiểm định TBYT.

**Phương pháp xử lý số liệu:** Số liệu định lượng được nhập bằng EpiData và làm sạch, phân tích bằng phần mềm Stata 16.0. Số liệu định tính được phân tích theo nhóm vấn đề đã được xây dựng trước.

**Đạo đức nghiên cứu:** Tất cả các thông tin được cung cấp đều có sự đồng thuận của Sở Y tế, các đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định TBYT, các cơ sở y tế công lập và tư nhân cũng như sự đồng thuận của cá nhân những người cung cấp thông tin. Tất cả các thông tin đều được thực hiện theo quy trình bảo mật, chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

### 3. Kết quả

#### 3.1. Kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật đối với thiết bị y tế

Thời điểm thu thập số liệu từ tháng 11/2022 đến tháng 3/2023, nếu thực hiện đúng lộ trình được quy định tại Thông tư số 33/2020/TT-BYT ngày 31/12/2020 và Thông tư số 05/2022/TT-BYT ngày 1/8/2022, các cơ sở y tế phải thực hiện kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật đối với 3 nhóm TBYT đã có quy trình kiểm định gồm máy thở, máy gây mê kèm thở và dao mổ điện. Tại thời điểm nghiên cứu, 3 nhóm TBYT còn lại gồm lồng ấp trẻ sơ sinh, máy phá rung tim và máy thận nhân tạo chưa có quy trình kiểm định chi tiết, nên chưa buộc phải thực hiện kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật. Mặc dù vậy, khi khảo sát thực tế thì chưa có cơ sở y tế nào thực hiện kiểm định định kỳ an toàn và tính năng kỹ thuật đối với 3 nhóm TBYT đã có quy trình, vì chưa có đơn vị kiểm định được Bộ Y tế cấp phép cung cấp dịch vụ kiểm định này.

#### 3.2. Kiểm định thiết bị y tế thuộc phương tiện đo nhóm II

Theo quy định, huyết áp kế thủy ngân/lò xo, phương tiện đo tiêu cự kính mắt phải được kiểm định định kỳ 12 tháng/lần; phương tiện đo điện tim và điện não phải được kiểm định định kỳ 24 tháng/lần. Tuy nhiên, kết quả kiểm tra hồ sơ cho thấy nhiều cơ sở y tế chưa đảm bảo việc kiểm định định kỳ đúng thời hạn, có tới 25,1% TBYT không kiểm định đúng hạn và 8,9% TBYT không được kiểm định định kỳ (bảng 1).

**Bảng 1. Tỷ lệ thiết bị y tế thuộc phương tiện đo nhóm II được kiểm định định kỳ.**

| Nội dung                               | Huyết áp kế thủy ngân/lò xo |      | Phương tiện đo điện tim |      | Phương tiện đo điện não |      | Phương tiện đo tiêu cự kính mắt |      | Tổng  |      |
|----------------------------------------|-----------------------------|------|-------------------------|------|-------------------------|------|---------------------------------|------|-------|------|
|                                        | n=169                       | %    | n=117                   | %    | n=14                    | %    | n=3                             | %    | n=303 | %    |
| Đảm bảo đúng thời hạn                  | 120                         | 71,0 | 70                      | 59,8 | 8                       | 57,1 | 2                               | 66,7 | 200   | 66,0 |
| Một số lần bị chậm hơn so với thời hạn | 44                          | 26,0 | 30                      | 25,6 | 2                       | 14,3 | 0                               | 0    | 76    | 25,1 |
| Không được kiểm định                   | 5                           | 3,0  | 17                      | 14,5 | 4                       | 28,6 | 1                               | 33,3 | 27    | 8,9  |

Phân tích thực trạng kiểm định định kỳ theo tuyến của TBYT thuộc phương tiện đo nhóm II cho thấy, các TBYT tại tuyến huyện có tỷ lệ kiểm định định kỳ thấp hơn so với các TBYT cùng loại tại cơ sở y tế tuyến tỉnh và tại cơ sở y tế tư nhân, cụ thể như tỷ lệ phương tiện đo điện tim được kiểm định định kỳ tại tuyến huyện chỉ đạt 73,6% trong khi tại tuyến tỉnh và khu vực tư nhân đều đạt xấp xỉ 95% (bảng 2).

**Bảng 2. Tỷ lệ thiết bị y tế thuộc phương tiện đo nhóm II được kiểm định định kỳ theo tuyến.**

| Loại thiết bị y tế          | Tuyến tỉnh |       | Tuyến huyện |      | Tư nhân |       | Tổng    |      |
|-----------------------------|------------|-------|-------------|------|---------|-------|---------|------|
|                             | n          | %     | n           | %    | n       | %     | n       | %    |
| Huyết áp kế thủy ngân/lò xo | 53/53      | 100,0 | 68/73       | 93,2 | 43/43   | 100,0 | 164/169 | 97,0 |
| Phương tiện đo điện tim     | 37/39      | 94,9  | 39/53       | 73,6 | 24/25   | 96,0  | 100/117 | 85,5 |
| Phương tiện đo điện não     | 3/3        | 100,0 | 4/7         | 57,1 | 3/4     | 75,0  | 10/14   | 71,4 |
| Phương tiện đo tiêu cự mắt  | 0          | 0     | 2/3         | 66,7 | 0       | 0     | 2/3     | 66,7 |

#### 3.3. Kiểm định thiết bị y tế phải kiểm định an toàn bức xạ

**Bảng 3. Tỷ lệ thiết bị y tế kiểm định an toàn bức xạ định kỳ.**

| Nội dung                               | Thiết bị chụp X-quang chẩn đoán |      | Thiết bị chụp X-quang tăng sáng truyền hình |       | Thiết bị chụp cắt lớp vi tính |      | Tổng  |      |
|----------------------------------------|---------------------------------|------|---------------------------------------------|-------|-------------------------------|------|-------|------|
|                                        | n=149                           | %    | n=5                                         | %     | n=31                          | %    | n=185 | %    |
| Đúng thời hạn tất cả các kỳ kiểm định  | 126                             | 84,6 | 5                                           | 100,0 | 28                            | 90,3 | 159   | 86,0 |
| Một số lần bị chậm hơn so với thời hạn | 9                               | 6,0  | 0                                           | 0     | 1                             | 3,2  | 10    | 5,4  |
| Không kiểm định định kỳ                | 14                              | 9,4  | 0                                           | 0     | 2                             | 6,5  | 16    | 8,6  |

Theo quy định của Bộ Khoa học và Công nghệ, trong quá trình sử dụng, định kỳ 12 tháng đối với thiết bị chụp X-quang tăng sáng truyền hình, thiết bị chụp cắt lớp vi tính CT-Scanner và 24 tháng đối với thiết bị chụp X-quang chẩn đoán (cố định, di động, nha, nhũ, loãng xương, C-arm...) phải thực hiện kiểm định. Phần lớn TBYT được kiểm định đúng thời hạn với tỷ lệ 86,0% nhưng vẫn còn 5,4% TBYT được kiểm định chậm hơn thời hạn quy định (bảng 3). Một số TBYT cũ, thừa và hỏng nhưng chưa thay thế được thì các đơn vị cũng phải tạm dừng kiểm định, chờ sửa chữa hoặc thanh lý. Theo ý kiến từ thảo luận nhóm tại bệnh viện tuyến tỉnh: Các máy phải kiểm tra an toàn bức xạ đều thực hiện kiểm định đầy đủ, đúng hạn, vì đã có quy định và liên quan đến thanh toán bảo hiểm y tế (BHYT), không kiểm định, không đủ hồ sơ là BHYT xuất toán. Vì vậy, tỷ lệ kiểm định định kỳ TBYT đối với các nhóm máy này đều cao và không có sự chênh lệch giữa các tuyến và khu vực tư nhân (bảng 4).

**Bảng 4. Tỷ lệ thiết bị y tế kiểm định an toàn bức xạ định kỳ theo tuyến.**

| Loại thiết bị y tế                          | Tuyến tỉnh |       | Tuyến huyện |       | Tư nhân |       | Tổng    |       |
|---------------------------------------------|------------|-------|-------------|-------|---------|-------|---------|-------|
|                                             | n          | %     | n           | %     | n       | %     | n       | %     |
| Thiết bị chụp X-quang chẩn đoán             | 72/77      | 93,5  | 47/50       | 94,0  | 17/17   | 100,0 | 136/149 | 91,3  |
| Thiết bị chụp X-quang tăng sáng truyền hình | 4/4        | 100,0 | 1/1         | 100,0 | 0       | 0     | 5/5     | 100,0 |
| Thiết bị chụp cắt lớp vi tính CT-Scanner    | 11/12      | 91,7  | 11/12       | 91,7  | 7/7     | 100,0 | 29/31   | 93,5  |

### 3.4. Khó khăn, vướng mắc trong quá trình thực hiện kiểm định định kỳ đối với thiết bị y tế

Qua thảo luận nhóm với các cơ quan quản lý, các đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định TBYT và các cơ sở y tế các tuyến cho thấy các cơ sở y tế đều không gặp khó khăn trong việc mời thầu dịch vụ kiểm định TBYT thuộc phương tiện đo nhóm II và kiểm định an toàn bức xạ, mà chỉ chưa triển khai được kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật TBYT do thiếu các đơn vị cung cấp dịch vụ kiểm định.

Bên cạnh đó, các cơ sở y tế đều gặp khó khăn về nguồn và định mức kinh phí sử dụng cho việc kiểm định TBYT. Theo quy định, các cơ sở y tế được sử dụng các nguồn kinh phí thường xuyên và không thường xuyên của cơ sở y tế, cũng như được quyền trích một phần nguồn thu từ dịch vụ khám chữa bệnh và khám chữa bệnh BHYT để duy tu, bảo dưỡng, sửa chữa TBYT. Tuy nhiên, vướng mắc hiện nay là chưa có các hướng dẫn về định mức tài chính dành cho hoạt động kiểm định ở các cơ sở y tế công lập, gây khó khăn cho các đơn vị trong việc lên kế hoạch dự toán kinh phí. Đặc biệt, khi quy định bổ sung thêm 6 nhóm TBYT cần kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật, số lượng TBYT cần kiểm định rất lớn, chi phí kiểm định tăng, nếu không có căn cứ sẽ không thể tổ chức mời thầu và đấu thầu dịch vụ kiểm định TBYT. Khó khăn về kinh phí lại càng là trở ngại lớn tại các cơ sở y tế dự phòng, cơ sở y tế tuyến dưới hoặc cơ sở y tế vùng sâu, vùng xa, do hạn chế về nguồn thu, số lượng TBYT ít trong khi phí kiểm định TBYT lại tăng do khoảng cách và di chuyển.

Các cơ sở y tế cũng chưa có phương án, kế hoạch bố trí sắp xếp vận hành trong thời gian thực hiện kiểm định TBYT, đặc biệt là đối với 6 nhóm TBYT phải kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật, vì các TBYT thuộc nhóm này đều là TBYT thiết yếu dùng cho bệnh nhân nặng, nhất là khi số lượng TBYT ở các cơ sở y tế tuyến dưới rất hạn chế.

## 4. Bàn luận

Hiện nay, chưa có nhiều nghiên cứu khảo sát về hoạt động kiểm định TBYT tại các cơ sở y tế nói chung, trong đó bao gồm cả hoạt động kiểm định định kỳ. Năm 2019, Viện Chiến lược và Chính sách y tế đã triển khai thực hiện nghiên cứu đánh giá thực trạng quản lý sử dụng một số TBYT ở bệnh viện đa khoa công lập các tuyến, chủ yếu tập trung vào quy trình và các hoạt động quản lý sử dụng TBYT trong cơ sở y tế [7]. Tại thời điểm đó, Bộ Y tế chưa ban hành Thông

tư số 33/2020/TT-BYT và các quy trình hướng dẫn kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật, nên chưa có đơn vị y tế nào thực hiện hoạt động này. Cho đến thời điểm năm 2023, Bộ Y tế đã ban hành Thông tư số 05/2022/TT-BYT thay thế cho Thông tư 33/2020/TT-BYT, cùng với 3/6 quy trình kiểm định TBYT đối với máy thở, máy gây mê kèm thở và dao mổ điện [4, 5]. Tuy nhiên, thực tế vẫn chưa có cơ sở y tế nào thực hiện kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật đối với các TBYT theo quy định, do chưa có đơn vị nào cung ứng dịch vụ kiểm định này.

Đối với kiểm định an toàn bức xạ, đã có 84,6% thiết bị chụp X-quang chẩn đoán và 90,3% thiết bị chụp cắt lớp vi tính được kiểm định định kỳ. So sánh với khảo sát năm 2019 của Viện Chiến lược và Chính sách Y tế cho thấy, việc kiểm định TBYT đã được các cơ sở y tế thực hiện đầy đủ hơn khi chỉ có 53,3% máy X-quang và 63,6% máy CT-Scanner kiểm định định kỳ đầy đủ tại thời điểm năm 2019 [7]. Việc thực hiện kiểm định các TBYT có nguồn bức xạ, phóng xạ là do sự tuân thủ các quy định liên quan đến an toàn bức xạ, không phải các quy định về quản lý TBYT của ngành y tế.

Theo Thông tư số 23/2013/TT-BKHCN ngày 26/09/2013 của Bộ Khoa học và Công nghệ quy định về đo lường đối với phương tiện đo nhóm II, có 12 danh mục thiết bị sử dụng trong lĩnh vực y tế phải thực hiện kiểm định [6]. Trong nghiên cứu này, chỉ có 66,0% TBYT được kiểm định đúng thời hạn, 25,1% kiểm định chậm thời hạn và gần 10% không thực hiện kiểm định. Kết quả từ cuộc thanh tra diện rộng của Bộ Khoa học và Công nghệ tại 63 tỉnh, TP cũng đã cho kết quả tương tự. Trong tổng số 1.493 cơ sở y tế (gồm cả tư nhân và công lập) được thanh tra, có tới 25,8% cơ sở y tế có vi phạm hoạt động kiểm định TBYT. Trong 13.437 TBYT được kiểm tra, có 26,8% TBYT vi phạm. Tại nhiều địa phương, 100% TBYT được kiểm tra đều phát hiện sai số hoặc có những địa phương, khi kiểm tra 331 thiết bị y tế gồm huyết áp kế, phương tiện đo điện tim, phương tiện đo điện não và cân sức khỏe, có tới 327 thiết bị hết hiệu lực kiểm định (99%). Điều này gây ảnh hưởng và nguy hại rất lớn đến chẩn đoán và điều trị của nhân viên y tế đối với người bệnh, có thể dẫn tới những rủi ro hoặc tai nạn, ảnh hưởng đến an toàn và chất lượng cung ứng dịch vụ y tế của cơ sở y tế.

Mặc dù cùng sử dụng cho người bệnh, trong khi thuốc có thời hạn nhất định thì TBYT lại có nhiều thời hạn khác nhau liên quan đến bảo dưỡng, kiểm định, hiệu chuẩn, hoặc thay



thể. Thậm chí mỗi bộ phận, linh kiện trên TBYT lại có quy định về thời hạn khác nhau [8, 9]. Tuy nhiên, kết quả khảo sát cho thấy các cơ sở y tế chưa có hệ thống quản lý tổng thể đối với TBYT, việc lưu trữ chủ yếu bằng hồ sơ giấy, dễ thất lạc, mất mát. Đây cũng chính là một trong những nguyên nhân dẫn đến kiểm định không đúng hạn, cần phải có các giải pháp quản lý tổng thể, ứng dụng công nghệ thông tin để nhắc việc hoặc cảnh báo [8].

## 5. Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, chưa có cơ sở y tế nào thực hiện kiểm định an toàn và tính năng kỹ thuật đối với TBYT, do chưa có đơn vị cung ứng dịch vụ kiểm định nào đủ điều kiện thực hiện. Kiểm định an toàn bức xạ và kiểm định đối với TBYT thuộc phương tiện đo nhóm II đã được các cơ sở y tế tuân thủ thực hiện, nhưng vẫn còn chưa đầy đủ và gặp khó khăn, vướng mắc về nguồn tài chính và định mức kinh phí sử dụng cho việc kiểm định TBYT cũng như kế hoạch bố trí sắp xếp vận hành của cơ sở y tế trong thời gian thực hiện kiểm định TBYT.

Nhóm nghiên cứu đề xuất cần khẩn trương hoàn thiện tổ chức, mạng lưới kiểm định TBYT, cũng như rà soát, bổ sung, cập nhật và ban hành mới các quy định thực hiện kiểm định TBYT phù hợp với điều kiện thực tế, nhất là về chủng loại và thời hạn kiểm định TBYT. Bên cạnh đó, cần tăng cường hướng dẫn, giám sát việc tuân thủ các quy định về kiểm định TBYT của các cơ sở y tế cũng như đầu tư xây dựng ứng dụng công nghệ thông tin để quản lý tổng thể và đồng bộ TBYT suốt vòng đời.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization (2011), *Development of Medical Device Policies*, WHO Medical Device Technical Series, 39pp.
- [2] World Health Organization (2003), *Medical Device Regulations: Global Overview and Guiding Principles*, 43pp.
- [3] The Government (2021), *Decree No. 98/2021/ND-CP Dated November 8, 2021 on Prescribing Medical Device Management* (in Vietnamese).
- [4] Vietnam Ministry of Health (2022), *Circular No. 05/2022/TT-BYT Dated August 1, 2022, on Providing Detailed Regulations on The Implementation of Several Articles of Decree No. 98/2021/ND-CP Dated November 8, 2021, of The Government on The Management of Medical Devices* (in Vietnamese).
- [5] Vietnam Ministry of Health (2020), *Circular No. 33/2020/TT-BYT Dated December 31, 2020 on Stipulating The List of Medical Devices That Must Be Tested for Safety and Technical Performance* (in Vietnamese).
- [6] Vietnam Ministry of Science and Technology (2013), *Circular No. 23/2013/TT-BKHHCN Dated September 26, 2013 on Measurement Regulations of Category-2 Measuring Instruments* (in Vietnamese).
- [7] Institute of Health Strategy and Policy (2021), *Research on The Current Situation of Managing and Using Some Medical Equipment at Public General Hospitals Across Different Levels*, Unit-level Scientific and Technological Project, 166pp (in Vietnamese).
- [8] Institute of Medical Equipment and Health Works (2014), *Research on The Current Situation and Demand for Essential Medical Equipment for Diagnosis and Treatment at General Hospitals and Proposed Solutions*, Unit-level Scientific and Technological Project, 114pp (in Vietnamese).
- [9] T.N. Vo (2021), "Current status and some factors affecting the management of medical devices at Tieu Can Regional General Hospital, Tra Vinh in 2020", *Journal of Health Research and Development*, **3/2021**, pp.35-43 (in Vietnamese).

# Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết các loài thực vật thuộc họ Cúc lên sự nảy mầm và tăng trưởng hạt

Võ Ngọc Nguyên<sup>1</sup>, Trần Thanh Mến<sup>2</sup>, Trần Ngọc Quý<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, khu 2, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

<sup>2</sup>Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, khu 2, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 8/10/2023; ngày chuyển phản biện 12/10/2023; ngày nhận phản biện 22/10/2023; ngày chấp nhận đăng 25/10/2023

## Tóm tắt:

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của cao chiết ethanol từ các loài thực vật thuộc họ Cúc bao gồm: *Ageratum conyzoides*, *Bidens pilosa* L., *Chromolaena odorata* L., *Cosmos bipinnatus* và *Synedrella nodiflora* L. Gaertn lên sự nảy mầm và tăng trưởng thực vật tại các nồng độ 1, 5, 10 và 15 mg/ml. Kết quả cho thấy, các cao chiết họ Cúc có sự hiện diện của các hợp chất đối kháng thực vật như alkaloid, flavonoid, phenolic, saponin và coumarin. Yên bạch và bộ xít có hàm lượng phenolic, flavonoid cao nhất, lần lượt là 367,16 mg GAE/g cao chiết và 283,20 mg QE/g cao chiết. Tại nồng độ 15 mg/ml, tất cả các cao chiết thể hiện khả năng ức chế 100% các chỉ tiêu nảy mầm, tăng trưởng của hạt xà lách. Tại nồng độ 15 mg/ml cao chiết từ ngũ sắc ức chế đáng kể các chỉ tiêu nảy mầm, chiều dài rễ, chiều dài thân, trọng lượng tươi và trọng lượng khô của cải củ lần lượt là 86,67; 88,5; 89,10; 92,32 và 95,74%. Nhìn chung, hoạt tính đối kháng thực vật của các cao chiết tăng dần theo nồng độ khảo sát. Kết quả chứng minh, ngũ sắc là loài thực vật có khả năng đối kháng thực vật tốt nhất trong 5 loài thuộc họ Cúc được khảo sát, do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần được thực hiện, hướng đến khai thác tiềm năng ứng dụng của chiết xuất từ loài thực vật này.

Từ khóa: đối kháng thực vật, họ Cúc, ngũ sắc, ức chế nảy mầm.

Chỉ số phân loại: 4.1, 4,6

## The effects of the Asteraceae family's extracts on seed germination and growth

Ngoc Nguyen Vo<sup>1</sup>, Thanh Men Tran<sup>2</sup>, Ngoc Quy Tran<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Campus II, 3/2 Street, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

<sup>2</sup>College of Natural Sciences, Can Tho University, Campus II, 3/2 Street, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

Received 8 October 2023; revised 22 October 2023; accepted 25 October 2023

## Abstract:

This study was conducted to investigate the effects of ethanol extracts from plants belonging to the Asteraceae family, including *Ageratum conyzoides*, *Bidens pilosa* L., *Chromolaena odorata* L., *Cosmos bipinnatus* and *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn on the germination and vegetative growth at 1, 5, 10 and 15 mg/ml concentrations. The results showed that the Asteraceae family extracts had the presence of allelochemical compounds such as alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins and coumarins. *C. odorata* L. and *S. nodiflora* (L.) Gaertn have the highest phenolic and flavonoid content of 367.16 mg GAE/g extract and 283.20 mg QE/g extract, respectively. At a 15 mg/ml concentration, all extracts demonstrated the ability to inhibit 100% of germination and growth parameters of *Lactuca sativa* L. seeds. At a concentration of 15 mg/ml, *A. conyzoides* extracts significantly inhibited the germination criteria, root length, stem length, fresh weight, and dry weight of *Raphanus sativus* L. by 86.67; 88.5; 89.10; 92.32, and 95.74%, respectively. In general, the allelopathic activity of the extracts gradually increased with the concentration tested. The results demonstrate that *A. conyzoides* is the plant species with the best allelopathic ability among the 5 species of the Asteraceae family surveyed, so further research needs to be carried out to exploit the application potential extracted from this plant.

Keywords: *Ageratum conyzoides*, allelopathy, Asteraceae, germination inhibition.

Classification numbers: 4.1, 4.6

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

## 1. Đặt vấn đề

Cỏ dại và đặc tính kháng thuốc diệt cỏ đã và đang là vấn đề cần được quan tâm trong sản xuất nông nghiệp hiện đại. Sự xuất hiện đặc tính kháng thuốc diệt cỏ có thể là thách thức lớn đối với quản lý và sản xuất nông nghiệp. Sự kháng thuốc diệt cỏ của cỏ dại dẫn đến sự gia tăng tính cạnh tranh của chúng với cây trồng về nguồn tài nguyên như: ánh sáng, chất dinh dưỡng, không gian và nước, từ đó làm giảm năng suất cây trồng. Thuốc diệt cỏ hóa học tổng hợp ra đời đã mang đến các hiệu quả nhất định trong phòng trừ cỏ dại. Tuy nhiên, việc lạm dụng thuốc diệt cỏ hóa học đã gây ra nhiều vấn đề nghiêm trọng và nguy hiểm cho hệ sinh thái, thực vật và sức khỏe con người. Từ đó, hướng nghiên cứu đầy hứa hẹn được đề xuất là phát triển các loại thuốc diệt cỏ sinh học dựa trên các sản phẩm của vi sinh vật hoặc chiết xuất từ thực vật. Sự ra đời của thuốc diệt cỏ sinh học được kỳ vọng có thể hạn chế các vấn đề gây ra bởi thuốc diệt cỏ tổng hợp hóa học, cung cấp một biện pháp “xanh, an toàn, thân thiện” với môi trường, góp phần vào công cuộc quản lý cỏ dại hiệu quả, bền vững trong tương lai [1, 2].

Các chiết xuất từ thực vật được sử dụng như là một phương pháp từ tự nhiên để ngăn chặn cỏ dại hiệu quả và an toàn hơn so với thuốc diệt cỏ tổng hợp nhờ vào khả năng đối kháng của chúng [3]. Đối kháng thực vật (allelopathy) thể hiện sự tương tác giữa một loài thực vật này với sinh vật lân cận khác thông qua việc giải phóng các hợp chất hóa học thứ cấp (allelochemical) hoạt động như một chất ức chế tăng trưởng. Các hợp chất này đã được chứng minh có thể ngăn chặn sự nảy mầm, tăng trưởng và phát triển của các loài xung quanh, đóng một vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh quần xã thực vật, có thể được sử dụng làm thuốc diệt cỏ tự nhiên, kiểm soát sự sinh trưởng và phát triển của cỏ dại [4]. Trong quá trình khảo sát hoạt tính đối kháng của chiết xuất thực vật, cải củ và xà lách thường được lựa chọn là thực vật thử nghiệm bởi chúng có những ưu điểm như: khả năng nảy mầm nhanh, phát triển đồng đều, có sự nhạy cảm với các hợp chất đối kháng ở nồng độ thấp, khả năng sinh trưởng, phát triển ổn định. Điều này giúp các nghiên cứu có thể tìm hiểu về cơ chế ảnh hưởng đến sự nảy mầm và tăng trưởng lên thực vật nhanh chóng và hiệu quả. Ngoài ra, cỏ dại thường có tính miên trạng bền vững, cần có thời gian để phá vỡ miên trạng của hạt, do đó, việc thực hiện các thử nghiệm khảo sát trên các loài thực vật khác để tìm ra các hợp chất đối kháng, nồng độ chiết xuất có hoạt tính đối kháng trước khi khảo sát trên các loài cỏ dại là cần thiết [5, 6]. Mặt khác, thực vật thuộc họ Cúc là một trong những họ thực vật có hoa với số lượng loài phong phú, chứa nhiều

nhóm hợp chất hóa học thứ cấp và thể hiện nhiều hoạt tính dược lý khác nhau như: khả năng kháng oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, chữa lành vết thương... [7]. Trong thời gian gần đây, khả năng đối kháng thực vật từ các chiết xuất của các loài thuộc họ Cúc đã được nghiên cứu và cho thấy tiềm năng ứng dụng của chúng trong phòng trừ cỏ dại là rất lớn [8]. Ví dụ, trong chiết xuất từ lá của cây kẻ đầu ngựa (*Xanthium spinosum* L.) thuộc họ Cúc, các nhà khoa học đã phân lập được 6 hợp chất hóa học thứ cấp, trong đó 4-epiisoxanthanol được cho là hợp chất có tiềm năng sản xuất thuốc trừ cỏ sinh học trong tương lai [9]. Chính vì thế, nghiên cứu này tiến hành khảo sát ảnh hưởng của cao chiết từ 5 loài thực vật thuộc họ Cúc lên sự nảy mầm hạt và tăng trưởng thực vật, xác định hàm lượng của các hợp chất thứ cấp và đánh giá khả năng đối kháng sinh học của chiết xuất từ các loài thực vật khảo sát.

## 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Đối tượng

Hạt cải củ (*Raphanus sativus* L.) được sản xuất bởi Công ty TNHH Giống cây trồng Phú Nông. Hạt xà lách (*Lactuca sativa* L.) được sản xuất bởi Công ty TNHH Phát triển và Đầu tư Nhiệt Đới. Cao chiết xuất từ 5 loài thực vật thuộc họ Cúc bao gồm: ngũ sắc (*Ageratum conyzoides*) (NS), xuyên chi (*Bidens pilosa* L.) (XC), bọ xít (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) (BX), sao nháy (*Cosmos bipinnatus*) (SN) và yên bạch (*Chromolaena odorata* L.) (YB).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

**Điều chế cao chiết:** Các thực vật thuộc họ Cúc được thu hái tại một số địa phương thuộc TP Cần Thơ và tỉnh Vĩnh Long, sau đó xử lý tại phòng thí nghiệm. Tiến hành rửa sạch, cắt nhỏ 1-2 cm, sấy khô ở nhiệt độ dưới 50°C. Mẫu được cho vào các túi vải khác nhau và ngâm với dung môi ethanol 96° trong 48 giờ. Sau đó, dịch chiết được lọc và tiến hành cô quay ở áp suất thấp để thu được cao chiết ethanol của các loài thực vật họ Cúc [10].

**Định tính và định lượng các thành phần hóa học có trong cao chiết của các loài thực vật thuộc họ Cúc:** Thí nghiệm định tính được thực hiện nhằm kiểm tra sự hiện diện một số hợp chất thứ cấp như: alkaloid, flavonoid, phenolic, saponin và coumarin có trong cao chiết ethanol các loài thực vật họ Cúc. Phương pháp định tính được thực hiện dựa trên phản ứng tạo màu và kết tủa của các hợp chất [11, 12].

Hàm lượng phenolic tổng số có trong các cao chiết của thực vật họ Cúc được tiến hành dựa trên phương pháp sử dụng thuốc thử Folin-Ciocalteu (1:4). Hàm lượng phenolic



tổng có trong cao chiết được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn acid gallic và kết quả được thể hiện theo mg acid gallic tương đương (mg GAE/g cao chiết) [13].

Hàm lượng flavonoid tổng số có trong cao chiết được tiến hành dựa trên nguyên tắc của phản ứng tạo màu nhôm chloride ( $AlCl_3$ ).  $AlNS_3$  có thể tạo phức bền với acid với nhóm keto C-4 và nhóm hydroxyl C-3 hoặc C-5 của flavon và flavonol. Hàm lượng flavonoid tổng được xác định dựa trên phương trình đường chuẩn quercetin và kết quả được thể hiện theo mg quercetin tương đương trên gram cao chiết (mg QE/g cao chiết) [14].

**Khảo sát khả năng ức chế nảy mầm và tăng trưởng thực vật từ các cao chiết họ Cúc:** Thử nghiệm được tiến hành như sau: pha loãng các cao chiết trong methanol với các nồng độ lần lượt là 1; 5; 10 và 15 mg/ml và cho vào các đĩa petri 60x15 mm đã đặt sẵn giấy thấm Whatman. Các đĩa petri tại mỗi nghiệm thức lần lượt được cho vào 3 ml cao chiết được pha loãng và đĩa đối chứng được cho vào 3 ml methanol. Sau đó, tất cả nghiệm thức được đặt trong tủ hút để methanol bay hơi và còn lại cao chiết trên giấy lọc. Bổ sung 1 ml nước cất để làm ẩm cho tất cả các nghiệm thức. Lần lượt cho hạt giống vào các đĩa petri (10 hạt/đĩa) sau khi đã ngâm với nước trong 24 giờ và đặt trong điều kiện phòng thí nghiệm [8].

Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Các chỉ tiêu theo dõi: (1) khả năng ức chế nảy mầm hạt (%), (2) chiều dài thân (mm), (3) chiều dài rễ (mm), (4) trọng lượng tươi (mg), (5) trọng lượng khô (mg) của cây con sau 7 ngày xử lý. Phần trăm ức chế các chỉ tiêu trên được tính toán theo công thức như sau:

$$\text{Phần trăm (\%)} \text{ ức chế} = ((DC - TN) / DC) * 100$$

trong đó: DC là trung bình nghiệm thức đối chứng, TN là trung bình nghiệm thức thử nghiệm.

### 2.3. Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel 2013 được sử dụng cho việc nhập liệu và xử lý các số liệu thô. Phần mềm Minitab 16 được sử dụng để phân tích phương sai (ANOVA). Các giá trị trung bình được so sánh bằng phép thử Tukey với độ tin cậy 95%.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Kết quả định tính các thành phần hóa học có trong cao chiết của các loài thực vật thuộc họ Cúc

Kết quả định tính các thành phần hóa học có trong cao chiết các loài họ Cúc được thể hiện ở bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả định tính các thành phần hóa học có trong cao chiết các loài họ Cúc.**

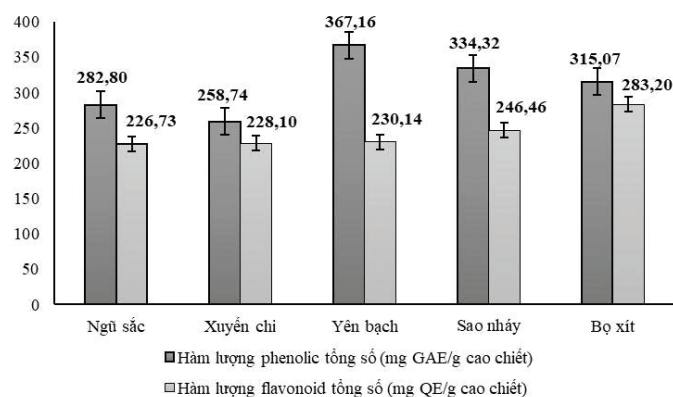
| Hợp chất  | SN | XC | BX | NS | YB |
|-----------|----|----|----|----|----|
| Alkaloid  | +  | +  | +  | +  | +  |
| Flavonoid | +  | +  | +  | +  | +  |
| Phenolic  | +  | +  | +  | +  | +  |
| Saponin   | +  | +  | +  | +  | +  |
| Coumarin  | +  | +  | +  | +  | +  |

Dấu (+) thể hiện cao chiết có chứa hợp chất đối kháng. SN, XC, BX, NS, YB là từ viết tắt cho các cao chiết họ Cúc lần lượt là: sao nháy, xuyên chi, bọ xít, ngũ sắc và yên bạch.

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, cao chiết của các loài sao nháy, xuyên chi, bọ xít, ngũ sắc và yên bạch đều có sự hiện diện của các hợp chất hóa học như: alkaloid, phenolic, flavonoid, coumarin và saponin. Thành phần hóa học của các chiết xuất từ các loài như sài đất ba thùy, dã quỳ, hướng dương [8, 15, 16]... thuộc họ Cúc đã được khảo sát và chúng cũng có sự hiện diện của hợp chất đối kháng tương tự với nghiên cứu này. Những hợp chất thứ cấp trên là những allelochemical được chứng minh đóng vai trò quan trọng trong tương tác đối kháng giữa thực vật với thực vật, gây ra những ảnh hưởng đến sự nảy mầm, tăng trưởng, phát triển đến các loài thực vật khác. Nhiều nghiên cứu đã nhận định rằng, nếu thực hiện khảo sát về khả năng đối kháng từ chiết xuất thực vật thì cần quan tâm đến các hợp chất thứ cấp này đặc biệt là phenolic và flavonoid [17].

### 3.2. Kết quả hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số

Kết quả khảo sát hàm lượng phenolic và flavonoid tổng số của 5 loài thực vật họ Cúc được trình bày ở hình 1.



**Hình 1. Hàm lượng các hợp chất đối kháng có trong cao chiết 5 loài thuộc họ Cúc.**

Kết quả ở hình 1 cho thấy, cao chiết họ Cúc có chứa hàm lượng lớn hai hợp chất đối kháng phenolic và flavonoid. Cao chiết yên bạch có hàm lượng phenolic tổng số cao nhất là 367,16 mg GAE/g cao chiết. Tương tự, cao chiết bọ xít hàm lượng flavonoid tổng số cao nhất là 283,20 mg QE/g

cao chiết. Bên cạnh đó, một số kết quả khảo sát về hàm lượng hai hợp chất này trên các loài thực vật khác thuộc họ Cúc cho thấy, chiết xuất ethanol của cây cúc vạn diệp (*Achillea cucullata*) có chứa hàm lượng phenolic tổng số và flavonoid tổng số lần lượt là 53,807 và 21,372 (mg QE/g) [18]. Kết quả nghiên cứu về chiết xuất methanol của cây cúc kim tiền (*Calendula aegyptiaca*) cho thấy, loài cây này có chứa hàm lượng hai hợp chất thứ cấp này lần lượt là 275,38 và 204,57 mg QE/g [19]. Có thể thấy rằng, cúc kim tiền và cúc vạn diệp có chứa hàm lượng hai hợp chất phenolic tổng số và flavonoid tổng số thấp hơn so với 5 loài cao chiết họ Cúc được khảo sát. Có thể cho rằng, chiết xuất từ thực vật có thể giải phóng những hợp chất hóa sinh thứ cấp để gây ra các ảnh hưởng nhất định đến cây trồng mục tiêu. Hai hợp chất phenolic và flavonoid có thể ảnh hưởng đến sự nảy mầm và tăng trưởng thực vật thông qua việc làm thay đổi tính thấm của màng tế bào, ức chế sự phân chia tế bào, ảnh hưởng đến hoạt động của enzyme và các quá trình sinh lý như quang hợp, hô hấp và tổng hợp protein của thực vật [20]. Do vậy, cao chiết từ 5 loài họ Cúc chứa hàm lượng lớn hai hợp chất này cho thấy, đây là các loài có tiềm năng trong các nghiên cứu về hoạt động đối kháng trên thực vật.

### 3.3. Khả năng ức chế nảy mầm hạt của cao chiết các loài thực vật họ Cúc

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của cao chiết các loài họ Cúc lên sự nảy mầm hạt cải củ và xà lách trong điều kiện phòng thí nghiệm được trình bày tại bảng 2. Kết quả cho thấy, khả năng ức chế nảy mầm hạt cải củ và xà lách của các cao chiết họ Cúc tăng dần theo nồng độ khảo sát. Tại nồng độ 5 mg/ml, cao chiết ngũ sắc có khả năng ức chế đáng kể sự nảy mầm của xà lách (73,33%). Tại nồng độ 10 mg/ml, cao chiết ngũ sắc và xuyên chi đã ức chế 100% sự nảy mầm hạt xà lách, khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng. Tại nồng độ 15 mg/ml, tất cả cao chiết họ Cúc được khảo sát có khả năng ức chế 100% sự nảy mầm của hạt xà lách. Bên cạnh đó, tại nồng độ 5 mg/ml, cao chiết ngũ sắc và sao nháy có phần trăm ức chế trên 50% sự nảy mầm của hạt cải củ. Tại nồng độ 10 và 15 mg/ml, cao chiết bộ xít và ngũ sắc có ảnh hưởng đáng kể đến sự nảy mầm của hạt cải củ với phần trăm ức chế lần lượt là 62,22 và 76,67%. Tại nồng độ 15 mg/ml, các cao chiết họ Cúc ức chế hiệu quả sự nảy mầm hạt cải củ và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng. Trong đó, cao chiết ngũ sắc thể hiện khả năng đối kháng tốt trên hạt cải củ với phần trăm ức chế nảy mầm là 86,67%. Ngoài ra, tại nồng độ 1 mg/l, cao chiết ảnh hưởng đến sự nảy mầm hạt cải củ tốt hơn so với xà lách. Ngược lại, tại các nồng độ 5, 10 và 15 mg/ml thì hiệu quả ức chế nảy mầm hạt xà lách của cao chiết cao hơn so với cải củ.

Có thể nhận định, 5 loài cao chiết họ Cúc, đặc biệt là cao chiết ngũ sắc ảnh hưởng đáng kể đến sự nảy mầm trên cả 2 loài thực vật thử nghiệm. Điều này được giải thích là trong cao chiết hiện diện nhiều hợp chất đối kháng (bảng 1), đồng

**Bảng 2. Phần trăm ức chế nảy mầm hạt cải củ và hạt xà lách.**

| Thí nghiệm | Phần trăm ức chế (%)      |                          |
|------------|---------------------------|--------------------------|
|            | Cải củ                    | Xà lách                  |
| NS1        | 31,11±12,62 <sup>bc</sup> | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   |
| NS5        | 53,33±14,53 <sup>ab</sup> | 73,33±5,77 <sup>b</sup>  |
| NS10       | 76,67±18,56 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| NS15       | 86,67±14,53 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| XC1        | 7,78±3,85 <sup>cd</sup>   | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   |
| XC5        | 32,22±13,47 <sup>bc</sup> | 46,67±37,56 <sup>b</sup> |
| XC10       | 58,89±18,36 <sup>ab</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| XC15       | 88,22±13,47 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| YB1        | 22,22±1,92 <sup>cd</sup>  | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   |
| YB5        | 45,56±13,47 <sup>bc</sup> | 36,67±23,33 <sup>b</sup> |
| YB10       | 57,78±5,09 <sup>ab</sup>  | 88,89±6,94 <sup>a</sup>  |
| YB15       | 73,33±17,64 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| SN1        | 23,33±14,53 <sup>bc</sup> | 0,00±0,00 <sup>b</sup>   |
| SN5        | 62,22±18,36 <sup>a</sup>  | 7,78±13,47 <sup>b</sup>  |
| SN10       | 60,00±14,53 <sup>ab</sup> | 60,00±33,33 <sup>a</sup> |
| SN15       | 75,56±13,88 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| BX1        | 7,78±6,94 <sup>c</sup>    | 0,00±0,00 <sup>b</sup>   |
| BX5        | 30,00±17,32 <sup>bc</sup> | 23,33±16,67 <sup>b</sup> |
| BX10       | 62,22±19,53 <sup>ab</sup> | 92,22±13,47 <sup>a</sup> |
| BX15       | 76,67±9,98 <sup>a</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |

Các từ NS, XC, YB, SN, BX thể hiện cho thí nghiệm đối chứng và các thí nghiệm của 5 cao chiết họ Cúc được khảo sát ở nồng độ 1; 5; 10 và 15 mg/ml. Các số có chữ cái theo sau giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5% qua kiểm định Tukey.

thời có chứa hàm lượng phenolic và flavonoid đáng kể đã gây ảnh hưởng đến sự nảy mầm hạt. Trong nhiều nghiên cứu đã đề cập đến việc các allelochemical điển hình là các hợp chất phenolic như acid benzoic, *p*-coumarin, flavonoid hay alkaloid, terpenoid... ở nồng độ cao có thể ức chế sự hình thành acid nucleic, protein và làm giảm adenosine triphosphate dẫn đến giảm quá trình trao đổi chất của tế bào đồng thời có thể ảnh hưởng đến khả năng hấp thụ nước, khả năng giữ chất điện giải và tiêu thụ O<sub>2</sub>, làm xáo trộn các con đường chịu trách nhiệm tổng hợp các hormone thực vật cần thiết cho sự nảy mầm của hạt. Hơn nữa, các hợp chất này còn có thể làm thay đổi tính thấm của màng tế bào, ức chế các quá trình quang hợp và hô hấp của thực vật từ đó ức chế khả năng nảy mầm của chúng [1]. Ngoài ra, các nhóm hợp chất có độ phân cực thấp của hai phân đoạn đầu được phân lập từ chiết xuất ethyl acetate của lá ngũ sắc tại nồng độ 10% đã thể hiện khả năng ức chế lần lượt là 100 và 95% sự nảy mầm của cỏ dại đèn gai (*Amaranthus spinosus* L.) [21].

### 3.4. Khả năng ức chế chiều dài rễ, chiều dài thân, trọng lượng tươi và trọng lượng khô

Kết quả khảo sát sự ảnh hưởng của cao chiết các loài họ Cúc đến các chỉ tiêu tăng trưởng được trình bày ở các bảng 3 và 4. Tương tự kết quả tại bảng 2, cao chiết họ Cúc có phần trăm ức chế sự tăng trưởng của thực vật thử nghiệm tỷ

lệ thuận với nồng độ. Đối với xà lách, tại nồng độ 1 mg/ml, các cao chiết họ Cúc đã ức chế hơn 50% chỉ tiêu tăng trưởng chiều dài rễ. Các chỉ tiêu tăng trưởng khác của xà lách cho thấy ít bị ảnh hưởng tại nồng độ này. Tại nồng độ 5 mg/ml, cao chiết ngũ sắc có phần trăm ức chế đáng kể các chỉ tiêu chiều dài rễ - thân, trọng lượng tươi - khô lần lượt là 91,12; 81,61; 77,53 và 79,86% của cây con. Tại nồng độ 10 mg/ml, cao chiết ngũ sắc và xuyên chi thể hiện phần trăm ức chế các chỉ tiêu tăng trưởng của xà lách cao hơn so với các cao chiết còn lại. Tại nồng độ 15 mg/ml, tất cả các cao chiết đều thể hiện khả năng ức chế các chỉ tiêu về chiều dài và trọng lượng của xà lách là 100%, khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng. Đối với cải củ, tại nồng độ 1 mg/ml, cao chiết ngũ sắc thể hiện khả năng ức chế trên 50% ở tất cả các chỉ tiêu đánh giá. Tại các nồng độ sử dụng là 5 và 10 mg/ml, phần trăm ức chế chiều dài rễ - thân và trọng lượng tươi - khô của tất cả các cao chiết tăng dần. Tại nồng độ 15 mg/ml, cao chiết ngũ sắc có phần trăm ức chế sự tăng trưởng về chiều dài rễ - thân, trọng lượng tươi - khô của cải củ lần lượt là 88,51; 89,10; 92,32 và 95,74%.

**Bảng 3. Phần trăm ức chế chiều dài rễ - thân của cây con cải củ và xà lách.**

| Cao chiết | Phần trăm ức chế (%)     |                         |                          |                          |
|-----------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
|           | Cải củ                   |                         | Xà lách                  |                          |
|           | Chiều dài rễ             | Chiều dài thân          | Chiều dài rễ             | Chiều dài thân           |
| NS1       | 55,83±5,13 <sup>c</sup>  | 59,08±9,48 <sup>b</sup> | 75,96±5,46 <sup>c</sup>  | 57,74±18,74 <sup>b</sup> |
| NS5       | 72,11±5,01 <sup>b</sup>  | 57,63±4,36 <sup>b</sup> | 91,12±1,18 <sup>b</sup>  | 86,61±4,46 <sup>a</sup>  |
| NS10      | 83,51±2,59 <sup>a</sup>  | 69,98±2,73 <sup>b</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| NS15      | 88,51±4,82 <sup>a</sup>  | 89,10±3,64 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| XC1       | 48,92±7,92 <sup>c</sup>  | 46,02±2,95 <sup>c</sup> | 66,39±6,51 <sup>c</sup>  | 28,52±17,54 <sup>b</sup> |
| XC5       | 62,72±3,63 <sup>b</sup>  | 55,58±3,57 <sup>b</sup> | 87,43±3,10 <sup>b</sup>  | 85,71±4,72 <sup>a</sup>  |
| XC10      | 75,64±5,55 <sup>ab</sup> | 70,42±1,56 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| XC15      | 86,51±4,49 <sup>a</sup>  | 74,39±2,16 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| YB1       | 48,39±7,14 <sup>b</sup>  | 47,07±2,59 <sup>b</sup> | 55,19±9,43 <sup>b</sup>  | 18,25±4,63 <sup>c</sup>  |
| YB5       | 52,49±1,05 <sup>b</sup>  | 53,85±3,56 <sup>b</sup> | 88,52±4,99 <sup>a</sup>  | 73,51±6,70 <sup>b</sup>  |
| YB10      | 71,94±4,69 <sup>a</sup>  | 69,65±5,89 <sup>a</sup> | 91,80±0,00 <sup>a</sup>  | 91,07±0,00 <sup>a</sup>  |
| YB15      | 75,86±3,66 <sup>a</sup>  | 73,36±7,19 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| SN1       | 35,53±11,32 <sup>c</sup> | 42,59±3,94 <sup>b</sup> | 56,28±2,50 <sup>d</sup>  | 15,77±6,27 <sup>c</sup>  |
| SN5       | 47,83±6,79 <sup>bc</sup> | 51,21±5,89 <sup>b</sup> | 84,70±3,87 <sup>c</sup>  | 74,90±6,36 <sup>b</sup>  |
| SN10      | 60,02±5,68 <sup>ab</sup> | 67,43±4,26 <sup>a</sup> | 91,53±0,47 <sup>b</sup>  | 80,95±9,38 <sup>b</sup>  |
| SN15      | 72,71±4,53 <sup>a</sup>  | 69,27±5,31 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |
| BX1       | 32,98±15,98 <sup>c</sup> | 40,00±3,89 <sup>b</sup> | 55,90±10,25 <sup>c</sup> | 18,15±8,58 <sup>c</sup>  |
| BX5       | 44,69±4,69 <sup>bc</sup> | 47,27±4,87 <sup>b</sup> | 84,97±5,46 <sup>b</sup>  | 71,65±8,17 <sup>b</sup>  |
| BX10      | 58,81±7,61 <sup>ab</sup> | 63,00±6,33 <sup>a</sup> | 91,80±0,00 <sup>ab</sup> | 78,25±7,55 <sup>b</sup>  |
| BX15      | 69,19±2,78 <sup>a</sup>  | 66,86±3,75 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> | 100,00±0,00 <sup>a</sup> |

Giá trị thể hiện trung bình của 3 lần lặp lại. Các từ NS, XC, YB, SN và BX và chữ số 1, 5, 10 và 15 thể hiện các nghiệm thức của 5 cao chiết họ Cúc được khảo sát ở nồng độ 1, 5, 10 và 15 mg/ml. Các số có chữ cái theo sau giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5% qua kiểm định Tukey.

**Bảng 4. Phần trăm ức chế trọng lượng tươi - khô của cây con cải củ và xà lách.**

| Cao chiết | Phần trăm ức chế (%)      |                           |                           |                           |
|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|           | Cải củ                    |                           | Xà lách                   |                           |
|           | Trọng lượng tươi          | Trọng lượng khô           | Trọng lượng tươi          | Trọng lượng khô           |
| NS1       | 59,06±15,06 <sup>b</sup>  | 56,01±5,42 <sup>c</sup>   | 33,79±10,85 <sup>c</sup>  | 57,03±7,95 <sup>c</sup>   |
| NS5       | 77,80±13,36 <sup>ab</sup> | 63,51±10,51 <sup>bc</sup> | 75,53±16,59 <sup>b</sup>  | 79,86±7,47 <sup>b</sup>   |
| NS10      | 83,72±12,16 <sup>ab</sup> | 73,43±1,74 <sup>b</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |
| NS15      | 92,32±1,22 <sup>a</sup>   | 95,74±3,78 <sup>a</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |
| XC1       | 58,12±5,64 <sup>b</sup>   | 29,19±2,66 <sup>d</sup>   | 21,24±6,86 <sup>c</sup>   | 57,42±11,44 <sup>b</sup>  |
| XC5       | 62,56±12,68 <sup>b</sup>  | 57,41±1,13 <sup>c</sup>   | 54,32±14,56 <sup>b</sup>  | 79,62±25,49 <sup>ab</sup> |
| XC10      | 78,15±13,82 <sup>ab</sup> | 77,29±6,47 <sup>b</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |
| XC15      | 90,67±2,63 <sup>a</sup>   | 90,85±1,58 <sup>a</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |
| YB1       | 58,67±1,10 <sup>c</sup>   | 27,64±0,49 <sup>c</sup>   | 30,62±26,14 <sup>c</sup>  | 50,16±0,60 <sup>c</sup>   |
| YB5       | 76,12±4,92 <sup>b</sup>   | 62,05±5,92 <sup>b</sup>   | 64,95±6,00 <sup>b</sup>   | 66,27±16,17 <sup>bc</sup> |
| YB10      | 82,79±3,69 <sup>ab</sup>  | 76,86±4,97 <sup>a</sup>   | 93,25±1,97 <sup>ab</sup>  | 81,87±7,10 <sup>ab</sup>  |
| YB15      | 91,54±4,21 <sup>a</sup>   | 85,26±6,29 <sup>a</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |
| SN1       | 52,96±5,76 <sup>b</sup>   | 26,28±7,21 <sup>c</sup>   | 25,66±12,89 <sup>d</sup>  | 38,86±6,77 <sup>b</sup>   |
| SN5       | 61,88±19,47 <sup>b</sup>  | 49,52±15,01 <sup>b</sup>  | 45,79±2,38 <sup>c</sup>   | 47,31±4,84 <sup>b</sup>   |
| SN10      | 73,60±13,24 <sup>ab</sup> | 72,34±7,33 <sup>a</sup>   | 72,60±3,80 <sup>b</sup>   | 75,00±21,39 <sup>a</sup>  |
| SN15      | 91,53±4,21 <sup>a</sup>   | 85,32±0,62 <sup>a</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |
| BX1       | 52,82±18,57 <sup>c</sup>  | 22,85±6,39 <sup>c</sup>   | 44,28±4,75 <sup>c</sup>   | 39,73±1,99 <sup>d</sup>   |
| BX5       | 61,92±6,22 <sup>b</sup>   | 51,72±13,92 <sup>b</sup>  | 49,75±25,08 <sup>bc</sup> | 46,84±4,17 <sup>c</sup>   |
| BX10      | 66,56±5,31 <sup>ab</sup>  | 67,24±5,49 <sup>ab</sup>  | 80,78±5,78 <sup>ab</sup>  | 69,43±2,46 <sup>b</sup>   |
| BX15      | 80,46±7,88 <sup>a</sup>   | 81,65±7,43 <sup>a</sup>   | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  | 100,00±0,00 <sup>a</sup>  |

Giá trị thể hiện trung bình của 3 lần lặp lại. Các từ NS, XC, YB, SN và BX và chữ số 1, 5, 10 và 15 thể hiện các nghiệm thức của 5 cao chiết họ Cúc được khảo sát ở nồng độ 1, 5, 10 và 15 mg/ml. Các số có chữ cái theo sau giống nhau trong cùng một cột thì khác biệt không ý nghĩa ở mức 5% qua kiểm định Tukey.

Có thể nhận định rằng, các chỉ số về tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ, chiều dài thân, trọng lượng tươi, trọng lượng khô là những thành phần năng suất của cây trồng trong quá trình nghiên cứu phân tích sự tăng trưởng của thực vật. Hiện tượng đối kháng tác động và làm giảm chỉ tiêu về năng suất của cây trồng là do vai trò của các hợp chất đối kháng có trong chiết xuất thực vật có thể ảnh hưởng đến sự phân chia, kéo dài tế bào ở vùng rễ và chồi. Hơn nữa, các chất allelochemical gây ra những ảnh hưởng tiêu cực đến hiệu suất lượng tử của hệ thống quang II, làm giảm hiệu suất của quá trình quang hợp, ảnh hưởng đến sự tích lũy chất hữu cơ làm giảm chiều cao và trọng lượng của cây chỉ thị. Các hợp chất đối kháng này còn gây ra những căng thẳng (stress) tại vùng rễ làm giảm khả năng hấp thụ nước và chất dinh dưỡng của thực vật do đó ảnh hưởng đến sự phát triển của chiều dài thân. Bên cạnh đó, chiều dài rễ và chiều dài thân giảm có thể góp phần làm giảm trọng lượng tươi và trọng lượng khô của thực vật. Ngoài ra, cao chiết ngũ sắc đã được chứng minh có thể ức chế các chỉ tiêu tăng trưởng trên một số thực vật như vùng, các loài cỏ dại thuộc họ dền, cỏ chi leo... [21, 22]. Nhìn chung, cao chiết của 5 loài họ Cúc đặc biệt là ngũ sắc có khả năng ức chế các chỉ tiêu tăng



trưởng và nảy mầm của cải củ và xà lách, chứng minh đây là những loài có khả năng đối kháng thực vật đầy tiềm năng. Từ những kết quả trên, có thể triển khai các nghiên cứu tiếp theo để khảo sát hoạt tính đối kháng của các cao chiết này trên một số loài cỏ dại hướng đến việc tìm ra các chiết xuất hoặc các hợp chất diệt cỏ có nguồn gốc từ tự nhiên an toàn, thân thiện với môi trường.

#### 4. Kết luận

Cao chiết từ các loài thực vật họ Cúc có sự hiện diện của các hợp chất đối kháng thực vật và có chứa hàm lượng 2 hợp chất thứ cấp là phenolic, flavonoid cao. Hiệu quả ức chế các chỉ tiêu nảy mầm và tăng trưởng phụ thuộc vào nồng độ khảo sát. Tại nồng độ 15 mg/ml, cao chiết ngũ sắc thể hiện hoạt tính đối kháng thực vật trên cải củ và xà lách hiệu quả hơn so với các cao chiết còn lại. Do đó, cần có những nghiên cứu tiếp theo để hướng đến khai thác tiềm năng diệt cỏ từ các chiết xuất của ngũ sắc, tách chiết các phân đoạn để tìm ra hoạt chất đối kháng để góp phần vào nghiên cứu và sản xuất thuốc diệt cỏ sinh học an toàn và hiệu quả có nguồn gốc từ thực vật.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V.E. Perotti, A.S. Larran, V.E. Palmieri, et al. (2020), "Herbicide resistant weeds: A call to integrate conventional agricultural practices, molecular biology knowledge and new technologies", *Plant Science*, **290**, pp.1-15, DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.11025.
- [2] Y. Khamare, J. Chen, S.C. Marble (2022), "Allelopathy and its application as a weed management tool: A review", *Frontiers in Plant Science*, **13**, pp.1-17, DOI: 10.3389/fpls.2022.1034649.
- [3] S. Anwar, S. Naseem, S. Karimi, et al. (2021), "Bioherbicidal activity and metabolic profiling of potent allelopathic plant fractions against major weeds of wheat-way forward to lower the risk of synthetic herbicides", *Frontiers in Plant Science*, **12**, pp.1-19, DOI: 10.3389/fpls.2021.632390.
- [4] H.K. Noguchi (2021), "Allelopathy of knotweeds as invasive plants", *Plants*, **11**(1), pp.1-13, DOI: 10.3390/plants11010003.
- [5] M.S.S. Carvalho, L.F.A. Vieira, F.E.D. Santos, et al. (2019), "Allelopathic potential and phytochemical screening of ethanolic extracts from five species of *Amaranthus* spp. in the plant model *Lactuca sativa*", *Scientia Horticulturae*, **245**, pp.90-98, DOI: 10.1016/j.scienta.2018.10.001.
- [6] N.V. Hoang S. Park, C. Park, et al. (2022), "Oxidative stress response and programmed cell death guided by NAC013 modulate pithiness in radish taproots", *The Plant Journal*, **109**(1), pp.144-163, DOI: 10.1111/tj.15561.
- [7] S.K. Panda, W. Luyten (2018), "Antiparasitic activity in asteraceae with special attention to ethnobotanical use by the tribes of Odisha, India", *Parasite*, **25**, pp.1-25, DOI: 10.1051/parasite/2018008.
- [8] N.C. Nam, P.K. Linh, H.L. Thi (2021), "A study on the allelopathic activity and quantitative determination of total phenolic and flavonoid of six plants in the Asteraceae family", *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **63**(5), pp.35-40, DOI: 10.31276/VJST.63(5).35-40 (in Vietnamese).
- [9] Z. Yuan X. Zheng, Y. Zhao, et al. (2018), "Phytotoxic compounds isolated from leaves of the invasive weed *Xanthium spinosum*", *Molecules*, **23**(11), pp.1-12, DOI: 10.3390/molecules23112840.
- [10] M. Odey, I.A. Iwara, U.U. Udiba, et al. (2012), "Preparation of plant extracts from indigenous medicinal plants", *International Journal of Science Technology*, **1**(12), pp.688-692.
- [11] P. Tiwari, B. Kumar, M. Kaur, et al. (2011), "Phytochemical screening and extraction: A review", *Internationale Pharmaceutica Scientia*, **1**(1), pp.98-106.
- [12] H. Farhan, H. Rammal, A. Hijazi, et al. (2012), "Preliminary phytochemical screening and extraction of polyphenol from stems and leaves of a Lebanese plant *Malva parviflora* L.", *Int. J. Curr. Pharm Res.*, **4**(1), pp.55-59.
- [13] R. Yadav, M. Agarwala (2011), "Phytochemical analysis of some medicinal plants", *Journal of Phytotherapy*, **3**(12), pp.10-14.
- [14] T. Bhaigayabati, P.G. Devi, G. Bag (2014), "Total flavonoid content and antioxidant activity of aqueous rhizome extract of three *Hedydium* species of Manipur valley", *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, **5**(5), pp.970-976.
- [15] T.T. Men, P.L.T. Quyen, P.C. Phuong, et al. (2019), "Allelopathic effects of extracts from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc on seed germination", *CTU Journal of Science*, **55**, (Special issue on Biotechnology), pp.85-90, DOI: 10.22144/ctu.jsi.2019.011 (in Vietnamese).
- [16] H.K. Noguchi (2020), "Involvement of allelopathy in the invasive potential of *Tithonia diversifolia*", *Plants*, **9**(6), pp.1-9, DOI: 10.3390/plants9060766.
- [17] C.H. Kong, T.D. Xuan, T.D. Khanh, et al. (2019), "Allelochemicals and signaling chemicals in plants", *Molecules*, **24**(15), pp.1-19, DOI: 10.3390/molecules24152737.
- [18] N. Eruygur, U. Koçyiğit, P. Taslimi, et al. (2019), "Screening the *in vitro* antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (Asteraceae) ethanol extract", *South African Journal of Botany*, **120**, pp.141-145, DOI: 10.1016/j.sajb.2018.04.001.
- [19] W. Grati, S. Samet, B. Bouzayani, et al. (2022), "HESI-MS/MS analysis of phenolic compounds from *Calendula aegyptiaca* fruits extracts and evaluation of their antioxidant activities", *Molecules*, **27**(7), pp.1-13, DOI: 10.3390/molecules27072314.
- [20] H.K. Noguchi, M. Kato (2023), "Evolution of the secondary metabolites in invasive plant species *Chromolaena odorata* for the defense and allelopathic functions", *Plants*, **12**(3), pp.1-20, DOI: 10.3390/plants12030521.
- [21] G. Erida, N. Saidi, H. Hasanuddin, et al. (2021), "Herbicidal effects of ethyl acetate extracts of billygoat weed (*Ageratum conyzoides* L.) on spiny amaranth (*Amaranthus spinosus* L.) growth", *Agronomy*, **11**(10), pp.1-10, DOI: 10.3390/agronomy11101991.
- [22] B.K. Ghimire, M.H. Hwang, E.J. Sacks, et al. (2020), "Screening of allelochemicals in *Miscanthus sacchariflorus* extracts and assessment of their effects on germination and seedling growth of common weeds", *Plants*, **9**(10), pp.1-23, DOI: 10.3390/plants9101313.

# 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](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](mailto: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 <sup>(1,2,...)</sup> 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 <sup>(1,2,3,...)</sup> 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](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 6 - June 2025

**Nghiên cứu sàng lọc ảo các hợp chất dị vòng thiazole hướng ức chế enzyme 3CLpro của virus Corona nhằm phát triển các thuốc điều trị COVID-19.**

Lương Thị Thanh Huyền, Nguyễn Thị Hồng Đức, Nguyễn Huy Hoàng, Nguyễn Văn Hà

**Nghiên cứu lý thuyết sự hấp phụ các phân tử hữu cơ dễ bay hơi trên bề mặt  $\text{MoSe}_2$ .**

Nguyễn Ngọc Trí, Cao Thị Hương

**Nghiên cứu các đặc trưng của cảm biến khí  $\text{NH}_3$  dựa trên các màng nhạy polypyrrole pha tạp  $\text{FeCl}_3$  ở nhiệt độ phòng.**

Hoàng Thị Hiền, Chu Văn Tuấn, Trần Thanh Bình, Đỗ Huy Hoàng, Hồ Trường Giang

**Nano bạc nâng cao hiệu quả tái sinh chồi từ mẫu cấy cánh hoa Thu hải đường (*Begonia × tuberhybrida* Voss) thông qua con đường tổng hợp carbohydrate.**

Hoàng Đức Khải, Nguyễn Viết Hưng, Hoàng Thanh Tùng, Vũ Quốc Luận, Đỗ Mạnh Cường, Nguyễn Thị Như Mai, Hoàng Thị Như Phương, Đoàn Văn Thu, Đỗ Thanh Tuấn, Dương Tấn Nhựt

**Xạ khuẩn có khả năng nuôi cấy trong đất ô nhiễm dioxin, khả năng sinh laccase và tiềm năng ứng dụng trong xử lý sinh học.**

Đào Thị Ngọc Ánh, Bùi Thị Khánh Ly, Trần Hương Quỳnh, Nguyễn Thị Nguyệt, Hồ Ngọc Anh, Vi Thị Kim Chi, Phạm Ngọc Long, Cung Thị Ngọc Mai, Nguyễn Phương Minh, Lê Thị Nhi Công

**Đánh giá khả năng kháng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin của pinostrobin từ cao chiết Trâm tròn (*Syzygium glomeratum*).**

Mai Thị Ngọc Lan Thanh, Hoàng Anh Hoàng

**Cập nhật danh lục họ Ráy ở Việt Nam.**

Trần Văn Tiến, Nguyễn Văn Dư, Trịnh Xuân Thành

**Cường độ và độ bền của vữa sử dụng bã cà phê thay thế một phần cốt liệu nhỏ.**

Nguyễn Đăng Nguyên, Mai Thị Hồng, Nguyễn Văn Dũng

**Nghiên cứu chế tạo vật liệu hấp phụ dầu từ rơm biến tính bằng copolymer glycidyl methacrylate và lauryl methacrylate.**

Lê Đức Mạnh, Vũ Thị Ngọc Ánh, Phạm Hoàng Nhật Huy, Đinh Thị Vân, Mai Quang Tuyến

**Tối ưu quy trình Tetra-primer ARMS PCR xác định đa hình đơn nucleotide rs1799929 của gen *NAT2* ở người tại một số tỉnh, thành phố của Việt Nam.**

Triệu Tiến Sang, Trần Văn Khoa, Nguyễn Văn Phong, Tạ Thị Bình, Phạm Xuân Thế Anh

**Đánh giá mô hình hỗn hợp vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà vô bào (DTaP) tại Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế.**

Nguyễn Thị Thu Hoa, Nguyễn Xuân Khánh Hà, Dương Khánh Minh, Nguyễn Thị Lan Phương, Dương Hữu Thái

**Thực trạng kiểm định định kỳ thiết bị y tế trong quá trình sử dụng tại các cơ sở y tế ở một số địa phương.**

Mai Xuân Thu, Nguyễn Thị Minh Hiếu, Trịnh Ngọc Thành, Nguyễn Minh Anh, Trần Ngọc Ánh, Phạm Thị Huệ, Đặng Quốc Nghĩa, Khương Anh Tuấn

**Khảo sát ảnh hưởng của cao chiết các loài thực vật thuộc họ Cúc lên sự nảy mầm và tăng trưởng hạt.**

Võ Ngọc Nguyên, Trần Thanh Mến, Trần Ngọc Quý

**1 Virtual screening of thiazole-based heterocyclic derivatives as inhibitors of Coronavirus 3CLpro enzymes for the development of COVID-19 therapeutics.**

Thi Thanh Huyen Luong, Thi Hong Duc Nguyen, Huy Hoang Nguyen, Van Ha Nguyen

**9 Theoretical study on the adsorption of volatile organic compounds on  $\text{MoSe}_2$  surface.**

Ngoc Tri Nguyen, Thi Huong Cao

**16 Room-temperature fabrication and characterisation of ammonia gas sensors based on  $\text{FeCl}_3$ -doped polypyrrole thin films.**

Thi Hien Hoang, Van Tuan Chu, Thanh Binh Tran, Huy Hoang Do, Truong Giang Ho

**21 Silver nanoparticles enhanced shoot regeneration from *Begonia × tuberhybrida* Voss petal explants via carbohydrate synthesis pathway.**

Dac Khai Hoang, Viet Hung Nguyen, Thanh Tung Hoang, Quoc Luan Vu, Manh Cuong Do, Thi Nhu Mai Nguyen, Thi Nhu Phuong Hoang, Van Thu Doan, Thanh Tuan Do, Tan Nhut Duong

**27 Culturable actinomycetes in dioxin-contaminated soil, laccase-producing ability and potential for application in bioremediation.**

Thi Ngoc Anh Dao, Thi Khanh Ly Bui, Huong Quỳnh Tran, Thi Nguyet Nguyen, Ngoc Anh Ho, Thi Kim Chi Vi, Ngoc Long Pham, Thi Ngoc Mai Cung, Phuong Minh Nguyen, Thi Nhi Cong Le

**34 Evaluation of the ability of pinostrobin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from *Syzygium glomeratum* extract.**

Thi Ngoc Lan Thanh Mai, Hoang Anh Hoang

**40 Updated checklist of Araceae in Vietnam.**

Van Tien Tran, Van Du Nguyen, Xuan Thanh Trinh

**45 Strength and durability of mortar containing spent coffee grounds as a part of fine aggregate.**

Dang-Nguyen Nguyen, Thi-Hong Mai, Van-Dung Nguyen

**52 Study on the synthesis of oil adsorbent materials from straw and glycidyl methacrylate-lauryl methacrylate copolymer.**

Duc Manh Le, Thi Ngoc Anh Vu, Hoang Nhat Huy Pham, Thi Van Dinh, Quang Tuyen Mai

**59 Optimisation of the Tetra-primer ARMS PCR protocol for detecting the single-nucleotide polymorphism rs1799929 of the *NAT2* gene in humans from some provinces, cities in Vietnam.**

Tien Sang Trieu, Van Khoa Tran, Van Phong Nguyen, Thi Binh Ta, Xuan The Anh Pham

**64 Evaluation of Diphtheria-Tetanus-Acellular pertussis (DTaP) vaccine combination model at Institute of Vaccines and Medical Biologicals.**

Thi Thu Hoa Nguyen, Xuan Khanh Ha Nguyen, Khanh Minh Duong, Thi Lan Phuong Nguyen, Huu Thai Duong

**70 Current status of periodic accreditation of medical devices during use at medical facilities in some provinces.**

Xuan Thu Mai, Thi Minh Hieu Nguyen, Ngoc Thanh Trinh, Minh Anh Nguyen, Ngoc Anh Tran, Thi Hue Pham, Quoc Nghia Dang, Anh Tuan Khuong

**75 The effects of the Asteraceae family's extracts on seed germination and growth.**

Ngoc Nguyen Vo, Thanh Men Tran, Ngoc Quy Tran