

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

TẬP 68, SỐ 7, THÁNG 7 NĂM 2026
VOLUME 68, NUMBER 7, JULY 2026

TẠP CHÍ & KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST VIỆT NAM



HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Chủ tịch

Châu Văn Minh - Liên hiệp các hội Khoa học và Kỹ thuật 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 - 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 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 - 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

- Trần Anh Tú - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
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
Nguyễn Lan Phương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
Lê Thị Bắc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
Lê Thu Hiền - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
Hà Thị Minh Lộc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
Phùng Thị Tuyết Mai - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
Tăng Xuân Bình - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam
Trương Thị Thảo Dương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

TÒA SOẠN

115 Trần Duy Hưng, Phường Yên Hòa, Hà Nội, Việt Nam
Tel: (84.24) 39436793
Email: khcnvn@mst.gov.vn
Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021
Số 50/GP-BTTTT ngày 01/02/2023

Giá: 200.000^d

EDITORIAL BOARD

Chairman

Chau Van Minh - Vietnam Union of Science and Technology Associations

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 Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam
Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam
Pham Huy Khang - University of Transport and Communications, Vietnam
Pham Gia Khanh - Vietnam Society of Organ Transplantation, Vietnam
Ho Dac Loc - HUTECH University
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 Nghan - 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 Editors-in-Chief

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

Managing Editors

- Phi Cong Thuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Nguyen Lan Phuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Le Thi Bac - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Le Thu Hien - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Ha Thi Minh Loc - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Phung Thi Tuyet Mai - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Tang Xuan Binh - Ministry of Science and Technology, Vietnam
Truong Thi Thao Duong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

EDITORIAL OFFICE

115 Tran Duy Hung Street, Yen Hoa Ward, Hanoi, Vietnam
Tel: (84.24) 39436793
Email: khcnvn@mst.gov.vn
E-journal: b.vjst.vn

PUBLICATION LICENCE

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

Phát triển ứng dụng web phân tích sai khác trình tự gen B646L của virus dịch tả lợn châu Phi bằng vibe coding trên nền tảng Websim

Souriya Viliddeth¹, Đặng Hữu Anh^{1*}, Mai Thị Ngân¹, Nguyễn Hữu Hân²

¹Học viện Nông nghiệp Việt Nam, 236 Ngõ Xuân Quảng, xã Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Xây dựng Hà Nội, 55 Giải Phóng, phường Bạch Mai, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 8/7/2025; ngày chuyển phản biện 10/7/2025; ngày nhận phản biện 31/7/2025; ngày chấp nhận đăng 5/8/2025

Tóm tắt:

Bệnh dịch tả lợn châu Phi (DTLCP) đã xuất hiện tại Việt Nam và Lào từ năm 2019. Theo thời gian, virus gây bệnh có những biến đổi về kiểu gen và kiểu hình gây khó khăn cho việc phòng, chống bệnh. Để phát hiện sự thay đổi về kiểu gen của virus, các phần mềm tin sinh học được sử dụng phân tích sự sai khác trình tự gen. Tuy nhiên, việc sử dụng phần mềm tin sinh học mất khá nhiều thao tác và yêu cầu người dùng phải có kiến thức về gen để hiểu những sự sai khác đó. Nghiên cứu này nhằm thiết kế ứng dụng phân tích sai khác trình tự nucleotide với ví dụ là các trình tự gen mã hóa protein p72 của virus DTLCP ở Lào. Kết quả phân tích gen của ứng dụng được thể hiện bằng văn bản và file Excel bằng tiếng Việt để người dùng dễ hiểu, phục vụ mục đích phân tích sự khác biệt giữa các gen ở dữ liệu đầu vào ứng dụng.

Từ khóa: dịch tả lợn châu Phi, gen B646L, phân tích trình tự, tin sinh học, vibe coding, Websim.

Chỉ số phân loại: 1.2, 1.6, 4.3

Development of a web application for analysing nucleotide sequence differences in the ASFV B646L gene using vibe coding on the Websim platform

Souriya Viliddeth¹, Huu Anh Dang^{1*}, Thi Ngan Mai¹, Huu Han Nguyen²

¹Vietnam National University of Agriculture, 236 Ngo Xuan Quang Street, Gia Lam Commune, Hanoi, Vietnam

²Hanoi University of Civil Engineering, 55 Giai Phong Street, Bach Mai Ward, Hanoi, Vietnam

Received 8 July 2025; revised 31 July 2025; accepted 5 August 2025

Abstract:

African swine fever (ASF) was first reported in Vietnam and Laos in 2019. Over time, the virus causing the disease has changed in genotype and phenotype, making it difficult to prevent the disease. To detect changes in the genotype of the virus, bioinformatics software tools are utilised to analyse gene sequence differences. However, using bioinformatics software requires numerous operations, and the results require users to have a basic understanding of genes to comprehend those differences. The purpose of this study is to design an application to analyse nucleotide sequence differences with the example of the gene sequences encoding the p72 protein of the ASF virus in Laos. The application's gene analysis results are presented in both text and Excel files in Vietnamese, enabling users to easily understand them and analyse gene differences in the application's input data.

Keywords: African swine fever, B646L gene, bioinformatics, sequence analysis, vibe coding, Websim.

Classification numbers: 1.2, 1.6, 4.3

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

1. Đặt vấn đề

Bệnh DTLCP là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, có khả năng gây tử vong cao (lên đến 100%) cho lợn ở mọi lứa tuổi. Bệnh này đã xuất hiện ở Việt Nam và Lào từ năm 2019, gây thiệt hại nặng nề cho ngành chăn nuôi lợn của hai nước [1]. Năm 2024, virus gây bệnh DTLCP có sự biến đổi lớn khi kết hợp giữa genotype 1 và genotype 2, khiến cho các vắc xin được phát triển chống lại bệnh không có hiệu quả [2]. Việc phân tích nhanh sự biến đổi gen của virus DTLCP là cần thiết để cập nhật thông tin virus gây bệnh và cảnh báo nhằm xây dựng các biện pháp ứng phó phù hợp. Để phân tích sự sai khác các nucleotide trong gen của virus DTLCP đã có nhiều phần mềm và ứng dụng tin sinh học trực tuyến hỗ trợ nhà khoa học. Tuy nhiên, các ứng dụng này mất khá nhiều thời gian để thao tác, giao diện bằng tiếng Anh và việc sử dụng các ứng dụng đòi hỏi thời gian làm quen đối với các nhà khoa học không có chuyên môn sâu về tin sinh học. Công nghệ trí tuệ nhân tạo (AI) đang được ứng dụng rộng rãi và có thể giải quyết nhu cầu phân tích sai khác trình tự gen phục vụ nghiên cứu.

Vibe-coding là một phương pháp phát triển phần mềm dựa nhiều vào AI để tạo, tinh chỉnh và gỡ lỗi mã dựa trên lời nhắc ngôn ngữ tự nhiên. Theo đó, các nhà phát triển có thể tập trung vào “Vibe” (chức năng mong muốn của phần mềm), trong khi AI xử lý việc triển khai mã phức tạp. Phương pháp này nhằm mục đích giúp việc tạo phần mềm dễ tiếp cận hơn và nhanh hơn, đặc biệt là đối với các dự án đơn giản. Nghiên cứu này nhằm thiết kế một ứng dụng phân tích sai khác trình tự nucleotide và đưa ra kết quả là văn bản tiếng Việt trình bày sự sai khác sau khi phân tích.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Trình tự gen sử dụng để phân tích sai khác là trình tự gen p72 của virus gây bệnh DTLCP ở Lào năm 2019 và 2024. File dữ liệu được đăng tải và có thể lấy tại địa chỉ Google Drive [3].

Các phần mềm, công cụ tin học và các chương trình máy tính, website sử dụng cho trích xuất dữ liệu nucleotide và phân tích sai khác gen như công cụ Clustalw, ứng dụng Sequence Identity and Similarity (SIAS) và ứng dụng online <https://trinhtugen.netlify.app/> [4-6].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân tích sai khác trình tự nucleotide sử dụng các ứng dụng tin sinh học khác nhau

Để phân tích sai khác trình tự nucleotide giữa gen p72 của các chủng virus DTLCP ở Lào, nhiều chương trình online đã được kết hợp, chi tiết các bước thực hiện như sau.

* Bước 1: Lưu trữ trình tự nucleotide.

Gen mã hóa protein p72 của DTLCP ở Lào (gồm 7 gen, có 12 variants được thu thập ở hai năm 2019 và 2024) được lưu trữ trình tự nucleotide dưới dạng file Fasta, có thể đọc được dưới dạng text bằng NotePad. File dữ liệu được đăng tải và có thể lấy tại địa chỉ Google Drive [3].

* Bước 2: Tạo các Alignment.

Sử dụng công cụ phân tích các Alignment bằng Clustalw tại website <https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw> với lựa chọn Slow/Accurate và các tính năng mặc định của ứng dụng [4]. Chọn nút “Choose File” để upload file chứa trình tự gen dạng Fasta lên công cụ. Tiếp, chọn nút “Execute Multiple Alignment” để trích xuất file chứa các Alignment (hình 1). Ở trang kết quả sau khi trích xuất, lựa chọn liên kết “clustalw.aln” để tạo file định dạng đuôi “.aln” và sau đó lựa chọn lần 2 vào liên kết “clustalw.aln” sau khi kết quả đã xuất hiện để tải động tải file Alignment dạng “.aln” về máy tính.

Hình 1. Các chức năng Alignment của đa trình tự bằng Clustalw.

* Bước 3: Phân tích sai khác trình tự nucleotide.

Sử dụng ứng dụng SIAS tại website <http://imed.med.ucm.es/Tools/sias.html> [5]. Tại thẻ “Choose File”, lựa chọn file “Clustalw.aln” đã tải về ở bước trên và lựa chọn “Submit” (hình 2). Sau khi chờ một thời gian, kết quả sẽ trả lại một bảng dữ liệu so sánh sự sai khác theo cặp giữa các gen mã hóa protein p72 của DTLCP.

Hình 2. Phân tích sai khác trình tự nucleotide bằng SIAS.

2.2.2. Phát triển ứng dụng trên nền tảng Websim

* Lệnh trong Websim: Tạo Tab “So sánh các trình tự trong file Fasta”, có chức năng cho phép người dùng upload file.fasta (File.fasta là một định dạng văn bản được sử dụng để biểu diễn trình tự nucleotide hoặc axit amin, thường được sử dụng trong lĩnh vực sinh học phân tử và tin sinh học. Mỗi trình tự bắt đầu bằng một dòng mô tả duy nhất (bắt đầu bằng ký tự “>”), theo sau là các dòng chứa dữ liệu trình tự). Sau khi người dùng upload file.fasta, ứng dụng trích xuất tất cả các trình tự nucleotide trong file.fasta vào nhiều textarea khác nhau. Mỗi trình tự nucleotide có 1 textbox chứa thông tin mô tả của nucleotide (bắt đầu bằng ký tự “>”) và 1 textarea chứa trình tự nucleotide tương ứng. Tạo bảng so sánh trình tự nucleotide giữa các chủng trong file.fasta, bảng này có thể xuất sang file Excel”.

Trong môi trường một ứng dụng Vibe-coding như Websim, lệnh bằng ngôn ngữ tự nhiên được chuyển đổi thành các thành phần phần mềm và logic hoạt động tương ứng. Dưới đây là cách hệ thống sẽ diễn giải và xây dựng chức năng này:

* Bước 1: Khởi tạo cấu trúc giao diện (Tab).

Diễn giải lệnh: Tạo Tab “So sánh các trình tự trong file Fasta”.

Hành động của Websim: Hệ thống Vibe-coding sẽ nhận diện “Tạo Tab” là một chỉ thị để thêm một thành phần giao diện dạng Tab vào ứng dụng. Hệ thống sẽ đặt tên hiển thị cho Tab là “So sánh các trình tự trong file Fasta” và tạo ra một vùng làm việc riêng biệt cho Tab này. Về mặt kỹ thuật, hệ thống có thể tạo ra một phần tử HTML (ví dụ: <div>) được quản lý như một Tab trong một bộ quản lý Tab (Tab panel).

* Bước 2: Triển khai chức năng tải lên File.

Diễn giải lệnh: “...có chức năng cho phép người dùng upload file.fasta...”.

Hành động của Websim:

Thành phần Input: Hệ thống sẽ tự động thêm một thành phần nhập liệu file (ví dụ: <input type=“file”>) vào vùng Tab mới tạo.

Validation (Kiểm tra định dạng): Hệ thống cấu hình thuộc tính accept=“.fasta” (hoặc logic kiểm tra mở rộng hơn nếu được cấu hình mặc định) cho thành phần input này để chỉ chấp nhận các file có đuôi .fasta.

Sự kiện (Event Listener): Một sự kiện “on change” (khi file được chọn) hoặc “on submit” (khi nút tải lên được nhấn) sẽ được gắn vào thành phần input này, kích hoạt bước xử lý tiếp theo.

* Bước 3: Xử lý và hiển thị dữ liệu Fasta.

Diễn giải lệnh: “Sau khi người dùng upload file Fasta, ứng dụng trích xuất tất cả các trình tự nucleotide trong file.fasta vào nhiều textarea khác nhau. Mỗi trình tự nucleotide có 1 textbox chứa thông tin mô tả của nucleotide (bắt đầu bằng ký tự “>”) và 1 textarea chứa trình tự nucleotide tương ứng”.

Hành động của Websim: Đây là phần phức tạp nhất, đòi hỏi logic xử lý dữ liệu:

(1) Đọc file: Khi file.fasta được tải lên, hệ thống sẽ đọc toàn bộ nội dung file dưới dạng văn bản.

(2) Phân tích cú pháp Fasta (Fasta Parsing Logic): Hệ thống duyệt qua từng dòng của file; hệ thống sử dụng một cơ chế nhận dạng mẫu (Pattern recognition) hoặc trạng thái (State machine) để phân biệt giữa dòng mô tả (bắt đầu bằng “>”) và các dòng trình tự.

Khi gặp >: Dòng này được lưu trữ là tiêu đề (mô tả) của một trình tự mới.

Khi không gặp >: Dòng này được coi là một phần của trình tự hiện tại và sẽ được nối vào trình tự đang được xây dựng.

Quy trình này lặp lại cho đến hết file, thu thập tất cả các cặp (mô tả, trình tự).

(3) Tạo giao diện động (Dynamic UI Generation).

Đối với mỗi cặp (mô tả, trình tự) đã được phân tích, hệ thống sẽ tự động tạo ra một cặp phần tử giao diện mới:

Một `<input type="text">` hoặc `<textarea>` nhỏ hơn (để đóng vai trò là textbox) và điền nội dung mô tả vào đó.

Một `<textarea>` lớn hơn và điền toàn bộ trình tự nucleotide tương ứng vào đó.

Các cặp phần tử này sẽ được sắp xếp một cách có hệ thống trên giao diện tab, có thể là theo chiều dọc hoặc trong một lưới, đảm bảo mỗi trình tự được hiển thị rõ ràng.

(4) Cập nhật trạng thái: Sau khi xử lý và hiển thị, ứng dụng có thể cập nhật trạng thái (ví dụ: "Tìm thấy X trình tự", như trong ví dụ đã cung cấp).

* Bước 4: Triển khai chức năng so sánh trình tự và hiển thị bảng.

Diễn giải lệnh: "tạo bảng so sánh trình tự nucleotide giữa các chủng trong file fasta".

Hành động của Websim: Đây là một bước phức tạp, đòi hỏi xử lý dữ liệu và thuật toán:

(1) Thu thập dữ liệu nguồn: Hệ thống sẽ sử dụng tất cả các trình tự nucleotide đã được trích xuất và lưu trữ ở Bước 3. Giả sử N là tổng số trình tự được tìm thấy.

(2) Lựa chọn và thực thi thuật toán so sánh trình tự: Với lệnh "so sánh các trình tự", Websim sẽ tự động kích hoạt một thuật toán so sánh trình tự cơ bản và phổ biến trong tin sinh học.

(3) So sánh theo cặp (Pairwise Comparison): Tính toán độ tương đồng (ví dụ: percentage identity) giữa mỗi cặp trình tự.

- Đối với các trình tự có độ dài bằng nhau: Có thể sử dụng khoảng cách Hamming (Hamming distance) hoặc tỷ lệ phần trăm không trùng khớp (percentage mismatch).

- Đối với các trình tự có độ dài khác nhau hoặc cần phát hiện các đoạn tương đồng cục bộ/toàn cục: Websim

có thể sử dụng các thuật toán căn chỉnh trình tự đơn giản hóa như thuật toán Needleman-Wunsch (căn chỉnh toàn cục) hoặc Smith-Waterman (căn chỉnh cục bộ) để tìm ra căn chỉnh tối ưu và từ đó tính toán percentage identity.

(4) Đầu ra thuật toán: Kết quả sẽ là một ma trận đối xứng (NxN) hiển thị mức độ tương đồng (hoặc khoảng cách) giữa mọi cặp trình tự. Ví dụ: [Trình tự A] vs [Trình tự B] = 95% tương đồng.

(5) Tạo cấu trúc bảng giao diện động (Dynamic UI Table Generation): Hệ thống sẽ tạo một phần tử bảng HTML (ví dụ: `<table class="comparison-table">`) trên giao diện người dùng, đặt trong vùng của Tab "So sánh các trình tự trong file Fasta".

(6) Cấu trúc bảng:

- Dòng tiêu đề (header row) sẽ chứa tên/mô tả của tất cả các trình tự (ví dụ: "Chủng 1", "Chủng 2"...).

- Cột đầu tiên của mỗi hàng sẽ chứa tên/mô tả của trình tự tương ứng.

- Các ô giao nhau sẽ hiển thị kết quả so sánh giữa trình tự hàng và trình tự cột (ví dụ: "95%", "88%"...).

- Các ô trên đường chéo chính (ví dụ: A vs A) sẽ hiển thị 100% (hoặc giá trị tương đương).

- Tối ưu hiển thị: Nếu số lượng trình tự lớn, Websim sẽ tự động áp dụng các thuộc tính CSS hoặc JavaScript để làm cho bảng có thể cuộn được (scrollable) và có thể tìm kiếm/sắp xếp để cải thiện trải nghiệm người dùng.

* Bước 5: Triển khai chức năng xuất bảng sang Excel.

Diễn giải lệnh: "bảng này có thể xuất sang file excel".

Hành động của Websim: Để hỗ trợ việc trích xuất dữ liệu, Websim sẽ thực hiện các hành động sau:

(1) Thêm thành phần xuất (Export Component): Websim sẽ tự động thêm một nút (ví dụ: `<button id="exportToExcel">Xuất ra Excel</button>`) vào giao diện người dùng, đặt gần bảng so sánh.

(2) Gắn sự kiện (Event Listener): Một sự kiện "click" sẽ được gắn vào nút "Xuất ra Excel".

(3) Chuyển đổi dữ liệu và định dạng (Data Transformation & Formatting): Khi nút được nhấn, hệ thống sẽ thu thập toàn bộ dữ liệu hiện có trong bảng so sánh (bao gồm tiêu đề và các giá trị so sánh).

(4) Chuyển đổi dữ liệu sang định dạng Excel: Websim sẽ chuyển đổi dữ liệu thành một định dạng tương thích

với Microsoft Excel như CSV (Comma Separated Values): Đây là một định dạng văn bản đơn giản, được phân tách bằng dấu phẩy (hoặc dấu chấm phẩy) mà Excel có thể mở và diễn giải dễ dàng. Websim có thể sinh mã JavaScript để tạo chuỗi CSV và kích hoạt tải xuống.

(5) Kích hoạt tải xuống File (File Download Initiation): Sau khi file CSV được tạo, hệ thống sẽ gửi dữ liệu đến trình duyệt của người dùng, kích hoạt một cửa sổ tải xuống để người dùng lưu file vào máy tính của họ. Tên file mặc định là: “bang_so_sanh_trinh_tu.csv”.

* Các yếu tố ngầm định:

Mặc dù lệnh rất ngắn gọn, hệ thống Vibe-coding thông minh sẽ tự động tích hợp các yếu tố sau để đảm bảo ứng dụng hoạt động hiệu quả và thân thiện:

- Xử lý lỗi (Error Handling): Nếu file không đúng định dạng (ví dụ: không phải Fasta thực sự), hệ thống sẽ hiển thị thông báo lỗi. Nếu file trống hoặc không có trình tự nào được tìm thấy, hệ thống sẽ hiển thị thông báo lỗi.

- Phản hồi người dùng (User Feedback): Hiển thị thông báo khi file đã được tải lên thành công và hiển thị số lượng trình tự được tìm thấy.

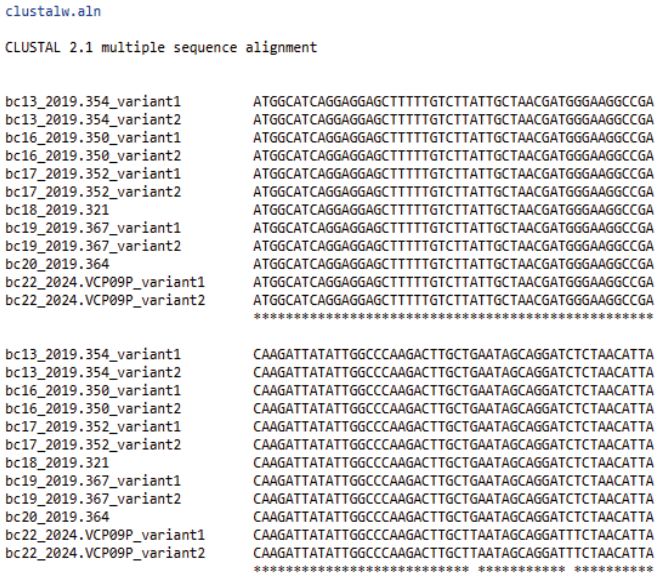
- Hiệu suất (Performance): Đối với các file Fasta rất lớn, hệ thống sẽ cần tối ưu hóa việc đọc và phân tích để tránh treo ứng dụng.

- Styling và Layout: Vibe-coding sẽ áp dụng các kiểu mặc định để các textbox và textarea có kích thước và bố cục hợp lý, dễ đọc.

3. Kết quả và bàn luận

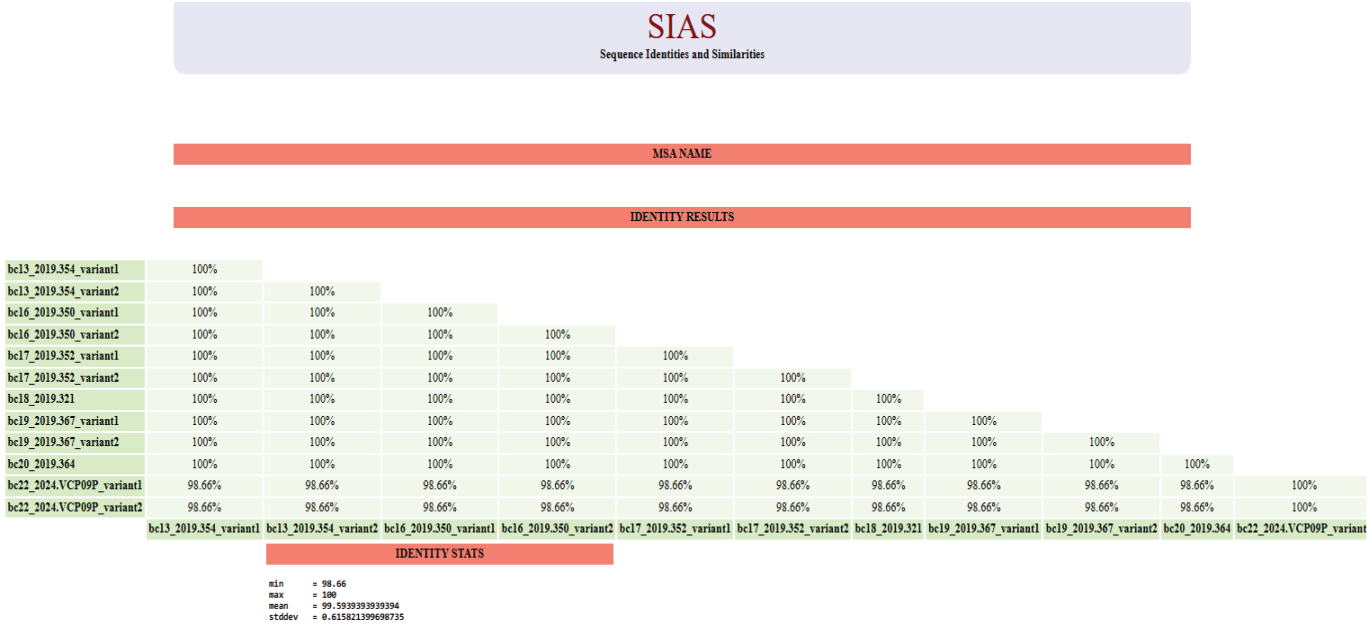
3.1. Kết quả thực hiện phương pháp phân tích sai khác trình tự nucleotide sử dụng các ứng dụng tin sinh học khác nhau

Từ sau bước 2, tại website kết quả trích xuất Alignment, các vị trí không có dấu “*” biểu thị vị trí sai khác chi tiết về nucleotide của các gen (hình 3).



Hình 3. Vị trí sai khác nucleotide được hiển thị trên website.

Kết quả “Submit” sau bước 3 ở ứng dụng SIAS trả lại một bảng dữ liệu so sánh sự sai khác theo cặp giữa các gen mã hóa protein p72 của DTLCP (hình 4).



Hình 4. Kết quả phân tích sai khác trình tự nucleotide.

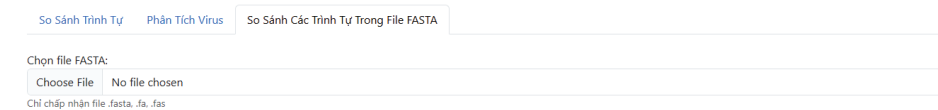
Kết quả hình 4 cho thấy, gen mã hóa protein p72 của các chủng virus DTLCP ở Lào năm 2024 có sự sai khác với các chủng năm 2019. Sự tương đồng của các chủng ở hai giai đoạn khác nhau chỉ là 98,66%. Các chủng năm 2019 có sự tương đồng 100% khi thực hiện phân tích sai khác bằng các ứng dụng tin sinh học khác nhau.

Nhược điểm của việc sử dụng các phương pháp phân tích sai khác này bao gồm: (i) Người dùng phải thực hiện nhiều ứng dụng, website và thao tác; (ii) Kết quả thu được không phân tích chi tiết ý nghĩa của các vị trí sai khác và vị trí tương đồng một cách rõ ràng (chỉ thể hiện ở các dấu *), gây khó khăn cho người dùng ứng dụng.

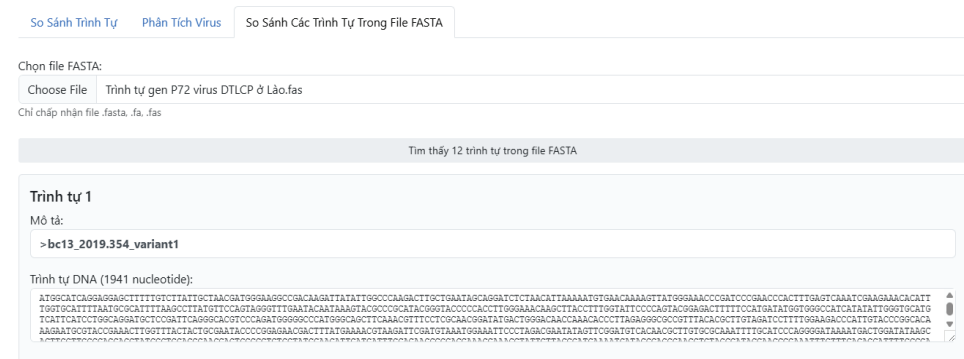
3.2. Kết quả của việc vận hành ứng dụng phân tích sai khác trình tự nucleotide gen mã hóa protein p72 của virus dịch tả lợn châu Phi bằng công cụ Vibe-coding lập trình bằng ngôn ngữ tự nhiên - Websim

Sau khi thiết lập ứng dụng bằng công cụ Vibe-coding, ứng dụng do nhóm tác giả thiết kế được đưa lên trình duyệt ở dạng website tại địa chỉ: <https://trinhtugen.netlify.app/> [6]. Ứng dụng có nhiều chức năng trong đó có chức năng “So sánh các trình tự trong file.fasta” (hình 5). Khi lựa chọn chức năng này, ứng dụng sẽ tự động phân tích dữ liệu gen p72 có tất cả 12 trình tự và thể hiện trên website (hình 6). Người dùng chỉ cần tải file dữ liệu trình tự gen lên và lựa chọn nút “so sánh tất cả các trình tự”.

Sau khi lựa chọn “so sánh tất cả các trình tự”, ứng dụng cần vài phút để phân tích và so sánh. Kết quả của việc phân tích và so sánh trình tự gen được thể hiện bằng văn bản và bằng bảng dữ liệu so sánh. Rất nhiều thông tin được ứng dụng phân tích chi tiết, giúp người dùng biết được kết quả so sánh tổng quan, so sánh từng cặp trình tự. Ứng dụng cũng đưa ra thông tin về các vùng bảo tồn chung, phân tích cây phát sinh loài cũng như nêu ra ý nghĩa sinh học tiềm năng của các mối quan hệ giữa các trình tự (hình 7).



Hình 5. Giao diện của website và chức năng phân tích trình tự DNA.



Hình 6. Trình tự các đoạn gen được trình bày ở giao diện website.

So Sánh Tất Cả Trình Tự

Kết Quả Phân Tích Trình Tự FASTA

Dưới đây là báo cáo phân tích chi tiết và so sánh các trình tự DNA từ file FASTA đã cung cấp, được thực hiện theo đúng quy trình 3 bước và cấu trúc nội dung yêu cầu.

BÁO CÁO PHÂN TÍCH VÀ SO SÁNH TRÌNH TỰ DNA

QUY TRÌNH THỰC HIỆN

Bước 1 - Kiểm tra các chuỗi (Sequence Quality Control)

- Số lượng trình tự: 12 trình tự.
- Chiều dài trình tự: Tất cả 12 trình tự đều có chiều dài chính xác là 1713 bp (cặp base).
- Khung đọc mở (ORF): Tất cả các trình tự đều bắt đầu bằng codon mở đầu ATG và kết thúc bằng codon kết thúc TAA. Trình tự này mã hóa cho một chuỗi polypeptide gồm 570 amino acid (chưa tính codon kết thúc). Không có hiện tượng lệch khung đọc (frameshift) hay xuất hiện codon kết thúc sớm ở bất kỳ trình tự nào.

Bước 2 - Điều tra tiềm năng chuỗi con (Subsequence & Conservation Investigation)

- Qua quét nhanh, 12 trình tự được chia thành 2 nhóm rõ rệt:
 - Nhóm 2019 (Trình tự 1 đến 10): Gồm các mẫu thu thập năm 2019 (bc13, bc16, bc17, bc18, bc19, bc28). Các trình tự này hoàn toàn giống nhau 100%.
 - Nhóm 2024 (Trình tự 11 và 12): Gồm các mẫu thu thập năm 2024 (bc22_2824_VCP89P). Hai trình tự này hoàn toàn giống nhau 100%.
- Độ tương đồng giữa hai nhóm cực kỳ cao (>98%), cho thấy đây là các biến thể (variants) của cùng một gen/loài sinh vật qua các mốc thời gian khác nhau.

Bước 3 - Xác minh sự khớp nhau (Alignment Verification)

- Kết quả đóng hàng (alignment) cho thấy không có bất kỳ đột biến thêm/mất nucleotide nào (Indels = 0).
- Sự khác biệt hoàn toàn là các đột biến điểm (SNPs - Single Nucleotide Polymorphisms). Có tổng cộng 20 vị trí đột biến điểm giữa nhóm năm 2019 và nhóm năm 2024 trên tổng số 1713 bp.

Hình 7. Kết quả phân tích trình tự FastA.

Bảng 1. So sánh trình tự gen p72 của virus dịch tả lợn châu Phi ở Lào năm 2019 và 2024.

Seq	Seq1	Seq2	Seq3	Seq4	Seq5	Seq6	Seq7	Seq8	Seq9	Seq10	Seq11	Seq12
Seq1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,9866	0,9866
Seq11	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	1	1
Seq12	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	0,9866	1	1

Seq 1-10: trình tự gen năm 2019; Seq 11-12: trình tự gen năm 2024; “1”: sự tương đồng đạt 100%; “0,9866”: sự tương đồng đạt 98,66%.

Tại bảng so sánh chi tiết trình tự, sự khác biệt được trình bày dưới dạng số. Ứng dụng cho phép xuất dữ liệu sang Excel (bảng 1). Kết quả cho thấy, khi so sánh giữa các gen P72 của virus DTLCP ở Lào năm 2019 có chỉ số 1, nghĩa là có sự tương đồng đến 100%. Đối với những gen P72 của virus DTLCP ở Lào năm 2024, có sự khác biệt (tương đồng chỉ đạt 98,66%).

Kết quả ở bảng 1 trùng hợp hoàn toàn so với kết quả được phân tích bằng các phần mềm trước đây. Thêm vào đó, ưu điểm của ứng dụng là phân tích chi tiết bằng văn bản để người dùng có thể hiểu toàn bộ về sự khác biệt giữa các gen được so sánh.

4. Kết luận

Việc sử dụng công cụ tạo ứng dụng bằng ngôn ngữ tự nhiên (Vibe-coding) như Websim cho thấy hiệu quả của công cụ lập trình với công nghệ AI. Điều này giúp đẩy nhanh tốc độ phát triển và giảm thiểu lỗi do lập trình thủ công. Ứng dụng phân tích sai khác trình tự gen bước đầu đã hoạt động tốt và có khả năng phân tích sai khác các nucleotide chính xác tương đương với việc kết hợp

nhiều phần mềm, ứng dụng tin sinh học trước kia. Kết quả đầu ra của phần mềm là văn bản phân tích bằng tiếng Việt, thân thiện hơn với người dùng, phục vụ thiết thực cho công tác nghiên cứu sự biến đổi gen nói chung và sự biến đổi gen của virus DTLCP nói riêng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] B.T.T. Nga, L.V. Phan, B.T.A. Dao, et al. (2020), “Clinical and pathological features of African swine fever in the first outbreaks in Vietnam”, *Vietnam J. Agri. Sci.*, **18(7)**, pp.485-494 (in Vietnamese).

[2] N.V. Diep, N.V. Duc, N.T. Ngoc, et al. (2024), “Genotype II live-attenuated asfv vaccine strains unable to completely protect pigs against the emerging recombinant ASFV genotype I/II strain in Vietnam”, *Vaccines*, **12(10)**, DOI: 10.3390/vaccines12101114.

[3] https://drive.google.com/file/d/1SPSjg_IL-q27ztwsquTQfvamseKSPR6s/view?usp=sharing, accessed 8 July 2025.

[4] Multiple Sequence Alignment by CLUSTALW (2025), <https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>, accessed 8 July 2025.

[5] Sequence Identity and Similarity (2025), <http://imed.med.ucm.es/Tools/sias.html>, accessed 8 July 2025.

[6] DNA Sequence Analysis (2025), <https://trinhtugen.netlify.app/>, accessed 8 July 2025.

Phát triển giao diện song ngữ Việt - Anh cho phần mềm Mathematical Modeling and Simulation

Nguyễn Văn Sinh*, Nguyễn Hùng Mạnh, Đặng Thị Thu Hương, Bùi Thị Tuyết Xuân, Nguyễn Tiến Dũng

Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/7/2025; ngày chuyển phản biện 4/7/2025; ngày nhận phản biện 17/7/2025; ngày chấp nhận đăng 25/7/2025

Tóm tắt:

Trên cơ sở mã nguồn phiên bản tiếng Việt, bằng việc lập trình trong môi trường phát triển phần mềm DELPHI, nghiên cứu đã bổ sung tính năng chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh cho phần mềm Mathematical Modeling and Simulation (MM&S). Việc lập trình chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh cho phần mềm MM&S được thực hiện trước hết qua việc thống kê và khai báo các biến đại diện cho các thông báo, thuật ngữ, câu từ và lời nhắc được sử dụng trong phần mềm. Tiếp theo là việc gán các giá trị văn bản tiếng Việt hay tiếng Anh đáp ứng lựa chọn ngôn ngữ của người dùng trong quá trình sử dụng cho các trình đơn (menu) và biến đã khai báo theo từng mô đun. Các thủ tục đổi ngôn ngữ cho tất cả các mô đun được thực hiện khi người dùng nhấp chuột chọn ngôn ngữ. Khi chuyển đổi ngôn ngữ, chỉ giao diện người dùng được chuyển đổi ngôn ngữ, tên các yếu tố hệ thống và các biến không thay đổi trong sơ đồ mô phỏng và trong bảng kết quả tính toán mô hình. Kết quả là người dùng chỉ cần một phiên bản MM&S và sau này, khi lập trình phát triển thêm tính năng cho MM&S, tác giả chỉ cần thao tác trên một mã nguồn.

Từ khóa: giao diện song ngữ, hệ thống động, mô hình hóa, mô phỏng, phần mềm MM&S.

Chỉ số phân loại: 1.2, 1.8

Development of a Vietnamese-English user interface for the Mathematical Modeling and Simulation software

Van Sinh Nguyen*, Hung Manh Nguyen, Thi Thu Huong Dang, Thi Tuyen Xuan Bui, Tien Dung Nguyen

Institute of Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

Received 2 July 2025; revised 17 July 2025; accepted 25 July 2025

Abstract:

Using the source code of the Vietnamese version and the Delphi integrated development environment, this study implemented a Vietnamese - English user interface switching feature for the Mathematical Modeling and Simulation (MM&S) software. The implementation of the Vietnamese - English language switching feature began with the identification and declaration of variables representing notifications, terms, text strings, and prompts used throughout the software. Subsequently, Vietnamese or English text values corresponding to the user-selected language were assigned to the menus and to the variables previously declared within each module. Language switching procedures for all modules are performed when the user selects a language option. When the language is switched, only the user interface is translated, while the names of system elements and variables remain unchanged in both the simulation diagram and in the model output tables. As a result, users require only a single version of MM&S, and future feature development can be carried out using a single codebase.

Keywords: bilingual user interface, dynamic systems, MM&S software, modelling, simulation.

Classification numbers: 1.2, 1.8

*Tác giả liên hệ: Email: vansinh.nguyen@ib.vast.vn

1. Đặt vấn đề

Một hệ thống có ít nhất một thành phần biến đổi theo thời gian được coi là hệ thống động [1]. Bước đầu trong nghiên cứu một hệ thống là phân tích để xác định hệ có những yếu tố nào và chúng có những mối liên hệ với nhau như thế nào. Để tính toán định lượng các mối liên hệ giữa các yếu tố của hệ thống và phân tích động thái của hệ thống, người ta xây dựng các phần mềm mô hình hóa. Mỗi phần mềm khi phát triển đều có cơ sở là một quan điểm về các nhóm yếu tố hệ thống. Một số nhóm yếu tố hệ thống được công nhận từ lâu: nhóm yếu tố trạng thái, nhóm yếu tố trung gian, nhóm yếu tố không đổi. Nhóm yếu tố trạng thái là nhóm yếu tố cơ bản nhất của hệ thống, chúng đóng vai trò như bộ nhớ của hệ thống, ở mỗi thời điểm người ta có thể xác định giá trị của chúng bằng một trong các phương pháp điều tra thực tế (cân, đo, đong, đếm...). Các yếu tố trạng thái thay đổi giá trị của chúng theo thời gian và trong mô hình mức độ thay đổi của mỗi yếu tố trạng thái được thể hiện qua hệ số biến đổi của nó [2]. Nhóm yếu tố thứ hai của hệ thống là nhóm các yếu tố trung gian. Cũng như các yếu tố trạng thái, giá trị của các yếu tố trung gian thay đổi theo thời gian. Điểm khác biệt của chúng là ở chỗ, tại mỗi thời điểm giá trị của chúng chỉ có thể được tính toán từ giá trị của các yếu tố khác. Nhóm yếu tố thứ ba là nhóm yếu tố không đổi. Đây là nhóm các yếu tố mà giá trị của chúng không thay đổi hoặc được chấp nhận như không thay đổi (vì những thay đổi đó không đáng kể) trong khoảng thời gian ta xem xét hệ thống. Phần mềm thương mại STELLA hoạt động trên quan điểm về ba nhóm yếu tố này [3, 4]. Tuy nhiên, phần mềm này cũng chỉ sử dụng hai biểu tượng để thể hiện cấu trúc hệ thống trên sơ đồ mô phỏng, bao gồm: hình

tròn (chung cho yếu tố không đổi và yếu tố trung gian) và hình vuông (cho yếu tố trạng thái) (hình 1) [5].

Ngoài các nhóm yếu tố trên, tác giả nhận thấy có một nhóm yếu tố mà giá trị của chúng thay đổi theo thời gian (giống như yếu tố trạng thái hay yếu tố trung gian), nhưng giá trị của chúng ở một số hoặc tất cả các thời điểm trong khoảng thời gian ta xem xét hệ lại được biết trước; nhóm yếu tố này được tác giả gọi là nhóm yếu tố liệt kê và tích hợp vào phần mềm MM&S [6, 7].

Phần mềm MM&S trước đây gồm hai phiên bản tiếng Việt và tiếng Anh. Tác giả đã lập trình bổ sung tính năng chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh để thuận tiện cho người dùng và công việc phát triển phần mềm của tác giả. Bài báo này trình bày kết quả lập trình và giới thiệu sử dụng phiên bản MM&S đã được bổ sung tính năng chuyển đổi ngôn ngữ.

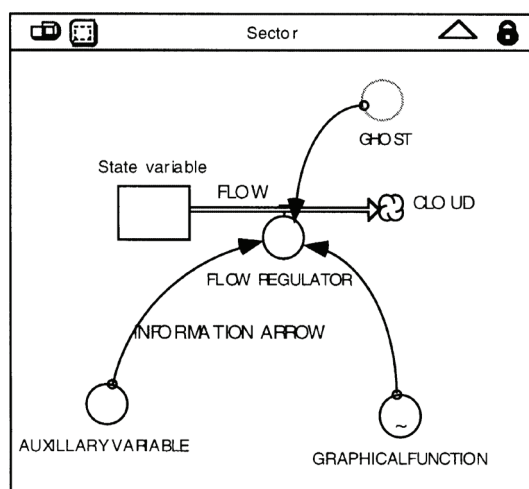
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Phần mềm MM&S đã được phát triển trong môi trường phát triển phần mềm DELPHI với ngôn ngữ lập trình cơ sở là PASCAL [8], do đó việc lập trình bổ sung tính năng cũng được thực hiện với DELPHI. Trong phần mềm MM&S, để thể hiện cấu trúc và tương tác giữa các yếu tố của hệ thống, các yếu tố được thể hiện trên sơ đồ qua bốn biểu tượng đại diện cho bốn nhóm yếu tố và tương tác của chúng được thể hiện qua các đường liên kết với mũi tên chỉ hướng tác động. Đây là sự thể hiện cấu trúc hệ thống một cách trực quan, các biến động và tương tác giữa các yếu tố được tính toán qua các biểu thức toán học và được trình bày trong các bảng kết quả hoặc thể hiện qua các đồ thị. Phiên bản có bản quyền DELPHI 10.1 Berlin Professional của Công ty Embarcadero, được mua trong khuôn khổ đề tài cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam mã số VAST04.06/16-17, đã được sử dụng để lập trình chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh cho phần mềm MM&S. Mã nguồn của phần mềm MM&S cho phiên bản tiếng Việt cũ được sử dụng để lập trình bổ sung tính năng chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh.

3. Kết quả

3.1. Lập trình chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh cho phần mềm MM&S

Việc lập trình chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh cho phần mềm MM&S được thực hiện trước hết qua việc thống kê và khai báo các biến đại diện cho các thông báo, thuật ngữ, câu từ và lời nhắc được sử dụng trong phần mềm. Tiếp theo là việc gán các giá trị văn bản tiếng Việt hay tiếng Anh đáp ứng lựa chọn ngôn ngữ của người dùng trong quá trình sử dụng cho các biến này và các trình đơn (menu). Bảng 1 thể hiện thủ tục chuyển đổi ngôn ngữ cho các trình đơn.



Hình 1. Mô hình đơn giản cho thấy các biểu tượng trong phần mềm STELLA [5]. State variable: biến trạng thái; flow: dòng chảy; cloud: đám mây; flow regulator: van điều tiết; auxiliary variable: biến phụ; graphical function: hàm đồ thị; ghost: điều tiết; information arrow: mũi tên hướng tác động.

Việc lập trình gán các giá trị văn bản tiếng Việt hay tiếng Anh, đáp ứng lựa chọn ngôn ngữ của người dùng trong quá trình sử dụng cho các biến, được thực hiện

cho từng mô đun của phần mềm. Bảng 2 thể hiện thủ tục chuyển đổi ngôn ngữ cho các thông báo, thuật ngữ, câu từ và lời nhắc trong mô đun chính (cửa sổ chính của MM&S).

Bảng 1. Thủ tục xử lý ngôn ngữ các trình đơn.

<pre> procedure tsimform.TrinhDonVE; begin if language='Vietnamese' then begin Childwindows2.caption:='Cửa sổ con'; Cascade2.caption:='Xếp chồng'; Tile2.caption:='Xếp ô'; Arrangeicons2.caption:='Sắp xếp biểu tượng'; dangbieutuong.caption:='Đưa hết về dạng biểu tượng'; dangcuaso.caption:='Đưa hết về dạng cửa sổ'; Next2.caption:='Cửa sổ sau'; Previous1.caption:='Cửa sổ trước'; Close2.caption:='Đóng cửa sổ con hiện hành'; Tp1.caption:='Tập'; Mtp1.caption:='Mở tập'; Lutp1.caption:='Lưu tập'; Luvotp1.caption:='Lưu vào tập'; Chnhmyin1.caption:='Chỉnh máy in'; In1.caption:='In'; TextEditor1.caption:='Mô hình dạng văn bản'; NewTextWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới'; NewOpenTextWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới/Mở tập'; Bitmapwindow1.caption:='Đồ thị'; NewGraphWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới'; NewOpenGraphWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới/Mở tập'; Smphng1.caption:='Sơ đồ mô phỏng'; NewSchemaWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới'; NewOpenSchemaWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới/Mở tập'; Tablewindow1.caption:='Bảng'; NewTableWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới'; NewOpenTableWindow.caption:='Tạo cửa sổ mới/Mở tập'; exporttotext.caption:='Lưu dưới dạng tập văn bản'; Exporttoexcel.caption:='Lưu dưới dạng tập excel'; saotoanbo.caption:='Sao toàn bộ ra bảng trung chuyển'; Model1.caption:='Thực hiện'; Runmodel1.caption:='Chạy mô hình'; Graph1.caption:='Vẽ đồ thị'; Help1.caption:='Trợ giúp'; Contents1.caption:='Nội dung'; Sysinfo1.caption:='Thông tin về máy'; About1.caption:='Tác giả'; Closeall2.caption:='Đóng hết các cửa sổ con'; Exit2.caption:='Ra khỏi chương trình'; end; </pre>	<pre> if language='English' then begin Childwindows2.caption:='Child windows'; Cascade2.caption:='Cascade'; Tile2.caption:='Tile'; Arrangeicons2.caption:='Arrange icons'; dangbieutuong.caption:='Bring all windows to symbols'; dangcuaso.caption:='Bring all symbols to windows'; Next2.caption:='Next'; Previous1.caption:='Previous'; Close2.caption:='Close current window'; Tp1.caption:='File'; Mtp1.caption:='Open'; Lutp1.caption:='Save'; Luvotp1.caption:='Save as'; Chnhmyin1.caption:='Printer setup'; In1.caption:='Print'; TextEditor1.caption:='Plain text model window'; NewTextWindow.caption:='New'; NewOpenTextWindow.caption:='New/Open'; Bitmapwindow1.caption:='Graph window'; NewGraphWindow.caption:='New'; NewOpenGraphWindow.caption:='New/Open'; Smphng1.caption:='Simulation diagram window'; NewSchemaWindow.caption:='New'; NewOpenSchemaWindow.caption:='New/Open'; Tablewindow1.caption:='Table window'; NewTableWindow.caption:='New'; NewOpenTableWindow.caption:='New/Open'; exporttotext.caption:='Save as text file'; Exporttoexcel.caption:='Save as excel file'; saotoanbo.caption:='Copy all'; Model1.caption:='Execute'; Runmodel1.caption:='Run model'; Graph1.caption:='Draw graphs'; Help1.caption:='Help'; Contents1.caption:='Content'; Sysinfo1.caption:='System information'; About1.caption:='Author'; Closeall2.caption:='Close all windows'; Exit2.caption:='Exit'; end; end; </pre>
--	---

Bảng 2. Thủ tục chuyển đổi ngôn ngữ cho các thông báo, thuật ngữ, câu từ và lời nhắc trong mô đun chính của phần mềm MM&S.

```

procedure TSimform.ThongBaoVESimunit;
begin
if language='Vietnamese' then begin
CaiDatLai:='Đề nghị cài đặt lại chương trình bằng tệp cài đặt';
CaiDatBangPhienBanCapNhat:='Đề nghị cài đặt lại chương trình
bằng phiên bản cập nhật';
LoiBieuThucLoGic:='Lỗi biểu thức lô-gich!';
LoiBieuThucDaiSo:='Lỗi biểu thức đại số!';
LoiBieuThucTuongQuan:='Lỗi biểu thức tương quan!';
LoiBieuThucTrongNgoac:='Lỗi biểu thức trong ngoặc!';
LoiCongThuc:='Lỗi công thức!';
LoiTinhHamSo:='Lỗi tính hàm số!';
LoiTepMoHinh:='Lỗi tệp mô hình!';
LoiKhaiBaoYeuToLietKe:='Lỗi khai báo yếu tố liệt kê: ';
LoiKhungThoiGianTrongTepMoHinh:='Lỗi khai báo khung thời
gian trong tệp mô hình!';
LoiKhungMoHinh:='Lỗi khung mô hình!';
LoiKhaiBaoYeuTo:='Lỗi khai báo yếu tố!';
LoiKhaiBaoMoHinh:='Lỗi khai báo mô hình!';
LoiChiaCho0:='Lỗi chia cho 0!';
LoiDuaKetQuaRaBang:='Lỗi đưa kết quả ra bảng!';
DongHetCuaSoRoiMoLai:='Đề nghị đóng hết cửa sổ con rồi mở
lại!';
KhongDocDuocTepMoHinh:='Không đọc được tệp mô
hình!';end
else begin
CaiDatLai:='Please reinstall software using setup file';
CaiDatBangPhienBanCapNhat:='Please reinstall software using
updated version';
LoiBieuThucLoGic:='Error in logical expression';
LoiBieuThucDaiSo:='Error in algebraic expression!';
LoiBieuThucTuongQuan:='Error in relational expression!';
LoiBieuThucTrongNgoac:='Error in expression in the brackets!';
LoiCongThuc:='Error in formula!';
LoiTinhHamSo:='Error in function calculating!';
LoiTepMoHinh:='Error in model file!';
LoiKhaiBaoYeuToLietKe:='Error in listed element declaration!';
LoiKhungThoiGianTrongTepMoHinh:='Error in time frame of
the model file!';
LoiKhungMoHinh:='Error in model frame!';
LoiKhaiBaoYeuTo:='Error in element declaration!';
LoiKhaiBaoMoHinh:='Error in the model declaration!';
LoiChiaCho0:='Division by zero!';
LoiDuaKetQuaRaBang:='Error in displaying results in table
window';
DongHetCuaSoRoiMoLai:='Please close all windows then open
again';
KhongDocDuocTepMoHinh:='Cannot read the model file!';
end;
end;

```

Để người dùng có thể lựa chọn chuyển đổi ngôn ngữ trong quá trình sử dụng MM&S, một nút chọn được đặt trên thanh công cụ của phần mềm. Khi người dùng nhấp chuột lên nút này (E để chuyển sang tiếng Anh khi đang trong chế độ tiếng Việt hoặc V trong trường hợp ngược lại), phần mềm sẽ thực hiện việc đổi ngôn ngữ được sử dụng và gọi các thủ tục chuyển đổi ngôn ngữ (bảng 3).

Bảng 3. Thủ tục xử lý tình huống khi người dùng nhấp chuột lên nút chọn chuyển đổi ngôn ngữ.

```

procedure tsimform.LanguageButtonClick(Sender:
TObject);
begin //NVCC2025
if language='Vietnamese' then begin
language:='English';
LanguageButton.Caption:='V';end else begin
language:='Vietnamese';
LanguageButton.Caption:='E';
end;
TrinhDonVE;
ThongBaoVESimunit;
ThongBaoVEEditorUnit;
ThongBaoVEAboutUnit;
ThongBaoVEResultsUnit;
ThongBaoVESimBitmap;
ThongBaoVESysElements;
end;

```

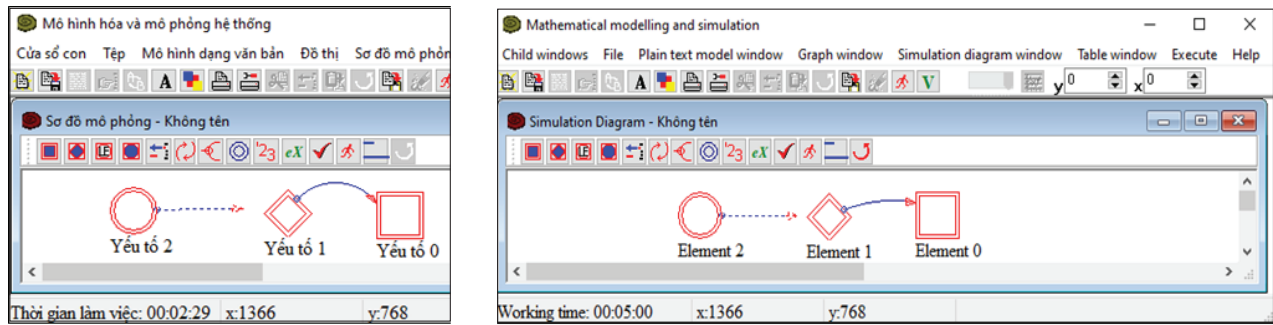
3.2. Sử dụng phần mềm MM&S đã được bổ sung tính năng chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh để mô hình hóa và mô phỏng các loại hệ thống động khác nhau

Thể hiện cấu trúc hệ thống và tương tác giữa các yếu tố thông qua sơ đồ mô phỏng: Trong sơ đồ mô phỏng của phần mềm MM&S, các yếu tố của hệ thống được thể hiện qua biểu tượng tùy theo yếu tố thuộc nhóm yếu tố nào trong số bốn nhóm yếu tố đã được định nghĩa trong MM&S (bảng 4).

Bảng 4. Các biểu tượng của bốn nhóm yếu tố.

	Yếu tố trạng thái		Yếu tố liệt kê		Yếu tố trung gian		Yếu tố không đổi
---	-------------------	---	----------------	---	-------------------	---	------------------

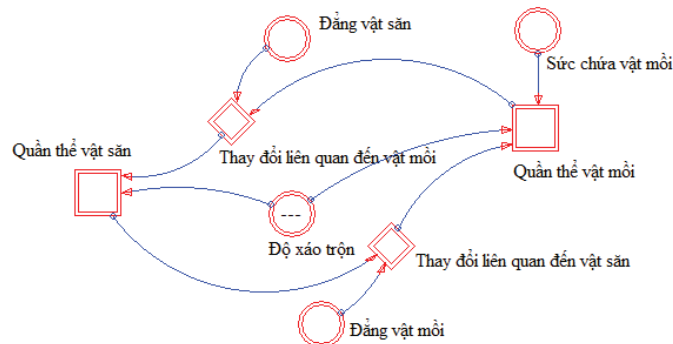
Tương tác giữa các yếu tố được thể hiện qua đường liên kết với mũi tên đi từ yếu tố tác động đến yếu tố chịu tác động. Để vẽ một yếu tố, tùy theo yếu tố đó thuộc nhóm yếu tố nào, chỉ cần nhấn chuột lên biểu tượng của nhóm yếu tố trên thanh công cụ của phần mềm MM&S [9], sau đó nhấn chuột lên điểm muốn vẽ biểu tượng trong cửa sổ sơ đồ mô phỏng. Phần mềm sẽ tự động vẽ một biểu tượng nhóm yếu tố đó kèm theo tên mặc định.



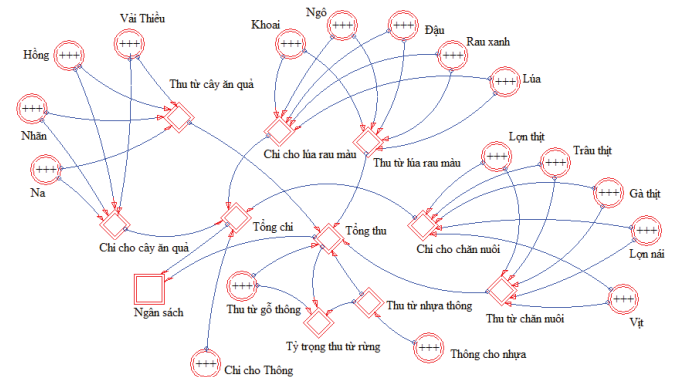
Hình 2. Vẽ sơ đồ mô phỏng cấu trúc hệ trong chế độ tiếng Việt (trái) và tiếng Anh (phải).

Để vẽ đường liên kết, chỉ cần nhấn chuột lên biểu tượng đường liên kết trên thanh công cụ, sau đó nhấn chuột lên biểu tượng của yếu tố tác động và giữ nguyên nút chuột trái rồi di chuột sang biểu tượng của yếu tố chịu tác động. Trong quá trình di chuột phần mềm vẽ đường liên kết nét đứt, khi thả chuột phần mềm sẽ vẽ đường liên kết nét liền. Hình 2 thể hiện các tính năng này của phần mềm trong chế độ tiếng Việt và tiếng Anh.

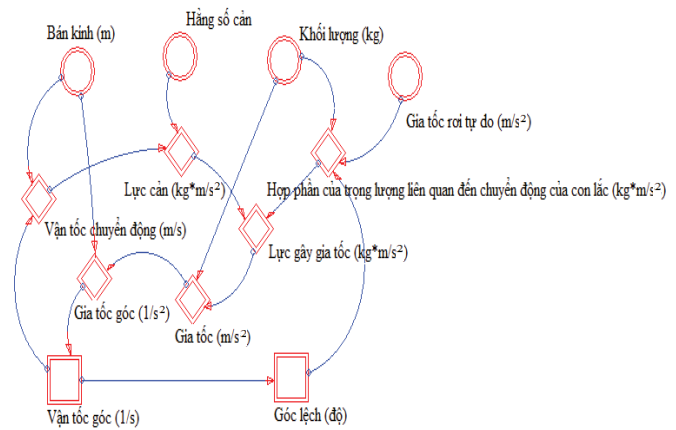
Hệ thống động có thể là hệ thống sinh thái học (hình 3), cũng có thể là một hệ thống kinh tế sinh thái (hình 4) hoặc một hệ thống cơ học (hình 5). Tuy nhiên, các yếu tố trong các hệ này tùy theo bản chất đều có thể phân về bốn nhóm như trong bảng 4. Các yếu tố cùng nhóm có cùng biểu tượng nhưng sẽ có tên khác nhau.



Hình 3. Mô hình tương tác vật săn - con mồi [10].

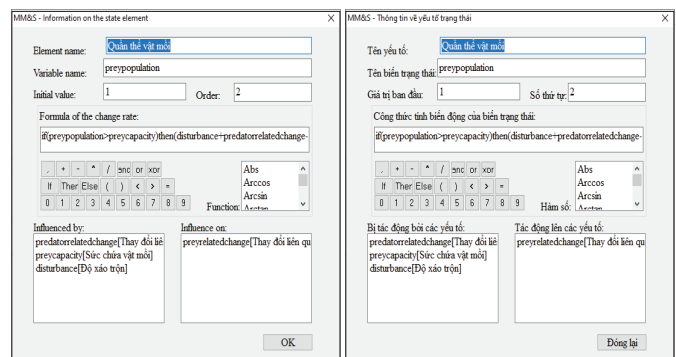


Hình 4. Hệ thống kinh tế trang trại nông hộ [6].



Hình 5. Hệ thống con lắc [11].

Tích hợp mô hình toán vào sơ đồ mô phỏng: Giá trị cũng như công thức tính của các yếu tố hệ thống được nạp vào qua hộp thoại. Khi nhấn đúp chuột lên biểu tượng của một yếu tố, một hộp thoại sẽ được mở ra cùng với các thông tin mặc định (nếu là lần đầu sau khi vẽ) hoặc với các thông tin đã được nạp vào trước đó (hình 6). Như được thể hiện trên hình 6, khi chuyển sang chế độ tiếng Anh, MM&S chỉ đổi giao diện người dùng sang tiếng Anh, thông tin về yếu tố như tên của yếu tố ('Quản thể vật mồi', 'Sức chứa vật mồi', 'Độ xáo trộn') vẫn được giữ nguyên.



Hình 6. Nạp thông tin vào hộp thoại yếu tố trạng thái trong sơ đồ mô phỏng (ví dụ từ sơ đồ trong hình 3).

Đối với yếu tố trạng thái, với mỗi bước thời gian, giá trị của yếu tố lại thay đổi bằng hệ số biến đổi của biến trạng thái [2]. Vì vậy, trong hộp thoại yếu tố trạng thái, cần đưa công thức tính biến động của biến trạng thái vào, trong công thức này cũng cần sử dụng hết các yếu tố tác động lên yếu tố trạng thái (hình 6: trong hộp danh sách 'Bị tác động bởi các yếu tố': predatorrelatedchange, preycapacity, disturbance).

Mỗi yếu tố hệ thống có tên được viết bình thường có dấu cách, còn tên biến (hay hằng đối với yếu tố không đổi) đại diện cho yếu tố trong mô hình tính toán tuân thủ quy tắc không có dấu cách.

Xuất mô hình toán từ sơ đồ mô phỏng ra tệp mô hình dạng văn bản: Sau khi đã nạp đủ thông tin cho các yếu tố của hệ thống, có thể xuất mô hình từ sơ đồ mô phỏng ra tệp (tệp mô hình văn bản) như trong bảng 5 tương ứng với mô hình trong sơ đồ ở hình 3. Trước khi xuất mô hình từ một sơ đồ mô phỏng, cần thực hiện kiểm tra tính hoàn thiện của sơ đồ mô phỏng bằng cách nhấn chuột

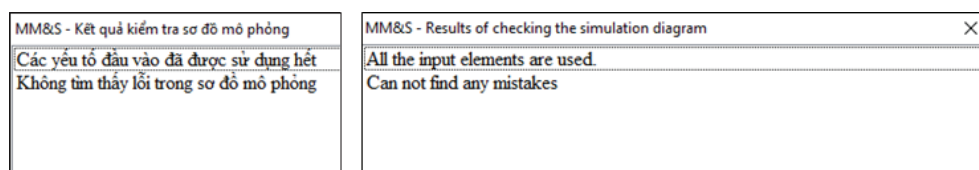
lên nút kiểm tra (✓) trên thanh công cụ của cửa sổ sơ đồ mô phỏng. Chỉ khi MM&S thông báo sơ đồ mô phỏng đã hoàn thiện (hình 7) mới có thể thực hiện việc xuất mô hình ra tệp văn bản bằng việc nhấn chuột lên nút xuất mô hình (X). Khi bắt đầu xuất mô hình ra tệp văn bản, MM&S sẽ yêu cầu nạp khung thời gian cho mô hình qua một hộp thoại.

Kết quả bảng 5 cho thấy, mô hình dạng văn bản bắt đầu bằng ba dòng khai báo khung thời gian, sau đó là các phần khai báo biến của các nhóm yếu tố được bắt đầu bằng các từ khóa thông báo (CONSTANT_ELEMENTS cho nhóm yếu tố không đổi, LISTED_ELEMENTS cho nhóm yếu tố liệt kê, INTERMEDIATE_ELEMENTS cho nhóm yếu tố trung gian và STATE_ELEMENTS cho nhóm yếu tố trạng thái). Các từ khóa này giống nhau và bằng tiếng Anh trong cả hai chế độ tiếng Việt và tiếng Anh. Các dòng khai báo khung thời gian và các dòng khai báo các biến được bắt đầu bằng dấu sao đặt trong ngoặc vuông. Mỗi biến trạng thái có một hệ số biến đổi của riêng mình được khai báo ngay sau dòng khai báo giá trị ban đầu của biến,

dòng khai báo hệ số biến đổi của biến trạng thái này được bắt đầu bằng hai dấu sao đặt trong ngoặc vuông.

Đối với các yếu tố liệt kê, lựa chọn về việc có tính toán giá trị của chúng cho các khoảng thời gian không khai báo giá trị từ các giá trị đã khai báo hay không được thể hiện qua ba dấu cộng, hoặc trừ viết trong hai dấu gạch xuôi đầu tiên. Trong đó, dấu cộng chỉ thị có tính và dấu trừ chỉ thị không tính. Việc khai báo mỗi giá trị của yếu tố liệt kê được thực hiện bằng việc liệt kê thời điểm và giá trị nối với nhau bởi dấu bằng đặt sau dấu gạch xuôi.

Tính toán mô hình: Mô hình có thể được tính toán từ sơ đồ mô phỏng hoặc từ tệp mô hình dạng văn bản. Khi nhấn chuột lên biểu tượng hình người chạy (🏃) ở thanh công cụ của sổ chính của MM&S, phần mềm sẽ



Hình 7. Thông báo về tính hoàn thiện của sơ đồ mô phỏng trong chế độ tiếng Việt (trái) và tiếng Anh (phải).

Bảng 5. Mô hình dạng văn bản được xuất ra từ sơ đồ mô phỏng hình 3.

```
[*]STARTTIME=0
[*]ENDTIME=1000
[*]TIMESTEP=1
CONSTANT_ELEMENTS
[*]predatorzeroisocline=2
[*]preyzeroisocline=2
[*]preycapacity=2
LISTED_ELEMENTS
[*]disturbance=---/300=1
INTERMEDIATE_ELEMENTS
[*]preyrelatedchange=0.03*(preypopulation-predatorzeroisocline)
[*]predatorrelatedchange=0.03*(preyzeroisocline-predatorpopulation)
STATE_ELEMENTS
[*]predatorpopulation=1
[**]biendong_predatorpopulation=preyrelatedchange+disturbance
[*]preypopulation=1
[**]biendong_preypopulation=if(preypopulation>preycapacity)then(disturbance+
predatorrelatedchange-0.015*(preypopulation-preycapacity))else(disturbance+predato
rrelatedchange)
```

hiển thị hộp thoại cho phép chọn tệp mô hình dạng văn bản để tính toán. Để tính toán mô hình trong sơ đồ mô phỏng, trước hết cần thực hiện kiểm tra tính hoàn thiện của sơ đồ mô phỏng (giống như trước khi xuất mô hình ra tệp văn bản). Chỉ khi sơ đồ mô phỏng đã hoàn thiện mới có thể bắt đầu tính toán mô hình bằng việc nhấn chuột lên nút chạy mô hình (🏃) trên thanh công cụ của cửa sổ sơ đồ mô phỏng. Nếu tính toán mô hình từ sơ đồ mô phỏng, mỗi lần thực hiện tính toán MM&S sẽ yêu cầu nạp khung thời gian cho mô hình. Do khung thời gian được nạp vào mô hình khi mô hình được xuất ra tệp văn bản, nên việc thực hiện tính toán mô hình trong tệp văn bản không có công đoạn nạp khung thời gian nữa. Để thay đổi khung thời gian cho mô hình trong tệp văn bản, cần mở tệp mô hình và sửa thời gian trực tiếp trong đó.

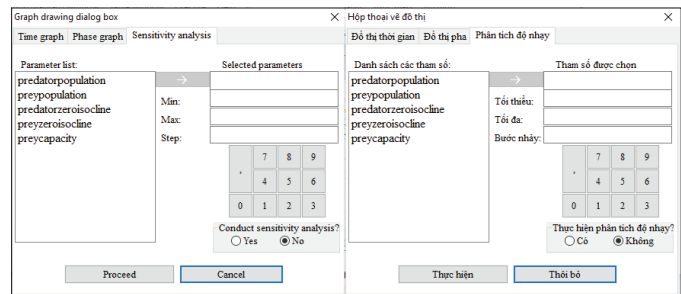
Sau khi thực hiện tính toán mô hình, MM&S sẽ đưa kết quả ra cửa sổ bảng (hình 8) và hỏi để lưu kết quả vào tệp. Đồng thời, nút vẽ đồ thị (📊) trên thanh công cụ của cửa sổ chính cũng sáng lên, cho phép nhấn chuột để vẽ đồ thị.

Cửa sổ bảng - Không tên						Table window - No name					
0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Bước tính to	Thời gian	góc lệch	biendong	vậtócgóc	biendong	Calculation	Time	góc lệch	biendong	vậtócgóc	biendong
Biểu thức =	0	0	vậtócgóc	10	giatócgóc	Expression	0	0	vậtócgóc	10	giatócgóc
Giá trị ban đ	0	0	10	10	-10	Initial value	0	0	10	10	-10
1	0.01	0.1	9.9	9.9	-10.879	1	0.01	0.1	9.9	9.9	-10.879
2	0.02	0.199	9.79121	9.79121	-11.7306	2	0.02	0.199	9.79121	9.79121	-11.7306
3	0.03	0.296912	9.673904	9.673904	-12.5443	3	0.03	0.296912	9.673904	9.673904	-12.5443
4	0.04	0.393651	9.548461	9.548461	-13.3116	4	0.04	0.393651	9.548461	9.548461	-13.3116
5	0.05	0.489135	9.415345	9.415345	-14.025	5	0.05	0.489135	9.415345	9.415345	-14.025
6	0.06	0.583285	9.275095	9.275095	-14.6784	6	0.06	0.583285	9.275095	9.275095	-14.6784
7	0.07	0.676040	9.128311	9.128311	-15.2664	7	0.07	0.676040	9.128311	9.128311	-15.2664
8	0.08	0.767323	8.975647	8.975647	-15.7857	8	0.08	0.767323	8.975647	8.975647	-15.7857
9	0.09	0.857075	8.81779	8.81779	-16.2332	9	0.09	0.857075	8.81779	8.81779	-16.2332
10	0.1	0.945257	8.655458	8.655458	-16.6075	10	0.1	0.945257	8.655458	8.655458	-16.6075
11	0.11	1.031812	8.489383	8.489383	-16.9083	11	0.11	1.031812	8.489383	8.489383	-16.9083

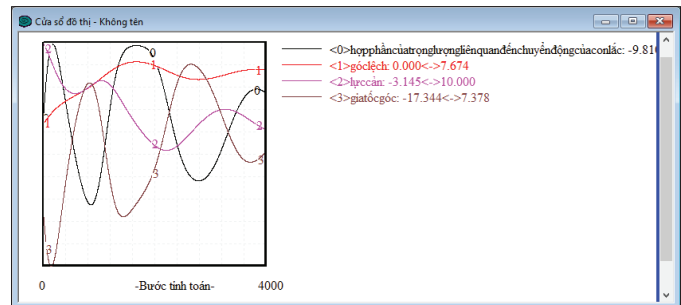
Hình 8. Kết quả tính toán mô hình được đưa ra cửa sổ bảng (hệ thống con lắc).

Vẽ đồ thị thời gian, đồ thị pha và phân tích độ nhạy động thái hệ thống với sự thay đổi của một yếu tố không đổi: Khi nhấn chuột lên nút vẽ đồ thị, MM&S sẽ hiển thị hộp thoại vẽ đồ thị (hình 9), cho phép lựa chọn vẽ đồ thị pha (thể hiện tương quan giữa hai yếu tố theo thời gian) hay đồ thị thời gian (thể hiện biến động giá trị các yếu tố theo thời gian) và phân tích độ nhạy động thái của hệ với sự thay đổi các tham số của hệ.

Đồ thị thời gian có thể vẽ theo tỷ lệ chung, khi đó giá trị lớn nhất và nhỏ nhất của tất cả các yếu tố được dùng để căn vẽ đồ thị chung cho tất cả các yếu tố (hình 10). Khi vẽ đồ thị theo tỷ lệ riêng, đồ thị của mỗi yếu tố được căn vẽ theo giá trị lớn nhất và giá trị nhỏ nhất của bản thân từng yếu tố.

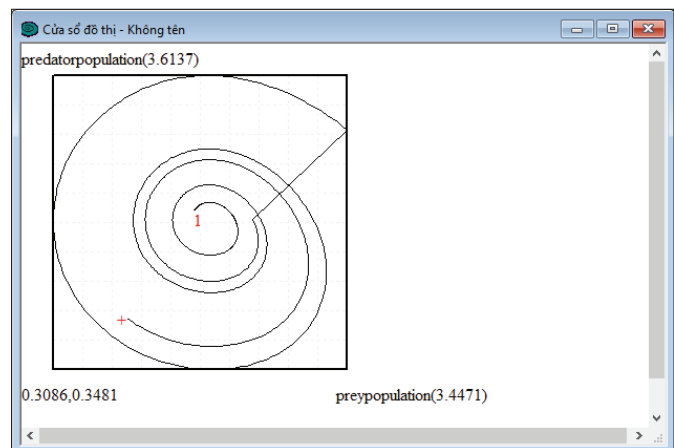


Hình 9. Hộp thoại vẽ đồ thị.



Hình 10. Đồ thị thời gian (tỷ lệ chung, hệ thống con lắc).

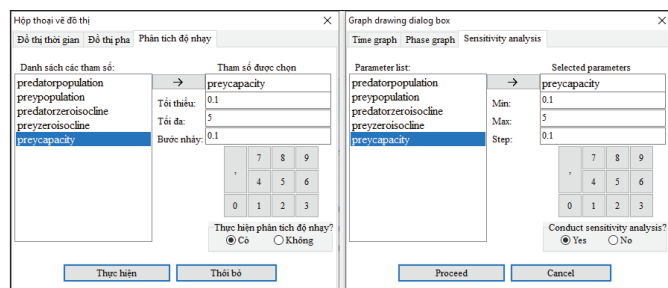
Biến động các yếu tố trên đồ thị ở hình 11 thể hiện sự can thiệp vào hệ thống ở hình 3 khi ở một thời điểm đồng thời tăng số lượng vật săn và con mồi lên cùng một giá trị thông qua tác động của yếu tố liệt kê "Xáo trộn" (biến đại diện là disturbance trong bảng 5). Tuy nhiên, việc thay đổi giá trị yếu tố trạng thái không ảnh hưởng đến động thái của hệ, hai yếu tố vẫn dao động giảm dần theo hướng về trạng thái ổn định.



Hình 11. Đồ thị pha (Hệ thống tương tác vật săn - con mồi, hình 3).

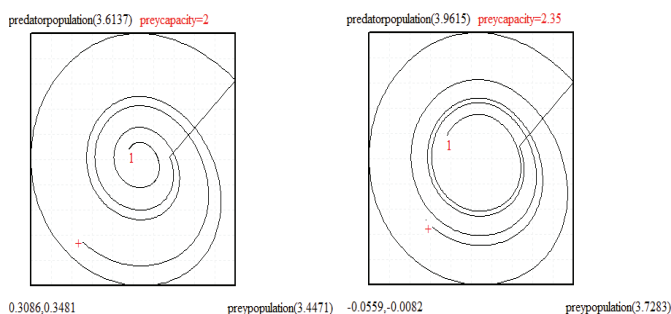
Phân tích độ nhạy động thái hệ thống cho biết sự thay đổi một tham số (yếu tố không đổi) sẽ có tác động thế nào đến động thái của hệ. Hình 12 cho thấy, yếu tố không đổi 'Sức chứa vật mồi' với hằng đại diện là preycapacity trong

‘Hệ thống tương tác vật săn - con mồi’ (hình 3, bảng 5) được chọn làm tham số để đặt khoảng biến thiên từ 0,1 đến 5 cho việc phân tích độ nhạy của động thái hệ thống.



Hình 12. Đặt biến động tham số cho phân tích độ nhạy động thái hệ thống.

Với việc xác định biến động của yếu tố Sức chứa vật mồi (hằng preycapacity) như hình 12 và lựa chọn vẽ đồ thị pha giữa hai yếu tố Quần thể vật mồi (preypopulation) và yếu tố Quần thể vật săn (predatorpopulation), có thể thấy biến động hai quần thể vật săn và vật mồi tăng lên khi Sức chứa vật mồi vượt qua 2,3 và dẫn đến giá trị âm của hai quần thể (hình 13).



Hình 13. Phân tích độ nhạy động thái của hệ thống tương tác vật săn - con mồi dưới sự biến thiên của tham số Sức chứa vật mồi.

4. Bàn luận

Các hệ thống phức hợp có bản chất rất khác nhau và có đơn vị thời gian hoạt động cũng rất khác nhau (có thể tính bằng năm ở hệ thống này, nhưng tính bằng giây ở hệ thống khác). Tuy nhiên, điểm chung của các hệ thống này là một số yếu tố của chúng biến động theo thời gian, hay nói cách khác chúng đều là các hệ động. Quan điểm về hệ động đã được công nhận trong nhiều công trình [1, 9, 12, 13]. Các yếu tố của chúng có thể được phân thành bốn nhóm: trạng thái, trung gian, liệt kê và không đổi.

Nhóm yếu tố liệt kê được tác giả đề xuất và đã được đăng trong tuyển tập hội nghị quốc tế [2]. Việc đề xuất nhóm yếu tố liệt kê tạo điều kiện thuận lợi để mô hình hóa và mô phỏng các hệ kinh tế, sinh thái [14-16].

Sau khi xác định được bốn nhóm yếu tố như vậy, trong các hệ động, phần mềm MM&S đã sử dụng bốn biểu tượng cho các yếu tố của bốn nhóm yếu tố và thể hiện cấu trúc của các hệ động một cách trực quan, thông qua sơ đồ các hệ động. Mỗi yếu tố của hệ động thuộc nhóm nào sẽ được thể hiện trên sơ đồ mô phỏng bằng biểu tượng tương ứng của nhóm yếu tố đó. Tương tác giữa các yếu tố được thể hiện qua các đường liên kết với mũi tên đi từ yếu tố tác động đến yếu tố chịu tác động. Do đặc tính vốn có, nên các yếu tố không đổi chỉ tác động lên các yếu tố khác mà không bị các yếu tố khác tác động. Chính vì vậy, trên sơ đồ mô phỏng sẽ không có đường liên kết với mũi tên đi đến yếu tố không đổi. Hệ thống bao gồm các yếu tố có tương tác với nhau, nên không thể có một yếu tố không có mối liên hệ với các yếu tố khác trong sơ đồ mô phỏng.

So với phần mềm STELLA [4, 5] chỉ dùng hai biểu tượng để thể hiện cấu trúc hệ động (hình 1), MM&S với bốn biểu tượng đại diện cho bốn nhóm yếu tố có thể thể hiện cấu trúc hệ động rõ ràng hơn (hình 3, 4 và 5).

Bằng việc cho nạp thông tin của các yếu tố vào mô hình thông qua các hộp thoại thông tin yếu tố hệ thống, MM&S không chỉ thể hiện được cấu trúc của hệ thống dưới dạng thành phần và mối tương tác giữa các yếu tố, sơ đồ mô phỏng của MM&S còn có được bản chất định lượng của các mối tương tác giữa các yếu tố trong hệ động. Mỗi yếu tố của hệ thống được đại diện trong mô hình bằng một biến hoặc hằng (đối với yếu tố không đổi). Giá trị của các yếu tố tác động được sử dụng trong các biểu thức tính toán cho các yếu tố trung gian và trong các biểu thức của các hệ số biến đổi của các yếu tố trạng thái. Giá trị ban đầu của các yếu tố trạng thái và giá trị của các yếu tố không đổi quyết định trạng thái xuất phát của hệ thống. Sau mỗi bước thời gian, các yếu tố trung gian và hệ số biến đổi của các yếu tố trạng thái được tính từ giá trị của các yếu tố khác ở thời điểm trước, và giá trị mới của yếu tố trạng thái được tính bằng việc cộng giá trị ở thời điểm trước với hệ số biến đổi của nó vừa tính được ở bước thời gian này.

Kết quả của các bước tính toán là một tập hợp số liệu phản ánh biến động của các yếu tố trong khoảng thời gian mà ta xem xét hệ. Đồ thị thời gian được vẽ từ những số liệu này, thể hiện một cách trực quan biến động các yếu tố của hệ theo thời gian, còn đồ thị pha cho thấy tương quan biến động giá trị giữa các yếu tố của hệ theo thời gian. Động thái của hệ cũng có thể được phân tích dưới ảnh hưởng biến động của các tham số (yếu tố không đổi). Sau khi người dùng lựa chọn tham số và bước nhảy (mức biến động của tham số), lựa chọn chế độ phân tích độ nhạy và các yếu tố để vẽ đồ thị, MM&S sẽ lần lượt tính toán mô hình khi tham số được chọn biến động từ giá trị nhỏ nhất đến giá trị lớn nhất trải qua từng bước tăng thêm bằng giá trị bước nhảy. Sau mỗi lần tính

toán mô hình, đồ thị được lựa chọn sẽ được vẽ dựa trên các số liệu mới thu được. Quy trình này sẽ mang lại một cái nhìn trực quan về tác động của biến động tham số đã chọn đến động thái của giá trị các yếu tố (trên đồ thị thời gian) và đến động thái tương quan biến động giá trị giữa các yếu tố của hệ (trên đồ thị pha).

MM&S quy định khuôn thức riêng cho tệp mô hình dạng văn bản (*.ptm), tệp đồ thị (*.stm), tệp sơ đồ mô phỏng (*.vec) và tệp bảng kết quả (*.tbl). Từ sơ đồ mô phỏng hoàn thiện kèm theo đầy đủ các thông tin giá trị và biểu thức, có thể xuất mô hình ra tệp mô hình dạng văn bản. Tệp mô hình dạng văn bản chỉ chứa mô hình toán, trong khi tệp sơ đồ mô phỏng hoàn thiện chứa cả thông tin trực quan cấu trúc hệ (sơ đồ tương tác giữa các yếu tố) và mô hình toán. Tệp đồ thị chứa thông tin tọa độ đồ thị, vì vậy MM&S có thể vẽ chậm đồ thị trong tệp tạo hiệu ứng trực quan về biến động giá trị các yếu tố (đồ thị thời gian) và tương quan biến động giá trị giữa các yếu tố của hệ (trên đồ thị pha).

Phiên bản mới nhất của MM&S đã được bổ sung tính năng chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh. Bất cứ thời điểm nào người dùng cũng có thể nhấn chuột lên nút chuyển đổi ngôn ngữ để chuyển đổi chế độ từ tiếng Việt sang tiếng Anh và ngược lại. MM&S chỉ chuyển đổi ngôn ngữ các giao diện người dùng, vì vậy các thông tin của các yếu tố hệ thống (như tên yếu tố, tên biến) viết bằng tiếng Việt sẽ vẫn được giữ nguyên khi người dùng đã chọn chuyển sang môi trường tiếng Anh.

5. Kết luận

Tính năng chuyển đổi ngôn ngữ Việt - Anh đã được bổ sung cho phần mềm MM&S, cho phép chuyển đổi ngôn ngữ trong giao diện người dùng ở bất cứ thời điểm nào. Khi chuyển đổi ngôn ngữ, chỉ giao diện người dùng được thay đổi tên các yếu tố hệ thống, các biến trong sơ đồ mô phỏng và trong bảng kết quả tính toán mô hình vẫn giữ nguyên. Phần mềm MM&S là một công cụ chung cho việc xây dựng mô hình và tính toán, phân tích mô phỏng các hệ động có bản chất hoàn toàn khác nhau. Phần mềm MM&S thể hiện cấu trúc của hệ một cách trực quan thông qua các biểu tượng của bốn nhóm yếu tố và các đường liên kết với mũi tên đi từ yếu tố tác động đến yếu tố bị tác động. Phần mềm MM&S có khả năng tính toán mô hình từ sơ đồ mô phỏng hoặc từ tệp mô hình dạng văn bản. Ngoài ra, phần mềm MM&S còn hỗ trợ vẽ đồ thị thời gian và đồ thị pha cả ở chế độ vẽ bình thường và chế độ vẽ chậm, tạo hiệu ứng trực quan về động thái của hệ. Phần mềm MM&S cho phép lưu các tệp mô hình dạng văn bản, tệp đồ thị, tệp sơ đồ mô phỏng và tệp bảng kết quả tính toán mô hình để có thể mở lại và dùng trong các phiên bản tiếp theo. Trong tương lai, tác giả sẽ bổ sung tính năng chuyển đổi sang các ngôn ngữ khác cho phần mềm này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Bossel (1992), *Modellbildung und Simulation*, Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/Wiesbaden, 400pp.
- [2] N.V. Sinh (2013), "Change rate concepts and their realization in the MM&S: A computer program for modeling and simulation of dynamic systems", *Innovations and Advances in Computer, Information, Systems Sciences, and Engineering*, Springer, pp.1-13, DOI: 10.1007/978-1-4614-3535-8_1.
- [3] H. Bossel (1986), *Ecological Systems Analysis: An Introduction to Modelling and Simulation*, German Foundation for International Development, 180pp.
- [4] ISEE systems INC (2025), <https://www.iseesystems.com/resources/tutorials/>, accessed 1 July 2025.
- [5] R. Costanza, A. Voinov (2001), "Modelling ecological and economic systems with STELLA: Part III", *Ecological Modelling*, **143**(1-2), pp.1-7, DOI: 10.1016/S0304-3800(01)00358-1.
- [6] N.V. Sinh (2011a), *Research on Modelling Major Planted Forest Ecosystems in Northeast Vietnam to Propose Sustainable Development Solutions*, Final Report of a Research Project Funded by The Vietnam Academy of Science and Technology (in Vietnamese).
- [7] N.V. Sinh (2011b), *Modeling Dynamic Systems with Listed Elements: New Features of MM&S Software after Adding Table Functions*, Scientific Report on Ecology and Biological Resources, 4th National Scientific Conference, pp.1778-1783 (in Vietnamese).
- [8] P. Gabrijelčič (2019), *Mastering Delphi Programming: A Complete Reference Guide*, Packt Publishing Ltd., 655pp.
- [9] N.V. Sinh (2006), "An effort to enhance the computer simulation of dynamic systems: an example with mini-world model", *Proceedings of The IUFRO International Conference: 'Patterns and Processes in Forest Landscapes - Consequences of Human Management'*, pp.543-549.
- [10] N.V. Sinh (2020), *System Analysis, Modelling and Simulation in Ecology*, Natural Science and Technology Publishing House, Vietnam Academy of Science and Technology, 186pp (in Vietnamese).
- [11] H. Bossel (2007a), *System Zoo 1 Simulation Models: Elementary Systems, Physics, Engineering*, Books on Demand GmbH, Norderstedt, Germany.
- [12] E.P. Odum (1983), *Basic Ecology*, CBS College Publishing, 689pp.
- [13] H. Bossel (2007b), *Systems and Models: Complexity, Dynamics, Evolution, Sustainability*, Books on Demand GmbH, 359pp.
- [14] N.H. Manh, N.V. Sinh, N.M. Hung (2011), *Modeling and Simulation of a Household Economic System with Pine Tree Plantations in Huu San Commune, Son Dong District, Bac Giang Province*, Scientific Report on Ecology and Biological Resources, 4th National Scientific Conference, pp.1706-1712 (in Vietnamese).
- [15] L.C. Vinh, H.T.M. Ly, N.V. Sinh (2013), *Application of MM&S Software in Modeling and Simulating The Economic-Ecological System of Thanh Xuan Insect Farm at 119 Tam Trinh, Mai Dong, Hoang Mai, Hanoi and Hop Village, My Phuc, My Loc, Nam Dinh*, Scientific Report on Ecology and Biological Resources, 5th National Scientific Conference, pp.1723-1730 (in Vietnamese).
- [16] D.T.N. Anh, N.V. Sinh (2015), *Modeling and Simulating The Ecological Economic System of Households in Khe Ro Sub-district, Tay Yen Tu Nature Reserve, Son Dong District, Bac Giang Province*, Scientific Report on Ecology and Biological Resources, 6th National Scientific Conference, pp.1277-1282 (in Vietnamese).

Ảnh hưởng của điện trường ngoài và khuyết tật dạng vết nứt đến phân cực sắt điện của PbTiO_3

Trần Thế Quang^{1*}, Nguyễn Hoàng Linh^{2,3}, Đỗ Văn Trường⁴

¹Khoa Công nghệ và Kỹ thuật, Trường Đại học Thái Bình, phường Thái Bình, tỉnh Hưng Yên, Việt Nam

²Trường Đại học Quốc gia Changwon, TP. Changwon, tỉnh Gyeongsangnam, Hàn Quốc

³Viện Kỹ thuật và Công nghệ Gốm Hàn Quốc, quận Yuseong, TP. Daejeon, Hàn Quốc

⁴Trường Cơ khí, Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bạch Mai, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 17/7/2025; ngày chuyển phản biện 19/7/2025; ngày nhận phản biện 30/7/2025; ngày chấp nhận đăng 5/8/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu này sử dụng phương pháp tối ưu hóa cấu trúc nguyên tử dựa trên mô hình vỏ - lõi để khảo sát sự phụ thuộc của phân cực điện trong PbTiO_3 (PTO) vào điện trường ngoài và sự xuất hiện của khuyết tật. Kết quả cho thấy, mối quan hệ giữa độ phân cực điện P và điện trường ngoài E , được minh họa qua đường cong điện trễ, với các thông số đặc trưng: trường điện kháng $E_c = \pm 0,115 \text{ eV/\text{Å}}$, độ phân cực dư $P_r = \pm 86,8 \text{ }\mu\text{C/cm}^2$ và độ phân cực bão hòa $P_s = \pm 101,21 \text{ }\mu\text{C/cm}^2$. Sự xuất hiện của vết nứt làm P_r giảm lần lượt từ 34,9, 40,2 và 31,2% đối với các kích thước vết nứt $a \times c$, $a \times 2c$ và $2a \times c$, trong khi E_c giảm 21,7% ($a \times c$), 18,3% ($a \times 2c$), nhưng tăng 16,5% ở trường hợp $2a \times c$. Đồng thời, ứng suất tại E_c giảm 40,6% (từ 7,2 xuống 4,28 GPa), phản ánh sự gián đoạn cấu trúc. Kết quả không chỉ làm rõ cơ chế phân cực của PTO mà còn cung cấp cơ sở lý thuyết quan trọng để tối ưu hóa thiết kế thiết bị sắt điện, đặc biệt là bộ nhớ truy cập ngẫu nhiên không mất dữ liệu khi ngắt nguồn (FeRAM), cảm biến và các hệ thống điện tử điều khiển chính xác. Nghiên cứu đồng thời gợi mở hướng phát triển trong việc phân tích tương tác giữa khuyết tật cấu trúc và điện trường ngoài trong vật liệu sắt điện.

Từ khóa: điện trường ngoài, khuyết tật dạng vết nứt, mô hình vỏ - lõi, PbTiO_3 , phân cực sắt điện.

Chỉ số phân loại: 1.3, 1.8, 2.5

Effects of an external electric field and crack-like defects on the ferroelectric polarisation of PbTiO_3

The Quang Tran^{1*}, Hoang Linh Nguyen^{2,3}, Van Truong Do⁴

¹Faculty of Technology and Engineering, Thai Binh University, Thai Binh Ward, Hung Yen Province, Vietnam

²Changwon National University, Changwon City, Gyeongsangnam Province, Republic of Korea

³Korea Institute of Ceramic Engineering and Technology (KICET), Yuseong-gu District, Daejeon City, Republic of Korea

⁴School of Mechanical Engineering, Hanoi University of Science and Technology, 1 Dai Co Viet Road, Bach Mai Ward, Hanoi, Vietnam

Received 17 July 2025; revised 30 July 2025; accepted 5 August 2025

Abstract:

This study employs atomic structure optimisation based on the core-shell model to investigate the dependence of electric polarisation in PbTiO_3 (PTO) on external electric fields and the presence of defects. The results reveal the relationship between polarisation (P) and electric field (E), as illustrated by the hysteresis loop, with characteristic parameters including the coercive field $E_c = \pm 0.115 \text{ eV/\text{Å}}$, the remanent polarisation $P_r = \pm 86.8 \text{ }\mu\text{C/cm}^2$, and the saturation polarisation $P_s = \pm 101.21 \text{ }\mu\text{C/cm}^2$. The presence of cracks leads to a reduction in P_r by 34.9, 40.2, and 31.2% for crack sizes of $a \times c$, $a \times 2c$, and $2a \times c$, respectively, while E_c decreases by 21.7% ($a \times c$) and 18.3% ($a \times 2c$), but increases by 16.5% in the case of $2a \times c$. Additionally, the stress at E_c drops by 40.6% (from 7.2 to 4.28 GPa), indicating structural disruption. These findings not only elucidate the polarisation mechanism of PTO but also provide an important theoretical basis for optimising ferroelectric device design, particularly ferroelectric random access memories (FeRAM), sensors, and high-precision electronic control systems. The study also suggests future research directions for investigating the interaction between structural defects and external electric fields in ferroelectric materials.

Keywords: core-shell model, crack-like defect, external electric field, ferroelectric polarisation, PbTiO_3 .

Classification numbers: 1.3, 1.8, 2.5

*Tác giả liên hệ: Email: tranthequang12@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Vật liệu sắt điện PbTiO_3 (PTO) đang thu hút nhiều sự quan tâm từ cộng đồng khoa học và ngành công nghiệp nhờ vào các đặc tính vượt trội như khả năng phân cực điện và ứng dụng tiềm năng trong các thiết bị công nghệ cao. Những ứng dụng nổi bật bao gồm FeRAM [1], bộ chuyển đổi điện (transducers) [2] và cảm biến [3]. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu lý thuyết và thực nghiệm đã đạt được nhiều thành công trong việc làm sáng tỏ cơ chế hình thành phân cực điện trong vật liệu sắt điện [4, 5]. Điển hình như mô hình lý thuyết của Cohen và Krakauer đã chứng minh rằng liên kết hóa học giữa các nguyên tử đóng vai trò quan trọng trong việc xác định tính chất sắt điện của BaTiO_3 (BTO) và PTO bằng phương pháp nguyên lý đầu (ab initio), nhấn mạnh ảnh hưởng của cấu trúc nguyên tử [4]. Ngoài ra, nghiên cứu của Y. Chen và cs (2019) [5] đã chỉ ra rằng, độ phân cực điện phụ thuộc mạnh vào cường độ tức thời của điện trường tác dụng, đồng thời cơ chế đảo chiều phân cực dưới tác động của các xung điện cũng đã được làm sáng tỏ. Tuy nhiên, các nghiên cứu trước đây ít chú trọng đến ứng xử của phân cực điện dưới tác dụng của điện trường và khuyết tật dạng vết nứt trong quá trình hoạt động của các linh kiện điện tử dựa trên PTO, mặc dù đây là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến độ tin cậy và hiệu suất.

Phương pháp tính toán dựa trên nguyên lý đầu - nền tảng cơ học lượng tử - là một công cụ đáng tin cậy, thường được sử dụng để mô phỏng và xác định các tính chất của vật liệu sắt điện [6]. Ưu điểm của phương pháp này là khả năng dự đoán tính chất mà không cần dữ liệu thực nghiệm ban đầu, nhưng nó có hạn chế như chỉ áp dụng hiệu quả cho mô hình có số lượng nguyên tử nhỏ (vài chục nguyên tử), thời gian tính toán kéo dài và thường giới hạn ở điều kiện nhiệt độ 0 K. Trong những năm gần đây, mô hình vỏ - lõi [7] đã cải thiện các nhược điểm trên bằng cách cho phép mô phỏng hệ thống có số lượng nguyên tử lớn (hàng nghìn nguyên tử), tiệm cận với cấu trúc thực tế, giảm thời gian tính toán và đặc biệt hỗ trợ mô phỏng ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau (>0 K) [8]. Nhờ những ưu điểm vượt trội này, mô hình vỏ - lõi đã trở thành một trong những phương pháp tính toán hiệu quả, được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu các tính chất phân cực điện của vật liệu, đặc biệt trong các hệ thống phức tạp và dưới các điều kiện môi trường khác nhau.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng phương pháp tối ưu hóa cấu trúc nguyên tử dựa trên mô hình vỏ - lõi để khảo sát chi tiết tính chất phân cực điện của vật liệu PTO dưới tác dụng của điện trường ngoài. Bên cạnh

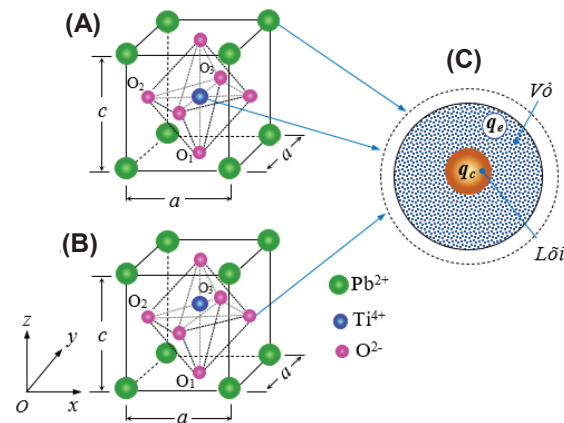
đó, nghiên cứu cũng tập trung phân tích ảnh hưởng của khuyết tật dạng vết nứt đến đặc tính này. Mục tiêu chính là làm sáng tỏ mối quan hệ giữa cấu trúc vi mô, điện trường và khuyết tật với tính chất phân cực của PTO, từ đó cung cấp cơ sở khoa học để cải tiến thiết kế và nâng cao hiệu suất của các thiết bị dựa trên vật liệu sắt điện.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Mô hình mô phỏng

Vật liệu sắt điện PTO là đối tượng nghiên cứu trong công trình này, với cấu trúc pha thuận điện (pha cubic), được minh họa trong hình 1A và pha sắt điện (pha lăng trụ tứ giác - tetragonal) như mô tả trên hình 1B. Hình 1C trình bày mô hình vỏ - lõi, trong đó mỗi nguyên tử được mô tả như một hệ thống gồm hai phần: vỏ và lõi [7]. Phần vỏ được mô tả tương ứng với đám mây điện tử có điện tích là q_v , phần lõi tương ứng là hạt nhân nguyên tử có điện tích là q_c [9]. Tổng điện tích của nguyên tử được xác định bởi tổng q_v và q_c , phản ánh sự cân bằng điện tích trong cấu trúc nguyên tử.

$$q = q_v + q_c \quad (1)$$



Hình 1. Mô hình cấu trúc ô đơn vị của PTO. (A) Pha thuận điện - Cubic; **(B)** Pha sắt điện - Tetragonal; **(C)** Mô hình vỏ - lõi.

Trong nghiên cứu này, các tính toán được thực hiện trên mô hình vật liệu PTO ở pha sắt điện, với cấu trúc đã được tối ưu hóa và tọa độ chi tiết của các nguyên tử được liệt kê trong bảng 1. Điều kiện biên chu kỳ được áp dụng trên cả ba phương x, y và z, để mô phỏng một hệ thống vô hạn, từ đó loại bỏ các hiệu ứng bề mặt và đảm bảo tính đại diện của cấu trúc. Quá trình mô phỏng được thực hiện bằng phương pháp tính toán tối ưu hóa cấu trúc nguyên tử dựa trên mô hình vỏ - lõi [7], cho phép mô tả chính xác các tương tác giữa các nguyên tử và các hiệu ứng phân cực đặc trưng của vật liệu sắt điện. Để đạt được độ chính xác cao và hiệu quả tính toán, nghiên cứu

sử dụng sự kết hợp hai thuật toán tối ưu hóa: thuật toán tối ưu Newton-Raphson, giúp tăng tốc độ hội tụ trong quá trình tối ưu và giải thuật cực tiểu Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS), một phương pháp hiệu quả trong tối ưu hóa các bài toán phi tuyến tính. Toàn bộ quá trình mô phỏng và tính toán được thực hiện thông qua phần mềm General Utility Lattice Program (GULP) [10], một công cụ linh hoạt và hiệu quả cho mô phỏng vật liệu ở kích thước nguyên tử. Phần mềm này cho phép thực hiện các tính toán phức tạp về cấu trúc và tính chất của PTO một cách hiệu quả, hỗ trợ phân tích chi tiết các đặc tính vật liệu trong điều kiện mô phỏng.

Bảng 1. Tọa độ nguyên tử của PTO ở cấu trúc lăng trụ tứ giác.

Tọa độ (Å)	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>
Nguyên tử			
Pb	0,0000	0,0000	0,0000
Ti	0,5000	0,5000	0,5337
O ₁	0,5000	0,5000	0,0902
O ₂	0,0000	0,5000	0,6050
O ₃	0,5000	0,0000	0,6050

2.2. Phân cực sắt điện

Hiện tượng phân cực trong vật liệu PTO xảy ra do sự chuyển dịch tương đối giữa phần vỏ (đại diện cho đám mây điện tử) và lõi (đại diện cho hạt nhân) của các nguyên tử trong cấu trúc tinh thể. Khi có tác động từ bên ngoài, chẳng hạn như điện trường, tâm của đám mây điện tử không còn trùng với tâm hạt nhân, dẫn đến sự hình thành các phân cực điện vi mô tại từng vị trí nguyên tử. Sự tổng hợp của các phân cực vi mô này tạo nên tổng phân cực điện (*P*) của vật liệu. Để định lượng hiện tượng này, độ phân cực điện trong một ô đơn vị của PTO được tính toán dựa trên công thức sau [11]:

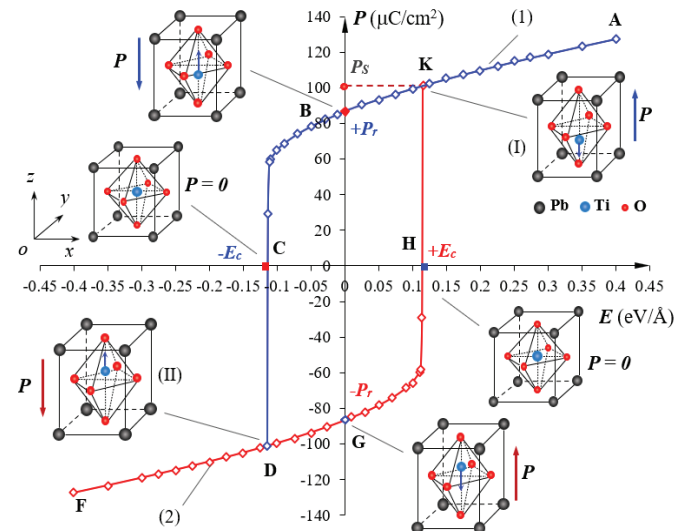
$$P = \frac{1}{V} \sum_m \frac{1}{w_m} q_m (r_m - r_A) \quad (2)$$

trong đó: *V* là thể tích ô đơn vị. *q_m*, *r_m* lần lượt là điện tích và vector vị trí của nguyên tử thứ *m*. *r_A* là vector vị trí tham chiếu đối với lõi nguyên tử A (nguyên tử trung tâm, trong trường hợp này là nguyên tử Ti) và tổng cộng 29 hạt còn lại trong ô đơn vị được xem xét, tương ứng với thành phần cấu trúc của PTO bao gồm 8 nguyên tử Pb ở các đỉnh, 1 nguyên tử Ti ở trung tâm và 6 nguyên tử O phân bố trên các mặt của ô đơn vị. *w_m* là hệ số chia sẻ nguyên tử được gán như sau: 8 cho Pb, 1 cho Ti và 2 cho O, mô tả mức độ đóng góp của từng loại nguyên tử vào *P* của vật liệu, dựa trên vai trò và phân bố điện tích của chúng trong mạng tinh thể.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của điện trường đến sự phân cực điện

Mô hình khảo sát được thiết lập với điện trường ngoài (*E*) trong khoảng từ -0,4 đến +0,4 eV/Å, ở nhiệt độ 0 K và phân cực điện ban đầu (*P*) định hướng theo trục *z* dương (+*z*). Hình 2 minh họa mối quan hệ giữa phân cực điện (*P*) và điện trường ngoài (*E*) của vật liệu PbTiO₃. Trong đó, giá trị của *P* tại điểm mà điện trường *E* bằng 0 (điểm B và G) được định nghĩa là độ phân cực dư (*P_r*, ±*P_r*), đại diện cho mức độ phân cực điện tự phát của vật liệu ở trạng thái tự nhiên, khi không có điện trường ngoài tác dụng. Cường độ điện trường cần thiết để đưa phân cực *P* về 0 (điểm C và H) được gọi là trường điện kháng (*E_c*, ±*E_c*). Ngoài ra, giá trị của *P* tại *E_c*=±0,115 eV/Å (điểm K và D) được xác định là độ phân cực bão hòa (*P_s*, ±101,21 μC/cm²), phản ánh mức phân cực tối đa của vật liệu. Mối quan hệ giữa *P* và *E* được thể hiện qua một chu trình điện trễ hay còn gọi là đường cong điện trễ (ABCDFGHKA), được mô tả chi tiết trong hình 2.



Hình 2. Đường cong điện trễ của vật liệu PTO.

Phân tích kết quả thu được cho thấy độ phân cực *P* phụ thuộc trực tiếp vào điện trường ngoài *E*, được thể hiện qua đường cong điện trễ. Đường cong này có thể chia thành hai nhánh: ABCDF (nhánh 1) và FGHKA (nhánh 2), phản ánh các trạng thái khác nhau của cấu trúc tinh thể. Ở nhánh 1, trong trạng thái ban đầu (trạng thái I), nguyên tử Ti nằm ở phía dưới và cách xa vị trí lý tưởng (chính tâm ô đơn vị) khi điện trường ngoài đạt *E*=+0,4 eV/Å. Khi điện trường ngoài giảm từ +0,4 xuống -0,115 eV/Å, độ phân cực *P* giảm theo xu hướng gần

như tuyến tính. Sự giảm này xảy ra do nguyên tử Ti dần chuyển dịch về gần vị trí chính tâm của ô đơn vị. Tại $E=0$ (điểm B), vật liệu có độ phân cực dư $P_r=+86,8 \mu\text{C}/\text{cm}^2$, biểu thị mức phân cực tự phát trong trạng thái không có điện trường. Đặc biệt, khi E giảm đến $-0,115 \text{ eV}/\text{\AA}$ (điểm C), độ phân cực điện bị triệt tiêu hoàn toàn ($P=0$), do nguyên tử Ti di chuyển chính xác về vị trí chính tâm của cấu trúc tinh thể. Nếu tiếp tục giảm điện trường, cấu trúc tinh thể chuyển sang trạng thái II, khi đó nguyên tử Ti dịch chuyển lên phía trên của vị trí lý tưởng. Quá trình này diễn ra nhanh chóng (đoạn CD), dẫn đến đảo chiều phân cực, đạt giá trị $P=-101,21 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ tại điểm D, phản ánh mức phân cực bão hòa âm. Ngược lại với nhánh 1, khi điện trường tăng dần từ $-0,4$ đến $0,115 \text{ eV}/\text{\AA}$, độ phân cực P tăng theo xu hướng gần như tuyến tính. Tại $E=0$ (điểm G), độ phân cực dư ở trạng thái II đạt $P_r=-86,8 \mu\text{C}/\text{cm}^2$, tương ứng với trạng thái phân cực tự phát ngược chiều. Khi E tăng đến $0,115 \text{ eV}/\text{\AA}$ (điểm H), độ phân cực lại bị triệt tiêu ($P=0$), do nguyên tử Ti trở về vị trí chính tâm của cấu trúc. Khi tiếp tục tăng điện trường, cấu trúc tinh thể chuyển về trạng thái I (đoạn HK), với phân cực đảo chiều một lần nữa, đạt $P=+101,21 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ tại điểm K, hoàn thành chu trình điện trễ. Quá trình này lặp lại theo chiều ngược lại với nhánh 1, tạo thành một vòng tuần hoàn ổn định.

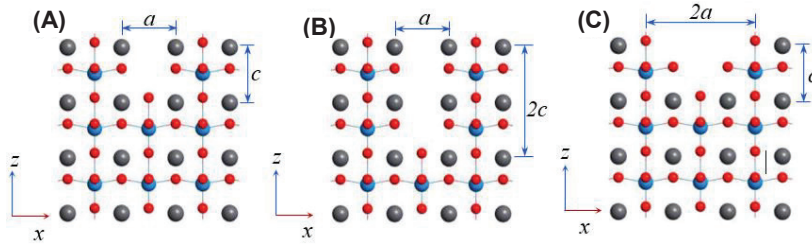
Kết quả nghiên cứu cho thấy, có mối quan hệ chặt chẽ giữa độ phân cực P và điện trường ngoài E trong vật liệu PbTiO_3 . Cụ thể, khi E tăng, P cũng tăng theo, tuy nhiên khi E đạt đến giá trị tới hạn (trường điện kháng E_c), P đảo chiều. Khi E giảm, P giảm tương ứng. Đáng chú ý, chiều của P luôn đồng thuận với chiều của E , nhưng ngược với chiều dịch chuyển của nguyên tử Ti trong mạng tinh thể. Điều này cho thấy sự lệch khỏi vị trí lý tưởng của nguyên tử Ti tạo ra điện trường nội tại tác động đến P và dịch chuyển ngược chiều phản ánh cơ chế đảo chiều phân cực đặc trưng của vật liệu sắt điện. Mối quan hệ P - E được biểu diễn qua đường cong điện trễ, thể hiện một chu trình tuần hoàn lặp lại liên tục khi điện trường ngoài thay đổi chiều. Đường cong này gồm hai nhánh đối xứng, phù hợp với các nghiên cứu trước đây [12-14], qua đó khẳng định tính ổn định và khả năng tái lập chu kỳ của hiện tượng. Từ đường cong điện trễ, các thông số quan trọng của vật liệu sắt điện PbTiO_3 đã xác định được, bao gồm: độ phân cực dư $P_r=\pm 86,8 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ (mức phân cực tự phát tại $E=0$), độ phân cực bão hòa $P_s=\pm 101,21 \mu\text{C}/\text{cm}^2$

(mức phân cực tối đa tại E_c) và trường điện kháng $E_c=\pm 0,115 \text{ eV}/\text{\AA}$, (điện trường cần thiết để triệt tiêu P). Những giá trị này cung cấp thông tin quan trọng về đặc tính sắt điện của PbTiO_3 , bao gồm khả năng đảo chiều phân cực và phản ứng với điện trường, có thể được sử dụng để so sánh với kết quả thực nghiệm hoặc dự đoán hành vi của vật liệu trong các ứng dụng thực tế như bộ nhớ sắt điện hoặc cảm biến.

3.2. Ảnh hưởng của khuyết tật (vết nứt) đến đường cong điện trễ

Mô hình cấu trúc của vật liệu PTO được khảo sát với các vết nứt có kích thước khác nhau, cụ thể là $a \times c$, $a \times 2c$ và $2a \times c$, phân bố trên mặt phẳng (Oxz), được minh họa tương ứng trên hình 3. Quá trình hình thành sự phân cực điện P và đường cong điện trễ của các mô hình được thực hiện theo phương pháp tương tự như nghiên cứu mục 3.1. Cụ thể, quá trình này dựa trên việc tăng dần giá trị điện trường ngoài E trong khoảng từ $-0,4 \text{ eV}/\text{\AA}$ đến $+0,4 \text{ eV}/\text{\AA}$, từ đó đánh giá ảnh hưởng của E đến P và đặc tính sắt điện của vật liệu, ngay cả khi có sự hiện diện của các vết nứt.

Ảnh hưởng của kích thước vết nứt đến mối quan hệ P - E được mô tả trên hình 4. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng cả độ phân cực dư P_r và trường điện kháng E_c đều bị suy giảm khi xuất hiện vết nứt trong cấu trúc vật liệu PTO. Cụ thể, P_r giảm dần khi kích thước vết nứt tăng theo phương z , trong khi E_c lại có xu hướng tăng khi kích thước vết nứt phát triển theo phương x . Hiện tượng này có thể được lý giải dựa trên sự thay đổi trong cấu trúc tinh thể: sự xuất hiện vết nứt dẫn đến mất mát một số nguyên tử, đặc biệt là nguyên tử Ti, làm giảm số lượng lưỡng cực điện (dipoles) đóng góp vào độ phân cực, từ đó làm giảm P_r . Đồng thời, sự mất mát nguyên tử Ti cũng ảnh hưởng đáng kể đến E_c , do sự gián đoạn cấu trúc tinh thể làm thay đổi ngưỡng điện trường cần thiết để đảo chiều phân cực. Tại vết nứt có kích thước $a \times c$, P_r đạt $56,53 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ và tại vết nứt $a \times 2c$, P_r giảm xuống còn $51,88 \mu\text{C}/\text{cm}^2$, tương ứng với mức giảm lần lượt 34,9 và 40,2% so với trạng thái tự nhiên (chưa có vết nứt, $P_r=86,8 \mu\text{C}/\text{cm}^2$). Trong khi đó, E_c cũng giảm tương ứng, lần lượt là $\pm 0,090$ (21,7%) và $\pm 0,094 \text{ eV}/\text{\AA}$ (18,3%) so với giá trị ban đầu ($E_c=\pm 0,115 \text{ eV}/\text{\AA}$). Tuy nhiên, trong trường hợp vết nứt có kích thước là $2a \times c$, P_r chỉ giảm 31,2% (tương đương $\sim 59,7 \mu\text{C}/\text{cm}^2$) nhưng E_c lại tăng

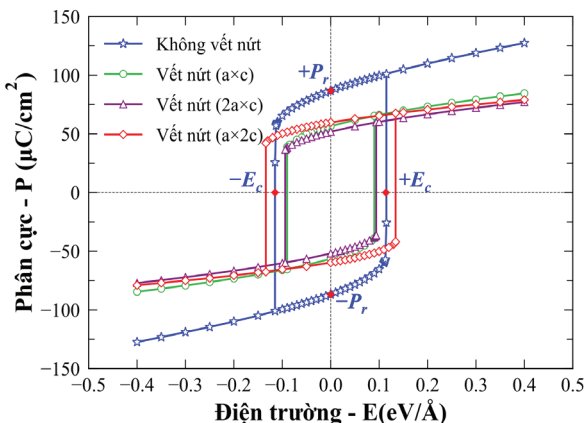


Hình 3. Mô hình vết nứt với các kích thước. (A) $a \times c$; (B) $a \times 2c$; (C) $2a \times c$.

lên $\pm 0,134 \text{ eV/\AA}$ (16,5%), cho thấy sự thay đổi phức tạp trong hành vi điện khi kích thước vết nứt thay đổi theo hướng khác.

Như vậy, có thể thấy kích thước và phương của vết nứt trên mặt phẳng (Oxz) có tác động đáng kể đến P_r và E_c của PTO. Sự suy giảm P_r và biến động của E_c phản ánh tác động của mất mát nguyên tử Ti và sự gián đoạn cấu trúc, cung cấp cơ sở quan trọng để đánh giá độ bền cơ điện của vật liệu trong các ứng dụng thực tế khi xuất hiện khuyết tật, chẳng hạn như trong thiết bị lưu trữ hoặc cảm biến (hình 4).

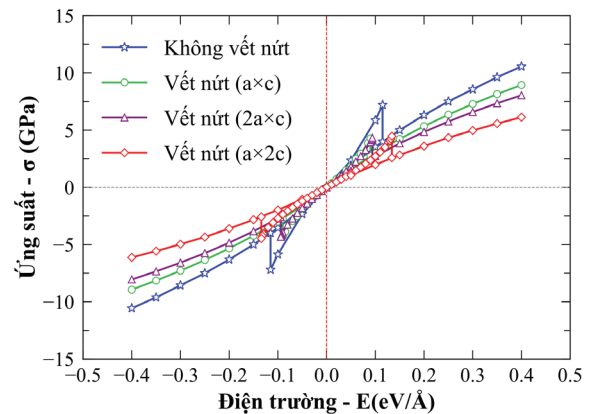
Hình 5 mô tả mối quan hệ giữa ứng suất (σ) và điện trường ngoài (E) trong vật liệu PTO khi tồn tại các vết nứt với kích thước khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ứng suất tại trường điện kháng E_c giảm khi xuất hiện vết nứt, với mức suy giảm đáng kể lên đến 40,6% (từ 7,2 xuống 4,28 GPa tại vết nứt $a \times c$). Về bản chất, hiện tượng này xuất phát từ sự mất liên kết giữa các nguyên tử tại khu vực khuyết tật dạng vết nứt, gây ra sự gián đoạn mạng tinh thể và làm suy giảm khả năng truyền tải ứng suất. Khác với cơ học phá hủy cổ điển - nơi ứng suất tập trung tại đầu vết nứt, ở quy mô nguyên tử, sự gián



Hình 4. Đường cong điện trễ với các vết nứt có kích thước khác nhau.

đoạn cấu trúc này đồng thời làm suy yếu cả tính chất cơ học (độ cứng và khả năng chịu tải) và tính chất điện môi (khả năng phân cực) của vật liệu. Cụ thể, sự hiện diện của vết nứt không chỉ làm giảm ứng suất tại trường điện kháng (E_c) mà còn gây suy giảm đáng kể độ phân cực dư (P_r) và chính E_c , do việc giảm số lượng lưỡng cực điện tham gia vào quá trình định hướng phân cực. Điều này

phản ánh mối quan hệ tương hỗ giữa tính toàn vẹn cấu trúc và các tính chất vật lý của vật liệu sắt điện. Những kết quả này cung cấp cơ sở quan trọng để hiểu rõ ảnh hưởng của khuyết tật dạng vết nứt đến tính chất cơ-điện của PbTiO_3 , đồng thời gợi mở hướng nghiên cứu và phát triển nhằm tối ưu hóa vật liệu cho các ứng dụng đòi hỏi độ bền và độ ổn định cao.



Hình 5. Quan hệ giữa ứng suất σ và điện trường E với các vết nứt khác nhau.

4. Kết luận

Nghiên cứu này tập trung khảo sát ảnh hưởng của điện trường ngoài E và khuyết tật dạng vết nứt đến sự phân cực điện của vật liệu PTO, thông qua phương pháp tối ưu hóa cấu trúc tinh thể trên cơ sở mô hình vỏ - lõi. Các kết quả chính có thể tóm tắt như sau:

- Mối quan hệ giữa phân cực P và điện trường ngoài E được mô tả bằng đường cong điện trễ, với các thông số đặc trưng bao gồm trường điện kháng $E_c = \pm 0,115 \text{ eV/\AA}$, độ phân cực dư $P_r = \pm 86,8 \text{ } \mu\text{C/cm}^2$ và độ phân cực bão hòa $P_s = \pm 101,21 \text{ } \mu\text{C/cm}^2$;

- Sự xuất hiện của khuyết tật (vết nứt) dẫn đến sự suy giảm của P_r và E_c , với mức độ giảm dần khi kích thước vết nứt phát triển theo phương z . Tuy nhiên, E_c tăng khi

kích thước mở rộng theo phương x , phản ánh tính bất đẳng hướng của ảnh hưởng khuyết tật;

- Ứng suất tại E_c giảm khi xuất hiện vết nứt, cho thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa tính chất cơ học và điện của vật liệu.

Những kết quả này cung cấp thông tin quan trọng về đặc tính phân cực điện của PTO và tác động của các yếu tố ngoại vi như khuyết tật, điện trường ngoài giúp làm sáng tỏ mối quan hệ giữa cấu trúc tinh thể và tính chất điện. Kết quả có ý nghĩa thiết yếu trong việc tối ưu hóa thiết kế các thiết bị dựa trên PTO, chẳng hạn như bộ nhớ sắt điện hoặc cảm biến và mở ra hướng phát triển mới thông qua việc kiểm soát khuyết tật và điện trường ngoài để nâng cao hiệu suất vật liệu. Tuy nhiên, cần tiến hành thêm các nghiên cứu sâu hơn để làm rõ cơ chế tương tác giữa các yếu tố này, từ đó thúc đẩy sự phát triển của các ứng dụng tiên tiến trong lĩnh vực điện tử và năng lượng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C.S. Hwang, T. Mikolajick (2019), "Ferroelectric memories", *Advances in Non-Volatile Memory and Storage Technology (Second Edition)*, Woodhead Publishing, pp.393-441, DOI: 10.1016/B978-0-08-102584-0.00012-7.
- [2] S. Zhang, F. Li, X. Jiang, et al. (2015), "Advantages and challenges of relaxor-PbTiO₃ ferroelectric crystals for electroacoustic transducers-A review", *Prog. Mater. Sci.*, **68**, pp.1-66, DOI: 10.1016/j.pmatsci.2014.10.002.
- [3] K. Yao, S. Chen, S.C. Lai, et al. (2022), "Enabling distributed intelligence with ferroelectric multifunctionalities", *Advanced Science*, **9**(1), DOI: 10.1002/advs.202103842.
- [4] R.I. Eglitis (2014), "Ab initio calculations of SrTiO₃, BaTiO₃, PbTiO₃, CaTiO₃, SrZrO₃, PbZrO₃ and BaZrO₃ (001), (011) and (111) surfaces as well as F centers, polarons, KTN solid solutions and Nb impurities therein", *International Journal of Modern Physics B*, **28**(17), DOI: 10.1142/S0217979214300096.
- [5] Y. Chen, Y. Chen, Y. Du, et al. (2019), "Influence of polarisation, reorientation, and coupling of dipole on electrocaloric effect in ferroelectrics", *International Journal of Applied Ceramic Technology*, **17**, pp.1382-1391, DOI: 10.1111/ijac.13411.
- [6] M.A. Morales, R. Clay, C. Pierleoni, et al. (2014), "First principles methods: A perspective from quantum Monte Carlo", *Entropy*, **16**(1), pp.287-321, DOI: 10.3390/e16010287.
- [7] H. Zou, Z. Luo, X. Yang, et al. (2022), "Toward emerging applications using core-shell nanostructured materials: A review", *Journal of Materials Science*, **57**(18), pp.10912-10942, DOI: 10.1007/s10853-022-07328-z.
- [8] T.Q. Tran, V.H. Nguyen, L.H. Nguyen, et al. (2021a), "Evaluation of potential function of core-shell model for PbTiO₃ ferroelectric material and its application for polarisation calculation", *JST: Engineering and Technology for Sustainable Development*, **31**(2), pp.72-78, DOI: 10.51316/jst.149.etsd.2021.31.2.12.
- [9] T.Q. Tran (2022), *Mechanical and Physical Properties of Ferroelectric Materials at the Nanoscale*, Doctoral Thesis in Mechanics, Hanoi University of Science and Technology, 225pp (in Vietnamese).
- [10] J.D. Gale (2005), "GULP: Capabilities and prospects", *Zeitschrift für Kristallographie - Crystalline Materials*, **220**(5-6), pp.552-554, DOI: 10.1524/zkri.220.5.552.65070.
- [11] T.Q. Tran, V.H. Nguyen, L.H. Nguyen, et al. (2021b), "Investigating effect of strain and geometric defects on single polarisation vortex in PbTiO₃ nanowires", *JST: Engineering and Technology for Sustainable Development*, **31**, pp.108-114, DOI: 10.51316/jst.149.etsd.2021.31.2.18.
- [12] R. Nishino, T.C. Fujita, F. Kagawa, et al. (2020), "Evolution of ferroelectricity in ultrathin PbTiO₃ films as revealed by electric double layer gating", *Scientific Reports*, **10**(1), DOI: 10.1038/s41598-020-67580-8.
- [13] R.W. Whatmore (2017), *Springer Handbook of Electronic and Photonic Materials*, Springer International Publishing, 614pp.
- [14] I. Chilibon, J.N.M. Mendes (2012), "Ferroelectric ceramics by sol-gel methods and applications: A review", *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **64**(3), pp.571-611, DOI:10.1007/s10971-012-2891-7.

Ảnh hưởng của dung môi chiết đến thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của cao chiết lá măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.)

Phẩm Minh Thu^{1*}, Lưu Lê Khanh¹, Nguyễn Lê Thùy Linh², Nguyễn Văn Chí³

¹Khoa Dược, Trường Đại học Văn Lang, 69/68 Đặng Thùy Trâm, phường Bình Lợi Trung, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Công ty TNHH Sản xuất Dược phẩm Nanogen Lâm Đồng, xã Đức Trọng, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

³Khoa Công nghệ, Trường Đại học Công nghệ Đồng Nai, 206 Nguyễn Khuyến, phường Trảng Dài, tỉnh Đồng Nai, Việt Nam

Ngày nhận bài 5/7/2025; ngày chuyển phản biện 7/7/2025; ngày nhận phản biện 26/7/2025; ngày chấp nhận đăng 2/8/2025

Tóm tắt:

Lá măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học, nhưng ảnh hưởng của loại dung môi sử dụng trong quá trình chiết xuất đến hiệu quả thu nhận các hợp chất này vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ. Nghiên cứu này tiến hành phân tích những thành phần hóa học và đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm của các cao chiết khác nhau từ lá măng cầu xiêm. Kết quả thu được cho thấy, trong tổng số sáu loại dung môi khảo sát thì cao chiết nước có hiệu suất cao nhất (7,33%), cao chiết n-hexane có hiệu suất thấp nhất (3,55%). Các hợp chất alkaloid, flavonoid, polyphenol, saponin, triterpenoid, steroid thay đổi theo từng loại dung môi sử dụng. Hợp chất (Z)-13-docosenamide, (m/z=337) lần đầu tiên được phát hiện trong cao chiết ethanol, acetone, ethyl acetate và n-hexane bằng sắc ký - khối phổ (GC-MS). Bên cạnh đó, cao chiết nước có hoạt tính tốt nhất trong việc kháng *Escherichia coli* ATCC 25922 và *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 với đường kính kháng khuẩn lần lượt là 12,0 và 11,0 mm. Ngược lại, cao chiết n-hexane không thể hiện hoạt tính kháng đối với hai vi khuẩn này. Bên cạnh đó, cao ethyl acetate có hiệu quả vượt trội với *Candida albicans* ATCC 26790 với đường kính kháng nấm là 12,7 mm.

Từ khóa: ảnh hưởng của dung môi, cao chiết lá măng cầu xiêm, hợp chất có hoạt tính sinh học, kháng khuẩn, kháng nấm.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.6, 3.4

Effects of extraction solvents on the chemical composition and antimicrobial activities of soursop (*Annona muricata* L.) leaf extracts

Minh Thu Pham^{1*}, Le Khanh Luu¹, Le Thuy Linh Nguyen², Van Chi Nguyen³

¹Faculty of Pharmacy, Van Lang University, 69/68 Dang Thuy Tram Street, Binh Loi Trung Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Nanogen Lam Dong Pharmaceutical Manufacturing Co., Ltd., Duc Trong Commune, Lam Dong Province, Vietnam

³Faculty of Technology, Dong Nai Technology University, 206 Nguyen Khuyen Street, Trang Dai Ward, Dong Nai Province, Vietnam

Received 5 July 2025; revised 26 July 2025; accepted 2 August 2025

Abstract:

Soursop (*Annona muricata* L.) leaves contain various bioactive compounds; however, the effects of different extraction solvents have not been thoroughly studied. This study aims to investigate the chemical composition as well as antibacterial and antifungal activities of soursop leaf extracts obtained using various solvents. The results showed that among the six tested solvents, the aqueous extract exhibited the highest yield (7.33%), whereas the n-hexane extract had the lowest yield (3.55%). The presence of alkaloids, flavonoids, polyphenols, saponins, triterpenoids, and steroids depended on the solvent used. The compound (Z)-13-docosenamide (m/z=337) was identified for the first time in the extracts obtained with ethanol, acetone, ethyl acetate, and n-hexane by gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS). Furthermore, the aqueous extract demonstrated the most potent antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with a zone of inhibition of 12.0 and 11.0 mm, respectively, whereas the n-hexane extract displayed no antibacterial activity. Additionally, the ethyl acetate extract showcased the strongest antifungal effect against *Candida albicans* ATCC 26790 with a zone of inhibition of 12.7 mm.

Keywords: antibacterial, antifungal, bioactive compounds, solvent effects, soursop leaf extracts.

Classification numbers: 1.4, 1.6, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: thu.pm@vlu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Trong nhiều thập kỷ gần đây, các hợp chất tự nhiên có xu hướng được quan tâm nhiều vì bên cạnh các hoạt tính sinh học tốt, chúng ít tác dụng phụ và an toàn hơn. Lá mãng cầu xiêm (*Annona muricata* L.) chứa những hợp chất có hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, kháng viêm và kháng khuẩn nên được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền để điều trị và cải thiện các bệnh về da như phát ban, chàm, mụn trứng cá, tăng sắc tố da, ức chế quá trình lão hóa [1]. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, lá mãng cầu xiêm chứa nhiều hợp chất thứ cấp như alkaloid, polyphenol, flavonoid, saponin, coumarin và tanin [2, 3]. Ngoài ra, lá mãng cầu xiêm còn chứa một số khoáng chất như K, Ca, Na, Fe và Mg [4]. Các nghiên cứu trước đây chủ yếu tập trung vào việc tách chiết, phân lập và đánh giá hoạt tính sinh học của các hợp chất trong lá mãng cầu xiêm. Cụ thể, hàm lượng polyphenol tổng và flavonoid tổng đã được xác định trong các nghiên cứu trước. Ngoài ra, từ cao chiết ethyl acetate, nhiều hợp chất như vomifoliol, vomifoliol acetate, 1-O-acetylphytol, trans-phytol và dehydrovomifoliol đã được phân lập và xác định cấu trúc hóa học [5]. Thêm vào đó, kết quả nghiên cứu của N.V. Thuy và cs (2020) [6] đã cho thấy điều kiện tách chiết có ảnh hưởng đáng kể tới hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng từ lá mãng cầu xiêm.

Nghiên cứu của G. Haro và cs (2014) [7] cho thấy, dịch chiết methanol từ lá mãng cầu xiêm có hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli* và *S. aureus* cao hơn dịch chiết từ chloroform. D.R. Ningsih và cs (2016) [8] đã chứng minh rằng, dịch chiết n-hexane, chloroform và methanol của lá mãng cầu xiêm có tác dụng ngăn chặn sự tăng trưởng của *E. coli*. Có thể thấy rằng, các điều kiện chiết tách khác nhau đã làm thay đổi thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết lá mãng cầu xiêm. Trong đó, ảnh hưởng của các dung môi đến quá trình tách chiết, thu nhận và đánh giá hoạt tính sinh học của các cao chiết thu được từ lá mãng cầu xiêm vẫn chưa được khảo sát một cách toàn diện. Trên cơ sở đó, nghiên cứu này hướng tới việc khảo sát toàn diện thành phần hóa học cũng như hoạt tính kháng vi sinh vật của các mẫu cao chiết từ lá mãng cầu xiêm được chiết bằng các loại dung môi khác nhau.

2. Đối tượng, vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng và vật liệu

Đối tượng nghiên cứu là lá mãng cầu xiêm trưởng thành (màu xanh đậm, kích thước đồng đều, không bị hư hại bởi sâu rầy hay vi sinh vật), được thu hái tại xã Ka Đơn, tỉnh Lâm Đồng (vào tháng 11/2023). Mẫu thực vật

này được xác định là *Annona muricata* L. dựa trên đặc điểm hình thái và phù hợp với tiêu chuẩn đã được kiểm nghiệm [9, 10].

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: n-hexane, acetone, ethyl acetate, ethanol tuyệt đối, methanol, HCl đậm đặc, H_2SO_4 2%, $FeCl_3$ 5% và NaCl 0,9% được mua từ Công ty Xilong (Trung Quốc). Bột magie, thuốc thử dragendorff, thuốc thử Liebermann-Burchard, DMSO được mua từ hãng Sigma-Aldrich (Mỹ). Các loại môi trường Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Sabouraud Dextrose Broth (SDB), Mueller Hinton Agar (MHA) và Mueller Hinton Broth (MHB) được mua từ hãng Himedia (Ấn Độ).

Chủng vi sinh vật: *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 26790 được cung cấp bởi Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chiết cao từ lá mãng cầu xiêm: Mẫu lá trưởng thành được rửa sạch, phơi khô tự nhiên, sấy đạt độ ẩm khoảng 10%, sau đó xay thành bột và lưu trữ cho lần sử dụng kế tiếp.

Cao chiết lá mãng cầu xiêm được thực hiện dưới sự hỗ trợ của sóng siêu âm ở điều kiện: 200 W, 45°C, 45 phút, sử dụng 20 g nguyên liệu và 200 ml dung môi (n-hexane, acetone, ethyl acetate, ethanol tuyệt đối, methanol và nước) [11]. Dịch chiết được ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 5 phút, sau đó lọc qua giấy lọc Whatman có kích thước lỗ lọc 0,45 μm để loại bỏ hoàn toàn chất không hòa tan và chất rắn vi mô. Cô quay chân không dịch chiết ở 65°C/1-2 giờ để thu hồi dung môi, sau đó sục khí nitơ loại dung môi tồn dư để thu được cao. Hiệu suất cao thu được tính bằng công thức (1).

$$\text{Hiệu suất cao (\%)} = \frac{\text{Khối lượng cao thu được}}{\text{Khối lượng nguyên liệu ban đầu}} \times 100 \quad (1)$$

Xác định các hợp chất hóa học từ lá mãng cầu xiêm: Dựa trên phản ứng màu đặc trưng để xác định sự hiện diện của alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, polyphenol và steroid trong từng dịch chiết lá mãng cầu xiêm (bảng 1) [12].

Xác định thành phần các hợp chất tự nhiên của các cao chiết bằng GC-MS với các thông số thí nghiệm sau:

Cột sắc ký SH-Rxi-5Sil MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm). Pha động là khí heli tinh khiết 99,99%, với lưu lượng 1 ml/phút. Chương trình nhiệt: khởi đầu ở 80°C, tăng dần đến 90 và 100°C, duy trì 1 phút ở mỗi mức nhiệt độ; tiếp tục nâng tốc độ 20°C/phút đến 200°C, giữ 3 phút

Bảng 1. Phản ứng màu đặc trưng nhận biết các hợp chất hóa học từ lá măng cầu xiêm.

Hợp chất	Thuốc thử	Hiện tượng (+)
Alkaloid	Dragendorff	Kết tủa màu đỏ cam
Flavonoid	Cyanidin	Dung dịch màu đỏ hoặc cam
Polyphenol	FeCl ₃ 5%	Dung dịch màu xanh đậm hoặc xanh đen
Saponin	Thử nghiệm tạo bọt	Cột bọt bền trong 15 phút
Triterpenoid	Liebermann-Burchard	Hình thành lớp chất lỏng phía trên có màu hồng đến đỏ tím
Steroid	Liebermann-Burchard	Hình thành lớp chất lỏng phía trên có màu xanh đậm hoặc xanh đen

(-) không có phản ứng màu hay hiện tượng đặc trưng.

và 40°C/phút đến 280°C và giữ ở mức này trong 17 phút. Thời gian phân tích tổng cộng là 30 phút [13].

Điều kiện phân tích MS: năng lượng ion hóa: 70 eV; nhiệt độ bề mặt: 280°C; nhiệt độ MS: 230°C; nhiệt độ tứ cực: 150°C và các phân tử trung tính bị ion hóa mang lại tỷ lệ khối lượng/điện tích (m/z) cụ thể. Áp dụng tiêu chuẩn hiệu chuẩn C8-C30 Alkanes (Sigma-Aldrich, Mỹ) để xác định các hợp chất chưa biết thông qua các chỉ số lưu giữ của chúng bằng cách so sánh phổ khối của chúng với các phổ có trong cơ sở dữ liệu NIST14. Nồng độ của từng chất phân tích sẽ được tính toán dựa trên diện tích pic của nó trên sắc ký đồ.

Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn: Thử nghiệm được tiến hành theo phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch Kirby-Bauer với hai chủng vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922 và *S. aureus* ATCC 25923 [14]. Cao chiết lá măng cầu xiêm được hòa tan trong dimethyl sulfoxide (DMSO, 3%) với nồng độ ban đầu là 200 mg/ml. Sau đó tiến hành pha loãng để thu được các nồng độ 150, 100 và 50 mg/ml.

Lấy khuẩn lạc thuần (*E. coli* ATCC 25922 hoặc *S. aureus* ATCC 25923) cấy trên MHB, ủ 37°C/24 giờ. Chọn 2-3 khuẩn lạc hòa vào NaCl 0,9% để thu huyền dịch vi khuẩn có độ đục chuẩn McFarland 0,5 ($\approx 1-2 \times 10^8$ CFU/ml). Lấy 10 μ l huyền dịch trải đều trên môi trường MHA (Dịch chiết thịt bò 2,0 g/l, casein hydrolysate 17,5 g/l, tinh bột 1,5 g/l và agar 17,0 g/l; pH 7,3 $\pm$ 0,1) ở 25°C và để khô 10 phút. Dùng dụng cụ đục lỗ vô trùng tạo các lỗ có đường kính 6 mm trên bề mặt thạch. Nhổ 100 μ l dung dịch mẫu ở các nồng độ khác nhau vào từng lỗ, đồng thời bố trí đối chứng dương (tetracyclin 30 μ g/ml) và đối chứng âm là dimethyl sulfoxide DMSO (3%). Các đĩa được ủ ở 37°C trong 18-24 giờ, sau đó dùng thước kẻ đo đường kính vòng ức chế (mm) để xác định hoạt tính kháng khuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần nhằm đảm bảo độ tin cậy.

Đánh giá hoạt tính kháng nấm: Hoạt tính kháng nấm của các cao chiết cũng được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch theo hướng dẫn của Kirby-Bauer với chủng nấm *C. albicans* ATCC 26790 [14].

Lấy khuẩn lạc thuần *C. albicans* ATCC 26790 cấy trên môi trường SDB, ủ 30°C trong 24-48 giờ. Chọn 2-3 khuẩn lạc hòa vào dung dịch NaCl 0,9% để thu huyền dịch nấm men có độ đục chuẩn McFarland 0,5 ($\approx 1-2 \times 10^8$ CFU/ml). Lấy 10 μ l huyền dịch trải đều trên SDA (Peptone 10 g/l, dextrose 40 g/l và agar 15 g/l; pH 5,6 $\pm$ 0,2) ở 25°C và để khô 10 phút, sau đó dùng dụng cụ đục lỗ vô trùng (6 mm) để tạo các lỗ trên đĩa thạch. Tiếp đó, cao chiết ở các nồng độ khác nhau được nhỏ vào từng giếng với thể tích 100 μ l. Mẫu đối chứng âm là DMSO, 3% và đối chứng dương là clotrimazole 218 μ g/ml. Các đĩa sau đó được ủ ở 25 $\pm$ 0,5°C trong 5 ngày. Đường kính vòng ức chế được đo bằng thước kẻ. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

Xử lý số liệu: Số liệu được phân tích bằng phần mềm Minitab 16 (One-way ANOVA-Tukey's HSD test). Thí nghiệm được thực hiện độc lập và lặp lại 3 lần. Biểu đồ minh họa được tạo bằng Microsoft Excel 2013.

3. Kết quả

3.1. Hiệu suất thu hồi các loại cao chiết

Quy trình tách chiết sử dụng 20 g lá măng cầu xiêm trong 200 ml dung môi. Hiệu suất cao chiết giảm theo tính phân cực của dung môi, theo thứ tự từ nước (7,33 $\pm$ 0,58%)>methanol (6,10 $\pm$ 0,18%)>ethanol (5,63 $\pm$ 0,35%)>acetone (5,08 $\pm$ 0,14%)>ethyl acetate (3,85 $\pm$ 0,25%)>n-hexane (3,55 $\pm$ 0,11%) (bảng 2). Cao chiết nước có hiệu suất cao nhất, đồng thời nước là dung môi xanh, không độc hại và giá thành thấp. Do đó, chọn nước làm dung môi để chiết xuất các hợp chất lá măng cầu xiêm.

Bảng 2. Hiệu suất cao chiết thu được từ các loại dung môi khác nhau.

Dung môi	H ₂ O	MeOH	EtOH	ACE	EtOAc	N-hexane
Khối lượng cao chiết trung bình (g)	1,47 $\pm$ 0,02	1,22 $\pm$ 0,04	1,13 $\pm$ 0,07	1,02 $\pm$ 0,03	0,77 $\pm$ 0,05	0,71 $\pm$ 0,02
Hiệu suất trung bình (%)	7,33 $\pm$ 0,58	6,10 $\pm$ 0,18	5,63 $\pm$ 0,35	5,08 $\pm$ 0,14	3,85 $\pm$ 0,25	3,55 $\pm$ 0,11

Điều kiện: Khối lượng lá măng cầu xiêm (20 g), thể tích dung môi (200 ml). Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. MeOH: methanol, EtOH: ethanol, ACE: acetone, EtOAc: ethyl acetate.

3.2. Kết quả định tính các hợp chất có hoạt tính sinh học từ lá măng cầu xiêm

Các phản ứng màu đặc trưng được sử dụng để xác định các hợp chất tự nhiên có trong cao chiết lá măng cầu xiêm.

Bảng 3. Kết quả định tính các nhóm hợp chất trong dịch chiết lá măng cầu xiêm.

Nhóm hợp chất hóa thực vật	Dịch chiết					
	Hợp chất thu được trong các cao chiết					
	H ₂ O	MeOH	EtOH	ACE	EtOAc	N-hexane
Alkaloid	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	-	-	-	-	-
Polyphenol	+	+	+	+	-	-
Saponin	+	-	-	-	-	-
Triterpenoid	-	-	-	-	+	-
Steroid	-	+	+	+	-	-

(+) có sự hiện diện của hợp chất, (-) không có sự hiện diện của hợp chất. MeOH: methanol, EtOH: ethanol, ACE: acetone, EtOAc: ethyl acetate.

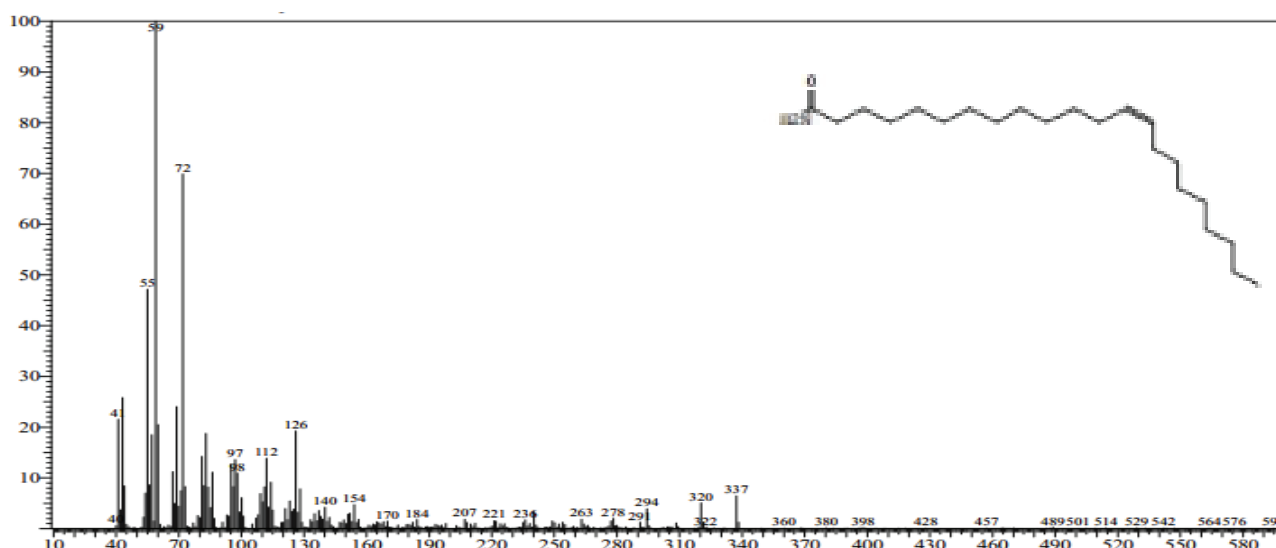
Kết quả phân tích định tính cho thấy, lá măng cầu xiêm chứa alkaloid, flavonoid, polyphenol, saponin, triterpenoid và steroid. Dung môi H₂O phù hợp cho chiết xuất các hợp chất có độ phân cực cao như alkaloid, flavonoid, polyphenol và saponin; cao chiết MeOH, EtOH và ACE đều có chứa alkaloid, polyphenol và steroid. Cao EtOAc chứa alkaloid và steroid; và cao n-hexane chứa alkaloid và triterpenoid (bảng 3).

Hơn thế nữa, kết quả GC-MS cho thấy, thành phần hóa học của các loại cao có sự thay đổi rõ rệt. Cao nước phát hiện được 12 hợp chất, cao MeOH có 22 hợp chất, cao EtOH có 19 hợp chất, cao ACE có 18 hợp chất, cao EtOAc có 17 hợp chất và cao n-hexane có 19 hợp chất. Trong tổng số các hợp chất được phát hiện thì có 29 hợp chất đã xác định là có hoạt tính sinh học. Đáng chú ý là hợp chất (Z)-13-docosenamide ($m/z = 337$) lần đầu được phát hiện từ lá măng cầu xiêm (hình 1). Hợp chất này có trong các cao chiết EtOH (1,5%), ACE (1,19%), EtOAc (0,8%) và n-hexane (2,91%).

3.3. Hoạt tính kháng khuẩn của các cao chiết

Đối với *Escherichia coli* ATCC 25922: Cao chiết nước cho đường kính vòng kháng khuẩn đối với *E. coli* ATCC 25922 là $12,0 \pm 1,0$ mm, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các cao MeOH, EtOH, ACE và EtOAc ở cùng nồng độ 200 mg/ml (bảng 4). Riêng cao n-hexane không thể hiện khả năng ức chế vi khuẩn ở bất kỳ nồng độ khảo sát nào.

Đối với *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: Tại nồng độ 200 mg/ml, vòng kháng khuẩn của các cao chiết nước, methanol, ethanol lá măng cầu xiêm có đường kính lần lượt là $11,0 \pm 1,0$; $10,0 \pm 1,0$ và $9,0 \pm 1,0$ mm. Khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với cao chiết acetone, ethyl acetate (bảng 5). Cao chiết n-hexane không có hiệu quả kháng khuẩn ở tất cả nồng độ thử nghiệm. Hơn nữa, vi khuẩn *S. aureus* ATCC 25923 không bị ức chế ở nồng độ 50 mg/ml đối với các cao EtOH, ACE, EtOAc.



Hình 1. Phổ khối (Z)-13-docosenamide.

Bảng 4. Khả năng kháng E. coli ATCC 25922 của các cao chiết.

Vi khuẩn	Dung môi chiết cao	Nồng độ cao chiết				Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
		200 mg/ml	150 mg/ml	100 mg/ml	50 mg/ml	
<i>E. coli</i> ATCC 25922 (Gram -)	Nước	12,0 ^{±1,0}	10,7 ^{±1,2}	9,7 ^{±0,6}	9,3 ^{±0,6}	
	Methanol	10,0 ^{b±1,0}	9,0 ^{ab±1,0}	8,3 ^{a±1,5}	8,0 ^{±1,0}	
	Ethanol	9,3 ^{b±0,6}	8,7 ^{ab±1,2}	8,3 ^{a±0,6}	8,0 ^{±1,0}	
	Acetone	8,7 ^{b±0,6}	8,3 ^{b±0,6}	8,0 ^{±1,0}	7,7 ^{a±0,6}	
	Ethyl acetate	8,7 ^{b±0,6}	8,3 ^{b±0,6}	8,0 ^{±1,0}	7,7 ^{a±0,6}	
	N-hexane	-	-	-	-	
Tetracyclin 30 µg/ml		29,7 ^{±0,6}				

±độ lệch chuẩn (SD); các chữ cái theo sau trong cùng một cột giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (kiểm định Tukey); (-) là không kháng khuẩn. Đường kính kháng khuẩn đã trừ với đường kính lỗ đục (d=6 mm).

Bảng 5. Khả năng kháng S. aureus ATCC 25923 của các loại cao chiết.

Vi khuẩn	Dung môi chiết cao	Nồng độ cao chiết				Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)
		200 mg/ml	150 mg/ml	100 mg/ml	50 mg/ml	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (Gram +)	Nước	11,0 ^{±1,0}	10,3 ^{±0,6}	9,0 ^{±1,0}	8,7 ^{±0,6}	
	Methanol	10,0 ^{ab±1,0}	8,7 ^{ab±0,6}	8,3 ^{±0,6}	7,7 ^{b±0,6}	
	Ethanol	9,0 ^{ab±1,0}	8,3 ^{b±0,6}	8,0 ^{±1,0}	-	
	Acetone	8,3 ^{b±1,2}	8,0 ^{b±1,0}	7,7 ^{a±0,6}	-	
	Ethyl acetate	8,3 ^{b±0,6}	8,0 ^{b±1,0}	7,7 ^{a±0,6}	-	
	N-hexane	-	-	-	-	
Tetracyclin 30 µg/ml		29,7 ^{±0,6}				

±độ lệch chuẩn (SD); các chữ cái theo sau trong cùng một cột giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (kiểm định Tukey); (-) là không kháng khuẩn. Đường kính kháng khuẩn đã trừ với đường kính lỗ đục (d=6 mm).

3.4. Hoạt tính kháng nấm của các cao chiết

Cao chiết EtOAc và cao nước có hiệu quả kháng nấm cao, đường kính vòng ức chế lần lượt là 12,7^{±0,6} và 12,3^{±0,6} mm tại nồng độ 200 mg/ml (bảng 6). Với các mức nồng độ khác, kích thước vòng kháng nấm đối với chủng *C. albicans* ATCC 26790 có xu hướng tăng dần theo nồng độ cao chiết, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở ngưỡng 5%.

Bảng 6. Khả năng kháng C. albicans ATCC 26790 của các loại cao chiết.

Vi sinh vật	Dung môi chiết cao	Nồng độ cao chiết				Đường kính vòng kháng nấm (mm)
		200 mg/ml	150 mg/ml	100 mg/ml	50 mg/ml	
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	Nước	12,3 ^{ab±0,6}	11,0 ^{ab±1,0}	10,3 ^{ab±0,6}	9,3 ^{a±0,6}	
	Methanol	10,7 ^{bc±0,6}	10,3 ^{ab±0,6}	9,3 ^{ab±0,6}	9,0 ^{a±1,0}	
	Ethanol	10,0 ^{c±1,0}	9,3 ^{ab±0,6}	9,0 ^{ab±1,0}	8,7 ^{a±0,6}	
	Acetone	9,7 ^{c±0,6}	9,0 ^{b±1,0}	8,7 ^{ab±0,6}	8,3 ^{a±0,6}	
	Ethyl acetate	12,7 ^{a±0,6}	11,3 ^{a±0,6}	10,7 ^{a±1,2}	9,7 ^{a±0,6}	
	N-hexane	9,3 ^{±0,6}	9,0 ^{b±1,0}	8,3 ^{b±0,6}	8,0 ^{a±1,0}	
Clotrimazole 218 µg/ml		29,7 ^{±0,6}				

±độ lệch chuẩn (SD); các chữ cái theo sau trong cùng một cột giống nhau thì sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (kiểm định Tukey); (-) là không kháng nấm. Đường kính vòng kháng nấm đã trừ với đường kính lỗ đục (d=6 mm).

4. Bàn luận

Hiệu suất cao chiết thu được phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi sử dụng. Cao chiết với dung môi nước có hiệu suất cao nhất (7,33%) và dung môi n-hexane có hiệu suất thấp nhất (3,55%). Điều này chứng minh rằng dung môi phân cực có khả năng trích ly nhiều hợp chất hơn so với dung môi kém phân cực [15]. Kết quả này cho thấy, nước là dung môi phù hợp để chiết tách các hợp chất từ lá măng cầu xiêm.

Thành phần hóa thực vật cho thấy, trong lá măng cầu xiêm thu hái tại Lâm Đồng có các nhóm hợp chất: alkaloid, flavonoid, polyphenol, saponin, triterpenoid và steroid-tương đồng với những báo cáo trước đó về thành phần hóa học của loài cây này [15]. Kết quả cũng cho thấy, các hợp chất phân cực như alkaloid, glycoside và polyphenol hiện diện chủ yếu trong các dung môi phân cực. Hơn nữa, kết quả phân tích GC-MS đã định danh cụ thể các hợp chất có hoạt tính sinh học. Đáng chú ý, nghiên cứu đã phát hiện một hợp chất mới trong lá măng cầu xiêm (Z)-13-docosenamide. Hợp chất này có trong cao chiết với ethanol, acetone, ethyl acetate và n-hexane, nhưng không có trong cao chiết nước và methanol. Đây là hợp chất đã được chứng minh có hoạt tính chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, chống viêm và hỗ trợ điều trị tiểu đường [1]. Trong tương lai, cần có thêm các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của (Z)-13-docosenamide góp phần vào việc phát triển thuốc từ nguồn dược liệu cụ thể từ cây *A. muricata* L.

Bên cạnh sự thay đổi thành phần hóa học theo độ phân cực của dung môi, hiệu quả hoạt tính sinh học cũng có sự khác biệt đáng kể. Kết quả thực nghiệm cho thấy, hiệu quả ức chế *E. coli* ATCC 25922 và *S. aureus* ATCC 25923 tốt nhất đối với cao chiết nước (200 mg/ml), ngược lại cao n-hexane không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn tại cùng nồng độ. Điều này có thể do các hợp chất kháng khuẩn trong lá măng cầu xiêm chủ yếu là các chất phân cực (alkaloid, glycoside, polyphenol...) nên hòa tan tốt trong các dung môi phân cực như nước, methanol và ethanol. Ngoài ra, cao chiết măng cầu xiêm thể hiện tính kháng nấm *C. albicans* ATCC 26790 vượt trội hơn so với hoạt tính kháng khuẩn, với khả năng ức chế rõ rệt ở tất cả các cao chiết thu được. Những kết quả này tương đồng với công bố của một số nghiên cứu trước đó về hiệu quả kháng khuẩn và kháng nấm [16, 17].

5. Kết luận

Từ các số liệu thu được cho thấy, thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của cao chiết lá măng cầu xiêm (*A. muricata* L.) phụ thuộc vào sự phân cực của dung môi sử dụng. Cao chiết của các dung môi phân cực như nước, ethanol, methanol chứa hàm lượng lớn các hợp chất alkaloid, flavonoid. Trong khi đó, alkaloid và triterpenoid chiếm phần lớn trong cao chiết không phân cực n-hexane. Phân tích GC-MS xác định 29 hợp chất có hoạt tính sinh học, đặc biệt hợp chất (Z)-13-docosenamide ($m/z=337$) được phát hiện lần đầu tiên trong lá măng cầu xiêm. Hơn thế nữa, các cao chiết nước, EtOH, MeOH, acetone và EtOAc đều có hoạt tính kháng vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922 và *S. aureus* ATCC 25923, nhưng cao chiết n-hexane không có hoạt tính. Tất cả các loại cao chiết đều có hoạt tính kháng nấm *C. albicans* ATCC 26790, tăng dần theo nồng độ cao chiết lá măng cầu xiêm. Kết quả của nghiên cứu này góp phần định hướng cho việc lựa chọn dung môi thích hợp trong việc chiết tách các hợp chất tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Mutakin, R. Fauziati, F.N. Fadhillah, et al. (2022), "Pharmacological activities of Soursop (*Annona muricata* L.)", *Molecules*, **27**(4), DOI: 10.3390/molecules27041201.
- [2] C. Vijayameena, G. Subhashini, M. Loganayagi, et al. (2013), "Phytochemical screening and assessment of antibacterial activity for the bioactive compounds in *Annona muricata*", *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, **2**(1), pp.1-8.
- [3] Y. Gavamukulya, F.A. Elella, F. Wamunyokoli, et al. (2014), "Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola)", *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **7**(7), pp.s355-s363, DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60258-3
- [4] K. Gyamfi, D.K. Sarfo, B.J.B. Nyarko, et al. (2011), "Assessment of elemental content in the fruit of graviola plant, *Annona muricata*, from some selected communities in Ghana by instrumental neutron activation analysis", *Elixir Food Sci.*, **41**, pp.5671-5675.
- [5] T.N.V. Do, H.X. Nguyen, T.Q. Truong, et al. (2024), "Some terpenoid compounds from the ethyl acetate extract of *Annona muricata* L. leaves and their α -glucosidase inhibitory activity", *VNU HCM Journal of Advanced Research in Natural Sciences*, **8**(4), pp.3230-3237, DOI: 10.32508/stdjns.v8i4.1410.
- [6] N.V. Thuy, N.N. Quy, P.V. Thinh, et al. (2020), "Effect of extraction conditions on total polyphenol and flavonoid content of Soursop leaves (*Annona muricata* Linn.)", *J. Sci. Tech-NTTU*, **3**(1), pp.52-56, DOI: 10.55401/xxjyzw77. (in Vietnamese).
- [7] G. Haro, N.P. Utami, E. Sitompul (2014), "Study of the antibacterial activities of soursop (*Annona muricata* L.) leaves", *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, **6**(2), pp.575-581.
- [8] D.R. Ningsih, Z. Zufahair, D. Kartika (2016), "Identification of secondary metabolites compounds and antibacterial activities on the extract of Soursop leaf", *Molekul*, **11**(1), pp.101-111, DOI: 10.20884/1.jm.2016.11.1.199.
- [9] V.V. Chi (2002), *Dictionary of Plant Names*, Science and Technics Publishing House, 395pp (in Vietnamese).
- [10] P.H. Ho (2003), *An Illustrated Flora of Vietnam*, Youth Publishing House, 378pp (in Vietnamese).
- [11] Y.N. González, M.A.C. López, R.I.O. Basurto, et al. (2022), "Annona muricata leaves as a source of bioactive compounds: Extraction and quantification using ultrasound", *Horticulturae*, **8**, DOI: 10.3390/horticulturae8070560.
- [12] R. Djamli, T. Anelia (2009), "Phytochemical screening, BSLIT test, and methanol extract antioxidant test of several Papilionaceae species", *Indonesian. J. Phar. Sci.*, **7**(2), pp.64-78.
- [13] F.F. Yirankinyuki, B. Magaji, W.L. Danbature, et al. (2020), "Identification of active compounds of *Annona muricata* (Soursop) leaf wax extract using GC-MS", *Archives of Current Research International*, **20**(4), pp.17-21, DOI: 10.9734/ACRI/2020/v20i430186.
- [14] T.G. Gini, G.J. Jothi (2015) "In vitro screening of antibacterial and antifungal activity of *Marsilea quadrifolia* (Marsileaceae) Linn. extract", *Am. J. Phytomed Clin. Therap.*, **3**, pp.313-329.
- [15] S.A. Yahaya (2019), *Antimicrobial Investigation of Annona Muricata (Soursop) Leaves Against Bacteria Causing Skin Infection*, Bachelor of Science Biology, Mara Technology University.
- [16] F. Ajayi, F. Akinruli, S. Fabunmi (2022), "Phytochemical analysis and antibacterial activities of aqueous and ethanolic crude extracts of soursop (*Annona muricata*) leaves against selected clinical pathogens", *World J. Adv. Res. Rev.*, **15**, pp.353-359, DOI: 10.30574/wjarr.2022.15.1.0681.
- [17] N. Badrie, A. Schauss (2010), "Soursop (*Annona muricata* L.): Composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology", *Bio. Foods in Pro. Health*, **39**, pp.621-643, DOI: 10.1016/B978-0-12-374628-3.00039-6.

Hoạt tính ức chế xanthine oxidase của cao chiết methanol từ 22 loài thực vật thu thập tại Vườn quốc gia Phú Quốc

Nguyễn Đức Hiền^{1,2}, Nguyễn Quốc Trung^{1,2*}, Trương Quốc Hưng³, Trần Hoài Tú^{1,2}, Đặng Hoàng Phú^{1,2}

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường Chợ Quán, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, đường Võ Trường Toản, phường Linh Xuân, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Trường THCS và THPT Võ Văn Kiệt, Lô 7-9 đường Tôn Đức Thắng, phường Rạch Giá, tỉnh An Giang, Việt Nam

Ngày nhận bài 9/4/2025; ngày chuyển phản biện 11/4/2025; ngày nhận phản biện 10/7/2025; ngày chấp nhận đăng 28/8/2025

Tóm tắt:

Bệnh gút là một rối loạn chuyển hóa đặc trưng bởi sự gia tăng nồng độ acid uric trong cơ thể, dẫn đến sự tích tụ của chúng tại các khớp gây ra các cơn viêm, đau. Xanthine oxidase (XO) là một enzyme xúc tác quá trình oxy hóa xanthine để tạo thành acid uric. Vì vậy, việc tìm kiếm và phát triển các chất ức chế XO là một hướng đi tiềm năng trong hỗ trợ điều trị bệnh gút và các rối loạn liên quan đến acid uric. Nghiên cứu này đã sàng lọc khả năng ức chế XO của các cao chiết methanol từ 22 loài thực vật thu thập tại Vườn quốc gia Phú Quốc. Kết quả cho thấy, 22 mẫu cao chiết methanol đều có khả năng ức chế hoạt tính của XO, với 11 mẫu có hiệu quả ức chế rõ rệt, đạt mức ức chế trên 50% ở nồng độ 50 µg/ml. Đặc biệt, cao chiết từ Rối mật (*Garcinia ferrea* Pierre) và Trâm ba vỏ (*Syzygium lineatum* (Bl.) Merr. & Perry) thể hiện hoạt tính ức chế mạnh với giá trị IC₅₀ lần lượt là 24,42 và 27,17 µg/ml. Các kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng các loài thực vật từ Vườn quốc gia Phú Quốc trong hỗ trợ điều trị bệnh gút và các bệnh lý liên quan đến rối loạn chuyển hóa purine.

Từ khóa: acid uric, bệnh gút, thực vật bản địa, Vườn quốc gia Phú Quốc, xanthine oxidase.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.6, 3.4

Xanthine oxidase inhibitory activity of methanolic extracts from 22 plant species collected in Phu Quoc National Park

Duc Hien Nguyen^{1,2}, Quoc Trung Nguyen^{1,2*}, Quoc Hung Truong³, Hoai Tu Tran^{1,2}, Hoang Phu Dang^{1,2}

¹Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu Street, Cho Quan Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Vo Trung Toan Street, Linh Xuan Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Vo Van Kiet Lower and Upper Secondary School, Lots 7-9, Ton Duc Thang Street, Rach Gia Ward, An Giang Province, Vietnam

Received 9 April 2025; revised 10 July 2025; accepted 28 August 2025

Abstract:

Gout is a metabolic disorder characterised by elevated levels of uric acid in the body, leading to its accumulation in the joints and causing inflammation and pain. Xanthine oxidase (XO) is an enzyme that catalyses the oxidation of xanthine to produce uric acid. Therefore, the investigation and development of effective and natural XO inhibitors are considered a promising approach in the treatment of gout and uric acid-related disorders. This study evaluated the xanthine oxidase inhibitory activity of methanolic extracts from 22 plant species collected from Phu Quoc National Park, Vietnam. The results reveal that all extracts exhibited XO inhibitory activity, with 11 samples showing significant inhibition (>50%) at a concentration of 50 µg/ml. Notably, extracts from *Garcinia ferrea* Pierre and *Syzygium lineatum* (Bl.) Merr. & Perry exhibited strong inhibition, with IC₅₀ values of 24.42 and 27.17 µg/ml, respectively. These findings highlight the potential of native plant species from Phu Quoc National Park as natural sources for the development of XO inhibitors, supporting the treatment of gout and other purine-related metabolic disorders.

Keywords: gout, native plants, Phu Quoc National Park, uric acid, xanthine oxidase.

Classification numbers: 1.4, 1.6, 3.4

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

1. Đặt vấn đề

Xanthine oxidase (XO) là một enzyme quan trọng trong quá trình chuyển hóa purine, có nhiệm vụ chuyển đổi hypoxanthine thành xanthine và xanthine thành acid uric [1-3]. Khi nồng độ acid uric trong cơ thể tăng cao sẽ gây ra bệnh gút - một căn bệnh đặc trưng bởi sự tích tụ của tinh thể urate trong các khớp và mô mềm [4]. Mức acid uric cao cũng có thể dẫn đến sự hình thành sỏi thận và các rối loạn khác liên quan đến hệ thống chuyển hóa purine.

Hiện nay, các phương pháp điều trị bệnh gút chủ yếu là dùng thuốc giảm đau, kháng viêm và thuốc hạ acid uric. Tuy nhiên, hầu hết những loại thuốc này thường đi kèm với nhiều tác dụng phụ như viêm loét dạ dày, suy gan, thận hoặc tăng nguy cơ mắc các bệnh tim mạch. Việc sử dụng thuốc lâu dài cũng có thể dẫn đến tình trạng kháng thuốc. Do đó, các liệu pháp điều trị tự nhiên từ thực vật được kỳ vọng có ít tác dụng không mong muốn hơn.

Vườn quốc gia Phú Quốc (nay thuộc tỉnh An Giang) có sự đa dạng sinh học phong phú, là nơi sinh trưởng của nhiều loài thực vật đặc hữu [5]. Các loài thực vật này, với nhiều hoạt chất tiềm năng, có thể là nguồn tài nguyên quý trong việc tìm kiếm các chất ức chế XO hiệu quả. Trong bối cảnh đó, việc nghiên cứu hoạt tính ức chế XO của các loài thực vật tại Vườn quốc gia Phú Quốc góp phần vào việc nâng cao giá trị sử dụng của nguồn tài nguyên thiên nhiên và mở ra hướng phát triển sản phẩm có nguồn gốc từ tự nhiên hỗ trợ điều trị các bệnh lý liên quan đến rối loạn chuyển hóa purine như bệnh gút và sỏi thận.

Với mục tiêu phát triển nguồn dược liệu bản địa, nghiên cứu này tập trung sàng lọc hoạt tính ức chế XO của một số loài thực vật tại Vườn quốc gia Phú Quốc. Các mẫu được lựa chọn dựa trên tính mới và tiềm năng dược liệu (giảm đau, chống viêm, hỗ trợ điều trị gút) của chúng. Nghiên cứu này không chỉ đóng góp vào việc phát triển liệu pháp thiên nhiên trong điều trị gút mà còn tạo tiền đề cho việc phát triển các sản phẩm dược từ thiên nhiên, đáp ứng nhu cầu chăm sóc sức khỏe ngày càng cao của cộng đồng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Cành và lá của các mẫu thực vật trong nghiên cứu này được thu hái từ Vườn quốc gia Phú Quốc vào tháng 6/2024 và được giám định tên khoa học dựa trên hình thái thực vật bởi ThS. Lê Minh Dũng (Vườn quốc gia Phú Quốc, nay thuộc tỉnh An Giang). Tiêu bản của mẫu được lưu giữ tại Bộ môn Hóa Hữu cơ, Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh (bảng 1).

Bảng 1. Tên khoa học, tên địa phương và mã số lưu trữ của các mẫu thực vật.

STT	Tên khoa học	Tên địa phương	Họ	Mã lưu trữ
1	<i>Calophyllum calaba</i> L. var. <i>bracteatum</i> (Wight) P.F. Stevens	Công tía	Calophyllaceae	DOC-2024-006
2	<i>Calophyllum dongnaiense</i> Pierre	Công nước		DOC-2024-007
3	<i>Calophyllum pisperum</i> Planch. & Triana	Công dây		DOC-2024-008
4	<i>Garcinia ferrea</i> Pierre	Rối mặt	Clusiaceae	DOC-2024-009
5	<i>Garcinia gaudichaudii</i> Planch. & Triana	Vàng nghệ		DOC-2024-010
6	<i>Garcinia oliveri</i> Pierre	Bứa núi		DOC-2024-011
7	<i>Ficus lamponga</i> Miq.	Ngái lâm bông	Moraceae	DOC-2024-012
8	<i>Ficus pellucidopunctata</i> Griff.	Sung dóm trong		DOC-2024-013
9	<i>Ficus villosa</i> Blume	Sung lông		DOC-2024-014
10	<i>Schima wallichii</i> (DC.) Korth. var. <i>noronhae</i> (Blume) Bloemb.	Sáng sóc nguyên	Theaceae	DOC-2024-015
11	<i>Baeckea frutescens</i> L.	Chối xế	Myrtaceae	DOC-2024-016
12	<i>Melaleuca cajuputi</i> Powell	Tràm nước		DOC-2024-017
13	<i>Rhodamnia dumetorum</i> (Poir.) Merr.	Tiểu sim		DOC-2024-018
14	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Aiton.) Hassk.	Hồng sim	Myrtaceae	DOC-2024-019
15	<i>Syzygium chanolis</i> (Gagn.) Merr. & Perry	Tràm trắng		DOC-2024-020
16	<i>Syzygium jambos</i> L. Alston	Lý		DOC-2024-021
17	<i>Syzygium lineatum</i> (Bl.) Merr. & Perry	Tràm ba vỏ	Apocynaceae	DOC-2024-022
18	<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.	Sắn thuyền		DOC-2024-023
19	<i>Tristaniaopsis merguensis</i> (Griff.) Wils. & Waterh.	Tri tần		DOC-2024-024
20	<i>Alstonia macrophylla</i> Wall.	Móp lá to	Apocynaceae	DOC-2024-026
21	<i>Spirolobium cambodianum</i> Baill.	Luân thủy Cam bốt		DOC-2024-027
22	<i>Willughbeia edulis</i> Roxb.	Guồ Nam bộ		DOC-2024-028

Sau khi thu hái, các mẫu thực vật được sấy khô đến khi đạt độ ẩm dưới 10%. Cân chính xác khoảng 10 g mẫu khô (gồm cả cành và lá) cho vào bình cầu 250 ml, chiết nóng hoàn lưu với 100 ml dung môi methanol (MeOH) trong 3 giờ. Lọc lấy dịch trích, tiếp tục thêm dung môi MeOH mới vào chiết hoàn lưu thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch trích, xử lý bằng phương pháp cô quay áp suất kém để thu hồi dung môi, cuối cùng thu được cao tổng MeOH với độ ẩm dưới 10%. Cân tổng khối lượng cao (m) và tính toán hiệu suất chiết.

2.2. Hóa chất - thiết bị

Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm gồm xanthine (Nacalai tesque, Nhật Bản), xanthine oxidase 25 Units (Sigma Aldrich, Mỹ), allopurinol (Wako, Nhật Bản), dimethyl sulfoxide (DMSO), sodium hydroxide (NaOH), hydrochloric acid (HCl), Na_2HPO_4 (>99%), NaH_2PO_4 (>99%) được mua từ Merck (Đức), ethanol và methanol >99% (Scharlau, Thái Lan). Cuvette thủy tinh 5 ml được cung cấp bởi Hellma (Đức), máy quang phổ UV-1800 của Shimadzu (Nhật Bản).

2.3. Khảo sát khả năng ức chế enzyme xanthine oxidase

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế enzyme XO được thực hiện theo quy trình đã được mô tả trong

nghiên cứu của D.V.N. Truong và cs (2024) [6], dựa trên việc đo lượng acid uric hình thành sau khi các mẫu cao chiết tác động lên enzyme XO. Nồng độ acid uric được xác định dựa trên phương pháp đo quang phổ ở bước sóng 293 nm, trong đó allopurinol có nồng độ từ 2; 1; 0,5; 0,25 và 0,125 µg/ml được sử dụng làm chất chuẩn tham chiếu. Trong quá trình thử nghiệm, chất ức chế XO sẽ làm giảm khả năng xúc tác của enzyme này, từ đó giảm sự hình thành acid uric. Chất ức chế XO càng mạnh thì lượng acid uric tạo thành càng ít, độ hấp thụ tại bước sóng 293 nm càng thấp.

Quy trình thử hoạt tính ức chế XO được tiến hành như sau: mẫu cao chiết được hòa tan trong hỗn hợp dung dịch đệm phosphate pH 6,8 và DMSO (97:3 v/v). Thêm 100 µl enzyme XO 0,05 U/ml vào 300 µl dung dịch mẫu thử, lắc đều dung dịch và ủ trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Sau khi ủ, thêm vào 900 µl dung dịch nền xanthine 150 µM, lắc đều và tiếp tục ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, thêm 200 µl HCl 1 M, lắc đều và đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 293 nm.

Mỗi mẫu thử được thử nghiệm tại 4 nồng độ khác nhau, mỗi nồng độ được thực hiện 3 lần. Bên cạnh mỗi mẫu thử, một mẫu trắng cũng được chuẩn bị, trong đó enzyme XO được thay thế bằng dung dịch đệm phosphate. Ngoài ra, mỗi mẫu thử sẽ có một mẫu đối chứng được chuẩn bị tương tự như mẫu thử, nhưng thay

thế dung dịch mẫu bằng hệ dung môi phosphate buffer/ DMSO 97:3 (mẫu đối chứng không chứa hợp chất thử nghiệm). Tỷ lệ phần trăm ức chế (I%) của từng nồng độ mẫu thử được tính dựa trên công thức:

$$I\% = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}})}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}} \times 100\%$$

trong đó: A_{control} là độ hấp thụ quang của dung dịch chứng dung môi; A_{sample} là độ hấp thụ quang của dung dịch có mẫu cao chiết; A_{blank} là độ hấp thụ quang của mẫu trắng.

Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần. Với những mẫu có hoạt tính ức chế biến thiên tuyến tính với nồng độ, vẽ một đường thẳng có phương trình $y = ax + b$, trong đó y là phần trăm ức chế XO và x là nồng độ cao chiết thử nghiệm. Với những mẫu có hoạt tính không biến thiên tuyến tính với nồng độ, tính một cách gần đúng, chúng ta vẽ một đường cong $y = \ln(x) + b$ qua tất cả các điểm (với y là phần trăm ức chế XO và x là nồng độ chất ức chế). Dựa trên các điểm dữ liệu, với các hệ số a và b đã được xác định, ta có thể thay giá trị $y=50\%$ vào phương trình và tính được giá trị x là nồng độ của mẫu khảo sát ức chế 50% enzyme XO (IC_{50}). Các số liệu tính toán được phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

3. Kết quả và bàn luận

Kết quả trong bảng 2 cho thấy khả năng ức chế XO của 22 mẫu thực vật thu thập từ Vườn quốc gia Phú Quốc.

Bảng 2. Khả năng ức chế xanthine oxidase của các cao chiết methanol từ mẫu thực vật thu thập tại Vườn quốc gia Phú Quốc.

STT	Tên mẫu	Phần trăm ức chế (%)				IC_{50} (µg/ml)
		50 (µg/ml)	25 (µg/ml)	12,5 (µg/ml)	6,25 (µg/ml)	
1	<i>Calophyllum calaba</i> L. var. <i>bracteatum</i> (Wight) Stevens	61,00±0,60	33,62±1,62	17,60±1,99	8,89±2,03	40,00
2	<i>Calophyllum dongnaiense</i> Pierre	52,82±1,17	29,49±2,01	15,85±1,54	7,17±0,83	46,21
3	<i>Calophyllum pisperum</i> Planch. & Triana	54,63±0,42	30,09±0,79	16,17±0,36	8,07±0,82	44,78
4	<i>Garcinia ferrea</i> Pierre	95,67±2,64	53,61±2,98	30,96±1,88	16,80±0,99	24,42
5	<i>Garcinia gaudichaudii</i> Planch. & Triana	52,57±1,68	28,23±2,54	14,76±1,47	6,12±1,30	46,83
6	<i>Garcinia oliveri</i> Pierre	47,17±3,75	24,92±3,73	12,56±2,17	5,68±0,55	>50
7	<i>Ficus lamponga</i> Miq.	48,93±0,78	30,37±2,44	13,08±1,73	5,38±0,34	>50
8	<i>Ficus pellucidopunctata</i> Griff.	31,79±0,78	16,94±0,20	10,82±1,96	5,50±0,33	>50
9	<i>Ficus villosa</i> Blume	42,43±2,67	22,78±2,23	11,51±1,49	5,75±1,98	>50
10	<i>Schima wallichii</i> (DC.) Korth. var. <i>noronhae</i> (Blume) Bloemb.	45,36±2,85	22,49±2,19	13,99±2,04	4,29±1,29	>50
11	<i>Baeckea frutescens</i> L.	39,25±1,54	22,19±0,98	12,94±1,36	5,27±0,21	>50
12	<i>Melaleuca cajuputi</i> Powell	50,99±3,03	26,99±0,60	12,56±1,35	5,21±1,22	48,54
13	<i>Rhodamnia dumetorum</i> (Poir.) Merr.	33,30±0,49	18,75±1,06	7,76±1,10	3,35±0,90	>50
14	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Aiton.) Hassk.	56,05±1,98	28,06±1,82	16,85±2,78	8,24±1,12	44,35
15	<i>Syzygium chanlos</i> (Gagn.) Merr. & Perry	38,50±1,05	21,67±1,31	9,45±1,15	4,45±0,88	>50
16	<i>Syzygium jambos</i> L. Alston	79,98±1,61	45,19±4,47	22,20±3,53	11,49±1,34	30,14
17	<i>Syzygium lineatum</i> Bl. Merr. & Perry	85,59±2,26	50,15±3,05	28,14±1,95	15,57±1,00	27,17
18	<i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp.	57,39±0,80	31,53±2,37	18,22±0,71	9,10±0,14	42,46
19	<i>Tristaniaopsis merguensis</i> (Griff.) Wils. & Waterh.	56,23±0,69	28,95±0,44	15,51±3,01	7,92±1,48	44,11
20	<i>Alstonia macrophylla</i> Wall	31,34±1,69	14,28±0,14	9,03±1,87	4,01±1,40	>50
21	<i>Spirolobium cambodianum</i> Baill.	46,66±2,86	25,24±0,57	13,94±0,33	6,27±0,81	>50
22	<i>Willughbeia edulis</i> Roxb.	48,48±2,33	25,41±0,96	12,03±1,25	6,07±0,59	>50
Allopurinol						1,18

Tất cả các loài đều cho thấy khả năng ức chế XO, dao động từ khoảng 31% đến 96% ở nồng độ 50 µg/ml. Nhiều loài thuộc họ Guttiferae và Myrtaceae cho thấy khả năng ức chế XO khá mạnh. Trong đó, một số loài như Trâm ba vỏ (*Syzygium lineatum* (DC.) Merr. & L.M. Perry) ($IC_{50}=27,17$ µg/ml), Lý (*Syzygium jambos* L. Alston) ($IC_{50}=30,14$ µg/ml) và Rối mật (*Garcinia ferrea* Pierre) ($IC_{50}=24,42$ µg/ml) thể hiện khả năng ức chế mạnh với IC_{50} thấp. Khả năng ức chế XO và tiềm năng trong điều trị các bệnh lý cơ xương khớp như gút của các loài trong chi *Syzygium* đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây [7-9]. Một số hoạt chất thuộc khung flavonoid trong *Syzygium* đã được chứng minh có khả năng liên kết với vị trí hoạt động của enzyme, dẫn đến ức chế XO thông qua cơ chế cạnh tranh với cơ chất, vì vậy làm giảm sản sinh acid uric [8]. Tương tự, các loài cây thuộc chi *Garcinia* cũng được nghiên cứu về khả năng ức chế XO. Trong nghiên cứu của L.L. Zhu và cs (2014) [10], các hợp chất từ cành *Garcinia esculenta* cho thấy khả năng ức chế XO mạnh. Trong đó, 1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone và griffipavixanthone là hai hợp chất nổi bật, với 1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone thể hiện khả năng ức chế mạnh hơn cả đối chứng allopurinol.

Trong nghiên cứu này, các loài thuộc họ Moraceae và Apocynaceae đều thể hiện hoạt tính ức chế XO yếu, với $IC_{50}>50$ µg/ml. Điều đó cho thấy hoạt chất ức chế XO mạnh ít hiện diện ở những họ thực vật này, hoặc hàm lượng không đủ cao trong cao chiết thô.

4. Kết luận

Việc khảo sát hoạt tính ức chế XO của 22 loài thực vật thu thập tại Vườn quốc gia Phú Quốc đã đem lại những kết quả đáng chú ý về hoạt tính sinh học của các loài này. Tất cả các loài đều thể hiện khả năng ức chế XO ở mức độ nhất định (31-96% ở nồng độ 50 µg/ml), trong đó có đến 11 loài thể hiện khả năng ức chế rõ rệt với phần trăm ức chế trên 50% ở nồng độ 50 µg/ml, đặc biệt đối với 2 loài là Trâm ba vỏ và Rối mật thể hiện khả năng ức chế mạnh với IC_{50} lần lượt là 27,17 và 24,42 µg/ml. Điều này

cho thấy tiềm năng có thể được ứng dụng để hỗ trợ điều trị bệnh gút và các bệnh liên quan đến chuyển hoá acid uric của các loài thực vật tại Vườn quốc gia Phú Quốc, tỉnh An Giang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Cos, L. Ying, M. Calomme, et al. (1998), "Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers", *Journal of Natural Products*, **61**(1), pp.71-76, DOI: 10.1021/NP970237H.
- [2] A. Mittal, A. R. J. Phillips, B. Loveday, et al. (2008), "The potential role for xanthine oxidase inhibition in major intra-abdominal surgery", *World Journal of Surgery*, **32**(2), pp.288-295. DOI: 10.1007/S00268-007-9336-4.
- [3] F. Candan (2003), "Effect of *Rhus coriaria* L. (Anacardiaceae) on superoxide radical scavenging and xanthine oxidase activity", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **18**(1), pp.59-62, DOI: 10.1080/1475636031000069273.
- [4] A. Burke, E. Smyth, G.A. Fitzgerald (2006), "Analgesic-antipyretic agents, pharmacotherapy of gout", *Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th, McGraw-Hill, New York, USA, pp.671-715.
- [5] C. Giang, T. Lien, L. San, et al. (2020), "Diversity of medicinal plant resources in Phu Quoc National Park, Kien Giang province", *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, **7**, pp.179-187.
- [6] D.V.N. Truong, L.H. Tho, N.X. Hai, et al. (2024), "Study on the xanthine oxidase inhibitory activity of some medicinal plants in Vietnam", *Science and Technology Development Journal*, **8**(1), pp.2820-2827, DOI: 10.32508/stdjns.v8i1.1201.
- [7] M. Insanu, Z.M. Ramadhania, E.N. Halim, et al. (2018), "Isolation of 5,7-dihydroxy,6,8-dimethyl flavanone from *Syzygium aqueum* with its antioxidant and xanthine oxidase inhibitor activities", *Pharmacognosy Research*, **10**(1), pp.60-63, DOI: 10.4103/pr.pr_59_17.
- [8] R.N.R. Sianipar, K. Sutriah, D. Iswantini, et al. (2022), "Inhibitory capacity of xanthine oxidase in antigout therapy by Indonesian medicinal plants", *Pharmacognosy Journal*, **14**(2), pp.470-479, DOI: 10.5530/pj.2022.14.60.
- [9] J. Pandey, N. Jaishwal, M. Jayswal, et al. (2025), "Evaluation of antioxidant, xanthine oxidase-inhibitory, and antibacterial activity of *Syzygium cumini* Linn. seed extracts", *Plants*, **14**(3), DOI: 10.3390/plants14030316.
- [10] L.L. Zhu, W.W. Fu, S. Watanabe, et al. (2014), "Xanthine oxidase inhibitors from *Garcinia esculenta* twigs", *Planta Med.*, **80**(18), pp.1721-1726, DOI: 10.1055/s-0034-1383193.

Xây dựng phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hóa của andrographolid

Vũ Bình Dương¹, Vũ Tiến Thăng^{1,2}, Nguyễn Hoàng Hiệp¹, Phạm Văn Hiến^{1*}

¹Trung tâm Nghiên cứu, Ứng dụng và Sản xuất thuốc, Học viện Quân y, 158A Phùng Hưng, phường Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

²Bệnh viện Quân y 110, Cục Hậu cần - Kỹ thuật, Quân khu 1, 7 Trần Lưu, phường Vũ Ninh, tỉnh Bắc Ninh, Việt Nam

Ngày nhận bài 7/12/2025; ngày chuyển phản biện 9/12/2025; ngày nhận phản biện 6/2/2026; ngày chấp nhận đăng 13/2/2026

Tóm tắt:

Mục tiêu: Xây dựng phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hóa sử dụng trong bào chế phytosome chứa andrographolid (AG). **Phương pháp nghiên cứu:** Phytosome andrographolid (AG-P) được bào chế bằng phương pháp bốc hơi dung môi. Sử dụng kỹ thuật hòa tan chọn lọc trong các dung môi khác nhau để loại bỏ AG tự do. Khảo sát loại dung môi và thời gian siêu âm nhằm tối ưu điều kiện hòa tan AG dạng phytosome. Xác nhận cấu trúc phức hợp bằng phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR), phổ cộng hưởng từ proton (¹H-NMR), phổ nhiễu xạ tia X (XRD), phân tích nhiệt vi sai (DSC). **Kết quả:** Benzen được lựa chọn là dung môi hòa tan chọn lọc AG dạng phytosome mà ít hòa tan dạng andrographolid tự do. Thời gian siêu âm phytosome với dung môi chọn lọc là 60 phút. Với điều kiện trên, độ tan của AG dạng phytosome là 1495,18±24,66 µg/ml, cao hơn nhiều lần so với độ tan của AG dạng tự do (19,83±0,07 µg/ml). Các phân tích phổ thực nghiệm xác nhận sự hình thành liên kết giữa AG và phosphatidylcholine trong phytosome thu được. **Kết luận:** Đã xây dựng được phương pháp để đánh giá hiệu suất phytosome hóa trong bào chế AG-P. Phương pháp này đơn giản, dễ thực hiện và có ý nghĩa trong xây dựng công thức và quy trình bào chế các sản phẩm chứa AG-P.

Từ khóa: andrographolid, dung môi chọn lọc, hiệu suất phytosome hóa, phosphatidylcholine, phytosome.

Chỉ số phân loại: 1.4, 2.4, 3.4

Development of a method for evaluating the entrapment efficiency of andrographolide

Binh Duong Vu¹, Tien Thang Vu^{1,2}, Hoang Hiep Nguyen¹, Van Hien Pham^{1*}

¹Drug R&D Centre, Vietnam Military Medical University, 158A Phung Hung Street, Ha Dong Ward, Hanoi, Vietnam

²Military Hospital 110, Department of Logistics and Technical Services, Military Region 1, 7 Tran Luu Street, Vu Ninh Ward, Bac Ninh Province, Vietnam

Received 7 December 2025; revised 6 February 2026; accepted 13 February 2026

Abstract:

Objective: This study aimed to develop a method for evaluating the entrapment efficiency of andrographolide (AG) during the preparation of AG phytosomes (AG-P). **Methods:** AG-P was prepared using the solvent evaporation technique. A selective dissolution technique employing different solvents was used to remove free AG. The effects of solvent type and sonication time were investigated to optimise the dissolution conditions for AG in phytosome form. The formation of the AG-phosphatidylcholine complex was confirmed by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR), X-ray diffraction (XRD), and differential scanning calorimetry (DSC). **Results:** Benzene was selected as the selective dissolution solvent for AG in phytosome form while exhibiting minimal solubility for free AG. The optimal sonication time of the phytosome in the selective solvent was 60 minutes. Under these conditions, the solubility of andrographolide in phytosome form was 1495.18±24.66 µg/ml, which was markedly higher than that of free AG (19.83±0.07 µg/ml). FT-IR, ¹H-NMR, XRD and DSC analyses confirmed the formation of a complex between AG and phosphatidylcholine in the obtained phytosome. **Conclusions:** A method for evaluating the entrapment efficiency of AG during the preparation of AG-P was successfully developed. This method is simple, easy to perform, and useful for the formulation development and production of AG-P-based pharmaceutical products.

Keywords: andrographolide, entrapment efficiency, phosphatidylcholine, phytosome, selective solvent.

Classification numbers: 1.4, 2.4, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: phamvanhien181288@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Andrographolid (AG) là diterpenoid chính của cây Xuyên tâm liên (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees). Hoạt chất này có nhiều tác dụng sinh học như chống viêm, kháng virus, chống oxy hóa... [1, 2]. Tuy nhiên, AG có độ tan nước thấp (~46 mg/l), chuyển hóa mạnh và thải trừ nhanh nên sinh khả dụng đường uống thấp [3]. Để cải thiện sinh khả dụng do độ tan và tính thấm kém của dược chất, nhiều giải pháp như tạo hệ phân tán rắn, bào chế dưới dạng liposome, phytosome, vi nhũ tương, tạo hệ vi nhũ hoá, tạo hệ tiểu phân nano lipid rắn, tạo phức với β -cyclodextrin... đã được nghiên cứu [4, 5]. Trong đó, bào chế dưới dạng phytosome được coi là một trong các giải pháp với nhiều ưu điểm như quy trình bào chế đơn giản, tính tương hợp sinh học cao, an toàn, thân thiện môi trường, dễ nâng cấp quy mô [6-8]. Mặc dù vậy, mới chỉ có một số ít công bố về bào chế phytosome andrographolid.

Ngoài ra, trong nghiên cứu bào chế phytosome, hiệu suất phytosome hóa (hay còn gọi là hiệu suất bao nạp thuốc, entrapment efficiency) là thông số quan trọng để đánh giá sự hình thành phức hợp, ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng và hiệu quả sinh học của chế phẩm. Để đánh giá hiệu suất phytosome hoá, nhiều phương pháp đã được công bố như sử dụng màng thẩm tích, siêu ly tâm, siêu lọc hoặc sử dụng dung môi chọn lọc dựa vào sự khác biệt về đặc tính vật lý hoặc hóa học của dạng dược chất liên kết với phospholipid trong phytosome và dược chất ở dạng tự do để phân lập chúng ra khỏi hỗn hợp chứa cả hai dạng trên. Trong các phương pháp kể trên, sử dụng dung môi hòa tan chọn lọc được coi là phương pháp đơn giản, dễ áp dụng trong thực tế, đảm bảo tính chính xác và đặc hiệu cao. Hiện nay, chưa có các nghiên cứu về việc sử dụng dung môi hòa tan chọn lọc để đánh giá hiệu suất phytosome hóa trong bào chế phytosome andrographolid. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hóa trong bào chế phytosome chứa andrographolid.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu - thiết bị

Chất chuẩn andrographolid (hàm lượng 97,8%; số kiểm soát (SKS): EC0122007; Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương). Nguyên liệu andrographolid dược dụng (hàm lượng 97%, Trung Quốc), phosphatidylcholine dược dụng (PC, hàm lượng 90%, Trung Quốc), ethanol (EtOH) (hàm lượng 96%, Việt Nam). Các dung môi acetonitril (Daejung, Hàn Quốc), methanol (Merck), nước cất 2 lần (Merck) đạt tiêu chuẩn phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC grade). Các hóa chất, dung môi

khác như benzen, toluen, dichloromethane, chloroform, aceton, acid acetic băng... đạt tiêu chuẩn nhà sản xuất. Thiết bị: Hệ thống HPLC Agilent e2659, đầu dò 2998 (Waters, Mỹ); cột sắc ký Inertsustain C18 (Nhật Bản), bếp khuấy từ gia nhiệt IKA CMAG HS4 (Malaysia); bể siêu âm Elmasonic S100H (Đức); thiết bị siêu âm đầu dò Noise Isolating Chamber 01D882 (Trung Quốc), cốc có mỏ, bình nón, bình cầu 3 cổ, ống nghiệm và các dụng cụ thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bào chế phytosome andrographolid

Cân chính xác khoảng 1,0 g nguyên liệu andrographolid (AG) và 5,0 g phosphatidylcholine (PC) (tương ứng với tỷ lệ mol AG/PC=1/2) vào bình cầu 3 cổ. Thêm 200 ml EtOH 96%. Hỗn hợp được khuấy trộn liên tục trong 3 giờ ở nhiệt độ 60°C với tốc độ 50 vòng/phút để thực hiện phản ứng tạo phytosome. Sau đó, hỗn hợp được cô bốc hơi dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi và thu lấy phần phytosome rắn. Phytosome sau khi bào chế được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Phương pháp định lượng AG trong phytosome bằng HPLC

Sử dụng phương pháp HPLC để định lượng AG trong phytosome với các điều kiện sắc ký như sau: Cột InertSustain C18 (4,6x150 mm, 5 μ m); đầu dò PDA bước sóng 223 nm; nhiệt độ cột 25°C; thể tích tiêm 10 μ l; pha động gồm acetonitril (ACN)/acid acetic băng 0,4% (30/70); tốc độ dòng 1,0 ml/phút [9]. Chuẩn gốc được pha trong MeOH. Chuẩn làm việc được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc trong Methanol (MeOH) để đạt các nồng độ trong khoảng 4-50 μ g/ml. Các mẫu thử được chuẩn bị như sau: Cân một lượng dư AG nguyên liệu hoặc mẫu phytosome AG vào các bình nón có nút mài, thêm khoảng 10 ml mỗi loại dung môi khảo sát gồm *n*-hexane, chloroform, diethyl ether, benzen, toluen, aceton, 1,4-dioxan, dichloromethane, ethyl acetate, propan-2-ol. Lắc siêu âm trong 30 phút. Sau đó, lọc qua màng lọc 0,22 μ m thu lấy dịch bão hòa. Hút 1,0 ml dịch lọc, pha loãng bằng MeOH đến nồng độ thích hợp trước khi định lượng HPLC.

2.2.3. Khảo sát dung môi hòa tan chọn lọc

Chuẩn bị các mẫu thử theo phương pháp đã được trình bày ở mục 2.2.2. Sử dụng đường chuẩn đã xây dựng để tính toán độ tan của AG ở dạng tự do và dạng phytosome hóa. Tiêu chí lựa chọn dung môi hòa tan chọn lọc: lựa chọn dung môi có khả năng hòa tan tốt AG dạng phytosome nhưng hòa tan kém AG tự do (hoặc ngược lại).

2.2.4. Khảo sát thời gian siêu âm phức hợp

Cân một lượng dư hỗn hợp phytosome AG-P thô đã bào chế được, thêm dung môi hòa tan chọn lọc đã khảo sát được ở trên để hòa tan phức hợp. Tiến hành siêu âm dịch phức hợp trong các khoảng thời gian lần lượt là: 10, 30, 60, 90 và 120 phút. Tiêu chí lựa chọn: lựa chọn thời gian siêu âm giúp hòa tan tối đa lượng AG liên kết PC trong phức hợp phytosome.

2.2.5. Chứng minh sự hình thành phytosome

Trong phương pháp sử dụng dung môi hòa tan chọn lọc để tách riêng AG ở dạng tự do và AG ở dạng phytosome, việc chứng minh sự hình thành của phytosome trong mẫu là rất quan trọng. Để chứng minh phần tách ra chính xác là AG ở dạng phytosome, chúng tôi tiến hành đánh giá các đặc tính lý hoá, thông qua các phương pháp phân tích phổ thực nghiệm. Cách làm như sau: Cân một lượng phytosome AG-P thô tương ứng 100 mg AG vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml benzen, siêu âm trong thời gian 60 phút để hòa tan phức hợp. Bổ sung dung môi tới vạch, lắc đều. Hỗn hợp trên sau đó được lọc qua màng 0,22 μm thu lấy dung dịch trong. Phần dịch được cô bốc hơi dung môi dưới áp suất giảm, thu được phytosome AG-P tinh khiết. Mẫu AG-P tinh khiết này được sử dụng để đo các phổ FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, XRD, DSC. Song song với mẫu phytosome AG tinh khiết, các mẫu nguyên liệu AG tự do, mẫu PC tự do và mẫu hỗn hợp vật lý (HHVL) với tỷ lệ AG/PC tương tự như trong mẫu phytosome AG-P được chuẩn bị và đo các phổ kể trên để có cơ sở so sánh.

2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê trên phần mềm Microsoft Excel 2013 và Origin 2024.

3. Kết quả

3.1. Kết quả xây dựng đường chuẩn định lượng AG trong phytosome

Xây dựng đường chuẩn của AG trong khoảng nồng độ 4-50 $\mu\text{g/ml}$. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Mối tương quan giữa diện tích pic và nồng độ của AG.

Nồng độ chuẩn ($\mu\text{g/ml}$)	Diện tích pic (mAU.s)
3,91	131368
9,78	560508
19,56	1133661
29,34	1698897
39,12	2282046
48,90	2964251
Phương trình hồi quy: $y=61577x-83888$; $R^2=0,9989$	

Kết quả bảng 1 cho thấy, trong khoảng nồng độ khảo sát, có mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ của AG và diện tích pic thu được. Đường hồi quy thu được là đường thẳng $y=61577x-83888$ với hệ số tương quan $R^2=0,9989$. Vì vậy, khoảng nồng độ và đường hồi quy tuyến tính ở trên là phù hợp để định lượng AG trong phytosome.

3.2. Kết quả khảo sát lựa chọn loại dung môi

Khảo sát các loại dung môi để đánh giá khả năng hoà tan chọn lọc của AG dạng tự do và dạng phytosome. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Độ tan và mức tăng độ tan của AG dạng phức hợp so với AG nguyên liệu trong các dung môi khác nhau.

Dung môi	Mẫu	Độ tan AG ($\mu\text{g/ml}$) ($n=3$, $\bar{X} \pm \text{SD}$)	Tỷ lệ độ tan của AG dạng phức hợp/tự do (lần)
<i>n</i> -hexane	AG tự do	22,03 $\pm$ 0,09	1,5
	AG-P	33,11 $\pm$ 0,16	
Chloroform	AG tự do	189,56 $\pm$ 0,29	6,9
	AG-P	1315,75 $\pm$ 7,15	
Diethyl ether	AG tự do	59,33 $\pm$ 0,33	22,8
	AG-P	1352,49 $\pm$ 1,06	
Benzen	AG tự do	19,83 $\pm$ 0,07	52,0
	AG-P	1030,24 $\pm$ 8,86	
Toluen	AG tự do	22,07 $\pm$ 0,42	45,0
	AG-P	992,93 $\pm$ 4,29	
Aceton	AG tự do	4138,33 $\pm$ 18,45	3,4
	AG-P	13992,15 $\pm$ 28,10	
1,4 - dioxane	AG tự do	2141,87 $\pm$ 6,84	1,9
	AG-P	3995,80 $\pm$ 26,46	
Dichloromethane	AG tự do	364,79 $\pm$ 3,07	6,5
	AG-P	2385,55 $\pm$ 7,47	
Ethyl acetate	AG tự do	667,00 $\pm$ 2,19	4,3
	AG-P	2856,56 $\pm$ 26,86	
Propan-2-ol	AG tự do	4147,05 $\pm$ 11,19	2,0
	AG-P	8359,27 $\pm$ 23,51	

AG-P là andrographolid dạng phytosome; $p < 0,05$.

Kết quả bảng 2 cho thấy, đối với các dung môi như *n*-hexane, 1,4-dioxan hoặc propan-2-ol, chênh lệch độ tan giữa AG tự do và AG dạng phytosome là không đáng kể, chỉ dao động trong khoảng từ 1,5 đến 2 lần. Điều này cho thấy, các dung môi này không có khả năng hòa tan chọn lọc giữa hai dạng AG tự do và phức hợp, do đó không phù hợp để sử dụng trong phương pháp đánh giá hiệu suất tạo phức. Trong khi đó, các dung môi như chloroform, dichloromethane và ethyl acetate thể hiện mức tăng độ tan ở mức trung bình, nhưng độ tan của AG ở cả hai dạng đều cao, làm giảm khả năng phân tách chính xác phần AG đã tạo phức. Đáng chú ý, ba dung môi gồm diethyl ether, toluen và đặc biệt là benzen cho thấy hiệu quả hòa tan chọn lọc rất rõ rệt, với độ tan AG dạng phytosome cao gấp từ 22,8 đến 52 lần so với AG tự do.

Benzen là dung môi cho kết quả tốt nhất, khi AG dạng phytosome có độ tan đạt khoảng 1030 $\mu\text{g/ml}$, trong khi AG tự do chỉ đạt khoảng 20 $\mu\text{g/ml}$. Mức chênh lệch cao này không chỉ giúp tăng độ đặc hiệu khi phân tách AG-phức khỏi hỗn hợp mà còn giảm thiểu nguy cơ sai số do AG tự do còn sót lại. Vì vậy, benzen được lựa chọn là dung môi tối ưu để áp dụng trong toàn bộ các khảo sát tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát lựa chọn thời gian siêu âm

Khảo sát thời gian siêu âm của hỗn hợp phytosome AG thô sau khi bào chế được với dung môi benzen để phân lập AG dạng phytosome ra khỏi hỗn hợp. Kết quả được trình bày bảng 3.

Bảng 3. Nồng độ bão hòa của AG dạng phytosome so với AG nguyên liệu ở các thời gian siêu âm khác nhau.

Thời gian siêu âm (phút)	Nồng độ AG ($\mu\text{g/ml}$) ($n=3, \bar{X} \pm \text{SD}$)	Tỷ lệ độ tan của AG phức hợp/AG (lần)
<i>Mẫu phytosome AG (dạng phytosome hoá)</i>		
10	587,17 $\pm$ 8,59	29,6
30	1030,24 $\pm$ 8,86	52,0
60	1495,18 $\pm$ 24,66	75,4
90	1279,63 $\pm$ 21,28	64,5
120	1010,06 $\pm$ 14,34	51,0
<i>Mẫu nguyên liệu AG (dạng tự do)</i>		
	19,83 $\pm$ 0,07	-

Kết quả cho thấy, trong giai đoạn từ 10 đến 60 phút, độ tan của AG dạng phytosome tăng dần theo thời gian siêu âm, đạt cực đại ở thời điểm 60 phút với giá trị khoảng 1495 $\mu\text{g/ml}$.

Tuy nhiên, khi tiếp tục kéo dài thời gian siêu âm đến 90 và 120 phút, nồng độ AG trong dung dịch lại có xu hướng giảm xuống còn khoảng 1279 $\mu\text{g/ml}$ và 1010 $\mu\text{g/ml}$ tương ứng. Điều này được lý giải là do sự tác động kéo dài của sóng siêu âm có thể làm phá vỡ một phần cấu trúc liên kết giữa AG và PC trong phức hợp, chuyển AG trong phức hợp sang dạng tự do và kém tan trong benzen.

Như vậy, thời gian siêu âm 60 phút được xác định là tối ưu để đạt hiệu quả hòa tan chọn lọc cao nhất cho AG ở dạng phytosome mà không làm phá vỡ cấu trúc phức hợp.

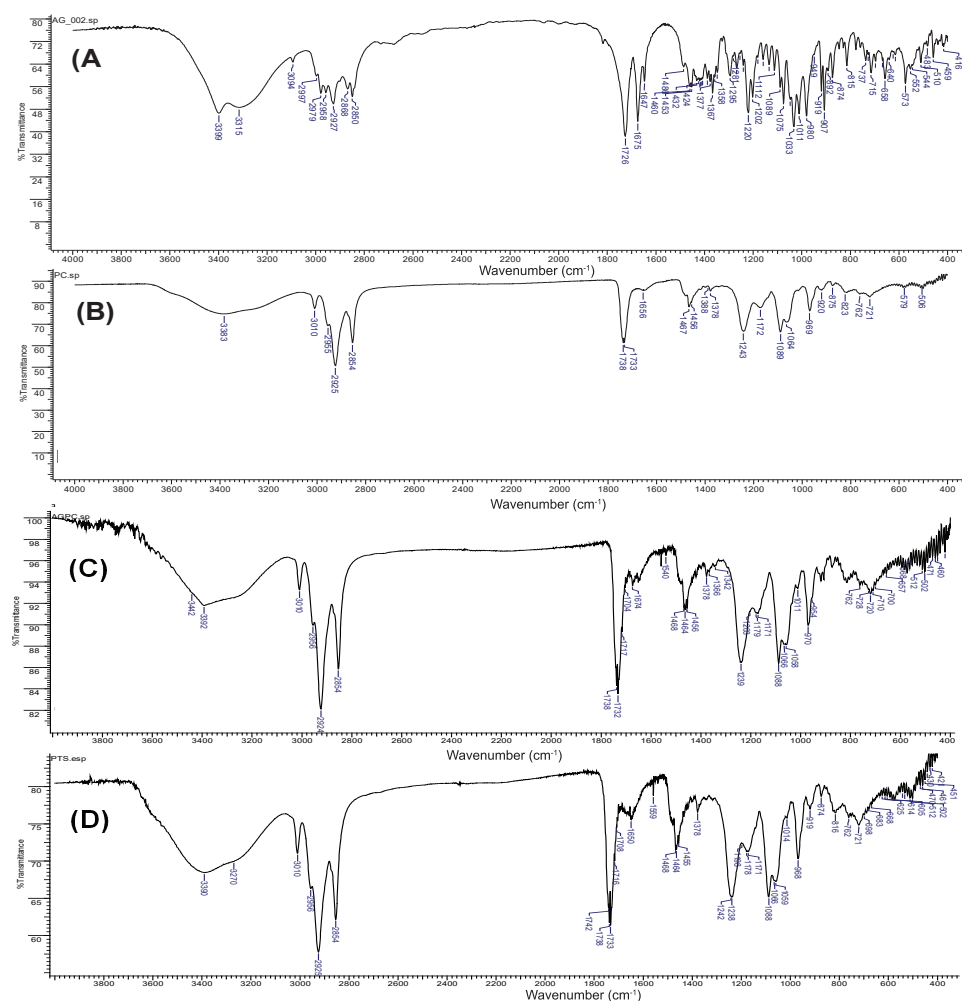
3.4. Kết quả chứng minh sự hình thành phytosome

Sự hình thành phytosome AG-P được chứng minh dựa trên các kết quả phân tích phổ thực nghiệm. Sau khi tách được AG dạng phytosome theo phương pháp sử dụng dung môi benzen để hoà tan bằng siêu âm trong 60 phút, mẫu được loại bỏ dung môi và thực hiện các phân tích phổ thực nghiệm.

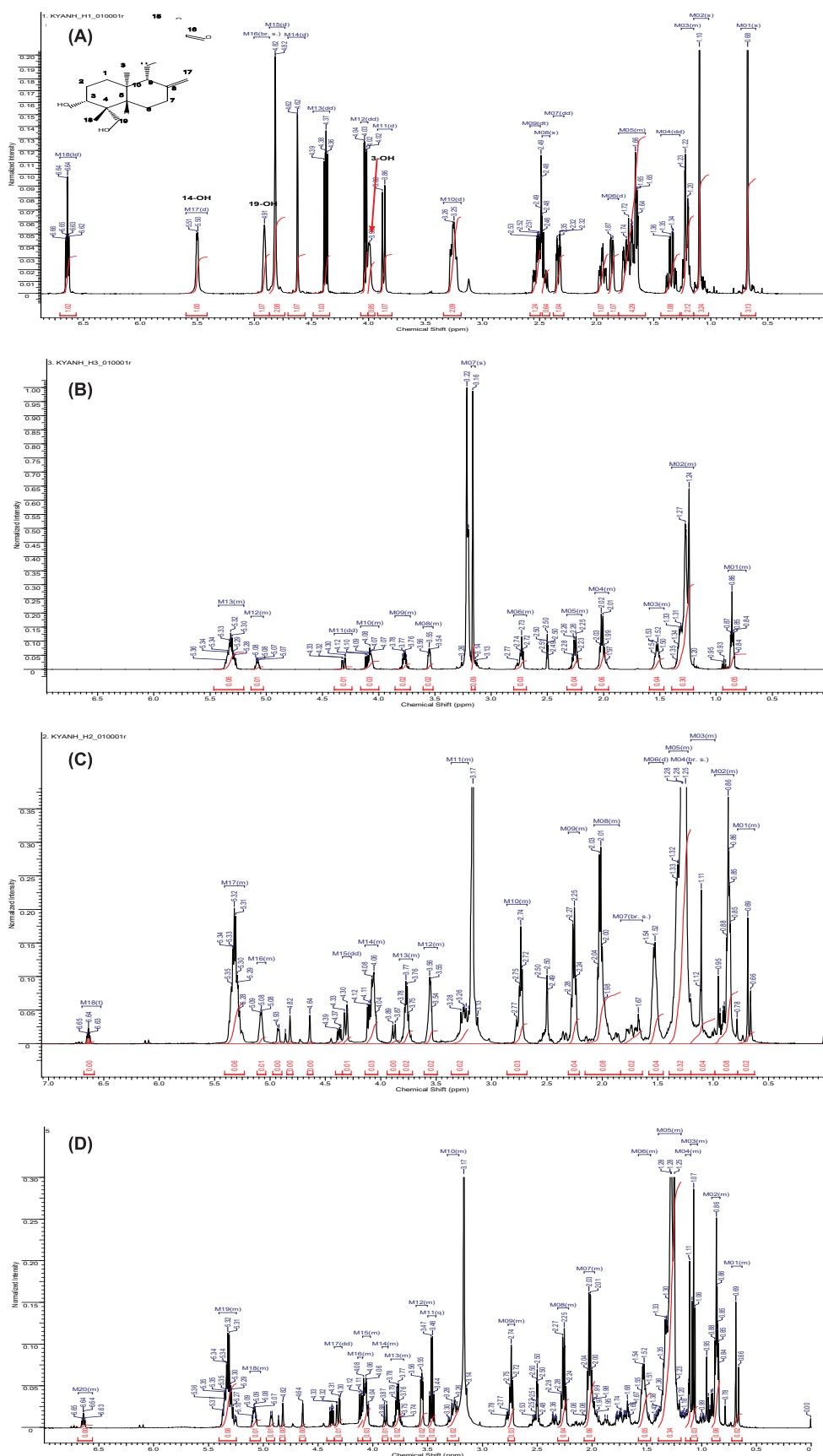
3.4.1. Kết quả phân tích phổ FT-IR

Kết quả phân tích FT-IR của các mẫu AG tự do, PC tự do, hỗn hợp vật lý của AG-PC và phytosome AG được trình bày trong hình 1.

Kết quả hình 1 cho thấy, phổ IR của nguyên liệu AG có các tín hiệu tương ứng với dao động của nhóm -OH tại 3399 cm^{-1} , nhóm C=O tại 1726 cm^{-1} và liên kết đôi C=C tại 1675 cm^{-1} . Phổ IR của nguyên liệu PC xuất hiện các tín hiệu của nhóm PO_2^- tại số sóng 1243 cm^{-1} , của nhóm C=O tại 1738 cm^{-1} và của chuỗi P-O-C tại 1064 cm^{-1} . Phổ IR của hỗn hợp vật lý AG-PC xuất hiện các tín hiệu tương ứng như trên của AG và PC. Phổ IR của AG-P



Hình 1. Phổ FT-IR: (A) AG, (B) PC, (C) HHVL, (D) AG-P.

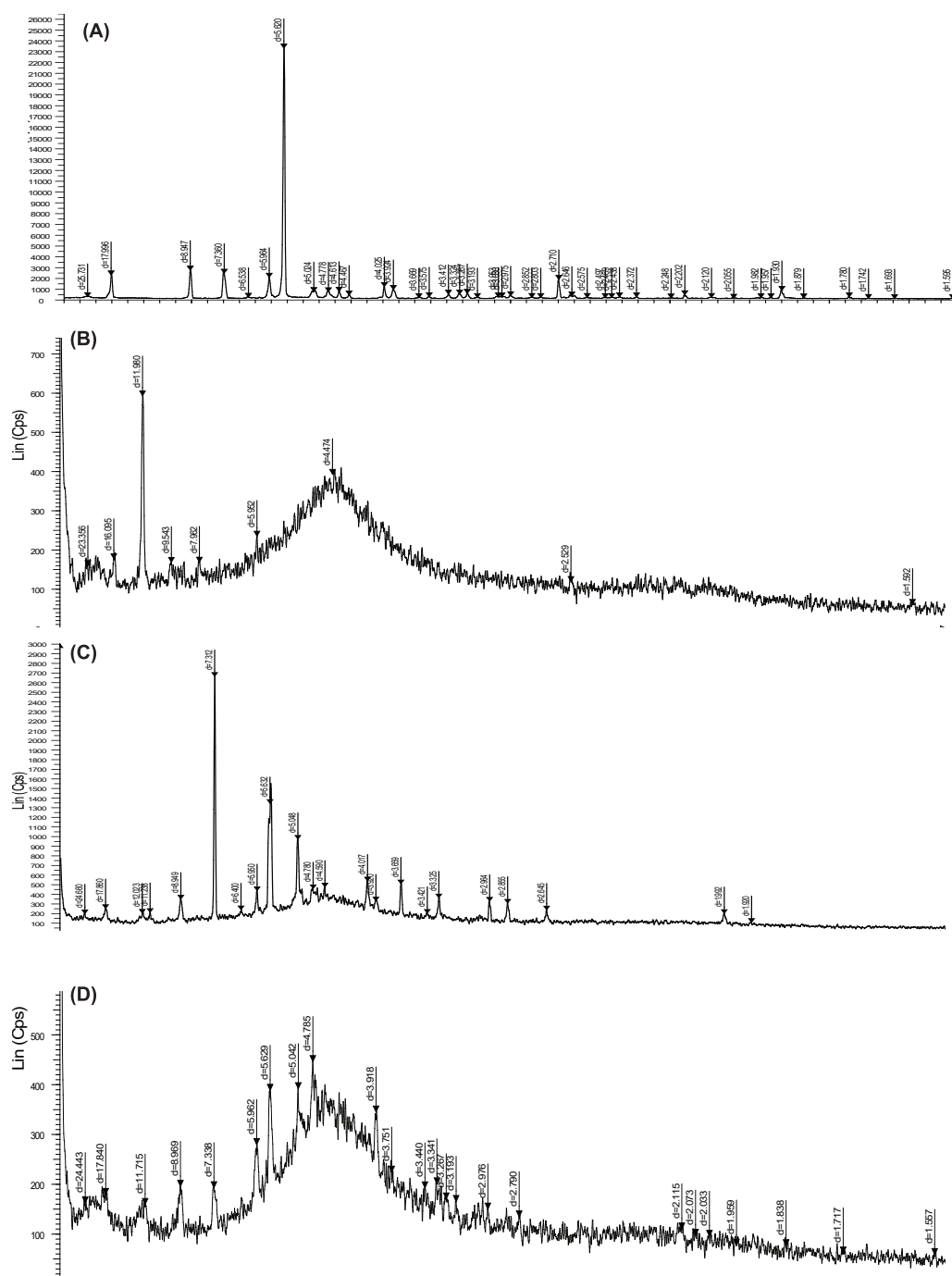


Hình 2. Phổ ¹H-NMR: (A) AG, (B) PC, (C) HHVL, (D) AG-P.

cho thấy, các tín hiệu của nhóm -OH đã có sự dịch chuyển về vị trí 3390 cm⁻¹ với đỉnh tù hơn. Ngoài ra, tín hiệu dao động của PC tại 1243 cm⁻¹ (PO₂), 1738 cm⁻¹ (C=O) và 1064 cm⁻¹ (P-O-C) đã lần lượt bị dịch chuyển về 1242 cm⁻¹ (PO₂), 1742 cm⁻¹ (C=O) và 1059 cm⁻¹ (P-O-C). Như vậy, trên phổ IR của phytosome AG-P đã có sự chuyển dịch số sóng nhóm -OH tự do của dược chất, nhóm C=O và PO₂⁻ của PC so với các thành phần AG và PC tự do. Điều đó cho thấy sự hình thành liên kết mới giữa các nhóm O-H tự do của dược chất và PO₂⁻ của PC. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu đã công bố [10].

3.4.2. Kết quả phân tích phổ ¹H-NMR

Kết quả phân tích phổ ¹H-NMR của các mẫu AG tự do, PC tự do, hỗn hợp vật lý và phytosome AG được trình bày trong hình 2. Trên phổ ¹H-NMR của AG có các proton đặc trưng của nối đôi -CH=CH₂ (δ=6,64 ppm), của nhóm 14-OH (δ=5,51 ppm), của nhóm 19-OH (δ=4,91 ppm) và 3-OH (δ=4,00 ppm). Phổ ¹H-NMR của PC xuất hiện các proton của các liên kết no aliphatic bão hòa -CH₂ và -CH₃ (δ=0,68-2,28 ppm), -N⁺(CH₃)₃ (δ=3,16-4,33 ppm) và chuỗi aliphatic không bão hòa (δ=5,07 - 5,36 ppm). Phổ ¹H-NMR của hỗn hợp vật lý AG-PC vẫn có các tín hiệu của các proton của AG và PC. Trong đó, tín hiệu proton ở δ=5,51 có cường độ thấp, khó quan sát. Các tín hiệu proton của nhóm 19-OH và 3-OH vẫn còn quan sát được với δ=4,93 ppm và δ=4,04 ppm.



Hình 3. Phổ XRD: (A) Andrographolid, (B) Phosphatidylcholine, (C) HHVL, (D) AG-P.

Phổ $^1\text{H-NMR}$ của phức hợp AG-PC ghi nhận sự biến mất của tín hiệu proton nhóm 14-OH ($\delta=5,51$ ppm). Hai tín hiệu proton của các nhóm hydroxy 19-OH và 3-OH bị kéo giãn. Riêng proton nhóm hydroxy 19-OH bị tách ra thành tín hiệu kiểu double và về vị trí $\delta=4,93-4,92$ ppm. Tương tác diễn ra mạnh nhất ở 14-OH ($\delta=5,5$ ppm). Điều này phù hợp về mặt tương tác hóa học trong nghiên

cứu được công bố trước đó [10, 11]. Ngoài ra, ở AG ở dạng phytosome, vẫn xuất hiện các tín hiệu proton aliphatic $-\text{CH}_2$ và $-\text{CH}_3$ của nhóm cholin trong phân tử PC, chứng tỏ phần đuôi của PC không tham gia liên kết tạo phức. Các kết quả trên cho thấy có sự hình thành liên kết giữa phân tử AG và PC trong phytosome AG-P.

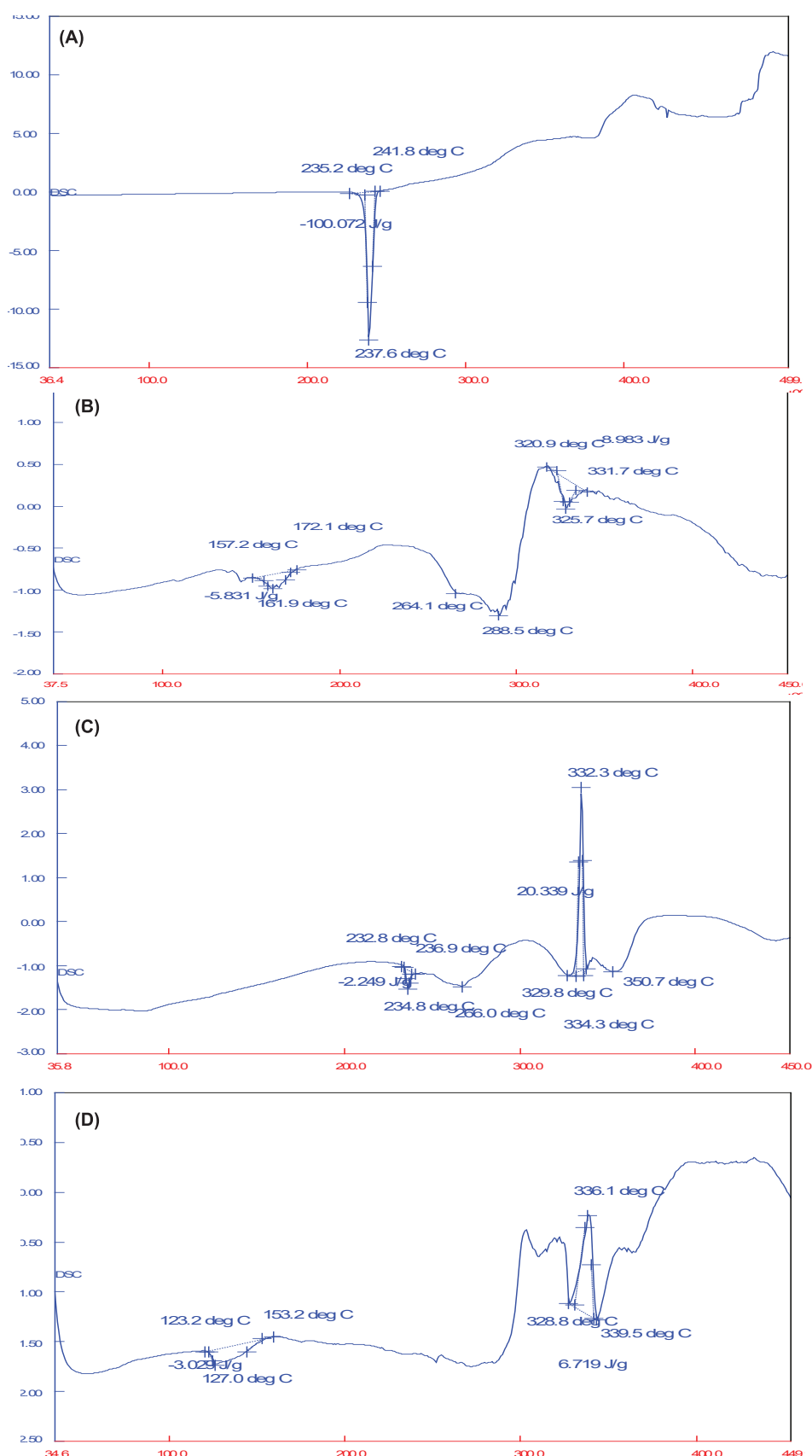
3.4.3. Kết quả phân tích phổ nhiễu xạ tia X

Kết quả phân tích XRD của các mẫu AG tự do, PC tự do, hỗn hợp vật lý của AG-PC và phytosome AG-P được trình bày trong hình 3. Phổ XRD của AG xuất hiện các đỉnh với 2θ tại 17,996; 8,947; 7,360; 5,964; 5,620; 2,710 chứng tỏ bản chất tinh thể của AG. Mẫu PC xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ tại 23,356; 16,095; 11,980; 9,543; 7,962. Mẫu hỗn hợp vật lý AG-PC vẫn xuất hiện đỉnh nhiễu xạ tương ứng như trong phổ XRD của AG và PC. Trong khi đó, trên phổ đồ của phytosome AG-P không còn những đỉnh nhiễu xạ đặc trưng của AG và PC, thay vào đó

là những đỉnh nhiễu xạ mới có đỉnh tù hơn. Điều này có thể là do AG trong mẫu phytosome AG-P đã chuyển sang trạng thái vô định hình.

3.4.4. Kết quả phân tích phổ DSC

Kết quả phân tích phổ DSC của các mẫu AG tự do, PC tự do, hỗn hợp vật lý của AG-PC và phytosome AG-P được trình bày trong hình 4.



Hình 4. Kết quả phân tích DSC: (A) AG, (B) PC, (C) HHVL, (D) AG-P.

Giản đồ nhiệt của AG xuất hiện pic thu nhiệt ở khoảng 237,6°C. Với mẫu nguyên liệu PC có 3 pic thu nhiệt ở khoảng 261,9°C; 264,1°C và 325,7°C. Giản đồ nhiệt của hỗn hợp vật lý AG-PC xuất hiện các pic tương ứng của AG và PC nhưng có sự dịch chuyển nhẹ với các pic thu nhiệt ở các vị trí 234,8°C; 266,2°C; 329,8°C. Trên giản đồ nhiệt của AG-P, các pic thu nhiệt của AG đã biến mất, thay vào đó, nhiệt độ chuyển pha giảm xuống còn 127,0°C. Điều này có thể giải thích do AG từ dạng tinh thể đã chuyển sang dạng vô định hình trong phức hợp.

4. Bàn luận

4.1. Xây dựng phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hoá bằng sử dụng dung môi hòa tan chọn lọc

Hiệu suất phytosome hoá (EE) là một chỉ tiêu chất lượng giúp đánh giá hiệu quả tạo phức hợp của hợp chất tự nhiên - phospholipid. Đây là thước đo quan trọng quyết định đến hiệu suất bào chế phytosome, do vậy cần xây dựng một phương pháp đánh giá chỉ tiêu này với tính chính xác cao, đơn giản, dễ thực hiện và có tính chọn lọc.

Có nhiều phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hoá đã được công bố như sử dụng siêu ly tâm, màng siêu lọc, màng thẩm tích hoặc sử dụng dung môi hoà tan chọn lọc. Mỗi phương pháp đều có các ưu, nhược điểm riêng. Phương pháp siêu ly tâm, màng siêu lọc, màng thẩm tích đều yêu cầu thiết bị/vật liệu tiên tiến, chi phí cao. Phương pháp siêu ly tâm có ưu điểm là thời gian thực hiện nhanh, khối lượng mẫu nhỏ nhưng có nhược điểm là độ nhớt

của mẫu ảnh hưởng đến tốc độ lắng của tiểu phân, khi ly tâm tốc độ cao có thể phá vỡ liên kết giữa phân tử dược chất và phospholipid, làm xuất hiện sai số trong đánh giá. Khi sử dụng màng siêu lọc và màng thẩm tích, nhược điểm lớn nhất là sự không đồng nhất về kích thước tiểu phân phytosome sau quá trình bào chế. Các tiểu phân có kích thước lớn khi đi qua lỗ lọc sẽ bị giữ lại, do đó ngăn cản sự di chuyển tiếp theo của các tiểu phân khác và sự khuếch tán dung môi. Vì vậy, việc đánh giá sẽ gặp sai số hệ thống.

Phương pháp sử dụng dung môi hòa tan chọn lọc dựa vào khác biệt về độ tan của hoạt chất ở trạng thái tự do và ở dạng phytosome trong dung môi để phân lập riêng rẽ hai dạng này khỏi hỗn hợp sau khi bào chế. Phương pháp này đơn giản, dễ thực hiện và ít sai số, do ảnh hưởng của kích thước tiểu phân hoặc độ nhớt của hệ phân tán, nhưng có nhược điểm là khó tìm được loại dung môi có tính hoà tan chọn lọc. Việc định hướng lựa chọn loại dung môi rất khó khăn do các đặc tính về lý hoá của phytosome bào chế được chưa được khẳng định. Do đó, trong quá trình thực hiện, cần phải khảo sát rất nhiều loại dung môi [11, 12].

Chúng tôi nhận định rằng, AG ở dạng tự do và ở dạng phytosome có tính chất lý hoá không tương đồng. Phytosome AG-PC được tạo ra do phản ứng tạo phức giữa dược chất và phospholipid. Bản chất của sự tạo phức này là nhờ liên kết giữa AG và PC, do đó sẽ làm thay đổi tính chất lý hoá của dược chất so với dạng tự do. Do đó, độ tan của AG ở dạng tự do và dạng phức hợp với PC trong phytosome là khác nhau đối với cùng một dung môi [11]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã đánh giá độ tan của AG ở dạng tự do và ở dạng phytosome với các dung môi khác nhau. Kết quả đã lựa chọn được dung môi benzen là dung môi phù hợp do khả năng hòa tan AG ở dạng phytosome lớn hơn nhiều lần so với dạng tự do. Benzen đảm bảo yếu tố hòa tan chọn lọc của phương pháp. Benzen hòa tan kém AG nguyên liệu ($19,83 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$) nhưng hòa tan tốt AG trong phức hợp ($1030,24 \pm 8,86 \mu\text{g/ml}$).

Về mặt lý hoá, có thể giải thích rằng, phân tử AG tự do có chứa nhiều nhóm -OH và lacton là các nhóm phân cực, có thể tạo ra các liên kết hydro nội phân tử. Điều này lý giải sự kém tan của AG tự do trong benzen. Sau khi tạo phức phytosome giữa AG và PC, theo thực nghiệm phân tích phổ IR, $^1\text{H-NMR}$ chúng tôi đã chứng minh ở trên, liên kết hydro được hình thành chủ yếu giữa nhóm -OH của AG với hợp phần phosphat của PC, đồng thời

chuỗi hydrocarbon dài của PC không tham gia vào liên kết, nên bao quanh hoạt chất và tạo bề mặt kỵ nước. Điều này giúp phytosome AG dễ tan trong benzen hơn AG tự do. Kết quả này tương tự với các nghiên cứu khác về bào chế phytosome [13]. Ngoài ra, AG tự do thường tồn tại ở dạng tinh thể, kém tan trong nhiều dung môi. Việc chuyển sang dạng vô định hình của AG trong phytosome AG-PC đã được chứng minh dựa trên phân tích phổ XRD và DSC trong nghiên cứu này cũng là một nguyên nhân để giúp tăng độ tan của AG trong các dung môi.

Để tạo thuận lợi cho quá trình hoà tan của AG dạng phytosome trong benzen, giúp hạn chế sai số, tăng độ chính xác cho phép đo, chúng tôi sử dụng siêu âm để hoà tan mẫu. H. Hashemzadeh và cs (2023) [14] đã chỉ ra rằng, sự hình thành phức hợp bền vững chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như: những tương tác phân tử giữa hoạt chất và phospholipid, độ linh hoạt trong cấu trúc hoạt chất, lực Van der Waals, khoảng cách giữa các phân tử hoạt chất và PC trước khi phản ứng. Vì vậy, trong phức hợp sẽ tồn tại cả liên kết hydro bền và lỏng lẻo tùy thuộc vào những yếu tố trên. Khi chịu tác động trong thời gian dài của sóng siêu âm, các liên kết yếu hơn trong phức sẽ đứt gãy trước, làm cho các hoạt chất rò rỉ ra ngoài, dẫn tới sai số trong đánh giá hiệu suất phytosome hoá. Trong nghiên cứu này, thời gian siêu âm để hoà tan mẫu phytosome AG-P được khảo sát và cho thấy, 60 phút là thời gian siêu âm phù hợp với khả năng hoà tan AG dạng phytosome tốt và hạn chế phá vỡ cấu trúc của phytosome.

Việc sử dụng dung môi hoà tan chọn lọc để đánh giá hiệu suất phytosome hoá trong bào chế phytosome AG là phương pháp dễ thực hiện và cho độ tin cậy tương đối tốt. Tuy nhiên, điểm hạn chế trong nghiên cứu này là sử dụng dung môi benzen không thân thiện môi trường và có độc tính cao, tiềm ẩn nguy cơ ảnh hưởng tới sức khoẻ và môi trường. Mặc dù đã khảo sát nhiều loại dung môi, nhưng nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm ra được các dung môi thân thiện khác. Trong tương lai, cần thực hiện thêm các khảo sát về nhiều loại dung môi khác, có tính chất tương tự benzen (ví dụ như CO_2 siêu tới hạn) để hạn chế các nhược điểm này.

4.2. Chứng minh sự hình thành phytosome andrographolid

Để tăng tính thuyết phục cho việc sử dụng benzen là dung môi hoà tan chọn lọc, nhằm tách riêng phần AG liên kết với PC trong phytosome và AG ở dạng tự do trong hỗn hợp sau khi bào chế, nghiên cứu này thực hiện tinh

chế thu lấy phytosome tinh khiết để kiểm tra các tính chất vật lý và khẳng định cấu trúc liên kết của AG với PC trong phytosome bằng các phân tích phổ. Các mẫu đo được thực hiện song song với các loại mẫu AG, PC, hỗn hợp vật lý AG-PC và phytosome AG-P. Các kết quả về phân tích phổ IR, $^1\text{H-NMR}$, XRD, DSC đều cho thấy, có sự khác biệt về các tín hiệu của mẫu AG tự do và mẫu phytosome AG-P tinh khiết. Điều này cho thấy, sử dụng benzen có thể tách được AG ở dạng phytosome ra khỏi hỗn hợp nhiều thành phần sau khi thực hiện phản ứng tạo phức.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hóa trong bào chế phytosome andrographolid bằng phương pháp sử dụng dung môi hòa tan chọn lọc. Benzen được xác định là loại dung môi phù hợp nhờ khả năng hòa tan chọn lọc andrographolid dạng liên kết với phosphatidylcholine trong phytosome mà không hòa tan AG dạng tự do. Thời gian siêu âm 60 phút cho hiệu quả hòa tan AG dạng phytosome tốt nhất, mà ít gây phá vỡ cấu trúc của phytosome. Kết quả phân tích phổ FT-IR, $^1\text{H-NMR}$, XRD và DSC đã khẳng định sự hình thành của phức AG-PC và loại trừ sự hiện diện của AG tự do trong mẫu sau khi xử lý bằng phương pháp đề xuất. Phương pháp này đơn giản, dễ thực hiện, đảm bảo tính đặc hiệu và chính xác cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Y. Dai, Y. Wang, H. Dong, et al. (2019), "Overview of pharmacological activities of *Andrographis paniculata* and its major compound andrographolide", *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **59**(Sup.1), pp.s17-s29, DOI: 10.1080/10408398.2018.1501657.

[2] S. Gupta, K.P. Mishra, L. Ganju (2017), "Broad-spectrum antiviral properties of andrographolide", *Arch. Virol.*, **162**(3), pp.611-623, DOI: 10.1007/s00705-016-3166-3.

[3] S.P. Adiguna, J.A. Panggabean, A. Atikana, et al. (2021), "Antiviral activities of andrographolide and its derivatives: Mechanism of action and delivery system", *Pharmaceutics*, **14**(11), DOI: 10.3390/ph14111102.

[4] P. Khadka, J. Ro, H. Kim, et al. (2014), "Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability", *Asian J. Pharm. Sci.*, **9**(6), pp.304-316, DOI: 10.1016/j.ajps.2014.05.005.

[5] X. Zhang, H. Xing, Y. Zhao, et al. (2018), "Pharmaceutical dispersion techniques for dissolution and bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs", *Pharmaceutics*, **10**(3), DOI: 10.3390/pharmaceutics10030074.

[6] A. Raghav, M. Attri, H. Chaudhary (2025), "Review of phytosomes and ethosomes: Groundbreaking approaches for delivering the phytochemical components of plants", *Curr. Drug Deliv.*, **22**(6), pp.666-677, DOI: 10.2174/0115672018282264240218034853.

[7] A.R. Gaikwad, K.D. Ahire, A.A. Gosavi, et al. (2021), "Phytosome as a novel drug delivery system for bioavailability enhancement of phytoconstituents and its applications: A review", *J. Drug Deliv. Ther.*, **11**(3), pp.138-152, DOI: 10.22270/jddt.v11i3.4847.

[8] A. Pawar, S. Rajalakshmi, P. Mehta, et al. (2016), "Strategies for formulation development of andrographolide", *RSC Adv.*, **6**(73), pp.69282-69300, DOI: 10.1039/C6RA12161F.

[9] V.H. Pham, T.D. Nguyen, H.H. Nguyen, et al. (2023), "Development and validation of a high performance liquid chromatography method for the quantification of andrographolide in polymeric nanosystem", *Journal of Military Pharmaco-Medicine*, **48**, pp.116-128, DOI: 10.56535/jmpm.v48.462 (in Vietnamese).

[10] A. Mourya, A. Pathak, S. Verma, et al. (2023), "Computational and experimental therapeutic efficacy analysis of andrographolide phospholipid complex self-assembled nanoparticles against Neuro2a cells", *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, **1867**(2), DOI: 10.1016/j.bbagen.2022.130283.

[11] C. Chi, C. Zhang, Y. Liu, et al. (2020), "Phytosome-nanosuspensions for silybin-phospholipid complex with increased bioavailability and hepatoprotection efficacy", *Eur. J. Pharm. Sci.*, **144**, DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105212.

[12] L. Liu, J. Nie, L. Li (2023), "Phospholipid complexation for bioavailability improvement of albendazole: Preparation, characterization and *in vivo* evaluation", *AAPS PharmSciTech*, **24**(1), DOI: 10.1208/s12249-022-02497-1.

[13] R.G. Shriram, A. Moin, H.F. Alotaibi, et al. (2022), "Phytosomes as a plausible nano-delivery system for enhanced oral bioavailability and improved hepatoprotective activity of silymarin", *Pharmaceutics*, **15**, DOI: 10.3390/ph15070790.

[14] H. Hashemzadeh, M.Y.H. Bojd, M. Iranshahy, et al. (2023), "The combination of polyphenols and phospholipids as an efficient platform for delivery of natural products", *Sci. Rep.*, **13**(1), DOI: 10.1038/s41598-023-29237-0.

Tổng hợp và thử hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 của một số dẫn chất amid của ibuprofen

Nguyễn Thanh Trang*, Phạm Thu Hương, Nguyễn Thị Trâm, Phan Anh Tú, Trần Thị Thúy Nga

Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y - Dược Đà Nẵng, 99 Hùng Vương, phường Hải Châu, TP. Đà Nẵng, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/8/2025; ngày chuyển phản biện 3/8/2025; ngày nhận phản biện 27/10/2025; ngày chấp nhận đăng 31/10/2025

Tóm tắt:

Ibuprofen là một thuốc chống viêm không steroid đã được ghi nhận có khả năng làm giảm nguy cơ mắc ung thư vú trên lâm sàng. Hướng nghiên cứu tìm kiếm các dẫn chất mới của ibuprofen với hoạt tính chống ung thư thu hút được sự quan tâm của các nhà khoa học, đặc biệt là các dẫn chất amid. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tổng hợp và khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của các dẫn chất amid ibuprofen. Các hợp chất được tổng hợp bằng phương pháp one-pot từ ibuprofen và các amin thơm với hiệu suất 12,1-40,2%. Khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư sau đó được xác định bằng phương pháp MTT. Đặc tính giống thuốc được đánh giá dựa trên quy tắc 5-Lipinski, trong khi các thông số dược động học - độc tính được dự đoán bằng công cụ ADMETlab 3.0. Kết quả cho thấy, cả năm dẫn chất amid ibuprofen đều có hoạt tính gây độc tế bào ung thư với IC_{50} 13,93-44,17 μ M. Trong đó, dẫn chất T5 (*N*-(3-bromopyridin-4-yl)-2-(4-isobutylphenyl) propanamid) thể hiện hoạt tính tốt nhất. Các hợp chất này cũng có đặc tính dược động học phù hợp, là cơ sở ban đầu để tiếp tục đánh giá độ chọn lọc, cơ chế tác dụng và độ an toàn của các dẫn chất.

Từ khóa: dẫn chất amid của ibuprofen, độc tính tế bào, MCF-7, phản ứng one-pot, ung thư vú.

Chỉ số phân loại: 1.4, 3.1, 3.4

Synthesis and cytotoxic evaluation of ibuprofen amide derivatives on MCF-7 breast cancer cells

Thanh Trang Nguyen*, Thu Huong Pham, Thi Tram Nguyen, Anh Tu Phan, Thi Thuy Nga Tran

Faculty of Pharmacy, Da Nang University of Medical Technology and Pharmacy, 99 Hung Vuong Street, Hai Chau Ward, Da Nang City, Vietnam

Received 1 August 2025; revised 27 October 2025; accepted 31 October 2025

Abstract:

Ibuprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug, has been documented in clinical studies for its potential to reduce breast cancer risk. The research direction exploring novel ibuprofen derivatives with anticancer activity has attracted significant attention from scientists, particularly amide derivatives. This study was conducted to synthesise and evaluate the cytotoxic activity of ibuprofen amide derivatives against MCF-7 breast cancer cells. These compounds were synthesised using a one-pot method from ibuprofen and aromatic amines, achieving yields ranging from 12.1 to 40.2%. The ability to inhibit the growth of cancer cells was then assessed by the MTT assay. Drug-like properties were analysed based on Lipinski's Rule of Five to predict oral availability, while pharmacokinetic and toxicological parameters were predicted using ADMETlab 3.0. The results reveal that all five ibuprofen amides had cytotoxic activity against MCF-7 cells, with IC_{50} values ranging from 13.93 to 44.17 μ M, in which compound T5 (*N*-(3-bromopyridin-4-yl)-2-(4-isobutylphenyl) propanamide) displayed the highest potency. These compounds demonstrated favourable pharmacokinetic properties, providing an initial foundation for further evaluation of the selectivity, mechanism of action, and safety of the derivatives.

Keywords: breast cancer, cytotoxicity, ibuprofen amide derivatives, MCF-7, one-pot synthesis.

Classification numbers: 1.4, 3.1, 3.4

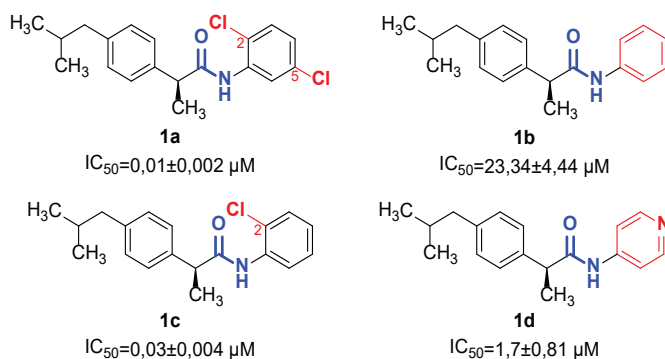
*Tác giả liên hệ: Email: nthanhttrang@dhktyduocdn.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Ung thư là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Theo Cơ quan Nghiên cứu ung thư quốc tế (2022), ước tính có 20 triệu ca ung thư được báo cáo và gần 9,7 triệu ca tử vong do ung thư trên toàn cầu. Gánh nặng ung thư dự kiến đạt 35 triệu ca vào năm 2050 [1]. Tại Việt Nam, số lượng mắc mới năm 2022 là 180.480 ca và số lượng tử vong do ung thư là 120.184 ca. Trong đó, ung thư vú có tỷ lệ mắc mới cao nhất chiếm 13,6% [2].

Các nghiên cứu đã chỉ ra sự biểu hiện quá mức của COX-2 (cyclooxygenase-2) trong các loại khối u, góp phần thúc đẩy sự di căn và hình thành mạch máu, ức chế sự chết tế bào theo chương trình (apoptosis) và kích hoạt tiền chất gây ung thư. Do đó, thuốc chống viêm không steroid (NSAIDs) với cơ chế ức chế COX giúp ức chế sự tăng sinh tế bào và thể hiện hoạt động chống ung thư [3]. Ibuprofen là một NSAID không chọn lọc, đã được báo cáo với khả năng làm giảm nguy cơ mắc ung thư vú trên lâm sàng [4, 5]. Tuy nhiên, nguy cơ gây loét và xuất huyết tiêu hóa là yếu tố cản trở việc sử dụng lâu dài. Tác dụng phụ này được cho là do phản ứng gây kích ứng tại chỗ của nhóm carboxylic tự do. Amid hóa ibuprofen được chứng minh làm giảm độc tính trên đường tiêu hóa và cải thiện hoạt tính giảm đau, chống viêm [6, 7].

Z. Ashraf và cs (2019) [8] đã tổng hợp và đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của 10 dẫn chất amid dexibuprofen. Kết quả cho thấy, sự hiện diện của nhóm thế cloro tại vị trí *ortho* trên vòng phenyl có vai trò quan trọng đối với hoạt tính. Cụ thể, dẫn chất **1a** và **1c** (hình 1) thể hiện khả năng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vượt trội với IC_{50} lần lượt là 0,01 và 0,03 μM , tốt hơn chất đối chiếu doxorubicin ($IC_{50}=0,04\pm0,006 \mu M$). Bên cạnh đó, hợp chất **1d** chứa nhóm 4-pyridinyl cũng có lợi cho hoạt tính hơn khi so sánh với hợp chất **1b** mang vòng phenyl. Với mục đích tìm kiếm các dẫn chất amid ibuprofen tiềm năng, nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện nhằm đánh giá thêm sự ảnh hưởng của vị trí N trên dị vòng pyridin và nhóm thế



Hình 1. Hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của một số dẫn chất amid dexibuprofen.

halogen khác (-Br) trên vòng phenyl đối với hoạt tính gây độc tế bào.

Các dẫn chất amid ibuprofen có thể được điều chế bằng quy trình 2 giai đoạn gồm hoạt hóa acid carboxylic bằng thionyl clorid và phản ứng với amin với sự có mặt của xúc tác kiềm [9]. Quy trình này đòi hỏi các bước xử lý riêng cho từng giai đoạn, thời gian phản ứng dài và phải thực hiện ở nhiệt độ sôi của dung môi hoặc nhiệt độ thấp. Để đơn giản hóa quy trình tổng hợp, nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn phương pháp one-pot trong điều chế amid ibuprofen [10]. Các dẫn chất amid tổng hợp sau đó được khảo sát hoạt tính gây độc tế bào bằng phương pháp MTT và được đánh giá tiềm năng làm thuốc bằng công cụ ADMETlab 3.0.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hoá chất, dung môi hữu cơ dùng trong tổng hợp được mua từ Macklin, Xilong, Guangdong Guanghua Sci-Tech Co Ltd. (Trung Quốc) và ChemSol (Việt Nam) theo tiêu chuẩn tổng hợp và sử dụng trực tiếp. Phản ứng hoá học được tiến hành trong bình cầu và sử dụng bếp khuấy từ gia nhiệt. Theo dõi phản ứng bằng sắc ký lớp mỏng silica gel GF254, phát hiện vết dưới đèn UV 254 nm và 365 nm. Điểm chảy đo trên máy Stuart SMP10. Phổ 1H NMR và ^{13}C NMR được đo trên máy Bruker (Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội). Phổ IR đo trên máy IRAffinity-1S Shimadzu và phổ khối MS được đo trên máy Waters UPLC Acquity H class (Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh).

Hoá chất, dung môi dùng trong thử nghiệm sinh học gồm PBS (phosphate buffered saline), (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT - Ultra Pure, QB494541, BIO BASIC, Toronto, Canada), ellipticine, dimethyl sulfoxide. Thiết bị gồm kính hiển vi ngược (Axiovert 40 CFL), buồng đếm tế bào (Fisher, Hoa Kỳ), máy quang phổ (BioTek, Ý), tủ ẩm CO_2 , tủ lạnh sâu $-80^\circ C$, bình nitơ lỏng, cân phân tích, máy đo pH và các dụng cụ thí nghiệm thông thường. Dòng tế bào ung thư vú người MCF-7 do Trường Đại học Long-Island, Hoa Kỳ và Đại học Quốc lập Dương Minh Giao Thông, Đài Loan (Trung Quốc) cung cấp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tổng hợp các dẫn chất amid của ibuprofen

Trong bình cầu, 3 mmol ibuprofen và 3 mmol dẫn chất amin được hòa tan trong 10 ml DCM. Tiếp tục thêm

lần lượt 9 mmol TEA và 3 mmol thionyl clorid vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng với tốc độ thấp và được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng. Thời gian phản ứng từ 2 đến 24 giờ, tùy thuộc vào cấu trúc của từng dẫn chất. Hỗn hợp sau phản ứng được lắc phân bố lần lượt với HCl 1% (20 ml x 3 lần), NaOH 1% (20 ml x 3 lần) và NaCl bão hòa (20 ml x 1 lần). Lớp DCM được tách ra, làm khan và cô dưới áp suất giảm thu được sản phẩm thô. Tinh chế bằng cách kết tinh lại trong hỗn hợp methanol nước (**T1**, **T2** và **T5**) hoặc sắc ký cột với hệ dung môi *n*-hexan:aceton (**T3** và **T4**). Chất tổng hợp sau đó được kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký lớp mỏng và được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ (¹H NMR, ¹³C NMR, IR và MS).

2.2.2. Phương pháp đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7

Các dẫn chất được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 tại Phòng Công nghệ tế bào và Thử nghiệm sinh học, Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam theo phương pháp MTT của T. Mosmann (1983) [11].

Nguyên tắc thử nghiệm: Mức độ sống sót của tế bào được đánh giá qua khả năng khử MTT (màu vàng) thành phức hợp formazan (màu tím) bởi hoạt động của enzym dehydrogenase trong ty thể. Sản phẩm formazan được hòa tan bằng DMSO và được đo độ hấp thụ quang (OD) ở bước sóng 540 nm. Số lượng tế bào sống tỷ lệ thuận với cường độ màu tím đo được.

Tiến hành thí nghiệm: Mẫu thử được hòa tan trong DMSO để có nồng độ ban đầu là 20 mM, pha loãng mẫu bằng môi trường nuôi cấy tế bào (không có FBS). Trypsin hóa để làm rời tế bào và đếm trong buồng đếm để điều chỉnh mật độ cho phù hợp với thí nghiệm (3x10⁴ tế bào/ml). Cho 190 μl tế bào (được nuôi trong môi trường có bổ sung 5% FBS) vào đĩa 96 giếng và đưa vào tủ ấm CO₂ cho phát triển ổn định từ 18-20 giờ. Thêm 10 μl mẫu thử đã pha loãng vào các giếng đã chuẩn bị tế bào sao cho nồng độ mẫu thử trong giếng là 150-100-50-10-1 μM. Giếng không có mẫu thử nhưng có tế bào ung thư (190 μl) và DMSO 1% (10 μl) được dùng làm đối chứng âm. Giếng không có tế bào và mẫu thử, chỉ có môi trường nuôi cấy được xem là giếng trắng. Ủ trong tủ ấm ở điều kiện 37°C, 5% CO₂ trong 48 giờ. Sau đó, 10 μl dung dịch MTT (nồng độ cuối cùng trong giếng là 0,5 mg/ml) được thêm vào mỗi giếng. Sau 4 giờ, loại bỏ môi trường, hòa tan tinh thể formazan bằng 50 μl DMSO. Giá trị OD được đo ở bước sóng 540 nm bằng máy quang phổ BioTek Elx800. Phép thử được lặp lại 3 lần. Ellipticine ở các nồng độ 10-2-0,4-0,08 μg/ml được sử dụng làm chất đối chứng.

Phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào (%I) được xác định thông qua công thức:

$$I(\%) = \left[1 - \frac{OD_{(mẫu thử)}(mẫu thử) - OD_{(blank)}}{OD_{(DMSO)} - OD_{(blank)}} \right] \times 100$$

Giá trị IC₅₀ được xác định thông qua %I tại 5 nồng độ (mẫu thử) hoặc 4 nồng độ (chất đối chứng) và được xử lý bằng phần mềm máy tính TableCurve 2Dv4.

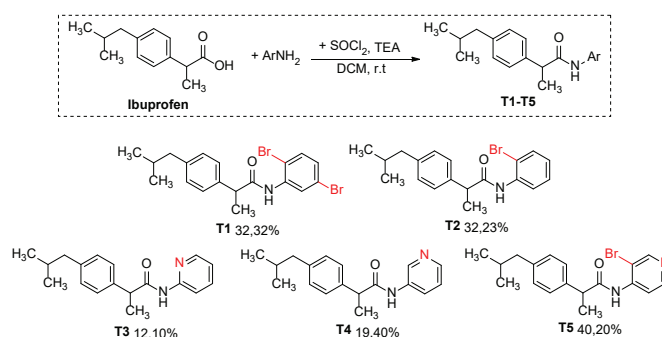
2.2.3. Phương pháp dự đoán các thông số dược động học và độc tính (ADMET)

Các đặc tính dược động học như hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ (ADME) và độc tính (T) của các dẫn chất amid ibuprofen được dự đoán bằng công cụ trực tuyến ADMETlab 3.0 (<https://admetlab3.scbdd.com/>). Các hợp chất được chuyển thành chuỗi SMILES bằng ChemDraw, sau đó dán vào ô tương ứng và nhấn Submit để đánh giá. Kết quả được phân tích dựa trên quy tắc 5-Lipinski và các thông số ADMET chính gồm pKa (acid/base), Caco-2, HIA, P-gp, PPB, LogVDss, CYP2C9, CYP3A4, t_{1/2}, Cl-plasma, Ames, H-HT và ROA. Dữ liệu được trích xuất vào ngày 3/6/2025.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả tổng hợp các dẫn chất amid của ibuprofen

Các dẫn chất amid ibuprofen được tổng hợp bằng phương pháp one-pot với hiệu suất thu được từ 12,1 đến 40,2% (hình 2).



Hình 2. Kết quả tổng hợp các dẫn chất amid ibuprofen.

Chất **T1** (*N*-(2,5-dibromophenyl)-2-(4-isobutylphenyl) propanamid) được tạo thành từ phản ứng giữa ibuprofen và 2,5-dibromoanilin, hiệu suất 32,32%. Sản phẩm thu được dạng bột màu trắng đến vàng nhạt; tan tốt trong aceton, cloroform, dicloromethan, ethyl acetat, tan vừa trong methanol, ethanol và rất ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 88°C. Sắc ký lớp mỏng: R_f=0,2 [*n*-hexan:DCM (3:1)], R_f=0,57 [*n*-hexan:EtOAc

(15:1)], $R_f=0,61$ [*n*-hexan:aceton (10:1)]. FT-IR (ATR, ν cm^{-1}): 3304,06 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2953,02 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1658,78 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1456,26 ($\nu_{\text{C-H methylene}}$), 1396,47 ($\nu_{\text{C-H methyl}}$), 567,07 ($\nu_{\text{C-Br}}$). ^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 8,63 (d, $J=2,4$ Hz, 1H, H-Ar), 7,61 (s, 1H, NH), 7,28-7,26 (m, 3H, H-Ar), 7,19 (d, $J=8,1$ Hz, 2H, H-Ar), 7,04 (dd, $J_1=8,5$ Hz, $J_2=2,4$ Hz, 1H, H-Ar), 3,76 (q, $J=7,2$ Hz, 1H, CH), 2,48 (d, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2), 1,86 (n, $J=6,8$ Hz, 1H, CH), 1,64 (d, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3), 0,90 (d, $J=6,6$ Hz, 6H, CH_3). ^{13}C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 173,02; 141,69; 137,19; 136,91; 133,08; 130,26 (2C); 127,89 (2C); 127,86; 123,97; 122,11; 111,54; 48,20; 45,14; 30,39; 22,47 (2C); 17,90. HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ dự kiến 440,00422 (đồng vị Br-79, Br-81) và 442,00217 (đồng vị Br-81), thực tế đo 440,00522 và 442,00356.

Chất **T2** (*N*-(2-bromophenyl)-2-(4-isobutylphenyl)propanamid) được tạo thành từ phản ứng giữa ibuprofen và 2-bromoanilin, hiệu suất 32,23%. Sản phẩm thu được dạng bột màu trắng đến vàng nhạt; tan tốt trong aceton, cloroform, dicloromethan, ethyl acetat, tan vừa trong methanol, ethanol và rất ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 58 °C. Sắc ký lớp mỏng: $R_f=0,2$ [*n*-hexan:DCM (5:1)], $R_f=0,56$ [*n*-hexan:aceton (15:1)], $R_f=0,8$ [toluen:aceton (10:1)]. FT-IR (ATR, ν cm^{-1}): 3273,20 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2953,02 ($\nu_{\text{C-H}}$), 2868,15 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1656,85 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1467,83 ($\nu_{\text{C-H methylene}}$), 1435,04 ($\nu_{\text{C-H methyl}}$), 1381,03 ($\nu_{\text{C-H methyl}}$), 557,43 ($\nu_{\text{C-Br}}$). ^1H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 8,37 (d, $J=8,2$ Hz, 1H, H-Ar), 7,63 (s, 1H, NH), 7,42 (dd, $J_1=8,0$ Hz, $J_2=1,4$ Hz, 1H, H-Ar), 7,30 (d, $J=8,2$ Hz, 2H, H-Ar), 7,27 (d, $J=8,8$ Hz, 1H, H-Ar), 7,19 (d, $J=8,2$ Hz, 2H, H-Ar), 6,94-6,87 (m, 1H, H-Ar), 3,77 (q, $J=7,2$ Hz, 1H, CH), 2,49 (d, $J=7,0$ Hz, 2H, CH_2), 1,87 (n, $J=6,7$ Hz, 1H, CH), 1,65 (d, $J=7,3$ Hz, 3H, CH_3), 0,91 (d, $J=6,6$ Hz, 6H, CH_3). ^{13}C NMR (151 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 172,95; 141,52; 137,55; 135,94; 132,24; 130,18 (2C); 128,43; 127,91 (2C); 125,02; 121,45; 113,30; 48,24; 45,17; 30,38; 22,48 (2C); 18,01. HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ dự kiến 360,09575 (đồng vị Br-79) và 362,09370 (đồng vị Br-81), thực tế đo 360,09709 và 362,09533.

Chất **T3** (2-(4-isobutylphenyl)-*N*-(pyridin-2-yl)propanamid) được tạo thành từ phản ứng giữa ibuprofen và 2-aminopyridin, hiệu suất 12,10%. Sản phẩm thu được dạng tinh thể hình kim trong suốt; tan tốt trong aceton, cloroform, dicloromethan, ethanol, ethyl acetat, methanol, rất ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy

104°C. Sắc ký lớp mỏng: $R_f=0,18$ [*n*-hexan:EtOAc (7:1)], $R_f=0,45$ [*n*-hexan:aceton (7:1)], $R_f=0,63$ [toluen:aceton (5:1)]. FT-IR (ATR, ν cm^{-1}): 3259,70 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2962,66 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1664,57 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1575,84 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1456,26 ($\nu_{\text{C-H methylene}}$), 1357,89 ($\nu_{\text{C-H methyl}}$). ^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 8,23 (d, $J=8,4$ Hz, 1H, H-Ar), 8,19 (d, $J=3,2$ Hz, 1H, H-Ar), 7,82 (s, 1H, NH), 7,67 (dd, $J_1=7,0$ Hz, $J_2=1,6$ Hz, 1H, H-Ar), 7,24 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, H-Ar), 7,14 (d, $J=8,0$ Hz, 2H, H-Ar), 6,99 (dd, $J_1=5,2$ Hz, $J_2=2,1$ Hz, 1H, H-Ar), 3,70 (q, $J=1$ Hz, 1H, CH), 2,45 (d, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2), 1,86 (n, $J=6,6$ Hz, 1H, CH), 1,58 (d, $J=7,1$ Hz, 3H, CH_3), 0,90 (d, $J=6,7$ Hz, 6H, CH_3). ^{13}C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm) 173,10; 151,51; 147,85; 141,30; 138,46; 137,75; 130,05 (2C); 127,49 (2C); 119,82; 113,95; 48,09; 45,18; 30,29; 22,55 (2C); 18,57. HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ dự kiến 283,18049, thực tế đo 283,18081.

Chất **T4** (2-(4-isobutylphenyl)-*N*-(pyridin-3-yl)propanamid) được tạo thành từ phản ứng giữa ibuprofen và 3-aminopyridin, hiệu suất 19,40%. Sản phẩm thu được dạng tinh thể hình kim trong suốt hoặc màu trắng; tan tốt trong aceton, cloroform, dicloromethan, ethanol, ethyl acetat, methanol, rất ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 98 °C. Sắc ký lớp mỏng: $R_f=0,10$ [*n*-hexan:EtOAc (4:1)], $R_f=0,41$ [toluen:aceton (5:1)], $R_f=0,56$ [*n*-hexan:aceton (2:1)]. FT-IR (ATR, ν cm^{-1}): 3309,85 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2949,16 ($\nu_{\text{C-H}}$), 1662,64 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1598,99 ($\nu_{\text{C=N}}$), 1458,18 ($\nu_{\text{C-H methylene}}$), 1421,54 ($\nu_{\text{C-H methyl}}$). ^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 8,39 (d, $J=2,7$ Hz, 1H, H-Ar), 8,27 (d, $J=5,6$ Hz, 1H, H-Ar), 8,11 (d, $J=8,2$ Hz, 1H, H-Ar), 7,45 (s, 1H, NH), 7,27-7,18 (m, 3H, H-Ar), 7,15 (d, $J=7,9$ Hz, 2H, H-Ar), 3,72 (q, $J=7,1$ Hz, 1H, CH), 2,47 (d, $J=7,2$ Hz, 2H, CH_2), 1,86 (n, $J=6,7$ Hz, 1H, CH), 1,58 (d, $J=7,2$ Hz, 3H, CH_3), 0,90 (d, $J=6,6$ Hz, 6H, CH_3). ^{13}C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 173,33; 145,23; 141,45; 141,08; 137,81; 134,96; 130,09 (2C); 127,50 (2C); 127,15; 123,74; 47,75; 45,13; 30,30; 22,50 (2C); 18,63. HRMS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ dự kiến 283,18049, thực tế đo 283,18111.

Chất **T5** (*N*-(3-bromopyridin-4-yl)-2-(4-isobutylphenyl)propanamid) được tạo thành từ phản ứng giữa ibuprofen và 4-amino-3-bromopyridin, hiệu suất 40,20%. Sản phẩm thu được dạng tinh thể hình kim trong suốt; tan tốt trong aceton, cloroform, dicloromethan, ethyl acetat, ethanol, methanol và rất ít tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 68 °C. Sắc ký lớp mỏng:

$R_f=0,28$ [toluen:EtOAc (2:1)], $R_f=0,50$ [*n*-hexan:aceton (3:1)], $R_f=0,77$ [*n*-hexan:EtOAc (1:1)]. FT-IR (ATR, ν cm⁻¹): 3365,78 (ν_{N-H}), 2958,80 (ν_{C-H}), 1705,07 ($\nu_{C=O}$), 1575,84 ($\nu_{C=N}$), 1450,47 (ν_{C-H} methylene), 1394,53 (ν_{C-H} methyl), 567,07 (ν_{C-Br}). ¹H NMR (500 MHz, Chloroform-d) δ (ppm): 8,51 (d, $J=7,2$ Hz, 1H, H-Ar), 8,38 (dd, $J_1=5,7$ Hz, $J_2=1,2$ Hz, 2H, H-Ar), 7,79 (s, 1H, NH), 7,27 (d, $J=8,1$ Hz, 2H, H-Ar), 7,21 (d, $J=8,1$ Hz, 2H, H-Ar), 3,79 (q, $J=7,2$ Hz, 1H, CH), 2,49 (d, $J=7,2$ Hz, 2H, CH₂), 1,85 (n, $J=6,8$ Hz, 1H, CH), 1,64 (d, $J=7,2$ Hz, 3H, CH₃), 0,90 (d, $J=6,6$ Hz, 6H, CH₃). ¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-d) δ (ppm): 173,56; 151,62; 149,79; 142,45; 141,96; 136,80; 130,42 (2C); 127,86 (2C); 114,41; 110,50; 48,39; 45,13; 30,39; 22,46 (2C); 17,73. HRMS (ESI) [M+H]⁺ dự kiến 361,09100 (đồng vị Br-79) và 363,08895 (đồng vị Br-81), thực tế đo 361,09108 và 363,08933.

Quy trình 2 giai đoạn thông thường gồm bước hoạt hóa acid carboxylic bằng thionyl clorid trong cloroform, đun hồi lưu 3 giờ và sau đó acyl clorid phản ứng với amin ở nhiệt độ thấp (0°C) [9]. Trong khi đó, quy trình one-pot hoạt hóa acid carboxylic *in situ* bằng thionyl clorid, đồng thời TEA giúp khử proton tạo carboxylat, góp phần thúc đẩy phản ứng diễn ra hiệu quả hơn. Điều này giúp rút ngắn thời gian phản ứng và không cần phải phân lập dẫn chất acyl clorid trung gian. Phản ứng cũng được thực hiện ở điều kiện nhiệt độ phòng, chỉ sử dụng một dung môi duy nhất nên giúp tiết kiệm nguyên liệu và giảm chi phí.

Cấu trúc 5 chất tổng hợp được xác định bằng các phương pháp phổ hóa học gồm ¹H NMR, ¹³C NMR, IR và MS. Kết quả cho thấy dữ liệu phổ thực nghiệm phù hợp với cấu trúc dự kiến. Phổ IR có đỉnh của các nhóm chức đặc trưng như N-H, C=O, C=N, C-Br, C-H thơm, C-H methylene và C-H methyl. Phổ ¹H NMR và ¹³C NMR cho các đỉnh tương ứng với cấu trúc dự kiến và số tích phân phù hợp. Phổ MS cho giá trị *m/z* phù hợp với khối lượng phân tử của hợp chất tổng hợp. **T1**, **T2** và **T5** đều là chất mới và chưa được công bố dữ liệu phổ. Kết quả dữ liệu phổ ¹H NMR của hợp chất **T3** và **T4** phù hợp với cấu trúc và dữ liệu phổ đã công bố [6].

3.2. Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của các dẫn chất amid ibuprofen

Phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào (%I) ở nồng độ 100 μ M và nồng độ ức chế 50% sự phát triển tế bào (IC₅₀) của chất đối chứng ellipticine và các dẫn chất amid ibuprofen được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 của 5 dẫn chất amid ibuprofen và chất đối chứng ellipticine bằng phương pháp MTT.

Mẫu thử	%I (100 μ M)	IC ₅₀ $\pm$ SD (μ M)
T1	89,82	19,83 $\pm$ 0,41
T2	83,20	44,17 $\pm$ 2,36
T3	96,46	22,14 $\pm$ 0,56
T4	97,55	40,91 $\pm$ 1,05
T5	95,97	13,93 $\pm$ 0,44
Ellipticine		1,54 $\pm$ 0,12

Cả 5 hợp chất tổng hợp đều thể hiện hoạt tính ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vú MCF-7 với IC₅₀ từ 13,93-44,17 μ M, **T5** là dẫn chất có hoạt tính tốt nhất. So với chất đối chứng là ellipticine (IC₅₀=1,54 $\pm$ 0,12 μ M) các dẫn chất tổng hợp đều cho giá trị IC₅₀ cao hơn. Tuy nhiên, với cùng phương pháp thử nghiệm thì dẫn chất **T5** (IC₅₀=13,93 μ M) cho hoạt tính tốt hơn trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 khi so sánh với cisplatin (IC₅₀=19,67 $\pm$ 5,94 μ M) được báo cáo trong nghiên cứu của H. Ciftci và cs (2022) [13]. Như vậy, mặc dù các dẫn chất amid ibuprofen chưa có mức độ ức chế mạnh như ellipticine nhưng vẫn thể hiện được tiềm năng ức chế tế bào MCF-7 ở mức độ nhất định.

T2 với nhóm thế bromo ở vị trí số 2 trên vòng phenyl có giá trị IC₅₀=44,17 μ M. Gắn thêm nhóm thế -Br ở vị trí số 5 trên vòng phenyl làm tăng khả năng ức chế hơn 2 lần (IC₅₀ **T1**=19,83 μ M). Xu hướng này cũng quan sát thấy trong nghiên cứu của Z. Ashraf và cs (2019) [8]. Liên quan đến vai trò của nhóm thế halogen đối với hoạt tính chống ung thư vú, một nghiên cứu khảo sát *in silico* khả năng gắn kết của các dẫn chất halogen với thụ thể Estrogen Alpha (ER α) cũng đã chứng minh liên kết halogen góp phần ổn định phức hợp phối tử-protein và nâng cao ái lực gắn kết [14]. Thay thế vòng benzen bằng dị vòng pyridin làm tăng hoạt tính lên đáng kể, cụ thể **T5** (IC₅₀=13,93 μ M) có khả năng gây độc tế bào ung thư tốt hơn gấp 3 lần **T2** (IC₅₀=44,17 μ M). Kết quả này cũng tương đồng với một nghiên cứu trước đây [8]. Bên cạnh đó, vị trí của N trên dị vòng pyridin cũng ảnh hưởng đến khả năng ức chế sự phát triển tế bào ung thư vú MCF-7. Hợp chất **T3** với N ở vị trí số 2 cho hoạt tính tốt hơn hợp chất với N ở vị trí số 3 (**T4**). Như vậy, sự có mặt của nhóm thế -Br ở vị trí 2, 5 và việc thay thế vòng phenyl bằng pyridinyl giúp cải thiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7.

Bảng 2. Kết quả đánh giá *in silico* quy tắc 5-Lipinski và một số thông số ADMET của các dẫn chất T1-T5 và ibuprofen.

Đặc tính	Thông số	T1	T2	T3	T4	T5	Ibuprofen
Quy tắc 5-Lipinski (số tiêu chí vi phạm)		0	0	0	0	0	0
Tính chất lý hoá	pKa acid	10,24	9,86	9,72	9,44	9,56	4,61
	pKa base	3,10	3,91	5,03	5,33	4,64	3,05
Hấp thu	Caco-2 (log unit)	-4,79	-4,67	-4,54	-4,57	-4,63	-4,30
	HIA	>30%	>30%	>30%	>30%	>30%	>30%
	Ức chế Pgp	+++	-	-	--	---	---
	Cơ chất Pgp	---	---	---	---	---	--
Phân bố	PPB (%)	99,07	98,86	96,97	97,19	98,17	97,58
	LogVDss (L/kg)	0,44	0,30	-0,14	0,09	0,14	-0,80
Chuyển hóa	Ức chế CYP2C9	+++	+++	-	+++	+++	---
	Cơ chất CYP2C9	---	---	+++	---	---	+++
	Ức chế CYP3A4	--	--	---	+++	+++	---
	Cơ chất CYP3A4	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Thải trừ	t _{1/2} (giờ)	0,79	0,71	0,81	0,61	0,83	1,45
	Cl-plasma (ml/phút/kg)	5,22	6,07	4,13	7,60	6,35	1,04
Độc tính	Đột biến Ames	---	--	--	--	--	---
	Độc gan H-HT	+	+	++	++	+	++
	ROA	--	--	--	--	-	-

Các ký hiệu từ rất thấp (---) đến rất cao (+++) biểu thị xác suất dự đoán theo mô hình ADMETlab 3.0, với thang phân loại: (---): 0,00-0,10; (--): 0,10-0,30; (-): 0,30-0,50; (+): 0,50-0,70; (++) : 0,70-0,90; (+++): 0,90-1,00; Độc gan H-HT: nguy cơ gây độc tính trên gan; ROA: độc tính cấp đường uống ở chuột cống.

3.3. Dự đoán *in silico* các thông số dược động học và độc tính của các dẫn chất

Kết quả phân tích các thông số dược động học và độc tính của các dẫn chất amid ibuprofen và ibuprofen được trình bày trong bảng 2.

Cả 5 hợp chất khảo sát đều thỏa mãn các tiêu chí của quy tắc 5-Lipinski. Về tính chất lý hóa, các dẫn chất amid ibuprofen với pKa acid từ 9,44-10,24 cho thấy xu hướng giảm nguy cơ gây loét và kích ứng đường tiêu hóa so với ibuprofen (pKa acid=4,61). Đồng thời, pKa base trong khoảng 3,10-5,33 nên phân tử tồn tại chủ yếu ở dạng không ion hóa tại ruột, giúp cải thiện khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa. **T1-T5** cũng được dự đoán có khả năng thẩm qua màng tế bào ruột Caco-2 tốt (>-5,15) và hấp thu tốt ở ruột (HIA >30%), tương đương ibuprofen. P-glycoprotein (P-gp) là bơm vận chuyển ngược, có chức năng bơm thuốc ra ngoài tế bào. P-gp là một trong những cơ chế chính gây kháng thuốc đa kháng (MDR) trong điều trị ung thư. Ức chế P-gp giúp tăng nồng độ thuốc trong tế bào đích, cải thiện hiệu quả điều trị và giảm kháng thuốc [15]. Cả 5 dẫn chất đều không phải là cơ chất của P-gp nên có khả năng duy trì nồng độ thuốc cao bên trong tế bào ung thư. Đặc biệt, **T1** còn có khả năng ức chế P-gp mạnh nên có thể góp phần làm giảm

tình trạng kháng thuốc của các thuốc ung thư phổi hợp. Đặc tính phân bố được đánh giá qua phần trăm gắn kết protein huyết tương (PPB) và log thể tích phân bố ở trạng thái cân bằng (LogVDss). Cả 5 dẫn chất khảo sát và ibuprofen đều gắn kết mạnh với protein huyết tương (>95%). Amid hóa giúp cải thiện khả năng phân bố ở mô, cụ thể LogVDss của **T1-T5** trong khoảng -0,14 đến 0,44 và đều lớn hơn LogVDss của ibuprofen. Về chuyển hóa, hệ cytochrom P450 có vai trò quan trọng đối với quá trình chuyển hóa thuốc ở gan. Ibuprofen được chuyển hóa chủ yếu bởi CYP2C9. Ngoài ra, CYP3A4 cũng tham gia chuyển hóa ibuprofen ở nồng độ cao [16]. Các dẫn chất amid ibuprofen được dự đoán chuyển hóa chủ yếu qua CYP3A4. **T4** và **T5** ức chế cả CYP3A4 và CYP2C9 nên cần lưu ý khi phối hợp với các thuốc cũng chuyển hóa qua hai enzym này. Khả năng thải trừ của các dẫn chất được thể hiện qua thông số thời gian bán thải (t_{1/2}) và độ thanh thải (Cl-plasma). Thời gian bán thải của **T1-T5** dưới 1 giờ, ngắn hơn ibuprofen. Amid hóa ibuprofen dự đoán cũng làm tăng độ thanh thải lên 4-7 lần. Điều này có thể góp phần giảm nguy cơ tích lũy thuốc, hạn chế độc tính toàn thân nên có ý nghĩa khi sử dụng với mục đích điều trị lâu dài. Ngoài ra, theo dự đoán từ mô hình thì **T1-T5** đều không gây đột biến gen và độc tính cấp đường

uống trên chuột-ROA thấp ($LD_{50} > 500$ mg/kg). Nguy cơ độc gan của **T1**, **T2** và **T5** cũng được dự đoán thấp hơn ibuprofen. Như vậy, các dẫn chất amid ibuprofen nhìn chung đều có đặc điểm dược động học tương đối tốt như hấp thu tốt qua ruột, khả năng phân bố vừa phải, thải trừ nhanh cũng như không gây đột biến gen và độc tính cấp đường uống thấp. Tuy nhiên cần lưu ý đến nguy cơ tương tác thuốc và độc gan. Các nghiên cứu sâu hơn *in vitro* và *in vivo* cần được thực hiện để đánh giá toàn diện về hiệu quả và độ an toàn của các dẫn chất này.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, 5 dẫn chất amid ibuprofen đã được tổng hợp bằng phương pháp one-pot với hiệu suất 12,1-40,2%. Các dẫn chất được kiểm tra độ tinh khiết và xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ. Cả 5 dẫn chất đều thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư vú MCF-7 với IC_{50} là 13,93-44,17 μ M. Trong đó, dẫn chất **T5** với nhóm thế -Br ở vị trí *ortho* trên dị vòng pyridin có hoạt tính tốt nhất. Các dẫn chất khảo sát đều thỏa quy tắc 5-Lipinski và được dự đoán có đặc tính dược động học phù hợp, cho thấy tiềm năng phát triển thành thuốc điều trị ung thư vú.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Kỹ thuật Y - Dược Đà Nẵng cấp cho Nguyễn Thanh Trang trong đề tài mã số CS2025-13. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F. Bray, M. Laversanne, H. Sung, et al. (2024), "Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries", *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **74**(3), pp.229-263, DOI: 10.3322/caac.21834.
- [2] International Agency for Research on Cancer (2022), *Vietnam Fact Sheet-GLOBOCAN 2022*, pp.1-2, <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/704-viet-nam-fact-sheet.pdf>, accessed 18 June 2025.
- [3] A.M. Gouda, E.A. Beshr, F.A. Almalki, et al. (2019), "Arylpropionic acid-derived NSAIDs: New insights on derivatization, anticancer activity and potential mechanism of action", *Bioorganic Chemistry*, **92**, DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103224.
- [4] R.E. Harris, R.T. Chlebowski, R.D. Jackson, et al. (2003), "Breast cancer and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Prospective results from the Women's Health Initiative", *Cancer Research*, **63**(18), pp.6096-6101.

- [5] T.L. Ratliff (2005), "Aspirin, ibuprofen, and other non-steroidal anti-inflammatory drugs in cancer prevention: A critical review of non-selective COX-2 blockade", *The Journal of Urology*, **174**(2), pp.787-788, DOI: 10.1016/S0022-5347(01)68393-9.
- [6] M.T. Cocco, C. Congiu, V. Onnis, et al. (2003), "Synthesis of ibuprofen heterocyclic amides and investigation of their analgesic and toxicological properties", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **38**(5), pp.513-518, DOI: 10.1016/s0223-5234(03)00074-6.
- [7] N. Mehta, S. Aggarwal, S. Thareja, et al. (2010), "Synthesis, pharmacological and toxicological evaluation of amide derivatives of ibuprofen", *International Journal of Chemtech Research*, **2**, pp.233-238.
- [8] Z. Ashraf, T. Mahmood, M. Hassan, et al. (2019), "Dexibuprofen amide derivatives as potential anticancer agents: Synthesis, *in silico* docking, bioevaluation, and molecular dynamic simulation", *Drug Design, Development and Therapy*, **13**, pp.1643-1657, DOI: 10.2147/dddt.S178595.
- [9] M.A. Nakeeb, T.N.A. Omar (2019), "Synthesis, characterization and preliminary study of the anti-inflammatory activity of new pyrazoline containing ibuprofen derivatives", *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences*, **28**(1), pp.131-137, DOI: 10.31351/vol28iss1pp131-137.
- [10] A. Leggio, E. Belsito, G.D. Luca, et al. (2016), "One-pot synthesis of amides from carboxylic acids activated using thionyl chloride", *RSC Advances*, **6**(41), pp.34468-34475, DOI: 10.1039/C5RA24527C.
- [11] T. Mosmann (1983), "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays", *Journal of Immunological Methods*, **65**(1-2), pp.55-63, DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- [12] S. Patel, N. Gheewala, A. Suthar, et al. (2009), "In-vitro cytotoxicity activity of *Solanum nigrum* extract against HeLa cell line and Vero cell line", *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **1**(1), pp.38-46.
- [13] H. Ciftci, B. Sever, N. Bayrak, et al. (2022), "In vitro cytotoxicity evaluation of plastoquinone analogues against colorectal and breast cancers along with *in silico* insights", *Pharmaceuticals*, **15**(10), DOI: 10.3390/ph15101266.
- [14] A. Saba, S. Muhammad, R.A. Khera, et al. (2022), "Identification of halogen-based derivatives as potent inhibitors of estrogen receptor alpha of breast cancer: An *in-silico* investigation", *Journal of Computational Biophysics and Chemistry*, **21**(2), pp.181-205, DOI: 10.1142/S2737416522500090.
- [15] C. Karthika, R. Sureshkumar, M. Zehravi, et al. (2022), "Multidrug resistance of cancer cells and the vital role of p-glycoprotein", *Life (Basel)*, **12**(6), DOI: 10.3390/life12060897.
- [16] L.L. Mazaleuskaya, K.N. Theken, L. Gong, et al. (2015), "PharmGKB summary: Ibuprofen pathways", *Pharmacogenetics and Genomics*, **25**(2), pp.96-106, DOI: 10.1097/FPC.000000000000113.

Sàng lọc *in silico* các chất ức chế tiềm năng của enzyme FabI từ *Staphylococcus aureus*

Hoàng Việt Nhâm*

Khoa Dược, Trường Đại học Lạc Hồng, 10 Huỳnh Văn Nghệ, phường Trần Biên, TP. Đồng Nai, Việt Nam

Ngày nhận bài 29/4/2025; ngày chuyển phản biện 5/5/2025; ngày nhận phản biện 4/7/2025; ngày chấp nhận đăng 10/7/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm phát hiện các chất ức chế tiềm năng mới của enzyme FabI (enoyl-acyl carrier protein reductase) từ *Staphylococcus aureus* thông qua tích hợp mô hình pharmacophore, docking phân tử và mô phỏng động lực học phân tử (MD). Dựa trên tương tác giữa FabI và chất đối chứng AFN-1252 (N-(2-methylphenyl)-5-methyl-3-phenyl-4-isoxazolecarboxamide), một mô hình pharmacophore gồm 5 đặc điểm phân tử được xây dựng và sử dụng để sàng lọc trên 13 triệu hợp chất từ thư viện ZINC. Có 2.216 hợp chất thỏa mãn mô hình ($\text{RMSD} \leq 1 \text{ \AA}$) được thực hiện docking giữ nguyên cofactor NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) bằng phần mềm AutoDock Vina. 13 hợp chất có điểm docking bằng hoặc thấp hơn AFN-1252 ($-11,2 \text{ kcal/mol}$), trong đó bốn hợp chất tương tác đồng thời với NADPH và các amino acid quan trọng được chọn để mô phỏng MD và tính toán năng lượng liên kết theo phương pháp MM-PBSA (Cơ học phân tử, diện tích bề mặt Poisson-Boltzmann). Kết quả cho thấy, các phân tử này duy trì tương tác với các gốc amino acid và NADPH. Đặc biệt, ligand 760 thể hiện độ ổn định cao và năng lượng liên kết $-18,99 \text{ kcal/mol}$, cho thấy tiềm năng phát triển thành chất ức chế FabI có hoạt tính kháng khuẩn.

Từ khóa: docking phân tử, FabI, ligand, mô phỏng động lực học phân tử, sàng lọc *in silico*, *Staphylococcus aureus*.

Chỉ số phân loại: 1.6, 1.8, 3.4

In silico screening of potential inhibitors of *Staphylococcus aureus* FabI

Viet Nham Hoang*

Faculty of Pharmacy, Lac Hong University, 10 Huynh Van Nghe Street, Tran Bien Ward, Dong Nai City, Vietnam

Received 29 April 2025; revised 4 July 2025; accepted 10 July 2025

Abstract:

This study aimed to identify novel potential inhibitors of the FabI enzyme (enoyl-acyl carrier protein reductase) from *Staphylococcus aureus* through the integration of pharmacophore modelling, molecular docking, and molecular dynamics (MD) simulations. Based on the interaction between FabI and the reference compound AFN-1252 (N-(2-methylphenyl)-5-methyl-3-phenyl-4-isoxazolecarboxamide), a pharmacophore model consisting of five molecular features was constructed and used to screen 13 million compounds from the ZINC library. A total of 2,216 compounds satisfying the model criteria ($\text{RMSD} \leq 1 \text{ \AA}$) were subjected to molecular docking using AutoDock Vina while retaining the NADPH cofactor (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate). 13 compounds showed docking scores equal to or lower than that of AFN-1252 (-11.2 kcal/mol), among which four compounds that simultaneously interacted with NADPH and key amino acid residues were selected for MD simulations and binding energy calculation using the molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area (MM-PBSA) method. The results showed that these molecules maintained interactions with amino acid residues and NADPH. In particular, ligand 760 exhibited high stability and a binding energy of -18.99 kcal/mol , indicating its potential for further development as a FabI inhibitor with antibacterial activity.

Keywords: FabI, *in silico* screening, ligand, molecular docking, molecular dynamics simulation, *Staphylococcus aureus*.

Classification numbers: 1.6, 1.8, 3.4

*Email: nhamhoang@lhu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Sự gia tăng nhanh chóng của các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh, đặc biệt là *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA), đang trở thành một mối đe dọa nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng toàn cầu. Trong bối cảnh đó, enzyme FabI (enoyl-acyl carrier protein reductase) là một enzyme quan trọng trong quá trình tổng hợp acid béo của vi khuẩn, nhưng không có ở tế bào con người, trở thành một mục tiêu tiềm năng trong tìm kiếm các phân tử có hoạt tính kháng khuẩn chọn lọc [1, 2].

Phân tử AFN-1252 (*N*-(2-methylphenyl)-5-methyl-3-phenyl-4-isoxazolecarboxamide), một chất ức chế chọn lọc FabI, đã cho thấy hiệu quả cao trong các thử nghiệm lâm sàng, đặc biệt với các chủng *S. aureus* [3]. Tuy nhiên, vi khuẩn luôn phát triển đề kháng, nên việc phát triển thêm các chất tương tự hoặc vượt trội AFN-1252 là cần thiết để mở rộng phổ tác dụng, khắc phục khả năng kháng thuốc, cũng như cải thiện được động học của phân tử thuốc.

Phát triển một phân tử thuốc là một quá trình tốn thời gian và tiền bạc. Cùng với sự phát triển của công nghệ tin học, sàng lọc *in silico* trở thành một công cụ tiềm năng giúp khảo sát nhanh một số lượng rất lớn các phân tử, từ đó giúp rút ngắn thời gian cũng như công sức trong việc tìm kiếm phân tử có hoạt tính kháng khuẩn. Trước nhu cầu đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phát triển một quy trình sàng lọc *in silico* tích hợp từ mô hình dược lý học (pharmacophore) đến mô phỏng động lực học phân tử (MD) và tính toán năng lượng gắn kết (MM-PBSA), với các mục tiêu: phát hiện các chất mới từ thư viện phân tử ZINC thương mại có khả năng bắt chước mô hình tương tác của AFN-1252 với FabI; đánh giá mức độ phù hợp hình học và ái lực gắn kết so với chất đối chứng AFN-1252; xác định các phân tử tiềm năng để tiếp tục phát triển như những ứng viên kháng khuẩn nhắm vào FabI.

2. Phương pháp nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu triển khai quy trình sàng lọc *in silico* nhằm phát hiện các chất ức chế tiềm năng của enzyme FabI của *S. aureus*. Phương pháp kết hợp mô hình pharmacophore, docking phân tử và mô phỏng MD, cụ thể gồm các bước sau:

2.1. Cơ sở dữ liệu nghiên cứu

Cấu trúc đồng kết tinh enzyme FabI, NADPH và chất ức chế AFN-1252 có mã 4FS3 (phiên bản 1.2 được cập nhật ngày 13/9/2023) được lấy từ ngân hàng dữ liệu protein

<https://www.rcsb.org/> [4]. Cấu trúc này được xác định từ chủng MRSA252 của vi khuẩn *S. aureus* có độ phân giải 1,8 Å. Cấu trúc này gồm 256 amino acid cùng 2 phân tử nhỏ là NADPH (ID: 0WD) và AFN-1252 (ID: 0WE). Cấu trúc này được sửa lỗi bằng phần mềm MOE 2024.06 [5] và được sử dụng trong xây dựng mô hình pharmacophore, docking phân tử và động lực học phân tử.

Cơ sở dữ liệu sàng lọc: Tập dữ liệu ZINC thương mại (ZINC purchasable subset) gồm 13.127.550 chất, sử dụng thông qua <https://zincpharmer.csb.pitt.edu> [6]. Đây là một server online chứa sẵn các cấu dạng của nhiều tập dữ liệu, thuận lợi cho sàng lọc các tập dữ liệu lớn qua mô hình pharmacophore.

2.2. Xây dựng mô hình pharmacophore

Mô hình được xây dựng dựa trên các đặc trưng tương tác phân tử của chất đối chứng AFN-1252 với FabI (4FS3), bao gồm: nhóm nhận và cho liên kết hydro, vùng kỵ nước/vòng thơm. Sử dụng chức năng Ligand Interactions trong phần mềm MOE 2024.06 để tìm tương tác của các nhóm chức trên AFN-1252 và enzyme FabI (amino acid, NADPH), các tương tác chính sẽ được tính toán và cho giá trị năng lượng liên kết. Mô hình pharmacophore được xây dựng dựa trên các tiêu chí: tương tác tĩnh điện, năng lượng liên kết lớn (càng âm càng tốt); tương tác với cofactor.

2.3. Sàng lọc thư viện phân tử

Thư viện gồm 13.127.550 hợp chất từ cơ sở dữ liệu ZINC thông qua <https://zincpharmer.csb.pitt.edu> được sàng lọc theo mô hình pharmacophore đã xây dựng với tiêu chí RMSD ≤ 1 Å, để đảm bảo độ tương đồng hình học với AFN-1252. Các phân tử đạt tiêu chí được giữ lại để thực hiện bước tiếp theo.

2.4. Docking phân tử với enzyme FabI giữ lại cofactor NADPH

Docking được thực hiện bằng phần mềm AutoDock Vina [7], trong đó enzyme FabI được giữ lại cofactor NADPH, nhằm mô phỏng đúng điều kiện sinh học tự nhiên, và cho phép phát hiện các tương tác phối hợp ligand - enzyme - cofactor. Kết quả được đánh giá dựa trên điểm số docking (kcal/mol), so sánh với chất đối chứng AFN-1252. Các bước tiến hành docking bao gồm:

Chuẩn bị phân tử protein: Phân tử 4FS3 sau khi được làm sạch (xóa phân tử nước, ligand) bằng phần mềm ChimeraX còn lại chuỗi A gồm 256 amino acid và cofactor NADPH [8]. Tiến hành chuẩn bị phân tử protein cho docking bằng công cụ DockPrep trong AutoDock Tool bao gồm quá trình proton hóa, gán điện tích, thiết lập phân tử cho AutoDock.

Chuẩn bị ligand: Các ligand sau khi sàng lọc được chuẩn bị lại bằng phần mềm MOE 2024.06 bao gồm quá trình sửa lỗi cấu trúc, tích điện, proton hóa ở pH 7.

Docking: Tiến hành docking phân tử bằng AutoDock vina với thông số: Vị trí hộp được xác định với hệ trục tọa độ $x=112, y=55, z=36$. Kích thước hộp $20 \times 20 \times 20$ Å. Các thông số này dựa trên vị trí của AFN-1252 trong khoang gắn kết và được xác định bằng phần mềm Chimera.

Phân tích kết quả: Các hợp chất có điểm docking tốt hơn AFN-1252 được chọn để phân tích tương tác protein-ligand. Những hợp chất có tương tác với các amino acid quan trọng trong khoang gắn kết hoặc với NADPH được tiếp tục mô phỏng động học phân tử nhằm đánh giá độ ổn định, sự duy trì tương tác và năng lượng tự do gắn kết.

2.5. Mô phỏng động lực học phân tử

Quá trình docking bằng phần mềm AutoDock Vina được thực hiện trong trạng thái phân tử protein ở trạng thái tĩnh. Do đó, để mô tả chính xác hơn tương tác giữa protein và ligand được thực hiện qua quá trình mô phỏng MD (bảng 1).

Mô phỏng MD được thực hiện trong điều kiện môi trường nước (explicit solvent) bằng phần mềm GROMACS 2024.04 trên hệ điều hành Linux (Ubuntu 24.04). Quá trình mô phỏng sử dụng các thông số: trường lực (Force field): CHARMM27, hệ thống được đặt trong hộp ba chiều (triclinic) khoảng cách tối thiểu từ protein tới thành hộp 1 nm được thiết lập ở điều kiện tuần hoàn; thời gian mô phỏng 100 ns [9, 10].

Bảng 1. Một số thông số đánh giá kết quả mô phỏng động lực học phân tử.

Thông số	Tên đầy đủ	Ý nghĩa	Đơn vị
RMSD	Root Mean Square Deviation	Mức độ thay đổi nguyên tử so với cấu trúc tham chiếu	nm
RMSF	Root Mean Square Fluctuation	Độ dao động trung bình	nm
MM-PBSA/GBSA	Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann/Generalized Born Surface Area	Ước tính năng lượng liên kết ligand-protein	kcal/mol

2.6. Tính toán năng lượng tự do gắn kết MM-PBSA

Phương pháp Cơ học Phân tử - Diện tích bề mặt Poisson-Boltzmann (MM-PBSA) và Cơ học Phân tử -

Diện tích bề mặt Born tổng quát tính toán năng lượng tự do gắn kết bằng cách tính chênh lệch năng lượng tự do giữa trạng thái gắn kết và không gắn kết của hai phân tử được solvat hóa.

Năng lượng tự do liên kết giữa protein và ligand được tính bằng công thức:

$$\Delta G_{\text{gắn kết}} = G_{\text{phức hợp}} - (G_{\text{protein}} + G_{\text{ligand}}) \quad (1)$$

trong đó: $\Delta G_{\text{gắn kết}}$ là chênh lệch năng lượng tự do giữa trạng thái gắn kết và không gắn kết; $G_{\text{phức hợp}}, G_{\text{protein}}, G_{\text{ligand}}$ lần lượt là năng lượng tự do trạng thái gắn kết và solvat hóa của phức hợp protein-ligand, protein và ligand, được tính toán dựa vào công thức (2).

$$G_x = E_{MM} + G_{\text{solvat hóa}} - TS \quad (2)$$

trong đó: x là protein, ligand và phức hợp protein-ligand E_{MM} là năng lượng cơ học phân tử trong chân không được tính toán dựa vào trường lực. S là entropy, trong phương pháp MM-PBSA bỏ qua đóng góp này. $G_{\text{solvat hóa}}$ là năng lượng tự do solvat hóa bằng tổng các đóng góp tĩnh điện được ước tính từ các mô hình như phương trình Poisson - Boltzmann và đóng góp không tĩnh điện được ước tính từ diện tích bề mặt phân tử tiếp xúc với dung môi [11].

Nghiên cứu này sử dụng công cụ g_mmpbsa của phần mềm GROMACS để tính chênh lệch năng lượng tự do gắn kết theo phương pháp MM-PBSA. Giá trị này càng âm, chứng tỏ hệ sinh ra càng bền. Dựa trên kết quả được so sánh với AFN-1252 có thể xác định được các phân tử có tiềm năng phát triển.

2.7. Phân tích ADME (Hấp thu - Phân bố - Chuyển hóa - Thải trừ) của các chất tiềm năng

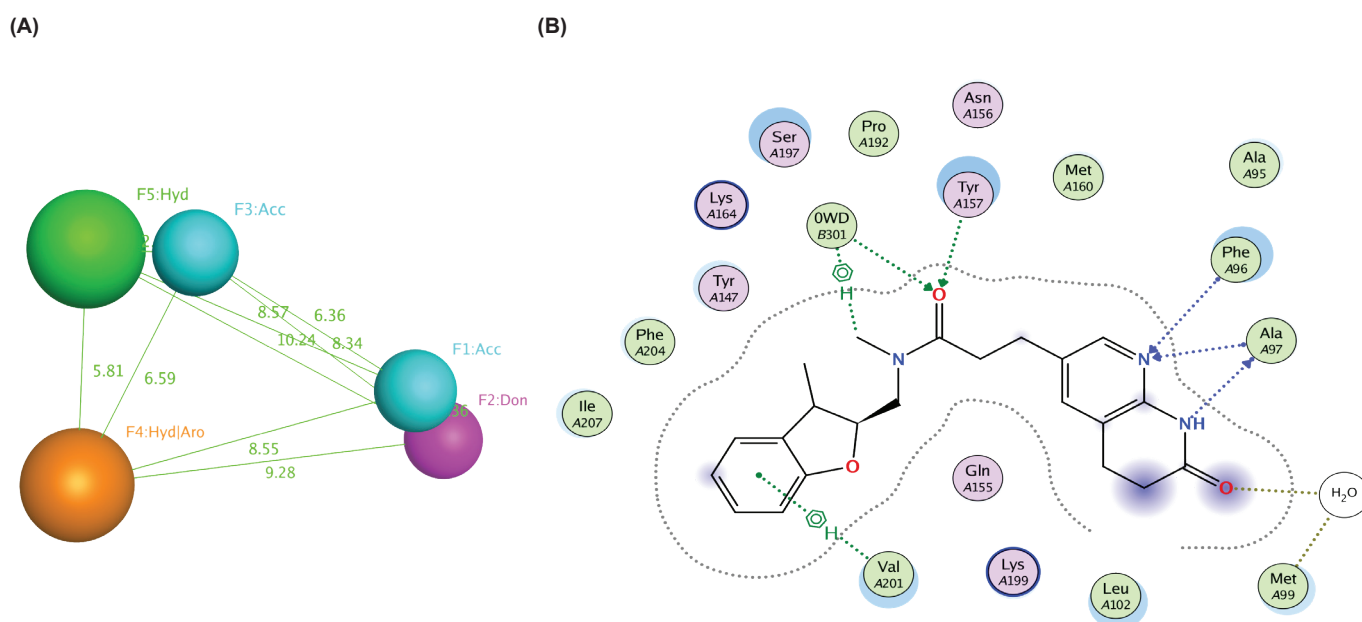
Trong nghiên cứu này, các thông số ADME của bốn hợp chất tiềm năng được dự đoán bằng công cụ SwissADME (<https://www.swissadme.ch>). Cấu trúc SMILES của các hợp chất được nhập vào để phân tích các đặc tính dược động học như khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa, khả năng vượt hàng rào máu não và tương tác với enzyme CYP450. Kết quả thu được hỗ trợ quá trình chọn lọc các ứng viên phù hợp để phát triển thành thuốc tiềm năng [12].

3. Kết quả và bàn luận

Kết quả quá trình sàng lọc tập ZINC qua các mô hình sàng lọc được tóm tắt như hình 1.



Hình 1. Sơ đồ quy trình sàng lọc các chất tiềm năng ức chế FabI trên vi khuẩn *S. aureus*.



Hình 2. (A) Mô hình pharmacophore các chất ức chế FabI. (B) Tương tác của AFN-1252 và FabI. F1, F3: Acc: nhóm nhận liên kết hydro; F2: Don: nhóm cho liên kết hydro; F4: Hyd|Aro nhóm kỵ nước hoặc vòng thơm; F5: Hyd: nhóm kỵ nước.

3.1. Mô hình pharmacophore

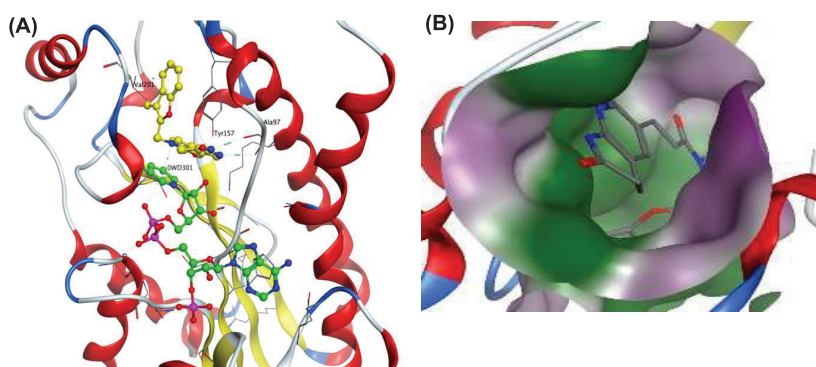
Phân tích tương tác phân tử (bảng 2) cho thấy AFN-1252 tạo liên kết hydro và tương tác π -H với cả các amino acid của enzyme FabI và cofactor NADPH (0WD301). Cụ thể, phân tử AFN-1252 tạo liên kết hydro mạnh với alanin 97 (Ala 97) bao gồm cả tương tác cho hydro và tương tác nhận hydro trên mô hình pharmacophore được xây dựng thể hiện qua yếu tố F1:Acc, F2:Don. Phân tử AFN-1252 tạo liên kết hydro với Tyrosine (Tyr) 157, giúp cố định phân tử trong khoang gắn kết của FabI, được thể hiện qua yếu tố F3:Acc trên mô hình pharmacophore (hình 2).

Hai tương tác với cofactor NADPH: Một liên kết hydro giữa nhóm -OH của NADPH (2.61 Å) được thể hiện qua yếu tố F3:Acc trên mô hình pharmacophore đồng thời một tương tác π -H giữa vòng thơm trên AFN-1252 với NADPH thể hiện qua yếu tố F5:Hyd giúp tăng cường độ

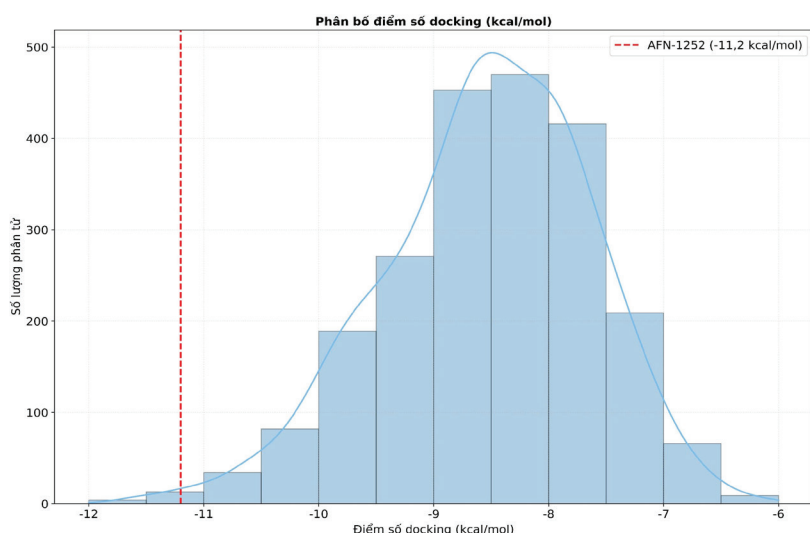
Bảng 2. Các tương tác chính của FabI và AFN-1252 tính toán bằng MOE 2024.06.

Amino acid	Năng lượng liên kết (kcal/mol)	Khoảng cách (Å)	Loại tương tác (vai trò của AFN-1252)
Alanin 97	-3,7	2,83	Cho hydro
Alanin 97	-3,2	2,97	Nhận hydro
Tyrosine 157	-2,0	2,77	Nhận hydro
NADPH (0WD301)	-1,2	2,61	Nhận hydro
NADPH (0WD301)	-0,7	3,37	H- π
Valin 201	-0,6	3,67	π -H

ổn định. Cuối cùng vòng thơm trên AFN-1252 cho tương tác π -H với nhóm kỵ nước trên Val 201, được thể hiện qua nhóm F4:Aro|Hyd trên mô hình pharmacophore (hình 3A). Hình 3B cho thấy, phân tử AFN-1252 nằm gọn trong khoang gắn kết các nhóm chức thân dầu như 2 vòng thơm và chuỗi alkyl tương ứng với các vùng acid amin thân dầu như alanin, valin, phenylalanin, leucin.



Hình 3. (A) Phân tử AFN-1252 (màu vàng), cofactor NADPH (màu xanh) trong khoang gắn kết của FabI từ phần mềm MOE 2024.06; (B) AFN-1252 trong khoang gắn kết màu xanh biểu thị tính thân dầu, màu tím thể hiện tính thân nước từ phần mềm MOE 2024.06.



Hình 4. Phân bố điểm số docking 2.216 chất, đường màu đỏ thể hiện giá trị -11,2 kcal/mol, tương ứng với điểm số docking của AFN-1252.

Bảng 3. Điểm số docking, số lượng liên kết tĩnh điện với FabI và một số tính chất của 13 phân tử có điểm số docking tốt nhất.

STT	Ligand	Điểm số docking (kcal/mol)	Số lượng tương tác tĩnh điện với FabI	Công thức phân tử
1	796	-11,7	2*	$C_{29}H_{24}N_4O_2$
2	760	-11,6	2*	$C_{27}H_{38}N_4O$
3	1723	-11,6	3*	$C_{24}H_{21}N_7OS_2$
4	169	-11,6	1*	$C_{25}H_{30}ClN_5O_2$
5	925	-11,5	1	$C_{26}H_{25}N_5O$
6	1615	-11,5	0*	$C_{30}H_{32}N_4O_3$
7	1623	-11,4	1	$C_{30}H_{32}N_4O_3$
8	1228	-11,3	1	$C_{28}H_{30}N_4O_3$
9	1233	-11,3	0	$C_{27}H_{28}N_4O_3$
10	1456	-11,2	2	$C_{22}H_{16}N_8$
11	1699	-11,2	1	$C_{30}H_{32}N_4O_3$
12	1627	-11,2	2	$C_{25}H_{24}N_6O_2S$
13	1607	-11,2	1	$C_{25}H_{24}N_6O_2S$

*: ligand có tương tác với cofactor NADPH.

Tóm lại, mô hình tương tác cho thấy, AFN-1252 không chỉ tương tác với enzyme, mà còn tận dụng tương tác với NADPH để tăng cường ái lực và tính chọn lọc. Cơ chế này mang ý nghĩa dược lý quan trọng, gợi ý rằng các ligand được thiết kế trong mô hình có thể tương tác cạnh tranh với cơ chất tại vị trí tác động. Việc cải thiện tương tác giữa ligand và enzyme, ligand và NADPH có thể giúp ligand ổn định hơn trong khoang gắn kết. Tương tác với NADPH hoặc Tyrosine 157 có thể là một chỉ dấu trong xác định các chất ức chế tương tự AFN-1252. Như vậy, dựa trên kết quả tương tác phân tử giữa AFN-1252 và enzyme FabI (trong điều kiện có mặt cofactor NADPH), một mô hình pharmacophore gồm 5 đặc trưng chính đã được xây dựng nhằm mô tả các điểm tương tác quan trọng, góp phần tạo nên các chất có ái lực gắn kết cao.

Tiến hành sàng lọc tập ZINC qua mô hình pharmacophore bằng server với $RMSD \leq 1$ Å thu được 2.216 chất thoả mãn mô hình.

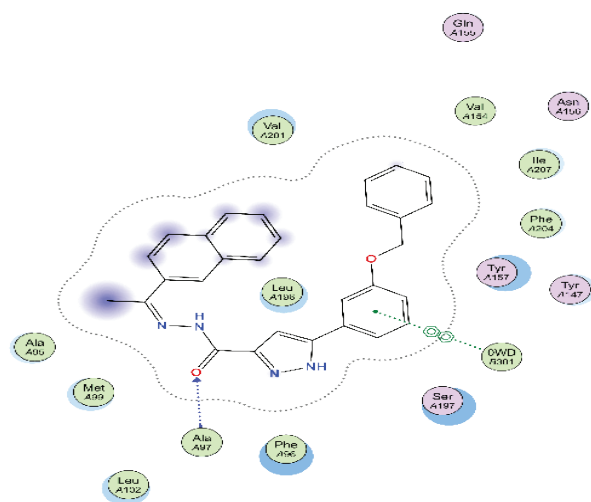
3.2. Kết quả docking bằng phần mềm AutoDock Vina

Trong tổng số 2.216 chất được sàng lọc qua mô hình pharmacophore, tất cả đều được docking thành công, điểm số docking trong khoảng từ -11,7 đến -6,1 kcal/mol. Đa số các chất có điểm số docking trong khoảng từ -10,0 đến -7,0 kcal/mol. Biểu đồ biểu diễn điểm số docking của các chất thể hiện qua hình 4.

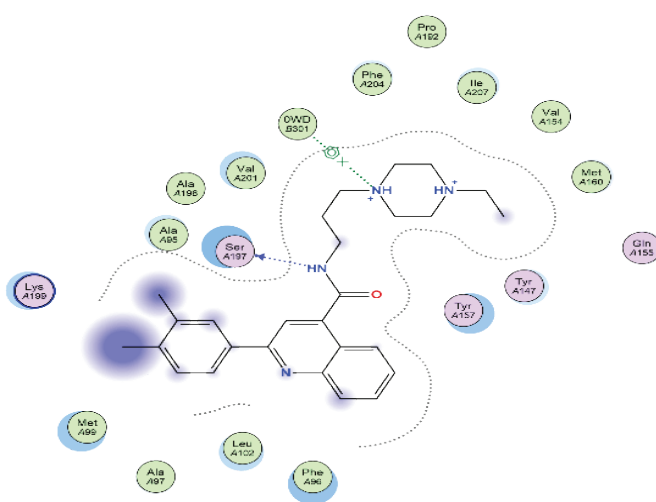
Trong đó, 13 phân tử (bảng 3) trong số 2.216 hợp chất sàng lọc có điểm docking thấp hơn, hoặc bằng phân tử đối chứng AFN-1252 (-11,2 kcal/mol). Điều này cho thấy tiềm năng tương tác mạnh hơn, hoặc gắn kết ổn định hơn. Các phân tử này thể hiện năng lượng gắn kết dự đoán tốt hơn AFN-1252 và có xu hướng tương tác quan trọng với các gốc như Ala 97, Tyr 157 và NADPH, vốn là các vị trí neo chính được xác định từ dữ liệu phân tích tương tác trước đó (bảng 2). Việc giữ lại cofactor NADPH trong mô hình docking được đánh giá là một điểm mạnh, vì cho phép phát hiện các tương tác tĩnh điện và tương tác bề mặt quan trọng có thể bị bỏ sót nếu chỉ xét protein

đơn thuần. Nhờ vậy, các phân tử được lựa chọn có khả năng phản ánh được toàn bộ những tương tác sinh học quan trọng như trong mô hình của AFN-1252.

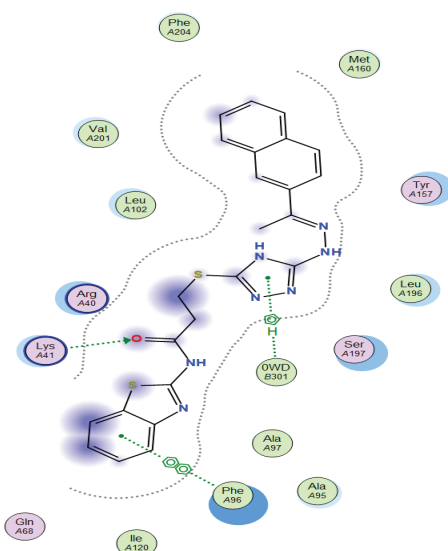
Trong số 13 phân tử trên, phân tử có nhiều tương tác tĩnh điện với các amino acid, đồng thời có tương tác với cofactor NADPH sẽ được lựa chọn để tiến hành mô phỏng động lực học phân tử. 4 ligand (hình 5) được xác định có khả năng ức chế FabI hơn cả sẽ được chạy động lực học phân tử để xác định lại khả năng, bao gồm: ligand 1723: ái lực -11,6 kcal/mol, ligand 796: ái lực -11,7 kcal/mol, ligand 760: ái lực -11,6 kcal/mol, ligand 169: -11,6 kcal/mol. Các ligand này đều có các tương tác tĩnh điện và đều



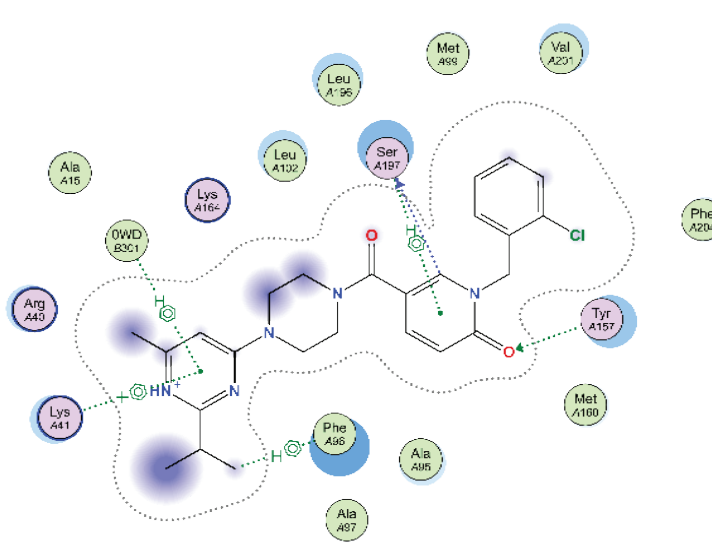
Ligand 796



Ligand 1723

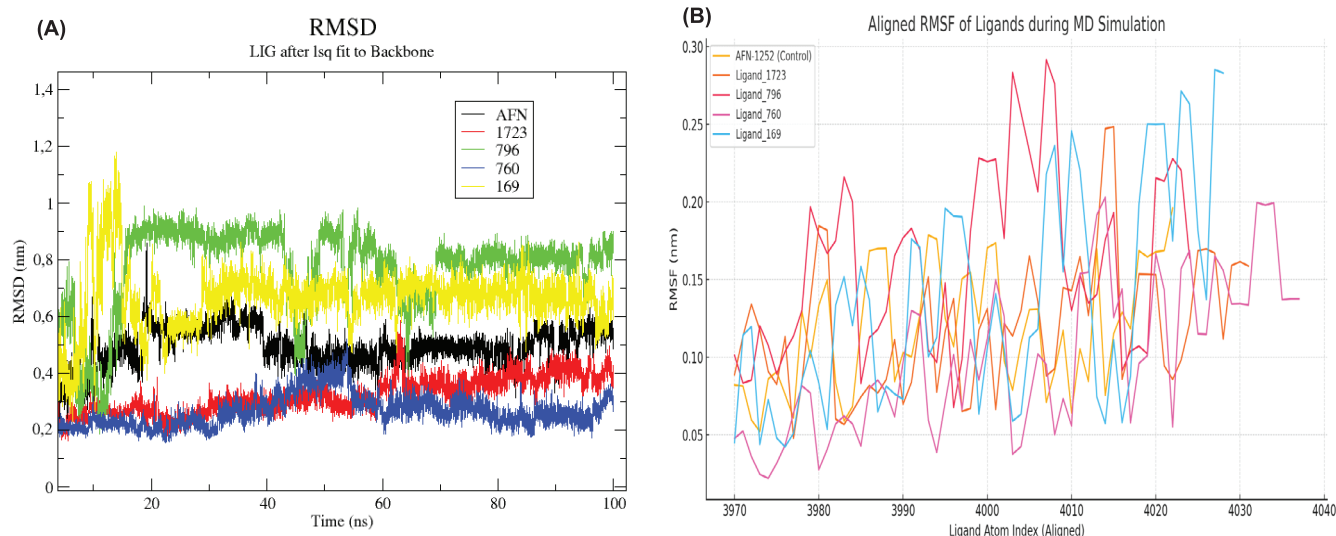


Ligand 169



Ligand 760

Hình 5. Tương tác của các phân tử ligand: 796, 1723, 169, 760 trong khoang gắn kết.



Hình 6. Kết quả mô phỏng động lực học phân tử (MD). (A) RMSD của các ligand so với khung (backbone) của protein; **(B)** RMSF của các nguyên tử trên ligand trong thời gian mô phỏng.

tương tác với NADPH bằng tương tác H- π , π - π tương tự như AFN-1252 (hình 5). Việc có các nhóm thân dầu như vòng thơm, nhóm alkyl tương ứng với vùng chứa các amino acid thân dầu trong khoang gắn kết giúp các phân tử này cải thiện tương tác với FabI thông qua tương tác Van der Waals với các amino acid kỵ nước trong phân tử FabI như alanin, phenylalanin, leucin.

3.3. Mô phỏng động lực học phân tử

Phân tích tổng hợp từ mô phỏng động lực học phân tử (MD) (hình 6) và tính toán MM-PBSA (bảng 4) cho thấy, ligand AFN-1252 giữ vai trò đối chứng với độ ổn định cấu trúc cao (RMSD $\sim$ 0,4 nm, RMSF thấp, năng lượng tự do liên kết thấp $=$ -26,64 kcal/mol). Điều này giúp khẳng định khả năng liên kết bền vững với đích tác động. Kết quả này cho thấy, AFN-1252 có thể là chất đối chứng tốt.

Bảng 4. Năng lượng tự do liên kết tính bằng phương pháp MM-PBSA.

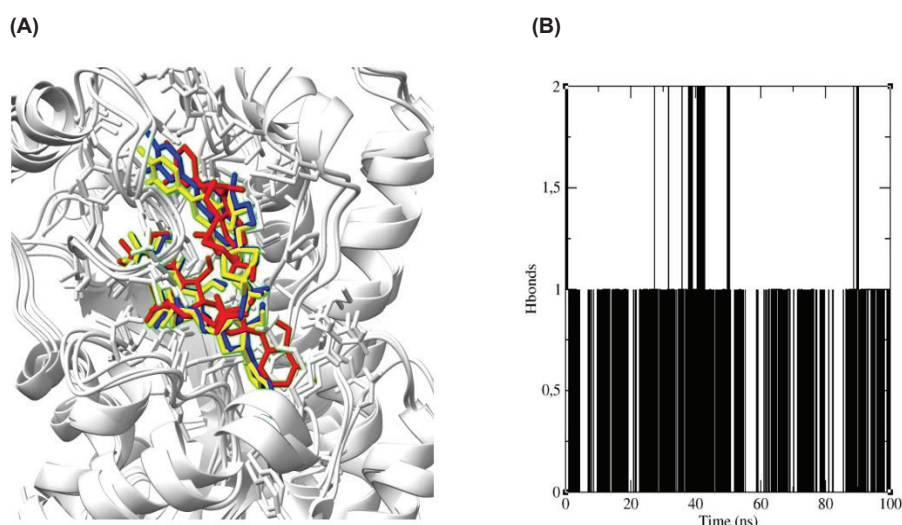
Ligand	AFN-1252	Ligand 796	Ligand 760	Ligand 1723	Ligand 169
Năng lượng tự do liên kết (kcal/mol)	-26,64	-10,32	-18,99	-7,18	-14,07

Ligand 169: Mặc dù có RMSD không ổn định ở 20 ns đầu tiên nhưng sau đó dao động ổn định và mức dao động khoảng 0,6 nm, năng lượng tự do liên kết -14,07 kcal/mol. Điều này cho thấy, ligand 169 có thể duy trì vị trí tại khoang gắn kết, tuy nhiên phân tử tạo ít tương tác tĩnh điện với protein hoặc NADPH nên năng lượng liên

kết yếu hơn và có xu hướng dao động mạnh. Vì vậy, phân tử này có thể đi vào khoang gắn kết, có tương tác nhưng còn yếu, có thể cải tiến cấu trúc này bằng cách thêm các nhóm chức để tạo ra hợp chất tương tác tốt hơn.

Ligand 1723: Mặc dù có RMSD ban đầu thấp nhưng không ổn định, có xu hướng tăng dần, chứng tỏ ligand đang ngày càng xa vị trí gắn kết, năng lượng liên kết yếu chỉ khoảng -7,18 kcal/mol. Trong khi đó, ligand 796 có mức độ dao động RMSD lớn, xảy ra nhiều khoảng bất thường, chứng tỏ đã có sự định vị lại vị trí gắn kết trên protein. Do đó, ligand 1723 và 796 không phải là chất có tiềm năng ức chế FabI tốt.

Ligand 760: Với RMSD thấp, dao động trung bình khoảng 0,25 nm, ở khoảng 50 ns có sự dao động lớn hơn nhưng vẫn ở khoảng 0,4 nm. Hình 7A mô tả vị trí của ligand 760 trong khoang gắn kết tại điểm đầu, giữa và cuối quá trình mô phỏng, cho thấy ligand 760 hầu như không dịch chuyển nhiều trong khoang gắn kết. Điều này chứng tỏ ligand 760 có sự định vị tốt trong khoang gắn kết, không rời khỏi khoang gắn kết trong suốt quá trình mô phỏng. Giá trị RMSF của ligand 760 thường nằm dưới 0,15 nm. Điều này cho thấy, các nguyên tử trong ligand 760 ít có sự thay đổi vị trí hay sự thay đổi về mặt cấu dạng (hình 6B). Mặc dù chỉ có 1 hoặc 2 liên kết cho nhận hydro được hình thành giữa ligand 760 và FabI, nhưng liên kết này được duy trì gần như ổn định suốt quá trình mô phỏng (hình 7B).



Hình 7. (A) Ligand 760 (phía trên) và NADPH trong khoang gắn kết tại 0 ns (màu đỏ), 50 ns (màu vàng), 100 ns (màu xanh); (B) Sự thay đổi số liên kết hydro của ligand 760 trong quá trình mô phỏng động lực học.

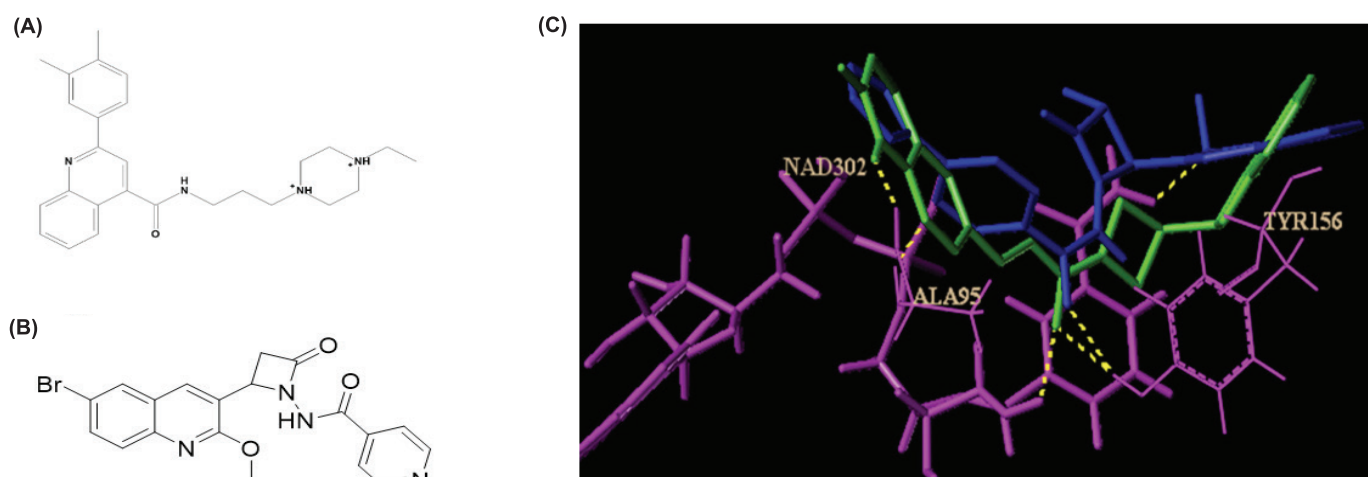
Bảng 5. Một số thông số ADME của ligand 169, 760, 796 và 1723.

Ligand	Hấp thu qua đường tiêu hóa	Thấm qua hàng rào máu não	Cơ chất của P-gp	Ức chế CYP
169	Tốt	Không	Không	CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4
760	Tốt	Có	Có	Không
796	Kém	Không	Không	CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4
1723	Tốt	Có	Có	CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4

Năng lượng tự do liên kết của ligand 760 là -18,99 kcal/mol, kém âm hơn so với AFN-1252 (-26,64 kcal/mol), nhưng vẫn cho thấy ái lực gắn kết tương đối tốt. Dự đoán tính chất dược động học ADME của ligand 760 (bảng 5) cho thấy đây là một chất dễ hấp thu qua đường tiêu hóa, thấm qua hàng rào máu não và không có tương tác với hệ cytochrom P450. Tất cả những dữ liệu trên cho thấy, ligand 760 có tên hóa học 2-(3,4-dimethylphenyl)-N-[3-(4-ethylpiperazin-1-yl)propyl]quinoline-4-carboxamide là một dẫn chất của quinoline có tiềm năng ức chế FabI có thể thử *in vitro* để nghiên cứu sâu hơn.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng thành công một mô hình pharmacophore gồm 5 đặc trưng bao gồm hai nhóm kỵ nước, hai nhóm nhận liên kết hydro và một nhóm cho liên kết hydro dựa trên phân tích tương tác giữa hợp chất đối chiếu AFN-1252 và enzyme FabI (PDB: 4FS3) từ vi



Hình 8. (A) Cấu trúc ligand 760, (B) hợp chất có cấu trúc tương tự được báo cáo có hoạt tính kháng *S. aureus* với MIC = 3,125 µg/ml, (C) các tương tác quan trọng của hợp chất này (màu xanh lá) trong nghiên cứu của S.D. Joshi và cs (2015) [13].

khuẩn *S. aureus*. Mô hình này được ứng dụng để sàng lọc thư viện gồm hơn 13 triệu hợp chất từ cơ sở dữ liệu ZINC, qua đó thu được 2.216 phân tử phù hợp. Các hợp chất này được đánh giá docking với FabI và bốn ligand có điểm docking tốt nhất được chọn để mô phỏng MD và phân tích các thông số ADME. Kết quả cho thấy, ligand 760 thể hiện tiềm năng cao trong việc ổn định tại vị trí gắn kết và có đặc tính dược động học thuận lợi. Đáng chú ý, ligand 760 có khung cấu trúc quinoline tương đồng với các dẫn xuất được báo cáo trong nghiên cứu của S.D. Joshi và cs (2015) [13], trong đó một số hợp chất cho thấy hoạt tính ức chế FabI đáng kể với MIC lên đến 3,125 µg/ml trên *S. aureus*. Bên cạnh đó, tương tác của ligand 760 với các vị trí quan trọng như cofactor NADPH (NAD 302), Tyr 156 (tương ứng Tyr 157 trong nghiên cứu này) và Ala 95 (tương ứng Ala 97) (hình 8), vốn cũng được nhấn mạnh trong nghiên cứu trước - càng củng cố tiềm năng của phân tử này như một chất ức chế FabI đầy triển vọng. Do đó, ligand 760 là ứng viên đáng được tiếp tục thử nghiệm *in vitro* nhằm phát triển các tác nhân kháng khuẩn mới hiệu quả hơn trong bối cảnh kháng thuốc ngày càng gia tăng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.W. Campbell, J.E. Cronan (2001), "Bacterial fatty acid biosynthesis: Targets for antibacterial drug discovery", *Annual Review of Microbiology*, **55**(1), pp.305-332, DOI: 10.1146/annurev.micro.55.1.305.
- [2] P. Rana, S.M. Ghouse, R. Akunuri, et al. (2020), "FabI (enoyl acyl carrier protein reductase) - A potential broad spectrum therapeutic target and its inhibitors", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **208**, DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112757.
- [3] K.N. Albert, M. Awrey, D. Bardouniotis, et al. (2012), "Mode of action, *in vitro* activity, and *in vivo* efficacy of AFN-1252, a selective antistaphylococcal FabI inhibitor", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **56**(11), pp.5865-5874, DOI: 10.1128/AAC.01411-12.
- [4] Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (2024), *The Protein Data Bank (PDB)*, <https://www.rcsb.org/>, accessed 17 December 2024.
- [5] Chemical Computing Group ULC (2024), *Molecular Operating Environment (MOE) (Version 2024.06)*, Montreal, QC, Canada.
- [6] D.R. Koes, C.J. Camacho (2012), "ZINCPharmer: Pharmacophore search of the ZINC database", *Nucleic Acids Research*, **40**(W1), pp.W409-W414, DOI: 10.1093/nar/gks378.
- [7] J. Eberhardt, D.S. Martins, A.F. Tillack, et al. (2021), "AutoDock Vina 1.2.0: New docking methods, expanded force field, and Python bindings", *Journal of Chemical Information and Modeling*, **61**(8), pp.3891-3898, DOI: 10.1021/acs.jcim.1c00203.
- [8] E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, et al. (2021), "UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers", *Protein Science*, **30**(1), pp.70-82, DOI: 10.1002/pro.3943.
- [9] J.D. Durrant, J.A. McCammon (2011), "Molecular dynamics simulations and drug discovery", *BMC Biology*, **9**, DOI: 10.1186/1741-7007-9-71.
- [10] M.J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, et al. (2024), *GROMACS Documentation Release 2024.04*, <http://manual.gromacs.org>, accessed 19 January 2025.
- [11] R. Kumari, R. Kumar, Open Source Drug Discovery Consortium, et al. (2014), "g_mmpbsa: A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations", *Journal of Chemical Information and Modeling*, **54**(7), pp.1951-1962, DOI: 10.1021/ci500020m.
- [12] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete (2017), "SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules", *Scientific Reports*, **7**, DOI: 10.1038/srep42717.
- [13] S.D. Joshi, U.A. More, D. Parkale, et al. (2015), "Design, synthesis of quinolinyl Schiff bases and azetidinones as enoyl ACP-reductase inhibitors", *Medicinal Chemistry Research*, **24**(11), pp.3892-3911, DOI: 10.1007/s00044-015-1432-7.

Phát hiện *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* trên cá rô phi (*Oreochromis* sp.) nuôi ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam

Trương Thị Mỹ Hạnh^{1*}, Nguyễn Diễm Thu², Nguyễn Thị Hạnh¹, Nguyễn Hồng Bửu Vinh², Phan Trọng Bình¹, Lê Thị Mỹ¹, Nguyễn Minh Quân¹, Đặng Thị Lua¹

¹Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I, phường Từ Sơn, tỉnh Bắc Ninh, Việt Nam

²Công ty TNHH Virbac Việt Nam, xã Bình Minh, tỉnh Đồng Nai, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/6/2025; ngày chuyển phản biện 4/6/2025; ngày nhận phản biện 24/6/2025; ngày chấp nhận đăng 2/7/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện trong tháng 3/2025, khi nhiệt độ nước nuôi thủy sản tại miền Bắc phổ biến từ 22 đến 24°C. Cá rô phi và cá điêu hồng nuôi tại Bắc Ninh và Hải Dương (trước sáp nhập) ghi nhận các biểu hiện bệnh lý như lồi mắt, xuất huyết thân và đốm trắng ở thận, lách. Các dấu hiệu này, cùng điều kiện nhiệt độ (22-24°C), phù hợp với các mô tả về bệnh do *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* (Fno) gây ra. Nghiên cứu đã tiến hành phân lập vi khuẩn bằng nuôi cấy trên môi trường modified Thayer-Martin agar và cysteine heart agar bổ sung máu bò. Các khuẩn lạc nghi ngờ được kiểm tra bằng kỹ thuật duplex PCR với 2 cặp mồi đặc hiệu (F11/R5, FnoF1/FnoR1) và giải trình tự 16S rRNA so sánh với các trình tự trong Ngân hàng dữ liệu của Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia Mỹ (NCBI) bằng công cụ BLAST. Kết quả cho thấy, khuẩn lạc đặc trưng của Fno xuất hiện sau 5-7 ngày ủ ở nhiệt độ 25-26°C; toàn bộ tám mẫu nghi ngờ đều dương tính với Fno bằng duplex PCR, với hai băng khuếch đại 1140 và 203 bp. Phân tích trình tự 16S rRNA xác nhận độ tương đồng 100% với các chủng Fno tham chiếu, đồng thời thí nghiệm gây nhiễm đã xác định Fno trong mô thận và chứng minh khả năng gây chết nhanh trên cá rô phi với liều 10^7 - 10^8 CFU/ml.

Từ khóa: cá rô phi, duplex PCR, *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*, giải trình tự 16S rRNA.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.3, 4.5

Detection of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in farmed tilapia (*Oreochromis* sp.) in some provinces in northern Vietnam

Thi My Hanh Truong^{1*}, Diem Thu Nguyen², Thi Hanh Nguyen¹, Hong Buu Vinh Nguyen², Trong Binh Phan¹, Thi May Le¹, Minh Quan Nguyen¹, Thi Lua Dang¹

¹Research Institute for Aquaculture No.1, Tu Son Ward, Bac Ninh Province, Vietnam

²Virbac Vietnam Company Limited, Binh Minh Commune, Dong Nai Province, Vietnam

Received 2 June 2025; revised 24 June 2025; accepted 2 July 2025

Abstract:

The study was conducted in March 2025, when aquaculture water temperatures commonly ranged from 22 to 24°C. Tilapia and red tilapia cultured in Bac Ninh and Hai Duong provinces (prior to the administrative merger) exhibited clinical signs including popeye, body hemorrhages, and white spots in the kidney and spleen. These clinical signs, along with the environmental conditions (22-24°C), were consistent with previously reported descriptions of disease caused by *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* (Fno). The bacterium was isolated by culture on modified Thayer-Martin agar and cysteine heart agar supplemented with bovine blood. Suspected colonies were further analysed using duplex PCR with two specific primer pairs (F11/R5 and FnoF1/FnoR1), and 16S rRNA gene sequences were compared with sequences in the National Centre for Biotechnology Information (NCBI) database using the BLAST tool. The results showed that characteristic colonies of Fno appeared after 5-7 days of incubation at 25-26°C. All eight suspected samples tested positive for Fno by duplex PCR, yielding two amplification products of 1140 and 203 bp. The 16S rRNA sequence analysis confirmed 100% identity with reference strains of Fno, while the challenge experiment confirmed the presence of Fno in kidney tissue and demonstrated its rapid lethality in tilapia at doses of 10^7 - 10^8 CFU/ml.

Keywords: duplex PCR, *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*, tilapia, 16S rRNA sequencing.

Classification numbers: 1.6, 4.3, 4.5

*Tác giả liên hệ: Email: tmhanh@ria1.org

1. Đặt vấn đề

Trên toàn cầu, sản lượng cá rô phi đã tăng từ 1,87 triệu tấn (năm 2000) lên 6,88 triệu tấn (năm 2018), trong đó châu Á và châu Phi là hai khu vực sản xuất chính, lần lượt chiếm 63,1 và 26,29% tổng sản lượng [1]. Tuy nhiên đến năm 2022, sản lượng cá rô phi giảm còn 5,3 triệu tấn [2]. Các quốc gia sản xuất hàng đầu gồm: Trung Quốc (23,61%), Indonesia (18,76%), Ai Cập (17,04%), Bangladesh (5,01%), Brazil (4,94%), Philippines (4,67%), Việt Nam (3,78%), Thái Lan (3,40%) và Mexico (2,76%). Chỉ tính riêng Việt Nam, năm 2023, sản lượng cá rô phi đạt khoảng 270.000 tấn, tăng 3,8% so với năm 2022, với diện tích nuôi khoảng 30.000 ha [3]. Mục tiêu đến năm 2030 là mở rộng diện tích nuôi lên 40.000 ha, nâng thể tích lồng nuôi lên 1,8 triệu m³ và đạt sản lượng 400.000 tấn, trong đó 45-50% dành cho xuất khẩu [4]. Tuy nhiên trong quá trình nuôi, dịch bệnh là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến sản lượng cá, trong số đó đã ghi nhận một số tác nhân như *Streptococcus agalactiae*, *Aeromonas hydrophila*, *F. columnare*, *E. ictaluri* [5, 6].

Vi khuẩn *Francisella noatunensis* bao gồm hai phân loài: *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* (Fno) và *Francisella noatunensis* subsp. *noatunensis* (Fnn). Đây là vi khuẩn gram âm, không di động, có khả năng sống nội bào tùy ý, thuộc họ *Francisellaceae* trong lớp *Gammaproteobacteria* [7]. Chúng là tác nhân gây bệnh Francisellosis, một bệnh u hạt mãn tính ảnh hưởng đến nhiều loài cá nuôi [7]. Phân loài Fno ảnh hưởng đến cá nước ấm và đã được báo cáo rộng rãi trong ngành nuôi cá rô phi trên toàn thế giới [8]. Các trường hợp nhiễm bệnh đầu tiên được ghi nhận tại Đài Loan (Trung Quốc) năm 1992 [9], tiếp theo là Hawaii năm 1994 [10] và nhiều khu vực khác như Florida, California, Nam Carolina (Mỹ) năm 2004 [11], Costa Rica năm 2006 [12], Indonesia năm 2007 [13], Anh năm 2010 [14], Thái Lan năm 2013 [15] và gần đây nhất là Trung Quốc năm 2023 [16]. Trong khi đó, Fnn chủ yếu gây bệnh trên các loài cá nước lạnh, đặc biệt là cá tuyết Đại Tây Dương, với các ca bệnh đã được ghi nhận tại Na Uy [13].

Tại miền Bắc Việt Nam, kết quả quan trắc vùng nuôi cá rô phi tập trung trong vài năm gần đây cho thấy, khi nhiệt độ dao động từ 20 đến 26°C, cá rô phi có biểu hiện bệnh lý như lồi mắt, đốm trắng ở thận và lách, kèm theo tỷ lệ chết đáng kể. Những dấu hiệu đặc trưng này trùng khớp với các triệu chứng do vi khuẩn Fno gây ra ở cá rô phi, đã được nhiều nghiên cứu quốc tế ghi nhận. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự hiện diện của Fno trên cá rô phi nuôi tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thời gian, địa điểm và phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện vào tháng 3/2025 trên 8 mẫu cá bệnh có biểu hiện bệnh lý điển hình, được thu thập tại hai tỉnh Bắc Ninh và Hải Dương.

Các mẫu được phân tích tại hai phòng thí nghiệm: 1) Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I; 2) Trung tâm Công nghệ Thủy sản (VATC) - Công ty Virbac (xã Bình Minh, tỉnh Đồng Nai, Việt Nam).

Mẫu cá rô phi và cá điều hồng được bảo quản với đá lạnh (nhiệt độ 4-8°C) trong suốt quá trình vận chuyển cho đến khi tiến hành phân tích.

2.2. Phương pháp phân tích mẫu

Đối với nuôi cấy phân lập bằng phương pháp truyền thống:

Áp dụng phương pháp của E. Soto và cs (2009) [12], vi khuẩn sẽ được thu thập từ thận trước, thận sau và lách của mẫu cá rô phi/điều hồng. Mẫu được cấy lên môi trường modified Thayer-Martin agar và môi trường chọn lọc cysteine heart agar có bổ sung 2% máu bò (2% bovine haemoglobin). Các đĩa cấy sẽ được ủ ở nhiệt độ 25-26°C trong 5-7 ngày. Các chủng Fno nghi ngờ là khuẩn lạc tròn, bờ đều, đường kính <1 mm, bề mặt khuẩn lạc nhẵn bóng, màu trắng ngà, phát triển trên đĩa thạch sau 5 ngày ủ, sẽ được chọn cấy thuần và được xác nhận có phải là Fno bằng duplex PCR [17].

Đối với phương pháp phân tích sinh học phân tử (duplex PCR):

Tất cả các khuẩn lạc Fno nghi ngờ, mọc trên đĩa thạch sau 5-7 ngày ủ, được xác định loài Fno bằng phương pháp duplex PCR. Các chủng vi khuẩn nghi ngờ Fno được tách chiết DNA bằng bộ kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các DNA được chiết xuất này sau đó được định lượng bằng máy quang phổ Nanodrop (Maestrogen). DNA chiết xuất được bảo quản trong ống vô trùng ở -20°C cho đến khi cần sử dụng.

Kỹ thuật duplex PCR được áp dụng trong nghiên cứu theo phương pháp của H.T. Dong và cs (2016) [17]. Hai cặp mồi F11/R5 và FnoF1/FnoR1 (bảng 1) với gen đích dựa trên 16S rRNA đặc hiệu phát hiện *Francisella* [18] và một trình tự riêng duy nhất từ Fno [17] khuếch đại sản phẩm tương ứng 1140 và 203 bp. PCR được thực hiện trong hỗn hợp phản ứng 25 µl, chứa 12,5 µl 2X PCRBIO Taq Mix Red (PCR Biosystems, UK), 2,0 µl (0,8 µM) của

mỗi mỗi F11 và R5, 0,5 µl (0,2 µM) của mỗi mỗi FnoF1 và FnoR1, 5,0 µl mẫu DNA (150-200 ng) và 2,5 µl nước. Khuếch đại PCR được chạy trên máy luân nhiệt S1000 (Bio-Rad) sử dụng điều kiện chu kỳ theo H.T. Dong và cs (2016) [17], chu trình nhiệt áp dụng như sau: 94°C (3 phút), [35 chu kỳ (94°C - 30 giây, 60°C - 60 giây, 72°C - 60 giây), 72°C (5 phút) và 4°C (∞)]. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarose 1% trong dung dịch 1X TAE và đọc kết quả dưới đèn UV.

Bảng 1. Trình tự mỗi phát hiện Fno bằng duplex PCR.

Tên mỗi	Trình tự (5'-3')	Sản phẩm (bp)	Tác giả
F11	TAC CAG TTG GAA ACG ACT GT	1140	M. Forsman và cs (1994) [18]
R5	CCT TTC TGA GTT TCG CTC C		
FnoF1	GGCGTAACTCCTTTTAGCTTCC	203	H.T. Dong và cs (2016) [17]
FnoR1	TTAGAGGAGCTTGGAAAAGCA		

2.3. Định danh loài bằng giải trình tự 16S rRNA

Các chủng Fno nghi ngờ được cấy trên đĩa thạch CHAH và gửi đến Công ty TNHH Thương mại và Dịch vụ Nam Khoa để giải trình tự 16S rRNA. Kết quả giải trình tự gen được so sánh về độ tương đồng trình tự trên cơ sở dữ liệu NCBI bằng chương trình BLAST.

2.4. Phương pháp gây nhiễm chủng Fno phân lập

Chuẩn bị vi khuẩn: Vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong dung dịch canh Tryptic Soy Broth bổ sung 1% D-glucose và 0,2% cysteine (MTSB) ở 25-26°C trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn sau nuôi cấy được điều chỉnh về khoảng 1×10^8 CFU/ml bằng phương pháp đo mật độ quang (OD_{600}), kết hợp trang cấy trên đĩa thạch, dịch vi khuẩn sau đó được ly tâm loại bỏ môi trường TSB, tiếp đến pha loãng vi khuẩn trong dung dịch PBS ở nồng độ là 10^7 và 10^8 CFU/ml.

Chuẩn bị cá thí nghiệm: Cá rô phi phản xạ nhanh, sáng màu, kiểm tra âm tính với TiLV, ký sinh trùng và Fno (n=81), trọng lượng trung bình 9,5 g/con được vận chuyển từ trại giống về phòng thí nghiệm. Cá được nuôi thuần ở bể thể tích 1 m³ trong thời gian một tuần trước khi tiêm gây nhiễm. Bể nuôi được bố trí sục khí vừa phải và đảm bảo các yếu tố môi trường trong khoảng phù hợp cho cá sinh trưởng. Cá được cho ăn cám công nghiệp 2 lần/ngày và theo dõi sức khỏe trong suốt thời gian nuôi thuần. Trước khi tiến hành gây nhiễm, bắt ngẫu nhiên 5 con cá để kiểm tra, đánh giá lâm sàng và nuôi cấy, phân lập vi khuẩn từ thận cá. Tất cả cá sử dụng cho thí nghiệm gây nhiễm đảm bảo không có biểu hiện bệnh lý bất thường và không có vi khuẩn phát triển sau nuôi cấy.

Thí nghiệm được bố trí với 3 lô: Hai lô tiêm dịch vi khuẩn Fno ở hai nồng độ khác nhau (10^7 và 10^8 CFU/ml) và một lô đối chứng tiêm dung dịch PBS. Với mỗi nồng độ vi khuẩn, 9 cá rô phi được tiêm xoang bụng với thể tích 0,1 ml dịch vi khuẩn/cá rô phi. Các cá thí nghiệm được nuôi và theo dõi trong các bể có thể tích 150 l. Mỗi nồng độ được bố trí lặp lại 3 lần (bảng 2). Sau khi tiêm, cá được nuôi theo dõi ở nhiệt độ 23-25°C, là khoảng nhiệt độ thích hợp để vi khuẩn Fno biểu hiện khả năng gây bệnh. Các yếu tố môi trường như pH (7,0-7,5) và sục khí liên tục 24/24 giờ được duy trì đồng đều giữa các bể, và đảm bảo phù hợp với điều kiện phát triển bình thường của cá rô phi. Số lượng cá chết được ghi nhận hằng ngày để tính toán tỷ lệ chết tích lũy sau gây nhiễm. Các cá có biểu hiện bệnh được quan sát triệu chứng lâm sàng, trong khi cá chết được mổ khám nhằm phát hiện tổn thương bệnh lý và cấy ria mô thận lên môi trường cysteine heart agar bổ sung 2% máu bò (CHAH) để tái phân lập và xác nhận lại tác nhân gây bệnh sau gây nhiễm.

Bảng 2. Thiết kế thí nghiệm gây nhiễm Fno (9 cá/bể, 3 bể/nghiệm thức).

STT	Nghiệm thức	Nồng độ vi khuẩn (CFU/ml)	Số cá/nghiệm thức	Phương pháp gây nhiễm
1	Fno liều 1	10^8	27	Tiêm xoang bụng (0,1 ml/con)
2	Fno liều 2	10^7	27	
3	Đối chứng âm	PBS	27	
Tổng cá			81	

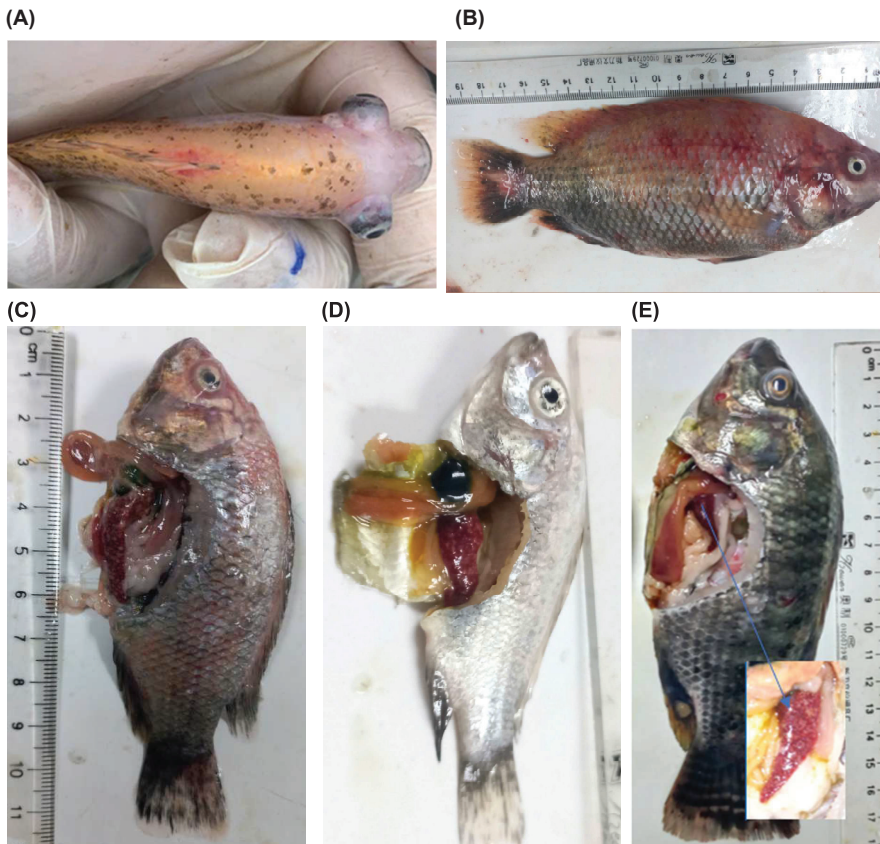
2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Tỷ lệ chết tích lũy của cá trong quá trình cảm nhiễm được phân tích thống kê mô tả bằng phần mềm Excel 2021, thể hiện dưới dạng giá trị trung bình.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đặc điểm bệnh lý cá nhiễm khuẩn *Francisella noatunensis subsp. orientalis*

Nghiên cứu đã thực hiện thu mẫu tại 3 địa điểm thuộc 2 tỉnh Bắc Ninh và Hải Dương, tổng cộng 8 mẫu cá, bao gồm 2 cá rô phi và 6 cá điêu hồng với biểu hiện bệnh lý rõ rệt. Tại huyện Thuận Thành (Bắc Ninh), 3 mẫu cá điêu hồng có kích cỡ trung bình $26,3 \pm 6,7$ g, với các dấu hiệu như mắt lồi, xuất huyết thân, mật sung và lách xuất hiện nhiều đốm trắng (hình 1). Tại huyện Lương Tài (Bắc Ninh), 2 mẫu cá rô phi có kích cỡ lớn hơn ($80,8 \pm 25,3$ g) cũng có biểu hiện mắt lồi, xuất huyết gốc vây và lách có nhiều đốm trắng. Trong khi đó, tại huyện Nam Sách (Hải Dương), 3 mẫu cá điêu hồng ($86,5 \pm 42,7$ g) bị xuất huyết ở nắp mang, mắt sặc tố ở vây và cơ quan thận lách có



Hình 1. Biểu hiện bệnh lý của cá rô phi/điều hồng có kết quả dương tính Fno: (A) lờn mắt, (B) xuất huyết thân, (C) đốm trắng ở lách, (D) túi mật căng, đốm trắng tại thận, (E) mất sắc tố ở vảy.

nhiều đốm trắng (hình 1). Tại các lồng nuôi cá bị bệnh, tỷ lệ chết được ghi nhận dao động 10-40% với cỡ cá 26-86 g/con trong điều kiện 22-24°C và có ý nghĩa dịch tễ học (bảng 3). Trên thế giới, một số nghiên cứu cũng báo cáo các mức độ tử vong khác nhau do Fno, cụ thể: 75% ở cá rô phi cỡ 40-60 g ở 28°C [19], 20-95% trong các trại nuôi cá thương phẩm với trọng lượng 100-300 g ở nhiệt độ nước 25-30°C [20], 60-80% trong thử nghiệm tiêm vi khuẩn vào cá 50 g ở 27-29°C [21] và 40-70% trong các ổ dịch tự nhiên ở Mỹ, chủ yếu xảy ra khi cá đạt kích cỡ thương phẩm 200-500 g và nhiệt độ nước duy trì ở mức 26-30°C [22].

Bảng 3. Thông tin các mẫu thu phân tích trong nghiên cứu.

Địa điểm thu mẫu	Số mẫu	Loài cá	Cỡ cá (g/con)	Dấu hiệu bệnh lý	Tỷ lệ chết tích lũy ^(*) (%)
Thuận Thành, Bắc Ninh	3	Điều hồng	26,3±6,7	Mất lờn, xuất huyết thân, mật sưng, lách nhiều đốm trắng	10
Lương Tài, Bắc Ninh	2	Rô phi	80,8±25,3	Xuất huyết gốc vây, thận và lách xuất hiện đốm trắng, mất sắc tố ở vây	30
Nam Sách, Hải Dương (cũ)	3	Điều hồng	86,5±42,7	Xuất huyết nắp mang, mất sắc tố ở vây, thận và lách xuất hiện đốm trắng	40

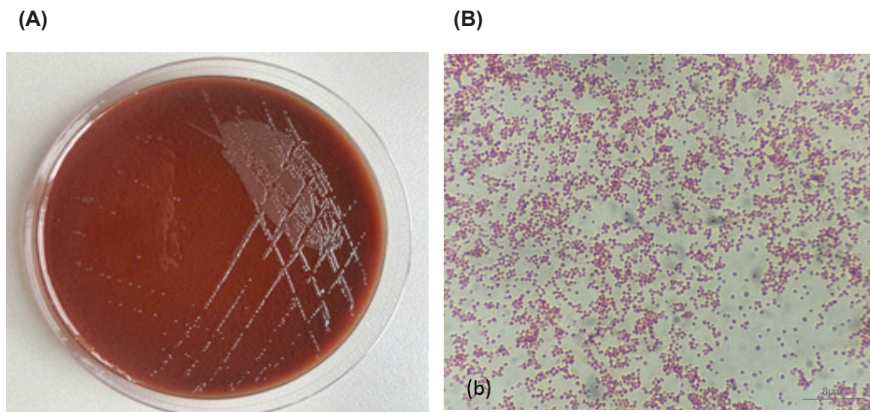
Cỡ cá: giá trị trung bình ±SD, tại Bắc Ninh cá rô phi và điều hồng nuôi ao, tại Hải Dương cá điều hồng nuôi lồng. (*) Tỷ lệ được tính từ khi chủ hộ nuôi phát hiện cá chết có biểu hiện như mô tả đến khi cá dừng chết.

Những biểu hiện bệnh lý ghi nhận được nêu trên phù hợp với các mô tả về triệu chứng nhiễm Fno trên cá rô phi tại các quốc gia khác như Đài Loan (Trung Quốc) [9], Costa Rica [12] và Thái Lan [15]. Đặc điểm tổn thương dạng đốm trắng ở lách và thận là điển hình cho phản ứng viêm u hạt do Fno gây ra [23] và có thể được sử dụng làm tiêu chí lâm sàng quan trọng trong chẩn đoán và giám sát dịch bệnh ở các vùng nuôi cá rô phi có điều kiện nhiệt độ 20-26°C [16].

3.2. Kết quả phân lập vi khuẩn trên môi trường nuôi cấy chọn lọc

Từ các mẫu cá nghi nhiễm bệnh, tổ chức thận trước, thận sau và lách được cấy trên môi trường dinh dưỡng: modified Thayer-Martin agar và môi trường chọn lọc cysteine heart agar có bổ sung 2% máu bò (2% bovine haemoglobin) (CHAH). Sau thời gian ủ từ 5-7 ngày ở nhiệt độ 26°C, trên môi trường xuất hiện các khuẩn lạc nhỏ, có đặc điểm: Khuẩn lạc tròn nhỏ, bờ đều, đường kính <1 mm, bề mặt nhẵn bóng,

màu trắng ngà (hình 2A), khi nhuộm gram, vi khuẩn bắt màu hồng, dạng trực khuẩn ngắn (hình 2B). Thời gian phát triển chậm, chỉ có thể quan sát rõ rệt sau 5 ngày ủ. Những đặc điểm này phù hợp với mô tả về sự phát triển của Fno trên môi trường nuôi cấy dinh dưỡng [7, 12]. Kết quả này cho thấy, Fno có khả năng phát triển ở điều kiện nước ấm và nhiệt độ trung bình trong khoảng 24-26°C, điều kiện phổ biến ở các vùng nuôi cá rô phi ở khu vực miền Bắc, Việt Nam vào mùa xuân. Toàn bộ 8 mẫu khuẩn lạc nghi ngờ đã được lựa chọn để tiếp tục kiểm tra bằng kỹ thuật duplex PCR nhằm xác định chính xác loài vi khuẩn.

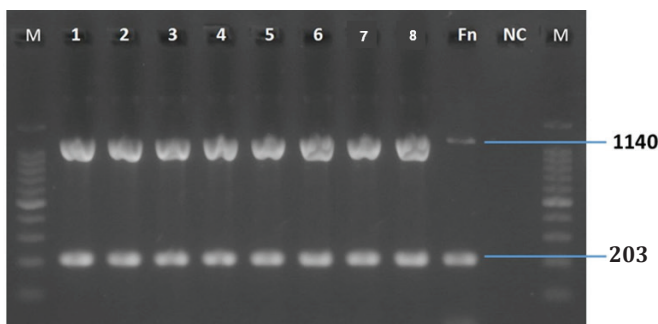


Hình 2. Vi khuẩn *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*. (A) Hình thái khuẩn lạc trên môi trường CHAH; (B) Hình thái Fno nhuộm Gram.

Kết quả nuôi cấy vi khuẩn cho thấy, Fno có thể được phân lập từ mô thận và lách của cá rô phi và cá điêu hồng có biểu hiện bệnh lý lồi mắt, xuất huyết, đốm trắng nội tạng (thận lách) trong điều kiện nuôi ở nhiệt độ 26°C, dù đòi hỏi thời gian nuôi cấy dài hơn so với các vi khuẩn thông thường. Việc sử dụng môi trường chuyên biệt có bổ sung cysteine và máu bò được xác định là cần thiết để tối ưu hóa khả năng phân lập.

3.3. Kết quả định danh bằng duplex PCR

Kết quả phân tích bằng kỹ thuật duplex PCR cho thấy, 8/8 khuẩn lạc nghi ngờ nuôi cấy từ mô thận, lách tương ứng đều cho kết quả dương tính với Fno. Cụ thể khi điện di sản phẩm PCR trên bản gel agarose 1%, 8 mẫu phân tích đều xuất hiện hai vạch khuếch đại đặc trưng. Vạch có kích thước khoảng 1140 bp, đại diện cho gen 16S rRNA đặc hiệu của chi *Francisella*, trong khi đó, vạch có kích thước khoảng 203 bp, đặc hiệu cho phân loài Fno (hình 3).



Hình 3. Duplex - PCR các mẫu Fno phân lập từ cá rô phi. Giếng M: thang DNA 100 bp; giếng 1-3 tương ứng ISN-25/017-25/019 (mẫu thu tại Thuận Thành, Bắc Ninh); giếng 4-5: ISN-25/020-25/021 (mẫu thu tại Lương Tài, Bắc Ninh); giếng 6-8 tương ứng ISN-25/022-25/024 (mẫu thu tại Nam Sách, Hải Dương); giếng Fn: DNA Fno dương tính (VATC); giếng NC: đối chứng âm (nước).

Sự xuất hiện đồng thời của cả 2 vạch với kích thước lần lượt là 1140 và 203 bp trong mẫu phân tích khẳng định các khuẩn lạc mọc trên CHAH là vi khuẩn Fno. Kết

quả này không chỉ ghi nhận sự hiện diện của Fno trong các mẫu cá rô phi/điều hồng bệnh mà còn là minh chứng về độ đặc hiệu và độ nhạy của phương pháp duplex PCR sử dụng 2 cặp mồi F11/R5 và FnoF1/FnoR1, kết quả trùng hợp với báo cáo của H.T. Dong và cs (2016) [17] và các nghiên cứu quốc tế khác như của nhóm tác giả S. Duodu và cs (2021) [24]. Việc triển khai kỹ thuật duplex PCR có ý nghĩa quan trọng trong việc hỗ trợ sàng lọc nhanh cá nhiễm bệnh tại thực địa, đặc biệt khi bệnh chưa biểu hiện rõ dấu hiệu lâm sàng.

3.4. Kết quả giải trình tự 16S rRNA

Để xác nhận kết quả nuôi cấy vi khuẩn, hai chủng đại diện nghi ngờ (ISN-25/017 và ISN-25/022) đã được gửi đi giải trình tự gen 16S rRNA. Kết quả phân tích chuỗi trình tự thu được so sánh với cơ sở dữ liệu GenBank bằng công cụ BLAST cho thấy: Hai chủng nuôi cấy nghi ngờ Fno có độ tương đồng 100% với chủng vi khuẩn Fno đã được công bố trước đó (hình 4). Việc sử dụng trình

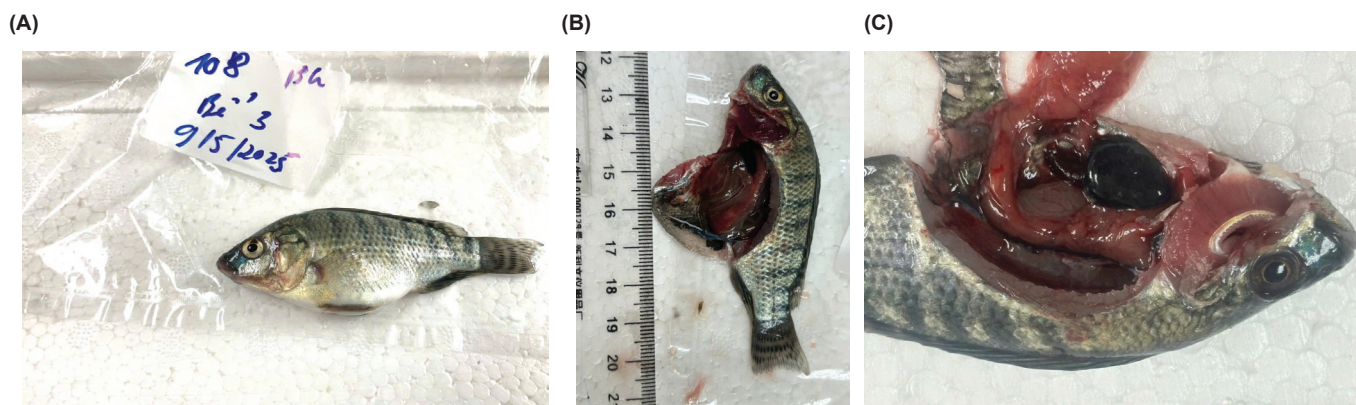
(A)

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	Taxonomy
Sequences producing significant alignments			
Download Select columns Show 100			
select all 100 sequences selected			
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain STR-GUS-F207_16S ribosomal RNA gene, partial sequen...	Francisella orie...	2128	2128
Francisella orientalis strain FNO44 chromosome, complete genome	Francisella orie...	2128	6359
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO135, complete genome	Francisella orie...	2128	6379
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO117, complete genome	Francisella orie...	2128	6366
Francisella sp. AF-014.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Francisella sp...	2128	2128
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO191, complete genome	Francisella orie...	2128	6379
Francisella orientalis strain Ehme-1.16S ribosomal RNA, partial sequence	Francisella orie...	2128	2128
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO364, complete genome	Francisella orie...	2128	6385
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO137, complete genome	Francisella orie...	2128	6379

(B)

Descriptions	Graphic Summary	Alignments	Taxonomy
Sequences producing significant alignments			
Download Select columns Show 100			
select all 100 sequences selected			
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain STR-GUS-F207_16S ribosomal RNA gene, partial sequence...	Francisella orie...	2130	2130
Francisella orientalis strain FNO44 chromosome, complete genome	Francisella orie...	2130	6365
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO135, complete genome	Francisella orie...	2130	6385
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO117, complete genome	Francisella orie...	2130	6372
Francisella sp. AF-014.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Francisella sp. A	2130	2130
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO191, complete genome	Francisella orie...	2130	6385
Francisella orientalis strain Ehme-1.16S ribosomal RNA, partial sequence	Francisella orie...	2130	2130
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO364, complete genome	Francisella orie...	2130	6390
Francisella noatunensis subsp. orientalis strain FNO137, complete genome	Francisella orie...	2130	6385
Francisella sp. AF-012.16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Francisella sp. A	2130	2130

Hình 4. Hình ảnh BLAST gen của trình tự có độ tương đồng 100% với *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* (Fno). (A) ISN-25/017 - mẫu thu Thuận Thành, Bắc Ninh; (B) ISN-25/022 - mẫu thu Nam Sách, Hải Dương.



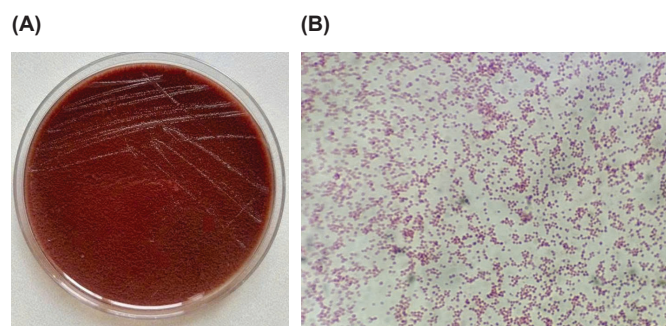
Hình 5. Biểu hiện cá gây nhiễm sau 24 giờ. (A) Trướng bụng, xuất huyết nắp mang; (B) Xoang bụng tích dịch; (C) Mật sưng.

tự 16S rRNA là phương pháp được khuyến cáo rộng rãi để định danh chính xác vi khuẩn thuộc chi *Francisella* [16, 18] và là bước cuối cùng cần thiết trong hệ thống chẩn đoán bằng kỹ thuật phân tử. Kết quả giải trình tự đạt được trong nghiên cứu này đã củng cố minh chứng vi khuẩn nuôi cấy từ mô lách, thận cá bệnh là vi khuẩn Fno.

3.5. Kết quả gây nhiễm Fno

Cá chết bắt đầu xuất hiện sau 24 giờ kể từ khi gây nhiễm vi khuẩn Fno với liều 10^8 CFU/ml (ngày thứ 1) và toàn bộ cá chết (100%) vào ngày thứ 2 sau gây nhiễm. Ở nồng độ thấp hơn, hiện tượng cá chết xuất hiện chậm hơn (từ ngày thứ 2) và đạt tỷ lệ chết 100% vào ngày thứ 4 sau gây nhiễm (bảng 4). Cá chết có biểu hiện trướng bụng, tích dịch xoang bụng và xuất huyết ở vùng nắp mang (hình 5). Không ghi nhận cá chết hoặc biểu hiện bất thường ở nhóm đối chứng âm. Tất cả cá rô phi chết sau khi được gây nhiễm vi khuẩn Fno đều đã được phân

lập thành công vi khuẩn từ cơ quan thận bằng cách nuôi cấy trên môi trường thạch CHAH (hình 6). Các khuẩn lạc thu được sau đó được xác nhận là Fno bằng phương pháp duplex PCR.



Hình 6. Vi khuẩn tái phân lập trên cá rô phi gây nhiễm Fno. (A) Khuẩn lạc mọc trên môi trường CHAH; (B) Hình thái vi khuẩn gram âm, trực khuẩn ngắn.

Kết quả cho thấy, liều gây nhiễm từ 10^7 đến 10^8 CFU/ml gây chết cá rất nhanh, ngay cả khi cá mới chỉ xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng nhẹ như xuất huyết, mật sưng, tích dịch trong khoang bụng và chưa có biểu hiện điển hình là các đốm trắng ở thận và lách. Tuy nhiên, vi khuẩn Fno đã hiện diện trong cơ quan thận, được xác nhận thông qua kết quả phân lập và phân tích mẫu từ cá thí nghiệm.

Để thu được cá có biểu hiện triệu chứng bệnh lý điển hình hơn, nghiên cứu cần tiến hành gây nhiễm với các nồng độ vi khuẩn thấp hơn. Tuy nhiên, thí nghiệm này đã đạt được mục tiêu chính là xác định sự hiện diện của vi khuẩn Fno trên cá rô phi (*Oreochromis* sp.).

4. Kết luận

Nghiên cứu bước đầu ghi nhận sự xuất hiện của vi khuẩn Fno trên cá rô phi nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam thông qua nuôi cấy vi khuẩn, kỹ thuật duplex-PCR và giải trình tự gen 16S rRNA.

Bảng 4. Kết quả tỷ lệ chết tích lũy khi gây nhiễm Fno ở cá rô phi.

Nghiệm thức	Bể	Số cá chết theo ngày (5 ngày theo dõi)	Tổng số cá chết (con)	Tỷ lệ chết (%)	Ghi chú
NT1 (tiêm 0,1 ml hỗn dịch chứa 10^8 cfu/ml)	T1	4-5-x-x-x	9	100	Xuất hiện sau 24 giờ gây nhiễm (ngày thứ 1) và chết 100% ở ngày 2
	T2	4-5-x-x-x	9		
	T3	3-6-x-x-x	9		
NT2 (tiêm 0,1 ml hỗn dịch chứa 10^7 cfu/ml)	T4	0-2-7-x-x	9	100	Xuất hiện sau 48 giờ gây nhiễm (ngày thứ 2) và chết 100% ở ngày 4
	T5	0-5-2-2-x	9		
	T6	0-5-4-x-x	9		
Đối chứng âm (PBS)	T7	0-0-0-0-0	0	0	Cá khỏe, phản xạ nhanh
	T8	0-0-0-0-0	0		
	T9	0-0-0-0-0	0		

Ghi chú: n=9 cá/bể, 27 cá/nghiệm thức, x=hết cá trong bể.

Các đặc điểm có liên quan đến bệnh bao gồm nhiệt độ môi trường nuôi trong khoảng 22-24°C, cá nhiễm bệnh có dấu hiệu bệnh lý điển hình được ghi nhận lồi mắt, xuất huyết, mất sắc tố vảy và đặc biệt u hạt trắng ở thận và lách.

Thí nghiệm gây nhiễm đã xác định được sự hiện diện của vi khuẩn *Fno* trong mô thận thông qua nuôi cấy và duplex PCR, đồng thời chứng minh khả năng gây chết nhanh của vi khuẩn *Fno* trên cá rô phi với liều tiêm 10^7 - 10^8 CFU/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Food and Agriculture Organization (2024), *The State of World Fisheries and Aquaculture*, DOI: 10.4060/cd0683en.
- [2] K. Thompson, C. Shoemaker, D. C. Little (2025), *Tilapia: Aquaculture, Biology and Health Management*, CAB International, Oxfordshire, 861pp, DOI: 10.1079/9781800629455.0000.
- [3] P. Hue (2024), "USSEC promotes efficient, safe, and sustainable aquaculture development in Vietnam", *Shrimp Farmer Magazine*, <https://nguoinuoi.com.vn/ussec-thuc-day-viet-nam-phat-trien-ntts-hieu-qua-an-toan-va-ben-vung/>, accessed 1 March 2025 (in Vietnamese).
- [4] Vietnam Ministry of Agriculture and Rural Development (2016), *Decision No. 1639/QĐ-BNN-TCTS, dated 6 May 2016, on Approving The Master Plan for Tilapia Farming Development to 2020, with Orientation Toward 2030* (in Vietnamese).
- [5] T.M.H. Truong, T.V. Phan, T.M. Le, et al. (2021), "Risk factors associated with *Streptococcosis* in freshwater farmed tilapia", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **63**(7), pp.42-47 (in Vietnamese).
- [6] T.N. Doan, T.L. Dang, V.V. Kim, et al. (2022), "Common and serious bacterial diseases in farmed tilapia: Current status and challenges in Vietnam", *Journal of Veterinary Science and Technology*, **29**(3), pp.86-97 (in Vietnamese).
- [7] D.J. Colquhoun, S. Duodu (2011), "*Francisella* infections in farmed and wild aquatic organisms", *Veterinary Research*, **42**(1), DOI: 10.1186/1297-9716-42-47.
- [8] E. Soto, T. Schwedler, J. Hawke, et al. (2013), "*Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* pathogenesis analyzed by experimental immersion challenge in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)", *Veterinary Microbiology*, **164**(1-2), pp.77-84, DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.01.024.
- [9] R.S. Chern, C.B. Chao (1994), "Outbreaks of a disease caused by rickettsia-like organism in cultured tilapias in Taiwan", *Fish Pathology*, **29**, pp.61-71.
- [10] M.J. Mauel, D.L. Miller, K. Frazier, et al. (2003), "Characterisation of a piscirickettsiosis-like disease in Hawaiian tilapia", *Diseases of Aquatic Organisms*, **53**(3), pp.249-255, DOI: 10.3354/dao053249.
- [11] M.J. Mauel, D.L. Miller, E. Styer, et al. (2005), "Occurrence of Piscirickettsiosis-like syndrome in tilapia in the continental United States", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **17**(6), pp.601-605, DOI: 10.1177/104063870501700616.
- [12] E. Soto, J.P. Hawke, D. Fernandez, et al. (2009), "*Francisella* sp., an emerging pathogen of tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in Costa Rica", *Journal of Fish Diseases*, **32**(8), pp.713-722, DOI: 10.1111/j.1365-2761.2009.01070.x.
- [13] K.F. Ottem, A. Nylund, E. Karlsbakk, et al. (2009), "Elevation of *Francisella philomiragia* subsp. *noatunensis* to *Francisella noatunensis* comb. nov.[syn. *Francisella piscicida* Ottem et al. (2008) syn. nov.] and characterization of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* subsp. nov., two important fish pathogens", *Journal of Applied Microbiology*, **106**(4), pp.1231-1243, DOI: 10.1111/j.1365-2672.2008.04092.x.
- [14] K.R. Jeffrey, D. Stone, S.W. Feist, et al. (2010), "An outbreak of disease caused by *Francisella* sp. in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* at a recirculation fish farm in the UK", *Diseases of Aquatic Organisms*, **91**(2), pp.161-165, DOI: 10.3354/dao02260.
- [15] V.N. Vuong, T.D. Ha, T. Saengchan, et al. (2019), "Transmission of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* from subclinically infected hybrid red tilapia broodstock (*Oreochromis* sp.) to their offspring", *Microbial Pathogenesis*, **136**, DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103670.
- [16] M. Xu, F. Li, B. Chen, et al. (2025), "Isolation, identification and histopathological observation of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Aquaculture*, **595**(1), DOI: 10.1016/j.aquaculture.2024.741532.
- [17] H.T. Dong, W. Gangnonngiw, K. Phiwsaiya, et al. (2016), "Duplex PCR assay and in situ hybridization for detection of *Francisella* spp. and *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in red tilapia", *Diseases of Aquatic Organisms*, **120**, pp.39-47, DOI: 10.3354/dao03021.
- [18] M. Forsman, G. Sandström, A. Sjöstedt (1994), "Analysis of 16S ribosomal DNA sequences of *Francisella* strains and utilization for determination of the phylogeny of the genus and for identification of strains by PCR", *International Journal of Systematic Bacteriology*, **44**(1), pp.38-46, DOI: 10.1099/00207713-44-1-38.
- [19] E. Soto, J.P. Hawke, D. Fernandez, et al. (2012), "*Francisella* infections in tilapia: A review", *Journal of Fish Diseases*, **35**(10), pp.679-693, DOI: 10.1111/j.1365-2761.2012.01394.x.
- [20] C.A.G. Leal, G.C. Tavares, H.C.P. Figueiredo (2014), "Outbreaks and genetic diversity of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* isolated from farm-raised Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Brazil", *Genetics and Molecular Research*, **13**(3), pp.5704-5712, DOI: 10.4238/2014.July.25.26.
- [21] C.A.G. Leal, G.C. Tavares, H.C.P. Figueiredo, et al. (2014), "Pathogenesis of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Veterinary Microbiology*, **170**(3-4), pp.456-464, DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.02.046.
- [22] J. Bebak, B. Wagner, B. Burnes, et al. (2015), "Outbreaks of francisellosis in commercial tilapia operations in the USA", *Journal of Aquatic Animal Health*, **27**(4), pp.242-247, DOI: 10.1080/08997659.2015.1082115.
- [23] C.Y. Hsieh, M.C. Tung, C. Tu, et al. (2006), "Enzootics of visceral granulomas associated with *Francisella*-like organism infection in tilapia (*Oreochromis* spp.)", *Aquaculture*, **254**(1-4), pp.129-138, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.03.044.
- [24] S. Duodu, D.J. Colquhoun, S. Mendez, et al. (2021), "*Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* infection in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): A review of current status and future perspectives", *Journal of Fish Diseases*, **44**(6), pp.775-791, DOI: 10.1111/jfd.13310.

Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo mộc đối với *Aeromonas schubertii* gây bệnh đốm trắng nội tạng ở cá lóc (*Channa sp.*)

Lê Văn Hậu^{1*}, Lê Minh Nghĩa², Đặng Đình Khiêm³, Nguyễn Thị Huỳnh Như⁴, Lê Thị Thu Thảo¹, Ngô Huỳnh Phương Thảo¹

¹Phòng Công nghệ Sinh học Thủy sản, Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh, 2374 Đỗ Mười, phường Trung Mỹ Tây, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Sinh học và Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, 227 Nguyễn Văn Cừ, phường Chợ Quán, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Khoa Khoa học Sinh học, Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, phường Linh Trung, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Công ty TNHH Pilmico Việt Nam, xã Bình Thành, tỉnh Đồng Tháp, Việt Nam

Ngày nhận bài 11/8/2025; ngày chuyển phản biện 12/8/2025; ngày nhận phản biện 30/8/2025; ngày chấp nhận đăng 8/9/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng kháng khuẩn của năm loại cao chiết thảo mộc gồm lá bàng (LB), trà không (TK), lá ổi (OI), lá sen (LS) và xuyên tâm liên (XTL) đối với *Aeromonas schubertii* CL238 - tác nhân gây bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc (*Channa sp.*). Phương pháp giếng khuếch tán trên đĩa thạch được sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn, đồng thời xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC). Nghiên cứu cho thấy, cả năm loại cao chiết đều có khả năng ức chế sự phát triển của *A. schubertii* CL238. Trong đó, các cao chiết LB, TK và OI có MIC/MBC là 6,25/12,5 mg/ml; còn LS và XTL có MIC/MBC là 12,5/25 mg/ml. Dựa trên hiệu lực kháng khuẩn, hai cao chiết TK và OI được chọn để đánh giá tính an toàn trên cá lóc giống ở liều 1xMBC và 5xMBC. Kết quả theo dõi trong hai tuần cho thấy, liều 1xMBC không gây chết cá (tỷ lệ sống 100%), trong khi liều 5xMBC ghi nhận tỷ lệ sống lần lượt là 85±5% (TK) và 35±5% (OI). Ngoài ra, liều gây chết 50% (LD₅₀) của vi khuẩn *A. schubertii* CL238 trên cá lóc giống (7 g/con) được xác định là 1,7x10² CFU/ml. Kết quả cho thấy, cao chiết trà không có tiềm năng cao nhất trong phòng ngừa bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc.

Từ khóa: *Aeromonas schubertii*, bệnh đốm trắng nội tạng, cao chiết thảo mộc, *Channa sp.*

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.5, 4.6

Evaluation of the antibacterial activity of selected herbal extracts against *Aeromonas schubertii* causing visceral white spot disease in Snakehead fish (*Channa sp.*)

Văn Hậu Lê^{1*}, Minh Nghĩa Lê², Đình Khiêm Đặng³, Thị Huỳnh Như Nguyễn⁴, Thị Thu Thảo Lê¹, Huỳnh Phương Thảo Ngô¹

¹Department of Aquacultural Biotechnology, Biotechnology Centre of Ho Chi Minh City, 2374 Do Muoi Street, Trung My Tay Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh City, 227 Nguyen Van Cu Street, Cho Quan Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University - Ho Chi Minh City, Linh Trung Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Pilmico Vietnam Co., Ltd., Binh Thanh Commune, Dong Thap Province, Vietnam

Received 11 August 2025; revised 30 August 2025; accepted 8 September 2025

Abstract:

This study aims to evaluate the antibacterial activity of five herbal extracts, *Terminalia catappa* (LB), *Piper betle* (TK), *Psidium guajava* (OI), *Nelumbo nucifera* (LS), and *Andrographis paniculata* (XTL), against *Aeromonas schubertii* CL238, a pathogenic agent responsible for visceral white spot disease in Snakehead fish (*Channa sp.*). The agar well diffusion method was employed to assess antimicrobial activity, as well as determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). All five extracts exhibited inhibitory effects against the growth of *A. schubertii* CL238. Specifically, the LB, TK, and OI extracts demonstrated MIC/MBC values of 6.25/12.5 mg/ml, while LS and XTL presented MIC/MBC values of 12.5/25 mg/ml. Based on their demonstrated antibacterial efficacy, the TK and OI extracts were selected to assess safety on Snakehead fingerling fish at doses of 1xMBC and 5xMBC. After a two week observation period, the 1xMBC dose caused no mortality (100% survival) for both extracts, whereas the 5xMBC dose resulted in survival rates of 85±5% (TK) and 35±5% (OI). Furthermore, the median lethal dose (LD₅₀) of *A. schubertii* CL238 on fingerling Snakehead fish (7 g/fish) was determined to be 1.7x10² CFU/ml. The results indicated that betel leaf extract showed the most favourable preliminary profile among the tested extracts.

Keywords: *Aeromonas schubertii*, *Channa sp.*, herbal extract, visceral white spot disease.

Classification numbers: 1.6, 4.5, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: lvhau.shtp@tphcm.gov.vn

1. Đặt vấn đề

Cá lóc (*Channa sp.*) là đối tượng thủy sản đang được nuôi phổ biến ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long như An Giang, Đồng Tháp, Cần Thơ [1]. Trong những năm qua, để nâng cao năng suất và đầu ra, cá lóc được nuôi theo mô hình thâm canh với mật độ cao [2]. Đây cũng là một trong những nguyên nhân chính khiến dịch bệnh lan rộng, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sản xuất và hiệu quả kinh tế nuôi cá lóc thương phẩm ở khu vực Đồng bằng sông Cửu Long [3]. Trong nuôi trồng thủy sản, nhóm vi khuẩn *Aeromonas spp.* thường tìm thấy trong môi trường nước, chúng gây thiệt hại đáng kể cho đối tượng thủy sản trên toàn thế giới [4, 5]. Trong đó, vi khuẩn *Aeromonas schubertii* được xác định là tác nhân gây bệnh mới nổi trong các mô hình nuôi thủy sản [6, 7]. Vi khuẩn *A. schubertii* được phát hiện lần đầu tiên trên thế giới là gây bệnh ở người [8]. Năm 2010, nguyên nhân gây chết hàng loạt trên cá lóc nuôi tại Trung Quốc được xác định là do *A. schubertii* [9].

Tại Việt Nam, nghiên cứu đầu tiên về bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc được xác định là do vi khuẩn *A. schubertii* gây ra [10]. Đồng thời, *A. schubertii* cũng được ghi nhận gây bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc nuôi thâm canh ở bốn tỉnh Trà Vinh, An Giang, Đồng Tháp và Đồng Nai, bệnh thường xảy ra trên cá lóc giống [1] với tỷ lệ mắc bệnh 45-50%, gây ảnh hưởng đến sự phát triển của cá lóc nuôi và gây thiệt hại nghiêm trọng về kinh tế [1, 11]. Những nghiên cứu gần đây cho thấy, *A. schubertii* phân lập từ cá lóc bị bệnh ở tỉnh Vĩnh Long, An Giang, Cần Thơ có khả năng kháng đồng thời nhiều loại kháng sinh [12-14]. Điều này chứng tỏ rằng, việc phòng và điều trị bệnh đốm trắng nội tạng ở cá lóc sẽ trở nên khó khăn hơn. Ngày nay, giải pháp xử lý sinh học bằng các dược liệu thảo mộc được xem là lựa chọn tối ưu và cần thiết, đem tới những tác động tích cực trong điều trị bệnh, an toàn và hiệu quả đối với cá lóc thương phẩm. Do đó, nghiên cứu về các sản phẩm có nguồn gốc từ thảo mộc thiên nhiên là cần thiết để góp phần xử lý các bệnh trên cá lóc hiện nay, hướng đến mô hình nuôi thương phẩm bền vững, đảm bảo an toàn sinh học và giá trị thương mại của thủy sản.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu cá lóc có biểu hiện bệnh đốm trắng nội tạng được nuôi trên bể xi măng tại xã Bình Thành, tỉnh Đồng Tháp, Việt Nam (10°32'42.0"N 105°31'28.4"E).

Các loại thảo mộc khô có nguồn gốc tại Việt Nam gồm lá bàng, lá trầu không, lá ổi, lá sen và xuyên tâm liên được cung cấp bởi Công ty TNHH Tấn Phát, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam.

Cá lóc giống thử nghiệm có trọng lượng khoảng 7 g/con được mua tại trại giống của Hợp tác xã Tương Lai (xã Tân An Hội, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam), cá được thuần dưỡng trong bể composite hai tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập, định danh chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238

Mẫu gan, thận của cá bệnh được cấy rìa trên môi trường TSA, xuất hiện các khuẩn lạc màu vàng nhạt, tròn đều, hơi lồi ở tâm. Kích thước khoảng 0,5-1,5 mm sau khi ủ 24-48 giờ.

Định danh vi khuẩn phân lập bằng phương pháp giải trình tự gen *16S rRNA* với cặp mồi 27F- 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3', 1492R- 5'-TACGGTTACCTTGTACGACT-3' [15]. Khuẩn lạc đơn của các chủng được tăng sinh trong 5 ml môi trường TSB (Himedia, Ấn Độ), ủ 28°C, lắc 240 vòng/phút, 24 giờ. Dịch tăng sinh qua đêm (1 ml) được dùng để tách DNA bằng bộ kit Thermo Fisher Scientific. Phản ứng PCR được thực hiện với bộ kit DreamTaq PCR Master Mix 2X. Thành phần phản ứng gồm có 1 µl DNA, 0,2 µM mỗi mồi (PhusaBiochem), 1X DreamTaq Green PCR Master Mix trong tổng thể tích 25 µl. Chương trình nhiệt gồm một chu kỳ 94°C trong 5 phút, 30 chu kỳ với 94°C trong 30 giây, 60°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây, và một chu kỳ 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1%. Kết quả điện di được quan sát bằng máy chụp ảnh gel điện di GelDoc-it2. Sản phẩm khuếch đại được tinh sạch bằng bộ kit GeneJET Thermo Fisher Scientific (Mỹ). Khoảng 200-300 ng/µl sản phẩm PCR đã tinh sạch và 1,6 µM mỗi tương ứng được dùng để giải trình tự bằng BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Mỹ). Thành phần phản ứng PCR BigDye gồm 1 µl mẫu DNA, 1,6 µM mỗi, 2 µl BigDye™ Terminator v3.1 và 1X dung dịch đệm trong thể tích 20 µl. Chương trình nhiệt gồm 30 chu kỳ, nhiệt độ bắt cặp 50°C và bổ sung thêm bước kéo dài ở 60°C trong vòng 4 phút. Sản phẩm PCR BigDye sau đó được tinh sạch bằng hỗn hợp NaOAc 3M: EDTA 125 mM: ethanol 99% với tỷ lệ 1:1:25 và ethanol 70%, trước khi được giải

trình tự trên dòng máy Genetic Analyzer 3500 (Hitachi). Mỗi đoạn trình tự được giải hai chiều. Các trình tự được phân tích bằng công cụ Align Sequence trong phần mềm MEGA 6 [16] và công cụ BLAST trên ngân hàng gen NCBI.

2.2.2. Ngâm và thu hồi các cao chiết thảo mộc sử dụng trong nghiên cứu

Ngâm và thu hồi cao chiết thảo mộc: Thảo mộc khô được xay nhuyễn thành bột mịn, ngâm trong dung môi ethanol 70° (w/v: 1/10) trong 72 giờ. Sau đó dịch chiết được lọc chân không qua giấy lọc Whatman có kích thước lỗ 25 µm, tiếp tục ngâm kiệt thảo mộc lần hai với ethanol 70°. Tất cả dịch chiết được cô quay chân không (BUCHI Labortechnik AG) ở nhiệt độ 50°C thu hồi ethanol, sấy khô cao chiết ở 65°C đến khối lượng không đổi, sau đó cao chiết khô sẽ được hòa tan với dung môi DMSO với nồng độ cuối 0,5%. Tính hiệu suất thu hồi cao chiết như sau:

$$\text{Hiệu suất (\%)} = \frac{\text{khối lượng cao chiết khô (g)}}{\text{khối lượng mẫu bột khô (g)}} \times 100 \quad [17]$$

2.2.3. Khảo sát hoạt tính kháng vi khuẩn *A. schubertii* CL238

Khảo sát hoạt tính kháng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 của các cao chiết thảo mộc bằng phương pháp giếng khuếch tán đĩa thạch [18].

Cách tiến hành: Vi khuẩn *A. schubertii* CL238 được nuôi cấy trong môi trường TSB, lắc 250 vòng/phút ở 28°C, thời gian 24 giờ. Ly tâm 4.000 vòng/phút, ở 4°C, trong 15 phút thu cặn; huyền phù cặn với nước muối 0,85% sao cho OD_{600nm}=0,5. Trải 100 µl dịch vi khuẩn *A. schubertii* CL238 trên môi trường MHA được hấp khử trùng và đổ đĩa petri với độ dày 4-5 mm. Sau đó, tiến hành đục lỗ thạch, đường kính mỗi giếng 8 mm. Hút 30 µl cao chiết thảo mộc sàng lọc được pha loãng ở các nồng độ 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100 mg/ml được nhỏ vào giếng. Kháng sinh Doxycycline (100 µg/ml) và dung môi DMSO cho thí nghiệm được làm đối chứng cho thí nghiệm. Tiến hành ủ ở 28°C, trong thời gian 24 giờ, ghi nhận đường kính vòng kháng khuẩn D (mm) xung quanh bề mặt giếng thạch. Chủng vi khuẩn *E. coli* ATCC 25922 được sử dụng song song để đảm bảo chính xác của thí nghiệm. Chủng vi khuẩn được tăng sinh trong môi trường LB lỏng hấp vô trùng ở điều kiện 37°C, 250 vòng/phút, trong 24 giờ. Sau đó tiến hành các bước thí nghiệm tương tự như đối với chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238. Thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần.

2.2.4. Đánh giá nồng độ cao thảo mộc ức chế tối thiểu và nồng độ tiêu diệt tối thiểu đối với chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238

Khi biết được nồng độ bắt đầu xuất hiện vòng kháng khuẩn của cao chiết thảo mộc, bắt đầu khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238. Tính nhạy cảm của vi khuẩn *A. schubertii* CL238 đối với một hợp chất xác định dựa vào nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC). MIC là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ thử nghiệm của một hợp chất có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *A. schubertii* CL238 sau một thời gian ủ xác định. MBC là nồng độ thấp nhất làm giảm 99,9% lượng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 ban đầu. Cao thảo mộc được đánh giá nồng độ MIC nhằm xác định nồng độ cao mà ở đó ức chế được 80% sự tăng trưởng của vi khuẩn *A. schubertii* CL238. Phương pháp pha loãng các cao chiết bậc hai trên đĩa 96 giếng được sử dụng để xác định nồng độ MIC đối với cao tổng của các thảo mộc mà có thể ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn *A. schubertii* CL238 (không làm đổi màu resazurin).

Tiến hành thực hiện khảo sát MIC như sau: hai chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 và *E. coli* được tăng sinh tương tự như ở thí nghiệm kiểm tra khuếch tán đĩa thạch. Môi trường MHB được bơm 100 µl vào các giếng từ cột thứ 2 của đĩa 96 giếng. Thảo mộc được pha loãng như bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ pha loãng của các cao thảo mộc trên đĩa 96 giếng.

Cao chiết	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nồng độ pha loãng thảo mộc ở đĩa 96 giếng (mg/ml)	100	50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,195

Dịch vi khuẩn sau đó được bơm 100 µl vào mỗi giếng, ở các giếng đối chứng sẽ thay thế bằng dung môi DMSO, Doxycycline (1.000 µg/ml). Các đĩa 96 giếng trên được ủ trong điều kiện 24 giờ, ở 28°C. Sau đó 30 µl thuốc thử resazurin 0,01% được cho vào mỗi giếng và quan sát sự đổi màu để đánh giá MIC. Các giếng có sự đổi màu từ xanh sang hồng cho thấy có sự tăng trưởng của vi khuẩn trong giếng.

Giá trị MBC là nồng độ thấp nhất trong dãy nồng độ của các dịch cao chiết có thể tiêu diệt toàn bộ vi khuẩn *A. schubertii* CL238. Từ kết quả của thí nghiệm, xác định MIC mẫu ở các giếng không làm đổi màu thuốc thử resazurin được kiểm tra để xác định MBC của cao thảo mộc bằng phương pháp trải đĩa. 100 µl hỗn hợp từ các giếng kiểm tra MIC không chuyển sang màu hồng được trải lên môi trường thạch có nhiệt độ phù hợp với vi khuẩn được kiểm tra, quan sát sự xuất hiện của vi khuẩn sau thời gian phù hợp để xác định MBC, thí nghiệm được lặp lại ít nhất ba lần.

2.2.5. Đánh giá tính an toàn của cao chiết thảo mộc chọn lọc

Cao chiết TK và OI được hòa tan trong nước muối 0,85% ở hai nồng độ 1xMBC và 5xMBC, trung hòa ở nhiệt độ phòng sau ba giờ trước khi tiêm vào xoang bụng cá [19].

Thí nghiệm gồm: NT đối chứng âm, đối chứng dương và bốn nghiệm thức thảo mộc 1xMBC (12,5 mg/ml) và 5xMBC (62,5 mg/ml) cho hai loại thảo mộc (TK và OI). Mỗi nồng độ được bố trí 10 cá/bể và lặp lại hai lần, phương pháp tiêm vào xoang bụng với 100 µl/cá, đối chứng dương tiêm nước muối 0,85%. Thời gian theo dõi triệu chứng và ghi nhận tỷ lệ cá chết trong hai tuần.

2.2.6. Xác định liều gây chết 50% (LD_{50}) của chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238

Vi khuẩn *A. schubertii* CL238 được tăng sinh trên môi trường TSB, lắc 200 vòng/phút ở 28°C trong 24 giờ. Ly tâm thu sinh khối ở 4.000 vòng/phút, 20 phút, 4°C, rửa vi khuẩn hai lần bằng nước muối 0,85% và điều chỉnh về các nồng độ (10^2 , 10^3 , 10^4 CFU/ml), xác định lại nồng độ vi khuẩn bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch TSA. Tiến hành tiêm xoang bụng với liều 100 µl/cá (10 cá/bể, lặp lại hai lần), nghiệm thức đối chứng được tiêm nước muối 0,85%. Cá được tiếp tục nuôi trong bể nhựa 60 l với hệ thống cấp/xả nước và thổi khí độc lập. Thời gian theo dõi trong hai tuần.

Liều gây chết 50% (LD_{50}) được xác định theo công thức: $LD_{50} = 10^{a-x}$ [20], trong đó: a là số lũy thừa mà tại đó vi khuẩn gây chết thấp nhất (trên 50%), x được tính dựa vào công thức: $x = (Pa - 50) / (Pa - Pu)$ với Pa là tỷ lệ chết cận trên và Pu là tỷ lệ chết cận dưới của liều gây chết 50%.

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các số liệu ghi nhận và xử lý theo các thuật toán xác suất thống kê và vẽ biểu đồ tỷ lệ sống/chết tích lũy của các thí nghiệm bằng phần mềm GraphPad Prism 8.0 với mức ý nghĩa ($p < 0,05$). Cây phát sinh loài, giá trị bootstrap được xử lý bằng phần mềm MEGA 6.

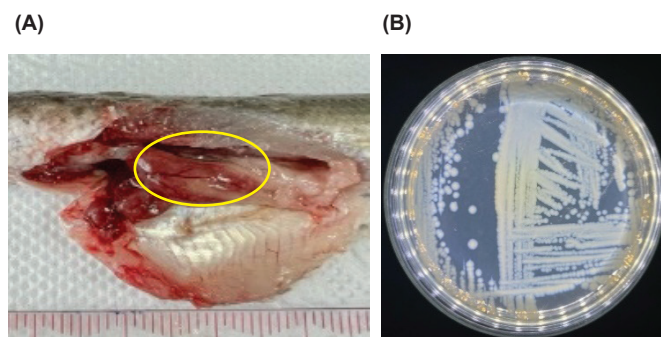
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập và định danh chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238

3.1.1. Phân lập chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238

Gan cá lóc bị bệnh xuất hiện nhiều nốt trắng, đục - đây là biểu hiện tổn thương điển hình ở cơ quan nội tạng

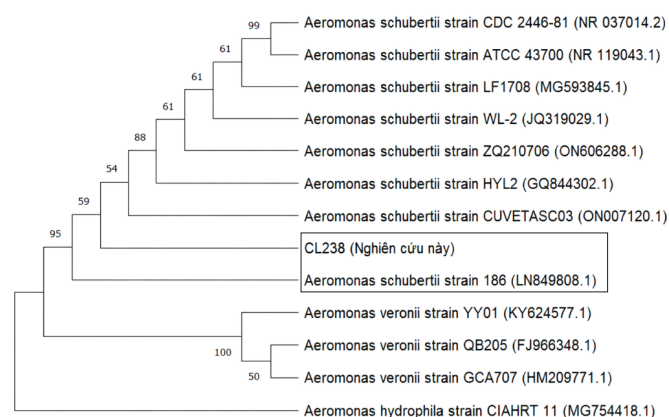
khi cá bị nhiễm khuẩn (hình 1). Các nghiên cứu trước đây đã ghi nhận cá lóc nhiễm *A. schubertii* thường có các biểu hiện bệnh lý đặc trưng như gan sưng to, hoại tử, xuất huyết dưới da, dịch đục trong xoang bụng và tổn thương nghiêm trọng ở gan và thận [1, 9]. Những dấu hiệu này giúp định hướng sớm nguyên nhân gây bệnh là do vi khuẩn thuộc chi *Aeromonas* gây ra.



Hình 1. Giải phẫu bệnh phẩm và phân lập vi khuẩn. (A) Gan cá có nhiều nốt trắng, đục; **(B)** Hình dạng khuẩn lạc CL238 mọc trên môi trường TSA sau 48 giờ cấy ria.

Khuẩn lạc của chủng CL238 mọc trên môi trường TSA sau 48 giờ cho thấy đặc điểm hình thái điển hình: tròn, bờ đều, hơi lồi, màu vàng đục, đường kính 1-1,5 mm, phù hợp với mô tả khuẩn lạc của *A. schubertii* trong các nghiên cứu trước đây [1, 10].

3.1.2. Định danh chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA



Hình 2. Vị trí trong cây quan hệ di truyền của chủng *A. schubertii* CL238 trong nghiên cứu này so với các trình tự tham chiếu trên GenBank. Cây quan hệ di truyền có độ tin cậy tối đa được xây dựng cho vùng gen 16S rRNA bằng cách sử dụng mô hình Kimura 2 tham số và 1.000 bản sao bootstrap. Các giá trị bootstrap trên 50% được hiển thị tại các điểm phân nhánh. Trình tự gen từ nghiên cứu này được xác định là *A. schubertii*.

Cây quan hệ di truyền (hình 2) được xây dựng dựa trên trình tự gen 16S rRNA có kích thước 1281 bp được so sánh với các chủng vi khuẩn thuộc chi *Aeromonas*,

với giá trị bootstrap thể hiện mức độ tin cậy gốc nhánh. Kết quả phân tích cho thấy, chủng CL238 có quan hệ gần gũi với các chủng *Aeromonas schubertii*, cùng nhánh với chủng *A. schubertii* 186 (mã số LN849808.1) với giá trị bootstrap là 95. Các chủng *A. schubertii* (CDC 2446-81, ATCC 43700, LF1708, WL-2, Z20170706, HYL2, CUVETASCO3) tạo thành một nhóm có giá trị bootstrap dao động từ 54 đến 99, cho thấy đây là nhóm đồng nhất về mặt di truyền. Chủng CL238 nằm gần các chủng này củng cố giả thuyết rằng nó thuộc cùng loài với *A. schubertii*. Trong khi đó, các chủng *Aeromonas veronii* (YY01, QB205, GCA707) tạo thành một nhóm riêng biệt với giá trị bootstrap cao (giá trị 100), cho thấy sự phân tách rõ ràng về mặt di truyền giữa *A. veronii* và *A. schubertii*. Chủng *A. hydrophila* CIAHRT 11 nằm ở nhánh ngoài.

3.2. Kết quả đối kháng của năm loại cao chiết thảo mộc

3.2.1. Kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn *A. schubertii* CL238 bằng phương pháp giếng khuếch tán

Kết quả thu nhận hiệu suất cao chiết thảo mộc được ghi nhận tại bảng 2.

Kết quả thu hồi cao chiết từ năm loại thảo mộc cho thấy, hiệu suất thu hồi dao động từ 12,00 đến 18,84%, phản ánh sự khác biệt đáng kể về hàm lượng chất chiết xuất trong từng loại nguyên liệu. Cao chiết LS trong nghiên cứu này có hiệu suất thu hồi cao nhất với 18,84%,

Bảng 2. Hiệu suất thu hồi của năm loại cao chiết thảo mộc.

STT	Cao chiết thảo mộc	Khối lượng cao lần 1 (g)	Khối lượng cao lần 2 (g)	Hiệu suất thu hồi (%)
1	LB	4,17	0,91	16,68
2	TK	3,78	1,99	15,16
3	OI	3,65	1,41	14,16
4	LS	4,71	1,12	18,84
5	XTL	3,00	0,85	12,00

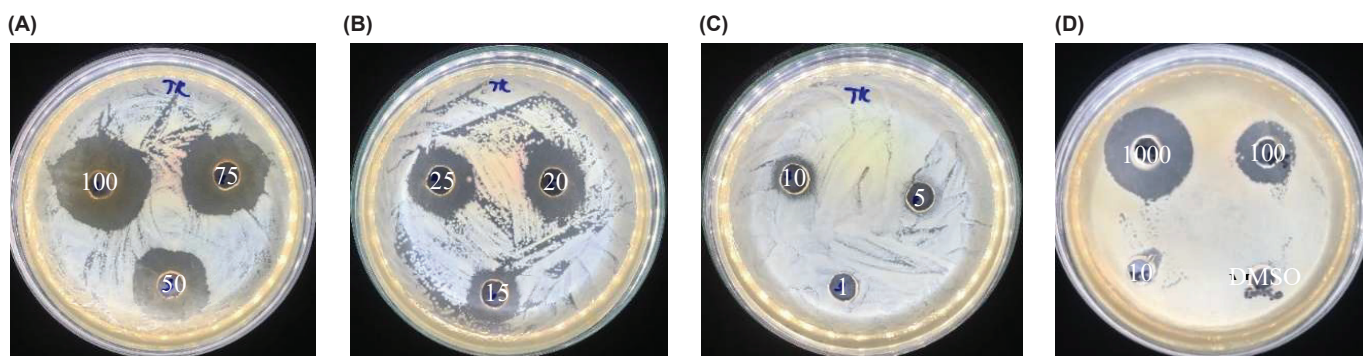
cho thấy nguyên liệu giàu các hợp chất có thể hòa tan trong dung môi ethanol 70%, trong khi kết quả nghiên cứu của K.S. Lee và cs (2006) [21] với hiệu suất thu hồi cao chiết trong ethanol 70% đạt 8,16%. Sự khác biệt này có thể phụ thuộc vào nguồn gốc, thời gian thu hoạch thảo mộc. XTL cho hiệu suất thu hồi thấp nhất 12,00%, có thể do hàm lượng tinh dầu và diterpenoid trong cây thường tồn tại ở nồng độ thấp và yêu cầu dung môi hoặc điều kiện chiết xuất đặc biệt hơn để đạt hiệu quả cao. Ngoài ra, các cao chiết LB, TK và OI chứa các hợp chất tanin, phenolic và saponin cho hiệu suất thu hồi trung bình từ 14 đến 16%. Sự khác biệt về hiệu suất thu hồi giữa các nguyên liệu phản ánh sự đa dạng trong thành phần hóa học của các hợp chất cũng như mức độ tương tác với các dung môi chiết khác nhau.

Kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn bằng phương pháp giếng khuếch tán đĩa thạch của năm loại cao chiết thảo mộc với chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 được ghi nhận tại bảng 3 và hình 3.

Bảng 3. Kết quả đường kính vòng vô khuẩn của các cao chiết thảo mộc ở các nồng độ khác nhau [22].

Nồng độ (mg/ml)	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)				
	LB	TK	OI	LS	XTL
100	21,50 ^{ab} ±1,80	30,50 ^a ±4,33	25,67 ^{ab} ±3,79	27,33 ^{ab} ±0,76	22,67 ^b ±3,51
75	20,17 ^a ±2,57	28,00 ^a ±4,58	22,00 ^a ±4,00	23,00 ^a ±3,00	21,50 ^a ±3,77
50	18,67 ^a ±3,33	25,67 ^a ±6,05	20,00 ^a ±3,46	19,67 ^a ±2,08	20,50 ^a ±3,91
25	16,17 ^a ±3,33	23,00 ^a ±6,08	18,00 ^a ±1,80	17,67 ^a ±0,57	18,00 ^a ±2,65
20	15,33 ^a ±2,31	21,83 ^a ±5,39	16,00 ^a ±3,46	14,33 ^a ±0,57	17,00 ^a ±1,50
15	14,00 ^{ab} ±2,00	20,17 ^a ±4,19	14,17 ^{ab} ±3,33	7,67 ^{ab} ±6,66	12,67 ^b ±2,52
10	11,67 ^a ±0,57	16,00 ^a ±4,00	12,50 ^a ±2,60	0 ^b	4,00 ^{ab} ±6,93
5	9,00 ^{ab} ±8,54	13,33 ^a ±3,06	11,50 ^a ±1,00	0 ^b	0 ^b
1	4,33 ^a ±7,51	3,67 ^a ±6,35	0 ^b	0 ^b	0 ^b

Các ký tự trong cùng một hàng khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

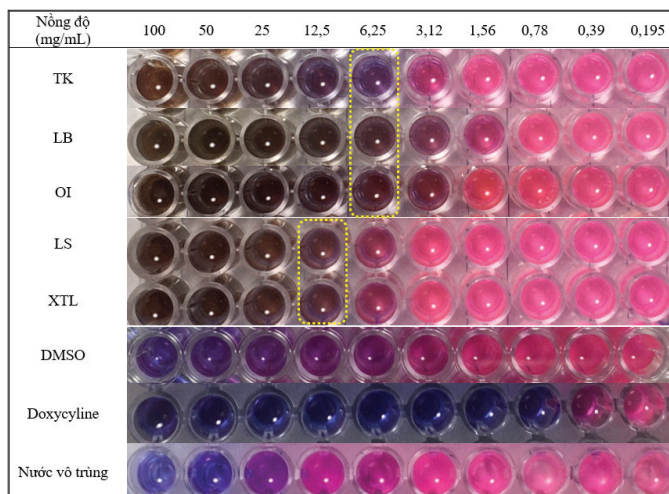


Hình 3. Hoạt tính kháng khuẩn của cao chiết thảo mộc đối với vi khuẩn *A. schubertii* CL238. (A) Nồng độ 100, 75, 50 mg/ml; (B) Nồng độ 25, 20, 15 mg/ml; (C) Nồng độ 10, 5, 1 mg/ml; (D) Đối chứng: Doxycycline (1.000, 100, 10 µg/ml) và DMSO.

Thành phần cao chiết thảo mộc thường chứa các loại chất chống oxy hóa mạnh như flavonoid, tannin, saponin, steroid [23]. Trong đó, đặc biệt nhóm flavonoids (morin, morin-3-Olyxoside, morin-3-O-arabinoside, quercetin, quercetin-3-O-arabinoside) có khả năng kháng lại một số vi khuẩn gây bệnh phổ biến trên cá nước ngọt như: *A. hydrophila*, *F. columnare*, *S. agalactiae*... [24]. Các hợp chất trên có tác động trong việc kháng khuẩn thông qua việc phá vỡ thành tế bào, ngăn chặn sự tổng hợp protein và DNA, ức chế tiết enzyme của vi khuẩn [25].

3.2.2. Kết quả đánh giá nồng độ ức chế tối thiểu và nồng độ tiêu diệt tối thiểu (MBC)

Giá trị MIC của năm loại cao chiết đối với vi khuẩn *A. schubertii* CL238 được mô tả trong hình 4, phản ánh kết quả đánh giá *in vitro* về khả năng kháng khuẩn của các mẫu thử cao chiết ở các nồng độ pha loãng khác nhau.



Hình 4. Đánh giá *in vitro* khả năng kháng khuẩn của năm loại cao chiết với vi khuẩn *A. schubertii* CL238.

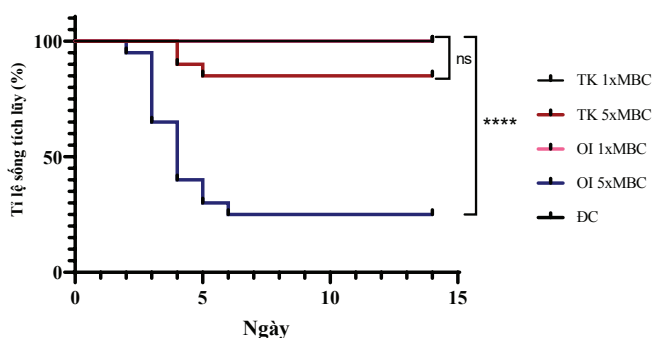
Bảng 4. Kết quả nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của năm loại cao chiết thảo mộc.

Thảo mộc	MIC	MBC	MBC/MIC
TK	6,25 mg/ml	12,5 mg/ml	2
LB	6,25 mg/ml	12,5 mg/ml	2
OI	6,25 mg/ml	12,5 mg/ml	2
LS	12,5 mg/ml	25 mg/ml	2
XTL	12,5 mg/ml	25 mg/ml	2
Doxycycline	15,62 µg/ml	31,25 µg/ml	
Nước vô trùng	x	x	
DMSO	0,25 ml	0,5 ml	

Khi giá trị $MBC/MIC \leq 4$, dịch chiết thảo mộc được xem là có khả năng diệt khuẩn, trong khi giá trị $MBC/MIC > 4$ chỉ cho thấy, tác dụng kìm khuẩn [26]. Dựa trên tiêu chí này, kết quả nghiên cứu cho thấy cả năm cao chiết đều có giá trị $MBC/MIC = 2$, chứng tỏ tất cả các loại cao chiết đều có khả năng diệt vi khuẩn *A. schubertii* CL238. Đáng chú ý, các cao chiết LB, OI và TK có giá trị MIC/MBC là 6,25/12,5 mg/ml, thấp hơn so với LS và XTL với MIC/MBC là 12,5/25 mg/ml, minh chứng hiệu lực diệt khuẩn của LB, OI và TK mạnh hơn so với hai cao chiết còn lại.

3.2.3. Đánh giá tính an toàn của cao chiết thảo mộc TK và OI trên cá lóc giống

Dựa trên kết quả đánh giá khả năng kháng khuẩn thông qua phương pháp giếng khuếch tán và giá trị MIC/MBC, hai cao chiết TK và OI đã được lựa chọn để tiếp tục đánh giá tính an toàn trên cá lóc giống, không chọn LB vì tính đối kháng *in vitro* không ổn định như TK và OI. Kết quả về tỷ lệ sống tích lũy (%) sau khi xử lý được trình bày ở hình 5.

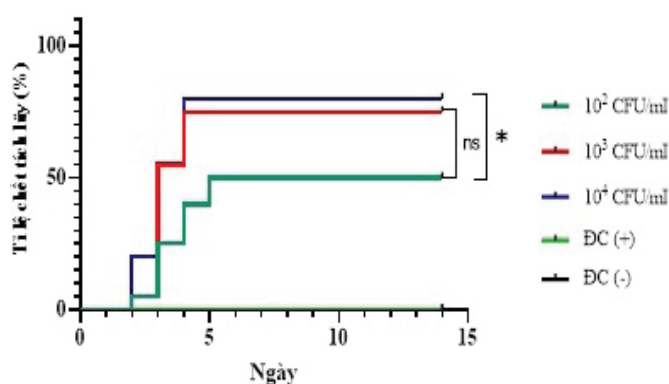


Hình 5. Tỷ lệ sống tích lũy (%) của cá lóc giống sau tiêm ổ bụng với thảo mộc TK và OI ở hai nồng độ 1xMBC và 5xMBC.

Qua kết quả đánh giá tính an toàn cho thấy, hai loại cao chiết thảo mộc TK và OI an toàn 100% ở nồng độ 1xMBC (12,5 mg/ml), đối với nồng độ 5xMBC (62,5 mg/ml) ở cao chiết TK có tỷ lệ sống $85 \pm 5\%$ và ở cao chiết OI có tỷ lệ sống $35 \pm 5\%$. Tại nghiệm thức OI 5xMBC, tỷ lệ cá chết cao từ ngày thứ 2 và giảm dần đến ngày thứ 6 và sau đó ngưng chết, điều này cho thấy cao chiết OI biểu hiện độc tính cao ở nồng độ 5xMBC. Do đó, cao chiết TK được xác định có tiềm năng ứng dụng phòng bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc giống.

3.3. Xác định nồng độ gây chết 50% (LD_{50}) chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 trên cá lóc giống

Sau thời gian theo dõi hai tuần, thí nghiệm được ghi nhận và đánh giá tỷ lệ chết tích lũy (%) tại hình 6.



Hình 6. Tỷ lệ chết tích lũy (%) của cá lóc giống sau cảm nhiễm với *A. schubertii* CL238 ở các nồng độ khác nhau bằng phương pháp tiêm ổ bụng.

Dựa trên kết quả tỷ lệ chết tích lũy được trình bày tại hình 6, nồng độ gây chết 50% (LD_{50}) của chủng vi khuẩn *A. schubertii* CL238 trên cá lóc giống được xác định là $1,7 \times 10^2$ CFU/ml. So sánh với các nghiên cứu trước cho thấy LD_{50} trong nghiên cứu này thấp hơn đáng kể. Cụ thể, Y.F. Chen và cs (2012) [9] xác định LD_{50} của chủng *A. schubertii* trên cá lóc *Channa maculata* dao động trong

khoảng $1,4 \times 10^4$ - $6,4 \times 10^6$ CFU/ml. Tương tự, T.T. Dung và cs (2019) [1] ghi nhận LD_{50} của hai chủng vi khuẩn *A. schubertii* SCL30 và STC56 trên cá lóc giống lần lượt là $6,59 \times 10^3$ CFU/ml và $8,12 \times 10^3$ CFU/ml. Ngoài ra, xác định LD_{50} của chủng *A. schubertii* HNL.6.1T là $3,32 \times 10^4$ CFU/ml [10]. Giá trị LD_{50} trong nghiên cứu hiện tại thấp hơn có thể được lý giải bởi hai yếu tố chính. Thứ nhất, cá lóc giống sử dụng trong thí nghiệm có kích cỡ nhỏ hơn (7 g/con) so với các nghiên cứu trước đó (9-20 g/con), khiến chúng dễ mắc cảm hơn với vi khuẩn. Thứ hai, độc lực của vi khuẩn *A. schubertii* có xu hướng gia tăng theo thời gian, có thể do sự xuất hiện ngày càng nhiều chủng kháng kháng sinh. Các chủng *A. schubertii* gần đây đã kháng 8/11 loại kháng sinh được khảo sát, với 100% chủng thể hiện khả năng kháng ít nhất hai loại kháng sinh trở lên, cho thấy nguy cơ lan truyền gen kháng sinh ngày càng gia tăng [14].

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chủng vi khuẩn gây bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc (*Channa* sp.) đã được phân lập và định danh thông qua giải trình tự gen *16S rRNA* là *A. schubertii*.

Năm loại cao chiết thực vật gồm LB, TK, OI, LS và XTL được đánh giá khả năng kháng khuẩn thông qua phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch và xác định giá trị MIC/MBC. Trong đó, trà không được xác định lại loại cao chiết có tác dụng kháng khuẩn tốt, ổn định và an toàn cho vật chủ nhất. Nồng độ gây chết 50% (LD_{50}) của chủng *A. schubertii* CL238 trên cá lóc giống được xác định là $1,7 \times 10^2$ CFU/ml.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] T.T. Dung, N.B. Trung, L.M. Khoi (2019), "Isolation, identification and characterization of *Aeromonas schubertii* causing internal white spot on snakehead fish (*Channa striata*) in the Mekong Delta of Vietnam", *Can Tho University Journal of Science*, 55(2), pp.69-78, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2019.049 (in Vietnamese).

[2] L.X. Sinh, R. Pomeroy (2010), "Current situation and challenges for farming of snakehead fish (*Channa micropeltes* and *Channa striatus*) in the Mekong Delta, Vietnam", *Aquaculture Asia Magazine*, 15(4), pp.11-17.

[3] P.M. Duc, T.N. Tuan, T.T.T. Hien (2012), "An investigation on pathogen infection to cultured snakehead (*Channa striata*) in An Giang and Dong Thap provinces", *Can Tho University Journal of Science*, 21(b), pp.124-132 (in Vietnamese).

- [4] L. Li, R. Yao, R.H. Olsen, et al. (2022), "Antibiotic resistance and polymyxin B resistance mechanism of *Aeromonas* spp. isolated from yellow catfish, hybrid snakeheads and associated water from intensive fish farms in Southern China", *LWT*, **166**, DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113802.
- [5] M. Xue, Z. Xiao, Y. Li, et al. (2022), "Isolation, identification and characteristics of *Aeromonas caviae* from diseased largemouth bass (*Micropterus salmoides*)", *Fishes*, **7(3)**, DOI: 10.3390/fishes7030119.
- [6] H. Cao, A. Jian, S. He, et al. (2015), "*Aeromonas schubertii*: A potential pathogen for freshwater cultured whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*", *Isr. J. Aquac.*, **67(1104)**, pp.1-6, DOI: 10.46989/001c.20732.
- [7] C. Liu, J. Ma, D. Zhang, et al. (2021), "Immune response and apoptosis-related pathways induced by *Aeromonas schubertii* infection of hybrid snakehead (*Channa maculata*♀×*Channa argus*♂)", *Pathogens*, **10(8)**, DOI: 10.3390/pathogens10080997.
- [8] F.W. Hickman-Brenner, G.R. Fanning, M.J. Arduino, et al. (1988), "*Aeromonas schubertii*, a new mannitol-negative species found in human clinical specimens", *J. Clin. Microbiol.*, **26(8)**, pp.1561-1564, DOI: 10.1128/jcm.26.8.1561-1564.1988.
- [9] Y.F. Chen, R.S. Liang, X.L. Zhuo, et al. (2012), "Isolation and characterization of *Aeromonas schubertii* from diseased snakehead, *Channa maculata* (Lacepède)", *J. Fish Dis.*, **35(6)**, pp.421-430, DOI: 10.1111/j.1365-2761.2012.01362.x.
- [10] D.T.H. Oanh, N.T. Nghia (2016), "Determination of causative agent of bacillary necrosis disease in snake-head fish (*Channa striata*) cultured in the Mekong Delta", *Journal of Agriculture and Rural Development*, **1**, pp.82-89 (in Vietnamese).
- [11] J.Y. Liu, A.H. Li (2012), "First case of *Aeromonas schubertii* infection in the freshwater cultured snakehead fish, *Ophiocephalus argus* (Cantor), in China", *J. Fish Dis.*, **35(5)**, pp.335-342, DOI: 10.1111/j.1365-2761.2012.01350.x.
- [12] D.T.M. Chau, L.H. Mai, T.T. Dung (2018), "Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogen causing internal white spot disease in snakehead fish (*Channa striata*) in Tra Vinh", *Can Tho University Journal of Science*, **54(Aqua)**, pp.108-115, DOI: 10.22144/ctu.jsi.2018.043 (in Vietnamese).
- [13] P.T.H. Ha, D.H. Kim, Q.V.C Thi, et al. (2023), "Prevalence and antibiotic resistance of *Aeromonas schubertii* causing internal white spot disease on snakehead fish, *Channa striata*, in the Mekong Delta, Vietnam", *J. World Aquac. Soc.*, **54(5)**, pp.1260-1276, DOI: 10.1111/jwas.12954.
- [14] Q.V.C. Thi, N.B. Trung, T.T. Dung, et al. (2024), "The antibiotic susceptibility of *Aeromonas schubertii* isolated from snakehead in An Giang province of the Mekong Delta", *Veterinary Integrative Sciences*, **22(2)**, pp.609-629, DOI: 10.12982/VIS.2024.042.
- [15] H. Heuer, M. Krsek, P. Baker, et al. (1997), "Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients", *Appl. Environ. Microbiol.*, **63(8)**, pp.3233-3241, DOI: 10.1128/aem.63.8.3233-3241.1997.
- [16] K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, et al. (2013), "MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0", *Mol. Biol. Evol.*, **30(12)**, pp.2725-2729, DOI: 10.1093/molbev/mst197.
- [17] H. Turker, A.B. Yildirim, F.P. Karakaş (2009), "Sensitivity of bacteria isolated from fish to some medicinal plants", *Turk. J. Fish Aquat. Sci.*, **9(2)**, pp.181-186, DOI: 10.4194/trjfas.2009.0209.
- [18] M. Balouiri, M. Sadiki, S.K. Ibnsouda (2016), "Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review", *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **6(2)**, pp.71-79, DOI: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- [19] G. Balasubramanian, M. Sarathi, C. Venkatesan, et al. (2008), "Studies on the immunomodulatory effect of extract of *Cyanodon dactylon* in shrimp, *Penaeus monodon*, and its efficacy to protect the shrimp from white spot syndrome virus (WSSV)", *Fish Shellfish Immunol.*, **25(6)**, pp.820-828, DOI: 10.1016/j.fsi.2008.09.002.
- [20] L.J. Reed, H. Muench (1938), "A simple method of estimating fifty percent endpoints", *The American Journal of Hygiene*, **27(3)**, pp.493-497, DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.
- [21] K.S. Lee, M.G. Kim, K.Y. Lee (2006), "Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf", *Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition*, **35(2)**, pp.182-186, DOI: 10.3746/jkfn.2006.35.2.182.
- [22] Clinical and Laboratory Standards Institute (2015), *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* (3rd Ed.), CLSI guideline M45, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 120pp.
- [23] G. Prasad, G.L. Priyanka (2011), "Effect of fruit rind extract of garcinia gummi-gutta on haematology and plasma biochemistry of catfish *Pangasianodon hypophthalmus*", *Asian Journal of Biochemistry*, **6(3)**, pp.240-251, DOI: 10.3923/ajb.2011.240.251.
- [24] P. Rattanachaikunsopon, P. Phumkhachorn (2007), "Bacteriostatic effect of flavonoids isolated from leaves of *Psidium guajava* on fish pathogens", *Fitoterapia*, **78(6)**, pp.434-436, DOI: 10.1016/j.fitote.2007.03.015.
- [25] N.T.T. Linh, H.M. Huyen (2024), "Effectiveness of preventing infectious disease bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* of herbal extracts", *TNU Journal of Science and Technology*, **229(05)**, pp.451-458, DOI: 10.34238/tnu-jst.9563.
- [26] N. Canillac, A. Mourey (2001), "Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on listeria, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria", *Food Microbiol.*, **18(3)**, pp.261-268, DOI: 10.1006/fmic.2000.0397.

Nghiên cứu vi cấu trúc và một số tính chất của composite Ti-1vol.%MWCNT chế tạo bằng thiêu kết plasma xung điện

Đoàn Đình Phương*, Nguyễn Bình An, Trần Văn Hậu, Phạm Văn Trình

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

Ngày nhận bài 7/6/2025; ngày chuyển phản biện 9/6/2025; ngày nhận phản biện 30/6/2025; ngày chấp nhận đăng 5/7/2025

Tóm tắt:

Vật liệu composite nền titan (TMC) gia cường bằng vật liệu ống nano cacbon đa tường (MWCNTs) hàm lượng 1 vol.% được chế tạo sử dụng kỹ thuật thiêu kết plasma xung điện. Ảnh hưởng của MWCNTs đến cấu trúc, tỷ trọng, độ cứng, hệ số ma sát của composite đã được nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ cứng của vật liệu composite tăng lên đến 350 HV, lớn hơn 36% so với mẫu titan (Ti) nguyên chất (256 HV). Bên cạnh đó, composite Ti-MWCNT thể hiện khả năng chống mài mòn cao hơn trong điều kiện thử nghiệm so với mẫu Ti. Hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của composite giảm xuống lần lượt là 18 và 31% so với mẫu Ti. Kết quả thu được chứng tỏ hiệu quả gia cường đáng kể của MWCNT đối với cơ tính và tính chất mài mòn của vật liệu composite nền Ti. Kết quả nghiên cứu mở ra những hướng ứng dụng mới của composite nền Ti trong các lĩnh vực công nghiệp hiện đại như: chế tạo máy, hàng không, vũ trụ và cấy ghép y sinh.

Từ khóa: composite nền titan, độ bền mài mòn, độ cứng, ống nano cacbon, thiêu kết plasma xung điện.

Chỉ số phân loại: 2.3, 2.5, 2.9

Investigation of microstructure and selected properties of Ti-1vol.%MWCNT composites fabricated by spark plasma sintering

Dinh Phuong Doan*, Binh An Nguyen, Van Hau Tran, Van Trinh Pham

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

Received 7 June 2025; revised 30 June 2025; accepted 5 July 2025

Abstract:

Titanium matrix composites (TMCs) reinforced with 1 vol.% multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) were successfully fabricated using spark plasma sintering (SPS). The effects of MWCNTs on the microstructure, density, hardness, and friction coefficient of the composites were investigated. The results revealed that the hardness of the composite increased to 350 HV, which was approximately 36% higher than that of pure titanium (Ti) sample (256 HV). Furthermore, the Ti-MWCNT composite showed improved wear resistance under the tested conditions compared with pure Ti. The friction coefficient and wear rate of the composite decreased by 18 and 31%, respectively, compared with pure Ti. These results demonstrate the significant reinforcing effect of MWCNTs on the mechanical and wear properties of Ti matrix composites. The findings open new opportunities for the application of Ti composites in modern industries, including mechanical engineering, aerospace, and biomedical implants.

Keywords: hardness, multi-walled carbon nanotubes, spark plasma sintering, titanium composites, wear resistance.

Classification numbers: 2.3, 2.5, 2.9

*Tác giả liên hệ: Email: phuongdd@ims.vast.ac.vn

1. Đặt vấn đề

Kim loại Ti đã thu hút sự quan tâm đáng kể từ nghiên cứu cơ bản đến các ứng dụng tiên tiến khác nhau trong những năm gần đây. Điều này là do các đặc tính nổi trội của chúng như độ bền cơ học cao, trọng lượng nhẹ và khả năng chống ăn mòn tốt. Ti được ứng dụng trong nhiều ngành công nghiệp khác nhau như: hàng không vũ trụ, ô tô, điện, y tế... [1-5]. Trong đó, ngành công nghiệp hàng không vũ trụ đang thống trị phân khúc ứng dụng của Ti. Các ứng dụng chính của Ti trong ngành hàng không vũ trụ là ở những nơi cần độ bền cao, khả năng chống ăn mòn tốt và khả năng chịu được nhiệt độ cao vừa phải mà không bị chảy dẻo. Nhờ sở hữu tỷ số độ bền trên khối lượng cao, Ti được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất khung thân và các bộ phận động cơ máy bay, góp phần giảm trọng lượng phương tiện và nâng cao hiệu quả sử dụng nhiên liệu [3]. Ngoài ra, lĩnh vực y tế và chăm sóc sức khỏe cũng là một trong những thị trường quan trọng của hợp kim Ti, hiện đứng thứ hai về mức độ tiêu thụ và có tốc độ tăng trưởng đáng kể [2, 4]. Cho đến nay, Ti và hợp kim Ti là vật liệu được dùng nhiều nhất trong lĩnh vực y sinh. Tuy nhiên, để Ti và hợp kim của nó có thể cạnh tranh với các hợp kim gốc niken (Ni) và thép độ bền cao được sử dụng trong các ứng dụng quan trọng khác, bắt buộc phải cải thiện các tính chất như độ bền, độ dẻo dai và độ cứng bằng cách phát triển vật liệu composite nền Ti. TMC là những lựa chọn thay thế tiềm năng trong nỗ lực tăng độ cứng và độ bền của Ti và hợp kim của nó [1, 6-10]. Trong hệ thống TMC, composite được gia cường bằng sợi và hạt nano đang nhận được sự quan tâm lớn [10].

Trong những năm qua, ống nano cacbon đã nổi lên như một vật liệu gia cường thiết yếu và mới cho các vật liệu composite nền gốm, polyme và kim loại [11-13]. Điều này là do tính chất cơ học vượt trội của chúng, hệ số giãn nở nhiệt thấp và hệ số ma sát thấp. Ống nano cacbon đã được sử dụng rộng rãi để tăng cường tính chất của các kim loại khác nhau và hợp kim của chúng, chẳng hạn như nhôm, đồng, magie và Ti [14-17]. Những vật liệu gia cường nano khác thường có tác động tiêu cực đến độ dẻo và độ dẫn dài của vật liệu composite nền kim loại vì chúng dễ gây ra các khuyết tật (vết nứt) trong quá trình thử nghiệm cơ học. Do hình thái cấu trúc nano và tỷ lệ giữa chiều dài và đường kính lớn, CNT có lợi thế lớn so với các vật liệu gia cường có kích thước dưới micron khác. Nhu cầu không ngừng nâng cao các tính chất của Ti và hợp kim của nó đã mở đường cho việc sử dụng CNT

làm vật liệu gia cường, để phát triển TMC [15, 17]. Trong số các phương pháp chế tạo vật liệu TMC, luyện kim bột được đánh giá là có nhiều ưu thế nhờ khả năng sử dụng các loại bột với kích thước, hình thái, cấu trúc và thành phần hóa học đa dạng. Điều này tạo điều kiện thuận lợi cho việc kiểm soát vi cấu trúc và tối ưu hóa các tính chất cơ học của vật liệu. Các nghiên cứu gần đây cho thấy, phương pháp này đặc biệt thích hợp để chế tạo vật liệu Ti-CNT, trong đó ống nano cacbon được phân tán tương đối đồng đều trong nền titan, góp phần cải thiện đáng kể hiệu suất của vật liệu composite [18-21]. Điều này là do tính linh hoạt và khả năng đạt được sự phân tán đồng đều của ống nano cacbon trong nền Ti vì nó đòi hỏi nhiệt độ xử lý thấp hơn và điều chỉnh phản ứng bề mặt giữa các thành phần của hỗn hợp. Ngoài ra, nó thúc đẩy việc đạt được các đặc tính vượt trội thông qua việc áp dụng các bước khác nhau của quá trình chế tạo hỗn hợp bột, các quá trình ép và thiêu kết.

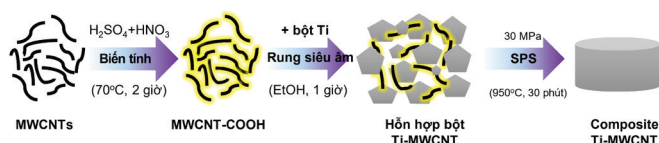
Những năm qua, tiến bộ công nghệ trong lĩnh vực luyện kim bột đã cho phép khám phá nhiều phương pháp khác nhau để nén và thiêu kết bột gốc Ti cho các ứng dụng kỹ thuật đa dạng. Các phương pháp chế tạo này bao gồm cả thiêu kết truyền thống không áp lực, các kỹ thuật hỗ trợ áp lực như ép nóng, ép đẳng tĩnh nóng hay thiêu kết plasma xung điện. Chúng được ứng dụng rộng rãi trong chế tạo kim loại titan, hợp kim titan và các vật liệu composite nền titan, nhờ khả năng nâng cao độ đặc chắc và cải thiện các tính chất của vật liệu [15, 18, 21-23]. Trong đó, thiêu kết plasma xung điện là một kỹ thuật kết khối vật liệu tiên tiến với những ưu điểm vượt trội như thời gian thiêu kết ngắn, nhiệt độ thiêu kết thấp, mật độ sít chặt vật liệu cao. Đây chính là cơ sở để chế tạo được vật liệu có các tính chất cơ, nhiệt, điện vượt trội.

Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu chế tạo vật liệu TMC gia cường bằng MWCNTs. Vật liệu composite với hàm lượng 1vol.%MWCNTs được kết khối bằng kỹ thuật thiêu kết plasma xung điện. Sự ảnh hưởng của MWCNTs đến cấu trúc, hình thái và một số tính chất cơ học như độ cứng, độ bền mài mòn đã được nghiên cứu và trình bày trong nghiên cứu này.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

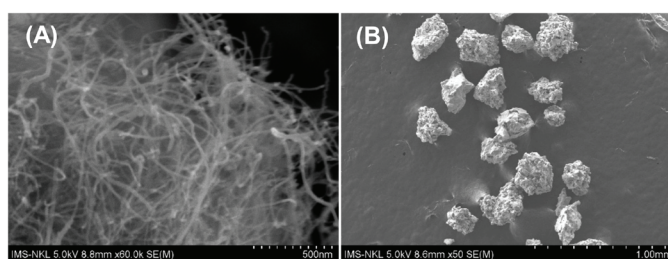
2.1. Chế tạo vật liệu

Quy trình chế tạo TMC gia cường bằng vật liệu MWCNTs với hàm lượng 1vol.% được trình bày như hình 1.

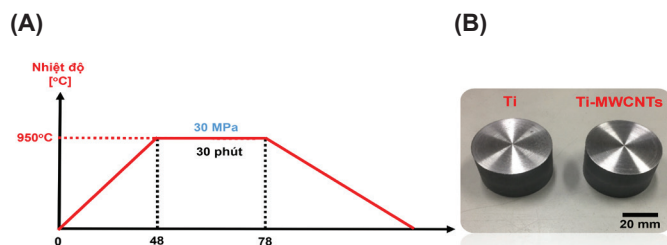


Hình 1. Quy trình chế tạo composite Ti-1vol.%MWCNT bằng kỹ thuật thiêu kết plasma xung điện.

Vật liệu MWCNTs được chế tạo bằng phương pháp lắng đọng pha hơi hóa học có độ sạch 95%, đường kính trung bình 20 nm được sử dụng làm vật liệu gia cường (hình 2A). MWCNTs được chức năng hóa bề mặt bằng hỗn hợp axit $\text{HNO}_3\text{:H}_2\text{SO}_4$ (1:3) ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ để thu được vật liệu MWCNT-COOH [24]. Bột Ti thương mại với độ sạch là 99,9% cung cấp bởi công ty Samhwa (Hàn Quốc) có dạng xốp Ti (hình 2B). Bột Ti được nghiền bằng phương pháp nghiền bi năng lượng cao (HEB) với tốc độ 300 vòng/phút trong thời gian 12 giờ ở môi trường hexan để làm giảm kích thước hạt. Sau đó, vật liệu MWCNT-COOH và bột Ti được trộn với nhau bằng kỹ thuật rung siêu âm trong môi trường cồn. Hỗn hợp thu được sau quá trình rung siêu âm được lọc chân không và sấy khô để thu hỗn hợp bột Ti-MWCNT. Cuối cùng, hỗn hợp bột được kết khối bằng thiết bị SPS Dr Sinter 1030S, với chu trình nhiệt độ được trình bày như trên hình 3A. Hỗn hợp bột Ti-MWCNT được kết khối ở nhiệt độ 950°C trong thời gian 30 phút, dưới áp lực 30 MPa trong môi trường chân không để thu được vật liệu composite Ti-MWCNT (hình 3B). Để so sánh sự ảnh hưởng của vật liệu gia cường MWCNT đến tính chất của composite, mẫu Ti nguyên chất cũng được chế tạo ở cùng điều kiện để đánh giá và đối chiếu.



Hình 2. Ảnh hiển vi điện tử quét (SEM) của (A) MWCNTs và (B) Bột Ti ban đầu.



Hình 3. (A) Quy trình thiêu kết vật liệu và (B) mẫu thu được sau khi chế tạo.

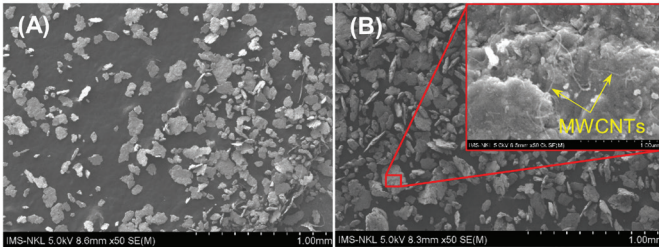
2.2. Phương pháp nghiên cứu

SEM (Hitachi S4800) được sử dụng để nghiên cứu hình thái học bề mặt của vật liệu. Phổ tán xạ năng lượng tia X (EDS) (Hitachi S4800) và máy phân tích nhiễu xạ tán xạ ngược điện tử (EBSD) (SC200) đã được sử dụng để nghiên cứu các thành phần của vật liệu. Cấu trúc tinh thể và thành phần pha của vật liệu sau thiêu kết được đo trên thiết bị Bruker D8 Advance, sử dụng nguồn phát Cu K α trong khoảng $2\theta=20\text{--}80^\circ$ với bước nhảy $0,01^\circ$. Khối lượng riêng thực nghiệm của vật liệu được đo theo nguyên lý Archimedes trên thiết bị (AND GR-202, Nhật Bản). Khối lượng riêng tương đối được xác định bằng tỷ lệ giữa khối lượng riêng thực nghiệm và khối lượng riêng lý thuyết của vật liệu. Thiết bị đo độ cứng Vickers AVK-CO (Mitutoyo, Nhật Bản) được sử dụng để khảo sát độ cứng của vật liệu. Hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của vật liệu sau khi kết khối được đo trên thiết bị TRB³ (Anton Paar, Thụy Sĩ) sử dụng bi thép không gỉ với đường kính 6 mm, tải trọng 5 N, tốc độ quay là 5 cm/s và quãng đường dịch chuyển là 30 m.

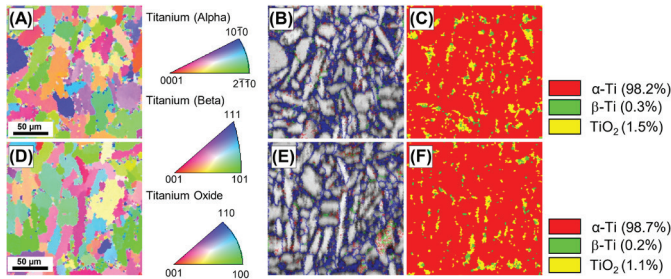
3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả nghiên cứu cấu trúc

Hình 4A là ảnh SEM của mẫu bột Ti sau khi nghiền. Quan sát trên hình, ta có thể thấy rằng, các hạt Ti đã bị nghiền và hình thành các hạt Ti dạng tấm với kích thước trong khoảng 50-200 μm , độ dày trung bình khoảng 2 μm . Kích thước của tấm Ti nhỏ hơn đáng kể so với mẫu bột ban đầu. Hình 4B là ảnh SEM của mẫu bột Ti-MWCNT sau khi trộn bằng rung siêu âm. Kết quả cho thấy, các MWCNTs đã được phân tán đồng đều trên bề mặt của các hạt Ti. So với mẫu bột Ti sau khi nghiền thì quá trình trộn bằng rung siêu âm không làm thay đổi hình dạng của bột Ti. Hình 5 thể hiện kết quả nhiễu xạ tán xạ ngược electron (EBSD) của mẫu Ti và mẫu composite Ti-MWCNT. Kết quả nghiên cứu cho thấy, kích thước hạt của mẫu Ti và composite Ti-MWCNT được xác định lần lượt vào khoảng 29,3 và 28,5 μm . Như vậy, sự có mặt của vật liệu gia cường MWCNTs không ảnh hưởng nhiều đến quá trình lớn lên của hạt. Ngoài ra, các kết quả nghiên cứu EBSD cũng cho thấy, phần lớn pha vật liệu chiếm ưu thế trong mẫu Ti và composite Ti-MWCNT là $\alpha\text{-Ti}$ với tỷ lệ lớn hơn 98%. Các pha vật liệu khác bao gồm $\beta\text{-Ti}$ chiếm tỷ lệ rất thấp, khoảng 0,2%. Đáng chú ý, có sự xuất hiện của pha oxit Ti (TiO_2) chiếm hơn 1% trong cả mẫu Ti và composite Ti-MWCNT. Đây có thể là do quá trình mài và đánh bóng vật liệu để nghiên cứu cấu trúc đã làm phát sinh các pha oxit như trên.

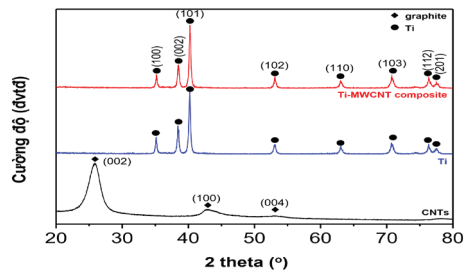


Hình 4. Ảnh SEM của bột Ti sau khi nghiền (A) và hỗn hợp bột Ti-MWCNT sau khi trộn và sấy khô (B).



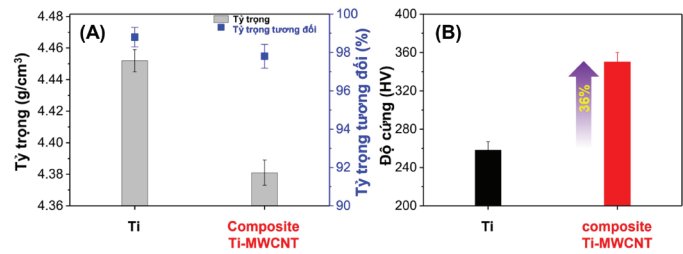
Hình 5. Ảnh EBSD, biên hạt và thành phần pha của mẫu Ti (A, B, C) và composite Ti-MWCNT (D, E, F) sau khi kết khối bằng thiêu kết plasma xung điện.

Giản đồ nhiễu xạ tia X của MWCNTs, mẫu Ti nguyên chất và composite Ti-MWCNT được thể hiện trên hình 6. Giản đồ XRD của MWCNTs xuất hiện các đỉnh đặc trưng tại các vị trí 26,18; 43,04 và 54,38° tương ứng với các mặt mạng (002), (100) và (004) của mạng graphite. Trong khi đó, đối với mẫu Ti và composite Ti-MWCNTs chỉ xuất hiện các đỉnh đặc trưng của pha α -Ti. Không quan sát thấy đỉnh của các pha đặc trưng TiO_2 và β -Ti như quan sát được trong nghiên cứu EBSD. Kết quả này có thể do hàm lượng các pha đó quá thấp, nên điều kiện đo XRD đã dùng không phát hiện được. Ngoài ra, các pha được hình thành giữa Ti và MWCNTs như TiC cũng không được phát hiện trong mẫu composite sau khi thiêu kết, chứng tỏ quá trình nghiền và quá trình thiêu kết không ảnh hưởng đến thành phần pha của vật liệu. Đáng chú ý, không quan sát được sự hiện diện của các đỉnh đặc trưng của MWCNTs trong mẫu composite, điều này có thể là do hàm lượng MWCNTs (1vol.%) được sử dụng tương đối thấp.



Hình 6. Giản đồ nhiễu xạ tia X của MWCNTs, Ti và composite Ti-MWCNT.

3.2. Khối lượng riêng, độ đặc tương đối và độ cứng



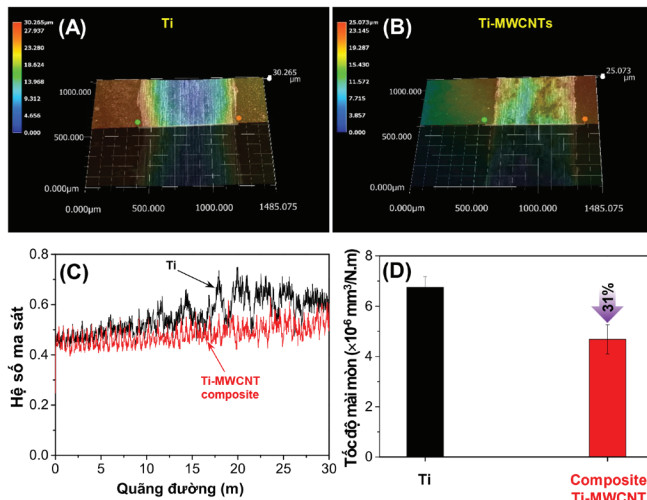
Hình 7. Khối lượng riêng và khối lượng riêng tương đối (A) và độ cứng của Ti và composite Ti-MWCNT sau khi chế tạo (B).

Khối lượng riêng và khối lượng riêng tương đối của Ti và composite Ti-MWCNT sau khi chế tạo được thể hiện trên hình 7A. Quan sát trên hình ta thấy, mẫu Ti nguyên chất có khối lượng riêng xác định vào khoảng 4,452 g/cm³ tương đương với khối lượng riêng tương đối là 98,8%. Trong khi đó, đối với mẫu composite Ti-MWCNT thì khối lượng riêng và khối lượng riêng tương đối được xác định tương ứng là 4,381 g/cm³ và 97,8%. Như vậy, khối lượng riêng và khối lượng riêng tương đối của mẫu composite thấp hơn so với Ti nguyên chất. Kết quả này là do MWCNTs có khối lượng riêng tương đối thấp ($\approx 1,8$ g/cm³) và cũng phù hợp với mong muốn chế tạo composite khối lượng riêng thấp hơn so với mẫu nguyên chất. Điều này có thể là do sự có mặt của vật liệu gia cường MWCNTs đã ngăn cản quá trình kết khối vật liệu. Tuy nhiên, đánh giá một cách tổng thể thì kỹ thuật thiêu kết plasma xung điện cho thấy, khả năng kết khối vật liệu composite khá hiệu quả khi khối lượng riêng tương đối của vật liệu đạt được là tương đối cao. Độ cứng của mẫu Ti nguyên chất và composite Ti-MWCNT sau khi chế tạo được thể hiện như trên hình 7B. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ cứng của mẫu Ti và composite Ti-MWCNT được xác định lần lượt là 256 và 350 HV. Như vậy, độ cứng của vật liệu composite Ti-MWCNT cao hơn 36% so với mẫu Ti nguyên chất được chế tạo ở cùng điều kiện. Kết quả thu được chứng tỏ sự ảnh hưởng tương đối tích cực của MWCNTs trong việc tăng độ cứng của vật liệu composite.

3.3. Tính chất ma sát - mài mòn

Hình 8A, 8B là ảnh bề mặt rãnh của mẫu Ti và composite Ti-MWCNT sau khi kiểm tra ma sát. Phép đo được thực hiện với tải trọng 5 N và bi thép không gỉ đường kính 6 mm được sử dụng để làm vật liệu mài mòn mẫu. Quan sát trên hình ta thấy rằng, đối với mẫu Ti nguyên chất thì rãnh có độ rộng và sâu lớn hơn đáng kể so với mẫu composite Ti-MWCNT. Kết quả này chứng tỏ rằng, khối lượng vật liệu mất đi sau quá trình

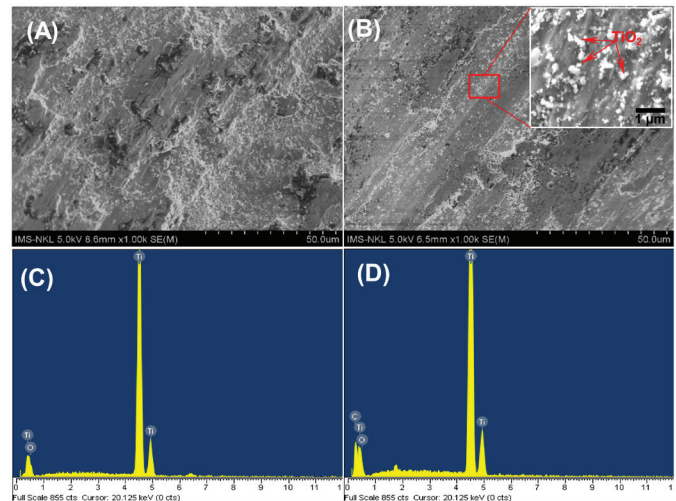
kiểm tra ma sát của mẫu Ti lớn hơn đáng kể so với mẫu composite. Hệ số ma sát của Ti và composite Ti-MWCNT được thể hiện trên hình 8C. Kết quả thu được cho thấy, hệ số ma sát của mẫu composite được xác định vào khoảng 0,51. Giá trị này thấp hơn khoảng 18% so với mẫu Ti nguyên chất (0,62). Điều này chứng tỏ khả năng bôi trơn của MWCNTs đã giúp giảm hệ số ma sát của vật liệu composite. Hình 8D là kết quả khảo sát tốc độ mài mòn của mẫu Ti và composite Ti-MWCNT. Kết quả cho thấy, tốc độ mài mòn của composite giảm đáng kể so với mẫu Ti nguyên chất. Trong đó, mẫu Ti có tốc độ mài mòn được xác định là $6,75 \times 10^{-6} \text{ mm}^3/\text{N.m}$ và sau khi được gia cường bằng MWCNT thì tốc độ mài mòn giảm xuống là $4,68 \times 10^{-6} \text{ mm}^3/\text{N.m}$. Như vậy, tốc độ mài mòn của composite Ti-MWCNT giảm khoảng 31% so với mẫu Ti nguyên chất. Kết quả này chứng tỏ rằng, MWCNTs có ảnh hưởng và làm giảm đáng kể hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của composite Ti-MWCNT.



Hình 8. Ảnh bề mặt rãnh sau khi kiểm tra ma sát (A, B), hệ số ma sát (C) và tốc độ mài mòn của Ti và composite Ti-MWCNT (D).

Để tìm ra cơ chế mài mòn của vật liệu, bề mặt rãnh ma sát của các mẫu Ti và composite Ti-MWCNT đã được nghiên cứu bằng SEM và phổ EDS (hình 9). Hình 9A là ảnh SEM bề mặt rãnh của mẫu Ti. Quan sát trên hình ta thấy, bề mặt rãnh tương đối gồ ghề với nhiều hố và các hạt nhỏ bị bóc tách ra khỏi bề mặt vật liệu. Kết quả này phù hợp với kết quả đo tốc độ mài mòn. Trong khi đó, với mẫu composite Ti-MWCNT, bề mặt rãnh nhẵn hơn với nhiều hạt kích thước nhỏ ở trên bề mặt và không xuất hiện các hố do sự bóc tách vật liệu như trường hợp của Ti nguyên chất (hình 9B). Kết quả phân tích EDS của rãnh ma sát của mẫu Ti nguyên chất được thể hiện như

trên hình 9C. Kết quả thu được cho thấy, thành phần chính của vật liệu hình thành trong rãnh gồm các nguyên tố là Ti và O. Kết hợp kết quả đo EDS và SEM có thể kết luận rằng, các hạt hình thành trên bề mặt của rãnh sau khi kiểm tra ma sát đối với mẫu Ti chủ yếu là TiO_2 . Những hạt này đóng vai trò quan trọng trong việc giảm ma sát và ngăn sự bóc tách từ quá trình đo ma sát khi chuyển ma sát trượt thành ma sát lăn. Hình 9D là kết quả phân tích EDS của mẫu composite Ti-MWCNT. Kết quả thu được cho thấy, ngoài hai nguyên tố chính là Ti và O còn có sự có mặt của nguyên tố C. So sánh với mẫu Ti nguyên chất thì bề mặt rãnh ma sát của mẫu composite không chỉ tồn tại các hạt TiO_2 , mà còn có sự tồn tại của vật liệu gia cường MWCNTs. Chính sự xuất hiện của MWCNTs trên bề mặt của rãnh ma sát đã làm giảm đáng kể hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của vật liệu. Ngoài ra, việc cải thiện đáng kể tính chất cơ học của vật liệu như độ cứng cũng đã góp phần làm giảm hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của composite.



Hình 9. Ảnh SEM và phổ EDS của rãnh sau khi kiểm tra ma sát (A, C) Ti và composite Ti-MWCNT (B, D).

4. Kết luận

Vật liệu TMC gia cường bằng vật liệu MWCNTs đã được nghiên cứu chế tạo thành công bằng kỹ thuật thiêu kết plasma xung điện. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ cứng của vật liệu composite được cải thiện khoảng 36% so với mẫu Ti nguyên chất. Bên cạnh đó, hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của composite giảm xuống lần lượt là 18 và 31% so với mẫu Ti. Kết quả nghiên cứu hình thái học và thành phần của rãnh ma sát cho thấy, sự tồn tại của các hạt TiO_2 và MWCNTs trên bề mặt đã góp phần làm giảm hệ số ma sát và tốc độ mài mòn của vật liệu composite. Kết quả nghiên cứu này chứng tỏ khả năng

nâng cao các tính chất cơ và mài mòn của MWCNT đối với composite nền Ti.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện bởi sự tài trợ kinh phí của Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam theo đề tài mã số ĐTĐLCN.21/23. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Yang, X. Chen, G. Huang (2022), "Microstructures and mechanical properties of titanium-reinforced magnesium matrix composites: Review and perspective", *Journal of Magnesium and Alloys*, **10(9)**, pp.2311-2333, DOI: 10.1016/J.JMA.2022.07.008.
- [2] A. Kurup, P. Dhatrak, N. Khasnis (2021), "Surface modification techniques of titanium and titanium alloys for biomedical dental applications: A review", *Mater. Today Proc.*, **39(1)**, pp.84-90, DOI: 10.1016/J.MATPR.2020.06.163.
- [3] Q. Zhao, Q. Sun, S. Xin, et al. (2022), "High-strength titanium alloys for aerospace engineering applications: A review on melting-forging process", *Materials Science and Engineering: A*, **845**, DOI: 10.1016/J.MSEA.2022.143260.
- [4] J. Alipal, T.C. Lee, P. Koshy, et al. (2021), "Evolution of anodised titanium for implant applications", *Heliyon*, **7(7)**, DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07408.
- [5] M. Najafizadeh, S. Yazdi, M. Bozorg, et al. (2024), "Classification and applications of titanium and its alloys: A review", *Journal of Alloys and Compounds Communications*, **3**, DOI: 10.1016/J.JACOMC.2024.100019.
- [6] M.D. Hayat, H. Singh, Z. He, et al. (2019), "Titanium metal matrix composites: An overview", *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, **121**, pp.418-438, DOI: 10.1016/J.COMPOSITESA.2019.04.005.
- [7] R. Shetty, A. Hegde, U.K. Shetty, et al. (2022), "Processing and mechanical characterisation of titanium metal matrix composites: A literature review", *Journal of Composites Science*, **6(12)**, DOI: 10.3390/JCS6120388.
- [8] Y. Jiao, L. Huang, L. Geng (2018), "Progress on discontinuously reinforced titanium matrix composites", *J. Alloys Compd.*, **767**, pp.1196-1215, DOI: 10.1016/J.JALLCOM.2018.07.100.
- [9] W.A. Elaziem, M.A. Darwish, A. Hamada (2024), "Titanium-based alloys and composites for orthopedic implants applications: A comprehensive review", *Mater. Des.*, **241**, DOI: 10.1016/J.MATDES.2024.112850.
- [10] H. Attar, S.E. Haghighi, D. Kent, et al. (2018), "Recent developments and opportunities in additive manufacturing of titanium-based matrix composites: A review", *Int. J. Mach. Tools Manuf.*, **133**, pp.85-102, DOI: 10.1016/J.IJMACHTOOLS.2018.06.003.
- [11] K.S. Munir, P. Kingshott, C. Wen (2015), "Carbon nanotube reinforced titanium metal matrix composites prepared by powder metallurgy - A review", *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*, **40(1)**, pp.38-55, DOI: 10.1080/10408436.2014.929521.
- [12] V. Srinivasan, S. Kunjiappan, P. Palanisamy (2021), "A brief review of carbon nanotube reinforced metal matrix composites for aerospace and defense applications", *International Nano Letters*, **11(4)**, pp.321-345, DOI: 10.1007/S40089-021-00328-Y.
- [13] F. Ogawa, C. Masuda (2021), "Fabrication and the mechanical and physical properties of nanocarbon-reinforced light metal matrix composites: A review and future directions", *Materials Science and Engineering: A*, **820**, DOI: 10.1016/J.MSEA.2021.141542.
- [14] L.L. Dong, W. Zhang, Y.Q. Fu, et al. (2021), "Synergetic enhancement of strength and ductility for titanium-based composites reinforced with nickel metallized multi-walled carbon nanotubes", *Carbon*, **184**, pp. 583-595, DOI: 10.1016/j.carbon.2021.08.030.
- [15] Y. Wang, H. Wang, Y. Chen, et al. (2025) "Directing CNTs into micropore on Ti-6Al-4V adherend via ultrasonic for enhancing interfacial adhesive bonding", *Surfaces and Interfaces*, **56**, DOI: 10.1016/J.SURFIN.2024.105628.
- [16] G. Li, K. Munir, C. Wen, et al. (2020), "Machinability of titanium matrix composites (TMC) reinforced with multi-walled carbon nanotubes", *J. Manuf. Process*, **56**, pp.131-146, DOI: 10.1016/J.JMAPRO.2020.04.008.
- [17] L.L. Dong, J.W. Lu, Y.Q. Fu, et al. (2020), "Carbonaceous nanomaterial reinforced Ti-6Al-4V matrix composites: Properties, interfacial structures and strengthening mechanisms", *Carbon*, **164**, pp.272-286, DOI: 10.1016/J.CARBON.2020.04.009.
- [18] K.S. Munir, Y. Zheng, D. Zhang, et al. (2017a), "Microstructure and mechanical properties of carbon nanotubes reinforced titanium matrix composites fabricated via spark plasma sintering", *Materials Science and Engineering: A*, **688**, pp.505-523, DOI: 10.1016/J.MSEA.2017.02.019.
- [19] K.S. Munir, Y. Zheng, D. Zhang, et al. (2017b), "Improving the strengthening efficiency of carbon nanotubes in titanium metal matrix composites", *Materials Science and Engineering: A*, **696**, pp.10-25, DOI: 10.1016/J.MSEA.2017.04.026.
- [20] F.C. Wang, Z.H. Zhang, Y.J. Sun, et al. (2015), "Rapid and low temperature spark plasma sintering synthesis of novel carbon nanotube reinforced titanium matrix composites", *Carbon*, **95**, pp.396-407, DOI: 10.1016/J.CARBON.2015.08.061.
- [21] S. Sharma, P. Kumar, R. Chandra (2018), "Carbon nanotube reinforced titanium composites: An experimental and molecular dynamics study", *J. Compos. Mater.*, **52(29)**, pp.4117-4123, DOI: 10.1177/0021998318774931.
- [22] J. Fang, Y.C. Tan, V.C. Tai, et al. (2024), "Selective laser melting of titanium matrix composites: An in-depth analysis of materials, microstructures, defects, and mechanical properties", *Heliyon*, **10(22)**, DOI: 10.1016/J.HELIYON.2024.E40200.
- [23] Y. Zeng, J. Wang, X. Liu, et al. (2024), "Laser additive manufacturing of ceramic reinforced titanium matrix composites: A review of microstructure, properties, auxiliary processes, and simulations", *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, **177**, DOI: 10.1016/J.COMPOSITESA.2023.107941.
- [24] P.V. Trinh, N.N. Anh, N.T. Tam, et al. (2017), "Influence of defects induced by chemical treatment on the electrical and thermal conductivity of nanofluids containing carboxyl-functionalized multi-walled carbon nanotubes", *RSC Adv.*, **7(79)**, pp.49937-49946, DOI: 10.1039/C7RA08552D.

Chế tạo và đánh giá viên nhiên liệu RDF từ phụ phẩm gỗ và một số thành phần rác thải sinh hoạt đã phân loại

Nguyễn Hồng Đức*, Nguyễn Hồng Quân, Đinh Quang Hưng, Lý Bằng, Nguyễn Thành Hiếu

Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bạch Mai, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 20/8/2025; ngày chuyển phản biện 21/8/2025; ngày nhận phản biện 5/9/2025; ngày chấp nhận đăng 10/9/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu này đánh giá khả năng sản xuất viên nén nhiên liệu từ mùn cưa, mùn gỗ (cành cắt tỉa) và các thành phần của rác sinh hoạt sau phân loại (vỏ hộp sữa, nhãn chai/nilon). Nguyên liệu được tiền xử lý, phối trộn theo các tỷ lệ 7:3-10:0 và ép nén gia nhiệt trong dải 110-200°C (khảo sát tới 250°C). Các chỉ tiêu đánh giá gồm: nhiệt trị, tỷ trọng viên, độ ẩm, độ tro và độ bền cơ học; kết quả được đối chiếu với tiêu chuẩn Nhật Bản (JP), Hàn Quốc (KR) và Liên minh châu Âu (EU). Điều kiện phù hợp để tạo viên có hình thái tốt và đạt yêu cầu là 8:2 (mùn cưa/chất kết dính) ở 150-200°C và 9:1 (mùn gỗ/nhãn chai) ở 120-150°C. Phần lớn mẫu có ẩm <10%, độ bền ≥97% và nhiệt trị 16,85-24,68 MJ/kg; một số phối trộn có tro cao hơn ngưỡng dân dụng của JP/EU nhưng phù hợp cho công nghiệp/đồng đốt theo chuẩn KR. Hoạt động này góp phần thu hồi năng lượng và gia tăng giá trị cho dòng chất thải khó tái chế, với lợi ích kinh tế và môi trường đáng kể.

Từ khóa: cành cây, mùn cưa, rác thải sinh hoạt, viên nén nhiên liệu.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.7

Production and characterisation of fuel pellets from wood residues and selected fractions of sorted household waste

Hong Duc Nguyen*, Hong Quan Nguyen, Quang Hung Dinh, Bang Ly, Thanh Hieu Nguyen

Hanoi University of Science and Technology, 1 Dai Co Viet Street, Bach Mai Ward, Hanoi, Vietnam

Received 20 August 2025; revised 5 September 2025; accepted 10 September 2025

Abstract:

This study evaluates the feasibility of producing refuse-derived fuel (RDF) pellets from sawdust, wood residues derived from pruned branches, and sorted household waste fractions (laminated milk cartons and plastic labels/films). Feedstocks were pre-treated and blended at ratios ranging from 7:3 to 10:0, and hot-compressed at temperatures of 110-200°C (with additional trials conducted up to 250°C). The evaluated parameters included higher heating value (HHV), pellet density, moisture content, ash content, and mechanical durability; and the results were compared with Japanese (JP), Korean (KR), European (EU) standards. Process windows that consistently yielded well-formed pellets that met quality requirements were an 8:2 ratio of sawdust to -derived binder at 150-200°C and a 9:1 of wood residues from pruned branches to bottle labels at 120-150°C. Most samples exhibited moisture contents below 10%, mechanical durability of at least 97%, and HHVs ranging from 16.85 to 24.68 MJ/kg. Several blends showed ash contents exceeding the residential-use limits specified by JP and EU standards, but remained suitable for industrial use and co-firing according to KR standards. This approach contributes to energy recovery and value addition for difficult-to-recycle waste streams, offering significant economic and environmental benefits.

Key words: fuel pellets, household waste, saw dust, wood residues.

Classification numbers: 2.4, 2.7

*Tác giả liên hệ: Email: duc021101@gmail.com

1. Đặt vấn đề

1.1. Khái niệm và phân loại viên nén nhiên liệu

Trong thực tiễn, sự ra đời của viên đốt và các loại nhiên liệu có nguồn gốc từ chất thải phản ánh nhu cầu cấp thiết trong việc giảm thiểu, tái chế và xử lý khối lượng chất thải rắn sinh hoạt ngày càng gia tăng. Về khái niệm, mặc dù RDF (Refuse-derived fuel) đã xuất hiện từ khá lâu nhưng cho đến nay vẫn chưa có một định nghĩa thống nhất, bởi cách hiểu còn phụ thuộc vào công nghệ, phương pháp xử lý và quy chuẩn của từng quốc gia. Tuy nhiên, theo Tổng cục Môi trường của Ủy ban châu Âu, RDF được định nghĩa là: “Nhiên liệu có nguồn gốc từ rác thải bao gồm nhiều loại vật liệu phế thải đã được xử lý để đáp ứng các hướng dẫn, quy định hoặc thông số kỹ thuật của ngành, chủ yếu nhằm đạt được giá trị nhiệt lượng cao. Nhiên liệu có nguồn gốc từ rác thải bao gồm thành phần tái chế từ chất thải sinh hoạt, chất thải công nghiệp, bùn thải, chất thải nguy hại công nghiệp, chất thải sinh khối,...” [1]. Đồng thời, trong các tài liệu quốc tế, RDF thường được hiểu là một phạm trù rộng, bao trùm nhiều loại vật liệu thải đã qua xử lý để đạt giá trị nhiệt lượng cao. Tại các quốc gia nói tiếng Anh, thuật ngữ RDF thường được dùng để chỉ phần có nhiệt trị cao đã được phân tách từ MSW (Municipal solid waste) sau xử lý. Ngoài RDF, một số thuật ngữ khác cũng được sử dụng để chỉ nhiên liệu có nguồn gốc từ MSW như Recovered fuel (REF), Packaging derived fuel (PDF), Paper and plastic fraction (PPF) hay Processed engineered fuel (PEF) [1].

Trong phạm vi nghiên cứu này, nhóm tác giả không tiếp cận RDF theo nghĩa rộng như trong các tài liệu quốc tế, mà tập trung vào khả năng sản xuất viên nén nhiên liệu từ những nguồn nguyên liệu cụ thể và sẵn có ở Việt Nam. Các nguyên liệu được lựa chọn bao gồm cành cây cắt tỉa trong hoạt động trồng trọt, mùn cưa từ chế biến lâm sản, cùng với một số thành phần được phân loại từ rác thải sinh hoạt như nylon, hộp sữa và nhựa có giá trị thấp. Theo cách hiểu trong bài viết, có thể định nghĩa viên nén nhiên liệu như sau: “Viên nén nhiên liệu là một loại nhiên liệu sinh học có nguồn gốc từ chất thải, bao gồm nhiều loại vật liệu phế thải đã được xử lý nhằm đáp ứng các yêu cầu kỹ thuật nhất định, chủ yếu để đạt được giá trị nhiệt lượng cao. Các nguồn chất thải sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: chất thải nông nghiệp (thân cây xanh, rơm rạ, trấu, vỏ cà phê, vỏ dừa, bã mía...), chất thải lâm nghiệp (mùn cưa, dăm gỗ, cành cây, vỏ cây...) và một số loại chất thải rắn đô thị (giấy thải, bìa cứng, nhựa khó tái chế, hộp sữa, nylon...)”.

Về phân loại, RDF có thể được sản xuất ở hai dạng chính: dạng tơi (fluff RDF) và dạng rắn (solid RDF/RDF pellets).

Về RDF dạng tơi: là loại chưa qua quá trình nén, tồn tại ở dạng xơ sợi hoặc vụn nhỏ. Loại này có ưu điểm là chi phí xử lý ban đầu thấp, dễ sản xuất, nhưng lại kém ổn định về mặt sinh học, khó bảo quản và thường chỉ có thể sử dụng trong vòng 2-3 ngày sau khi tạo ra. Do có mật độ khối thấp, RDF dạng tơi cũng hạn chế về khả năng vận chuyển đường dài, và đòi hỏi lò đốt phải được thiết kế chuyên biệt.

Về RDF dạng rắn hoặc dạng viên nén: RDF dạng rắn được tạo ra thông qua quá trình ép nén để tăng mật độ khối và độ bền cơ học. Dạng này có nhiều ưu điểm: dễ vận chuyển, xử lý và lưu trữ; có thể bảo quản lâu dài trong điều kiện thích hợp; đồng thời tương thích với nhiều loại hệ thống đốt khác nhau. Tuy nhiên, nhược điểm chính là chi phí sản xuất cao hơn so với RDF dạng tơi.

Từ đó, có thể thấy rằng lựa chọn giữa RDF dạng tơi và RDF dạng rắn phụ thuộc vào mục đích sử dụng, khoảng cách vận chuyển cũng như điều kiện công nghệ tại cơ sở sản xuất và tiêu thụ. Trong phạm vi bài nghiên cứu, nhóm tác giả chọn loại RDF dạng rắn, cụ thể là viên nén nhiên liệu (RDF pellets) để phân tích và đánh giá.

1.2. Tiềm năng trong hoạt động sản xuất viên nén nhiên liệu từ nguồn phế thải ở Việt Nam

Viên nén nhiên liệu là một dạng nhiên liệu sinh học tái tạo, được sản xuất từ các loại phụ phẩm sinh khối như dăm bào, mùn cưa, vỏ đậu phộng, thân cây ngô, gỗ thải và nhiều loại chất thải hữu cơ khác. Thông qua quy trình ép nén hiện đại, các nguyên liệu này được nén thành những viên nhỏ, rắn chắc, có độ ẩm thấp, lượng tro sinh ra khi đốt ít và khả năng sinh nhiệt cao. Với những đặc tính này, viên nén nhiên liệu không chỉ là giải pháp thay thế tiềm năng cho nhiên liệu hóa thạch, mà còn ngày càng được ưa chuộng tại các thị trường cần nguồn nhiệt lớn, nhờ tính tiện dụng, hiệu quả năng lượng, an toàn sức khỏe người sử dụng và thân thiện với môi trường.

Từ thực tiễn đó, có thể thấy tiềm năng phát triển của viên nén nhiên liệu ở Việt Nam thể hiện trên nhiều khía cạnh: tính mới trong định hướng sản xuất từ phụ phẩm nông nghiệp và chất thải sinh hoạt; tiềm năng về chất lượng sản phẩm và đặc biệt là lợi ích kinh tế môi trường.

Thứ nhất, điểm mới trong định hướng phát triển viên nén nhiên liệu ở Việt Nam nằm ở việc mở rộng nguồn nguyên liệu đầu vào, từ phụ thuộc chủ yếu vào phế phẩm gỗ sang khai thác mạnh mẽ phụ phẩm nông nghiệp như

rom rạ, trấu, vỏ cà phê, bã mía, vỏ dừa, cũng như chất thải hữu cơ. Hằng năm, Việt Nam phát sinh hàng chục triệu tấn phụ phẩm nông nghiệp, phần lớn chưa được xử lý hiệu quả và thường bị đốt bỏ hoặc chôn lấp, gây ô nhiễm môi trường. Việc tận dụng các nguồn này để sản xuất viên nén nhiên liệu không chỉ góp phần giảm áp lực xử lý chất thải, hạn chế khai thác rừng tự nhiên, mà còn tạo ra nguồn nguyên liệu rẻ, ổn định, đáp ứng nhu cầu trong nước và xuất khẩu. Viên nén nhiên liệu nhờ vậy không chỉ mang tính đổi mới trong định hướng phát triển công nghiệp sinh khối, mà còn mở ra tiềm năng thương mại quốc tế lớn cho Việt Nam trong bối cảnh nhu cầu năng lượng sạch toàn cầu ngày càng gia tăng. Đồng thời, điểm mới của nghiên cứu là (i) đề xuất cấp phối có chất kết dính “nguồn rác” ở tỷ lệ thấp 8:2 và 9:1 (theo khối lượng) nhằm cải thiện liên kết cấu trúc viên; (ii) xác lập dải nhiệt nén 110-200°C với khối lượng nạp 15 g/viên để tạo hình tốt; và (iii) đánh giá đồng thời nhiều thông số (nhiệt trị, tỷ trọng viên, ẩm, tro, độ bền) đối chiếu với bộ tiêu chuẩn Nhật - Hàn - EU để định vị kịch bản ứng dụng (công nghiệp/dân dụng/đồng đốt).

Thứ hai, về tiềm năng chất lượng sản phẩm. Các nghiên cứu thực nghiệm cho thấy, viên nén nhiên liệu sản xuất từ hỗn hợp phụ phẩm nông - lâm nghiệp và rác sinh hoạt có nhiệt trị cao, dao động 17,4-24,7 MJ/kg, tương đương hoặc thậm chí vượt một số loại than đá chất lượng trung bình. Hàm lượng ẩm $\leq 10\%$ và độ bền cơ học $\geq 97\%$ giúp sản phẩm giảm thiểu hao hụt trong vận chuyển và lưu trữ. Tuy vậy, một số phối trộn có độ tro 5,4-6,6% chưa đáp ứng tiêu chuẩn nghiêm ngặt của Nhật Bản và EU, cho thấy tiềm năng cải tiến công nghệ nhằm nâng cao chất lượng và mở rộng khả năng tiếp cận các thị trường khó tính. Điều này cũng đồng nghĩa với việc ngành viên nén nhiên liệu tại Việt Nam còn dư địa rất lớn để hoàn thiện tiêu chuẩn hóa, nâng tầm giá trị sản phẩm và tăng khả năng cạnh tranh quốc tế.

Thứ ba, về tiềm năng kinh tế môi trường. Việc sản xuất viên nén nhiên liệu vừa mang lại lợi ích kinh tế, vừa đem lại hiệu quả môi trường rõ rệt. Một mặt, chi phí sản xuất thấp hơn nhiều so với nhiên liệu hóa thạch, giúp sản phẩm có lợi thế cạnh tranh. Mặt khác, quá trình sử dụng viên nén nhiên liệu giúp giảm phát thải khí nhà kính đáng kể. Cụ thể, viên nén gỗ làm giảm đáng kể lượng khí thải CO_2 so với nhiên liệu hóa thạch [2]. Một phân tích toàn cầu cũng chỉ ra rằng, nếu tận dụng phụ phẩm nông nghiệp để sản xuất viên nén nhiên liệu ở quy mô lớn, có thể giảm khoảng 1,35 tỷ tấn CO_2 tương đương mỗi năm [3].

Về mặt kinh tế, Việt Nam hiện đứng thứ hai thế giới về xuất khẩu viên nén nhiên liệu, chỉ sau Mỹ [4]. Trong 6 tháng đầu năm 2024, Việt Nam đã xuất khẩu khoảng 2,6 triệu tấn viên nén, với giá trị đạt 345,5 triệu USD. Nhật Bản chiếm 55,3% khối lượng và 61,0% giá trị; Hàn Quốc chiếm 36,8% khối lượng và 29,0% giá trị; EU chiếm 7,7% khối lượng và 9,9% giá trị. Giá xuất khẩu trung bình giai đoạn này đạt khoảng 132,6 USD/tấn, trong đó Nhật Bản ở mức $\sim 146,3$ USD/tấn, còn Hàn Quốc $\sim 104,3$ USD/tấn [5]. Theo số liệu từ Hiệp hội Gỗ và Lâm sản Việt Nam, 6 tháng đầu năm 2025, xuất khẩu viên nén gỗ đạt hơn 3,9 triệu tấn, tương đương giá trị 564,77 triệu USD, tăng 33,3% về lượng và 38,8% về giá trị so với cùng kỳ năm 2024. Nửa đầu năm 2025, mức tăng trưởng hai con số cho thấy ngành viên nén đang tận dụng tốt cơ hội từ nhu cầu năng lượng tái tạo, đặc biệt khi các nước đẩy mạnh giảm phát thải [6]. Xu thế này cũng phản ánh nhu cầu ngày càng lớn từ các thị trường châu Á và châu Âu, trong bối cảnh toàn cầu chuyển dịch sang năng lượng sạch.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Nghiên cứu lựa chọn nguyên liệu chính để sản xuất viên nén nhiên liệu là mùn cưa và mùn gỗ từ cành cây.

(1) Mùn cưa là một loại vật liệu hữu cơ có nguồn gốc từ các loại gỗ, tre, nứa được bào mỏng, nghiền vụn thành những hạt có kích thước nhỏ. Chúng là một loại chất với độ ẩm khá thấp, phù hợp cho việc đốt cháy với ưu điểm bắt lửa nhanh, lượng tro xỉ còn lại sau cháy ít và nhiệt lượng của chúng là tương đối cao. Điều này cho thấy tiềm năng lớn trong việc thay thế các loại nhiên liệu hóa thạch bằng viên đốt từ mùn cưa trong vấn đề năng lượng. Bên cạnh đó, quá trình xử lý lượng tro còn lại của viên đốt cũng sẽ dễ dàng hơn so với các loại than.

(2) Mùn gỗ nghiên cứu sử dụng là loại mùn gỗ được nghiền từ cành cây bỏ đi của gỗ nhãn. Các loại cành cây sau khi được thu gom sẽ được mang đi rửa sạch, nghiền nhỏ thành dạng mùn và đưa vào sản xuất viên đốt. Đây là loại nguyên liệu cháy với độ ẩm khá cao, do đó cần thêm công đoạn sấy làm khô rồi mới đưa đi sản xuất. Chúng có tiềm năng tương đối trong việc thu hồi, tái chế và sản xuất viên đốt xuất khẩu.

Nguyên liệu phụ sử dụng trong nghiên cứu bao gồm vỏ hộp sữa, nilon và nhãn chai. Đây là các loại rác thải sinh hoạt rất phổ biến với một lượng lớn bị thải bỏ ra môi trường mỗi ngày. Tuy nhiên, các biện pháp xử lý chúng vẫn còn khá hạn chế. Nghiên cứu sử dụng các nguyên liệu này làm chất kết dính, giúp tăng cường khả

năng liên kết và độ bền chắc trong kết cấu của viên đốt, giúp thành phẩm tạo ra có độ bền cao hơn. Bên cạnh đó, nguyên liệu phụ này cũng phần nào giúp cải thiện nhiệt trị của viên đốt thành phẩm. Tuy nhiên, đối với vỏ hộp sữa, đây là loại chất thải khó đốt cháy hoàn toàn, lượng còn lại sẽ làm tăng chi phí xử lý, do vậy nghiên cứu cần đưa ra tỷ lệ phối trộn để tạo ra thành phẩm tốt nhất.

2.2. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất phục vụ nghiên cứu

2.2.1. Thiết bị

- Cân trọng lượng gram (g) tiêu chuẩn 1 chữ số và 4 chữ số Ohaus 30429847 bench scale 220 g/0,0001 g.
- Thìa và cốc đong 25 ml.
- Nhiệt kế điện tử Fisherbrand Traceable Digital Thermometer S90862 do Hãng Fisher Scientific (Mỹ) sản xuất. Khoảng đo $-50 \rightarrow +300^{\circ}\text{C}$, sai số chỉ $\pm 0,05\%$ toàn dải, có chứng nhận NIST.

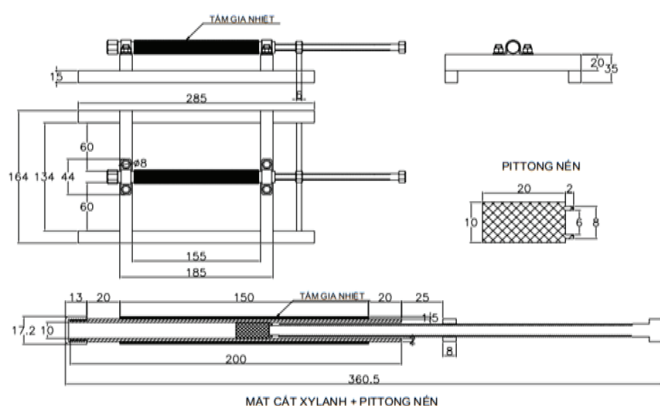
- Hộp đựng mẫu bằng nhựa, găng tay cách điện, phễu, tua vít, cờ lê.

2.2.2. Dụng cụ

- Tủ sấy Binder (Đức) - dòng ED/FD series.
- Tủ nung Thermo Scientific (Thermo Fisher) (Mỹ) - dòng Thermolyne chuẩn xác, phổ biến trong phân tích tro than, sinh khối, RDF để phục vụ đo độ ẩm và độ tro.
- Thiết bị nén viên sản xuất tại Xưởng cơ khí Gia Vinh 5, Hà Nội, Chợ Dừa, Đống Đa, Hà Nội.
- Máy đo nhiệt trị Parr 1341.

2.2.3. Thiết bị nén gia nhiệt tạo viên

Thiết bị nén gia nhiệt tạo viên được nhóm nghiên cứu thiết kế và Xưởng cơ khí Gia Vinh chế tạo.



Hình 1. Thiết kế thiết bị nén gia nhiệt tạo viên. Đơn vị đo: mm.

Cấu tạo cơ bản của máy nén được chế tạo bao gồm một ống trụ tròn đường kính trong là 2 cm, chiều dài 30 cm. Tay nén là một trục doăng có ren có đường kính nhỏ hơn 2 cm, dài 50 cm gắn đầu pít tông trụ tròn dài 4 cm và đường kính 2 cm. Như vậy ta có thể xác định được đường kính viên nén là 2 cm. Hệ thống ống trục nén được gắn cố định vào giá đỡ vững có đế gỗ để giữ vững máy, thuận lợi cho việc nén lực. Đầu khung được thiết kế đủ chiều dài để lắp điện trở gia nhiệt và nắp của máy. Phần cuối hàn ốc tra thanh doăng phù hợp để quay ren tạo lực nén.

Cấu tạo máy được mô tả như hình 1. Điện trở gia nhiệt như hình trên phù hợp dòng điện 220 V có hệ thống nối điều chỉnh tăng giảm nhiệt và hệ thống này có thể tự ngắt lại mức nhiệt điều chỉnh giúp ổn định mức độ nhiệt.

2.3. Quy trình thí nghiệm sản xuất viên nén nhiên liệu

Tỷ lệ trộn: theo khối lượng. Các cấp phối khảo sát: 7:3; 8:2; 9:1; 10:0 giữa nguyên liệu chính (mùn cưa hoặc mùn gỗ từ cành) và nguyên liệu phụ (vỏ hộp sữa đã tách/làm sạch, nylon, nhãn chai cắt 2-5 mm).

Tiền xử lý nguyên liệu: rửa/loại tạp, sấy khô; kích thước hạt 2-5 mm với nguyên liệu phụ.

Khối lượng nạp: 15 g/mẫu/viên (xác định qua tiền thử để tránh nứt vỡ khi nén ở áp cao).

Gia nhiệt - tạo hình: nhiệt độ đặt $110-200^{\circ}\text{C}$ (có khảo sát tới 250°C), thời gian giữ nhiệt 15 phút; đồng thời siết vít pít tông đến khi mẫu đạt trạng thái tạo hình ổn định.

Lực nén: máy vít pít tông cơ khí (dùng mô-men tay), ghi nhật ký số vòng siết/mô-men ước lượng; trường hợp có đồng hồ lực, quy đổi ra MPa trên tiết diện 2 cm đường kính.

Công thức tính lực nén: $F=P \times A$, với tiết diện $A=\pi r^2$; bán kính $r=1 \text{ cm}=0,01 \text{ m} \Rightarrow A \approx 3,14159 \times 10^{-4} \text{ m}^2$.

- F: lực nén (N).
- P: áp suất ($\text{Pa} = \text{N/m}^2$).
- A: diện tích tiết diện chịu nén (m^2).

Quy đổi đơn vị:

$1 \text{ MPa}=10^6 \text{ Pa} \Rightarrow$ Khi áp suất là 1 MPa, lực tác dụng lên diện tích A là:

$$F=P \times A=10^6 \times 3,14159 \times 10^{-4}=314,159 \text{ N} \approx 0,314 \text{ kN}$$

Dựa theo công thức, nếu tính đúng thì lực ép phải tỷ lệ tuyến tính với áp suất (vì A là hằng số). Tức là: $F(\text{kN})=0,314 \times P(\text{MPa})$ và ta có bảng 1 quy đổi giữa áp suất và lực ép.

Bảng 1. Quy đổi áp suất và lực ép

Áp suất (MPa)	Lực ép (N)	Lực ép (kN)
2	628	0,63
3	942	0,95
4	1256	1,26
5	1570	1,57
6	1884	1,89

Lấy mẫu: Làm nguội 5-10 phút đến nhiệt độ phòng, đẩy mẫu khỏi ống nén.

Ký hiệu mẫu: Mc (mùn cưa), McV (mùn cưa+vỏ hộp sữa), McN (mùn cưa+nylon), Mg (mùn gỗ), MgNC (mùn gỗ+nhân chai) + hậu tố nhiệt độ (°C).

Quy trình thực hiện nén: Tiến hành cho nguyên liệu đầu vào đầu ống nén của máy và đóng nắp đầu máy nén. Khi đóng cần khóa chặt nắp máy, tránh việc không thể tạo hình viên nén do nhiệt vật liệu bị thoát ra trong quá trình nén. Ngoài ra, trong quá trình gia nhiệt, khi tăng dần nhiệt độ từ 0°C, xoay trục đoãng pít tông nén dần dần nguyên liệu. Đến mức nhiệt xác định thì tắt máy, rút điện, đồng thời dừng xoay nén viên. Đợi 5-10 phút để máy hạ nhiệt về nhiệt độ phòng, sau đó tháo nắp và tiếp tục xoay trục đẩy để lấy mẫu ra ngoài. Thử nghiệm nhiều lần để xác định khối lượng nguyên liệu nạp vào và thời gian gia nhiệt phù hợp.

Bảng 2. Ma trận thí nghiệm theo tỷ lệ pha trộn giữa mùn củi và phụ gia.

STT	Ký hiệu	Thành phần	Tỷ lệ (khối lượng)	Nhiệt độ nén (°C)	Thời gian (phút)
1	Mc-150	Mùn cưa	10:0	150	15
2	Mc-200	Mùn cưa	10:0	200	15
3	McV-150	Mùn cưa + vỏ hộp sữa	8:2	150	15
4	McV-200	Mùn cưa + vỏ hộp sữa	8:2	200	15
5	McN-150	Mùn cưa + nylon	7:3	150	15
6	Mg-110	Mùn gỗ (cành)	10:0	110	15
7	Mg-120	Mùn gỗ (cành)	10:0	120	15
8	Mg-130	Mùn gỗ (cành)	10:0	130	15
9	Mg-150	Mùn gỗ (cành)	10:0	150	15
10	MgNC-100	Mùn gỗ + nhân chai	9:1	100	15
11	MgNC-120	Mùn gỗ + nhân chai	9:1	120	15
12	MgNC-150	Mùn gỗ + nhân chai	9:1	150	15

Các tỷ lệ phối trộn 10:0, 9:1, 8:2 và 7:3 (theo khối lượng) được lựa chọn nhằm quét vùng chất kết dính 10-30%,

vốn là vùng mà pha nhựa từ rác sinh hoạt (vỏ hộp sữa, nhãn/nylon) bắt đầu nóng chảy và gia cường liên kết cho hạt gỗ, nhưng chưa vượt ngưỡng gây chảy rịn/giảm bền hay làm tăng tro/halogen. Sàng lọc ban đầu cho thấy, 7:3 dẫn tới nứt vỡ ở hầu hết mức nhiệt, trong khi 8:2 (với mùn cưa) ổn định ở 150-200°C và 9:1 (với mùn gỗ) ổn định ở 120-150°C; vì vậy hai mức này được sử dụng làm tâm thí nghiệm cho các phép đo chi tiết.

2.4. Đo lường và phân tích các thông số vật lý của viên đốt và đánh giá ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn nguyên liệu và nhiệt độ ép đến khả năng tạo hình của viên

Trên cơ sở tham khảo các nghiên cứu về đồng tạo viên giữa mùn gỗ và nhiên liệu có nguồn gốc từ chất thải [7], nhóm tác giả lựa chọn các tỷ lệ phối trộn 10:0, 9:1, 8:2 và 7:3 theo khối lượng. Các mức nhiệt gia nhiệt tạo viên được xác định thông qua thí nghiệm khảo sát sơ bộ và được trình bày trong bảng 3 và bảng 4.

Bảng 3. Nguyên liệu từ mùn cưa tiến hành với tỷ lệ phối trộn và các mức ép nhiệt.

Nguyên liệu chính	Nguyên liệu phụ	Tỷ lệ phối trộn	Nhiệt độ lựa chọn gia nhiệt tạo viên
Mùn cưa	Vỏ hộp sữa	7:3, 8:2, 10:0	100-250°C
	Nylon		
	Nhân chai		

Bảng 4. Nguyên liệu từ mùn gỗ tiến hành với tỷ lệ phối trộn và các mức ép nhiệt.

Nguyên liệu chính	Nguyên liệu phụ	Tỷ lệ phối trộn	Nhiệt độ lựa chọn gia nhiệt tạo viên
Mùn gỗ	Vỏ hộp sữa	7:3, 8:2, 9:1, 10:0	100-250°C
	Nylon		
	Nhân chai		

2.4.1. Đo các thông số đường kính, khối lượng, độ dài, thể tích và tỷ trọng viên nén

Sau khi tạo ra các mẫu viên nén, tiến hành cân và đo các thông số vật lý của viên đốt.

- Đường kính: bằng đường kính trong của ống trụ máy nén và pít-tông trụ tròn (cm)

- Khối lượng: cân bằng cân khối lượng chuẩn (g)

- Độ dài: dùng thước để đo chiều dài viên đốt thu được (cm).

- Thể tích: xác định thông qua công thức trụ tròn với đường kính và độ dài viên đốt

$$V=\pi \cdot r^2 \cdot h \text{ (m}^3\text{)}$$

trong đó: r: bán kính viên đốt (m); h: chiều dài viên đốt (m).

- Tỷ trọng: xác định thông qua khối lượng, đường kính và chiều dài viên đốt

$$\rho = m/V \text{ (kg/m}^3\text{)}$$

trong đó: m: khối lượng viên đốt sau khi nén (kg); V: thể tích viên đốt (m³).

2.4.2. Phương pháp đo độ ẩm

Một phần mẫu lấy từ mẫu viên đốt được sử dụng để đo độ ẩm của viên đốt. Đánh số các mẫu lấy được bằng cân khối lượng chuẩn 4 số (đơn vị gram) để xác định khối lượng đầu vào trước khi mang đi sấy. Mẫu đo sẽ được cho vào chén sứ và được mang đi sấy ở nhiệt độ 105°C trong tủ sấy. Sau khi mẫu đã được sấy trong vòng 24 giờ, làm nguội trong tủ hút ẩm và đem đi cân xác định khối lượng. Thông qua máy sấy, ẩm độ được xác định bằng công thức:

$$\% \text{ Ẩm độ} = \left| \frac{(M_2 - M_1)}{M_1} \right| \times 100$$

trong đó: M₁: khối lượng mẫu trước khi sấy (g); M₂: khối lượng mẫu sau sấy (g).

2.4.3. Phương pháp đo độ hao hụt khối lượng sau rung lắc (Mechanical durability theo rung)

Mẫu sau sấy được để ngoài môi trường 24 giờ, sau đó cho vào máy rung trong thời gian chuẩn hóa.

Công thức:

$$\% \text{ hao hụt} = ((M_{\text{trước}} - M_{\text{sau}})/M_{\text{trước}}) \times 100\%;$$

$$\text{Độ bền} = 100 - \% \text{ hao hụt.}$$

2.4.4. Phương pháp đo độ tro (ISO 21656:2021)

Nung chén sứ rỗng đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 550±10°C trong khoảng 60 phút và giữ ở nhiệt độ này tối thiểu 120 phút. Khối lượng chén rỗng được ký hiệu M₁.

Cân chén chứa mẫu đã sấy (khối lượng M₂), đưa vào tủ nung 500-550°C trong 6-7 giờ đến khối lượng không đổi (M₃). Làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân.

Thông qua máy nung, độ tro được xác định bằng công thức:

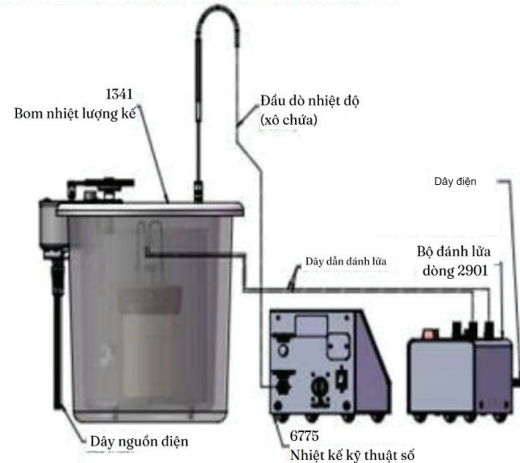
$$\% \text{ Tro} = \frac{M_3 - M_1}{M_2 - M_1} \times 100\%$$

trong đó: M₁ - Khối lượng chén nung rỗng (gram); M₂ - Khối lượng chén chứa mẫu sau sấy (gram); M₃ - Khối lượng chén chứa mẫu sau nung (gram).

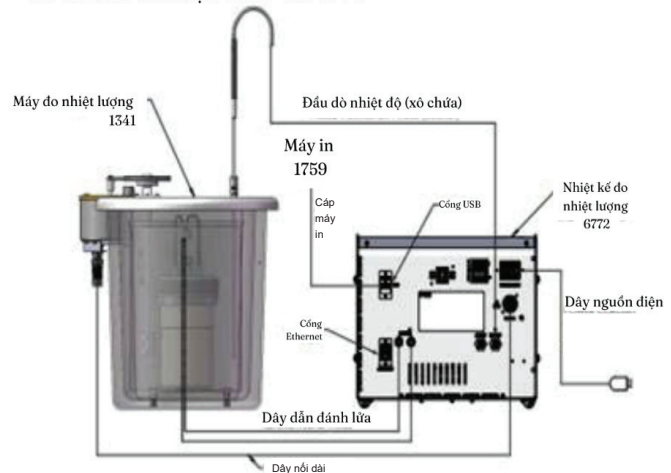
2.4.5. Phương pháp phân tích nhiệt trị

Quá trình đo thông số nhiệt trị được thực hiện bằng thiết bị Parr 1341 (hình 2).

Sơ đồ đấu nối điện 1341 với 6775 & 2901



Sơ đồ đấu nối điện 1341 với 6772



Hình 2. Thiết bị Parr 1341. Nguồn: Parr Instrument Co. [8].

Lấy khoảng 1 gram mẫu viên đốt để đo nhiệt trị. Phương pháp đo được xác định theo thiết bị Parr áp dụng quy trình và hàm công thức như tài liệu tham khảo [8].

Nhiệt trị của mẫu viên đốt được xác định bằng công thức:

$$H_g = \frac{t \cdot W - e_1 - e_2 - e_3}{m}$$

trong đó:

W: hằng số bom

H: nhiệt lượng của viên chuẩn Benzoic = 6318 cal/gram;

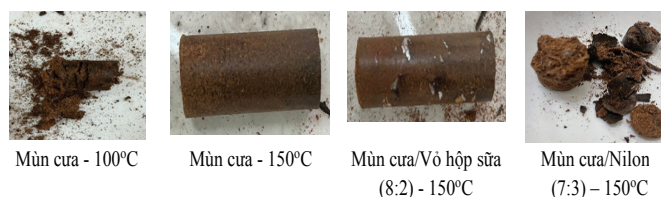
m: khối lượng của viên chuẩn Benzoic (gram);

- t: giá trị net của nhiệt độ tăng ($^{\circ}\text{C}$)= $t_c - t_a - r_1 \cdot (b-a) - r_2 \cdot (c-b)$;
 e_1 : hiệu chỉnh nhiệt của axit nitric (HNO_3)= c_1 nếu 0,0709 N
 alkali được dùng chuẩn độ;
 e_2 : hiệu chỉnh nhiệt của axit sulfuric
 (H_2SO_4) = (13,7) (c_2) (m);
 e_3 : hiệu chỉnh nhiệt của dây mồi
 = (2.3) khi dùng dây Parr 45C10 nickel chromium hoặc
 = (2.7) khi dùng dây No.34 B và S.gage iron;
 a: Thời gian cháy;
 b: Thời gian khi nhiệt đạt 60% tổng quá trình tăng nhiệt
 (chính xác tới 0,1 phút);
 c: Thời gian tốc độ tăng nhiệt là hằng số (sau thời gian
 tăng nhiệt);
 ta: Nhiệt tại thời điểm cháy;
 tc: Nhiệt tại thời điểm c;
 r1: Tốc độ (đơn vị nhiệt/phút) ở thời điểm nhiệt tăng - 5
 phút trước khi cháy;
 r2: Tốc độ (đơn vị nhiệt/phút) ở thời điểm 5 phút sau cùng.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu phối trộn và nhiệt độ ép đến khả năng tạo hình của viên đốt

Máy nén có ống trụ tròn với đường kính trong 2 cm, do đó viên nén tạo ra có đường kính 2 cm. Qua 10 lần thực nghiệm, khối lượng nguyên liệu nén đầu vào hợp lý là 15 g để tránh sự cố khi nén và hiện tượng nứt vỡ khi nén ở áp lực cao. Thời gian cấp nhiệt phù hợp khi nén là 15 phút. Các viên nén nhiên liệu sau khi thử nghiệm với các điều kiện nhiệt độ và tỷ lệ phối trộn khác nhau được thể hiện trong hình 3.



Hình 3. Hình ảnh viên nén nhiên liệu thực nghiệm.

Khi dùng mùn cưa, viên nén tạo hình tốt ở 150, 200 và 250°C, nhưng không thành hình ở 100°C.

Khi trộn mùn cưa với vỏ sữa/nylon tỷ lệ 7:3, mẫu dễ nứt ở mọi nhiệt độ; thay đổi thành 8:2, mẫu có hình khối tốt ở 150 và 200°C, nhưng nứt ở 100 và 250°C.

Với mùn cưa và nylon, viên nén đẹp ở 150°C nhưng dễ nứt ở nhiệt độ khác. Đối với mùn gỗ, mẫu có khối tốt từ 110-150°C. Khi trộn mùn gỗ với nhãn chai, tỷ lệ 8:2 dễ nứt ở mọi nhiệt độ, còn tỷ lệ 9:1 tạo hình đẹp ở 130-150°C khi nhãn chai tan chảy, làm chất kết dính.

3.2. Đánh giá các thông số: độ dài, khối lượng, thể tích và tỷ trọng của viên đốt

Dựa theo tiêu chuẩn của Nhật Bản, Hàn Quốc và châu Âu, nhóm tác giả đưa ra nhận xét về độ dài, khối lượng, thể tích và tỷ trọng của viên đốt.

Các bộ tiêu chuẩn tham chiếu bao gồm: Hàn Quốc (2019), Nhật Bản (JWPA, 2023) và châu Âu (EN/ENplus). Trong đó: Châu Âu và Nhật Bản: chủ yếu cho viên nén đốt dân dụng/nhà ở (yêu cầu tro thấp, đo mật độ khối theo thùng đo). Hàn Quốc và một số bộ EU công nghiệp: dải thông số rộng hơn, phù hợp lò hơi công nghiệp/đồng đốt (bảng 5).

Lưu ý: khi tro cao hơn mức JP/EU dân dụng nhưng các chỉ số khác đạt, sản phẩm vẫn phù hợp công nghiệp/đồng đốt.

Bảng 5. Tổng hợp kết quả thông số đánh giá chất lượng viên nén so với các tiêu chuẩn nước ngoài.

TT	Thông số	Loại mẫu										Tiêu chuẩn về độ dài (mm) của nước ngoài								
		Mùn cưa					Mùn gỗ					Hàn Quốc [9]			Nhật Bản [11]			Châu Âu [10]		
		Mc-150	McV-150	McN-150	Mc-200	McV-200	Mg-110	Mg-120	Mg-130	Mg-150	MgNC-120	MgNC-150	L1	L2	L3	LA	LB	LC	L1	L2
1	Chiều dài (mm)	43,6	49,2	51	35,6	37,4	34	24	44	40	40	27	3,15<L≤ 41			3,15≤L≤10, L>10 mm tối đa 1%, dài nhất 45 mm			3,15<L≤ 41	
2	Độ ẩm (%)	1,9	2,7	3,2	2,3	1,3	1,2	0,8	1,3	1,1	1,1	0,9	≤10%			≤10%			≤10%	
3	Độ tro (%)	2,98	6,55	3,35	3,37	5,39	2,60577	2,70186	2,5788	2,7321	2,5922	2,9963	1,5%	3%	5%	0,5%	1%	1%	0,7%	1,5%
4	Tỷ trọng (kg/m³)	804,5	712	747	803	798	843	664,3	724,1	638,0	717,8	944,5	≥600	≥550	≥500	650≤BD≤750			≥600	≥600

Chú thích: L1: Tiêu chuẩn loại 1, L2: Tiêu chuẩn loại 2, L3: Tiêu chuẩn loại 3, LA: Tiêu chuẩn loại A, LB: Tiêu chuẩn loại B, LC: Tiêu chuẩn loại C, Đơn vị tỷ trọng: Kg/m³, Đơn vị chiều dài: mm.

3.2.1. Độ dài viên đốt

Mẫu viên đốt chỉ dùng mùn cưa ép ở 150°C có độ dài vượt tiêu chuẩn Hàn Quốc [9] và châu Âu [10] nhưng đạt tiêu chuẩn Nhật Bản [11]. Khi kết hợp mùn cưa với vỏ hộp sữa ép ở 150°C, độ dài vượt tiêu chuẩn, nhưng ở 200°C lại đạt tiêu chuẩn do vỏ hộp nóng chảy tốt hơn. Mẫu mùn cưa và nylon ép ở 150°C có độ dài vượt tiêu chuẩn vì nylon không nóng chảy hoàn toàn. Về độ đồng đều, mẫu mùn cưa ép ở 150°C có độ lệch chuẩn cao nhất (0,7), trong khi mẫu ép ở 200°C đồng đều hơn (0,2). Đối với viên nén mùn gỗ, hầu hết đạt tiêu chuẩn 3 thị trường, trừ mẫu nén ở 120°C chỉ đạt tiêu chuẩn Nhật Bản [11]. Mẫu mùn gỗ kết hợp nhãn chai nén ở 100 và 120°C, đều đạt tiêu chuẩn của 3 thị trường.

3.2.2. Khối lượng và thể tích viên đốt

Mẫu mùn cưa và nylon có thông số lớn nhất, trong khi mẫu mùn cưa ở 200°C có thông số nhỏ nhất do nylon nóng chảy tốt ở 150°C, còn ở 200°C nguyên liệu bị cháy nhiều. Mẫu mùn cưa ép ở 150°C có độ lệch chuẩn cao nhất (1,9), trong khi mùn cưa/vỏ hộp sữa ở 150°C có độ đồng đều tốt nhất với độ lệch chuẩn thấp nhất (0,7). Sự khác biệt thông số giữa các mẫu là do hao hụt nguyên liệu, độ chính xác của cân và khác biệt về lực, tốc độ nén. Các mẫu viên đốt từ mùn gỗ khác biệt về thể tích, khối lượng do nhiệt độ, lực nén, với khối lượng dao động từ 5 đến 10 gram; lực nén cao làm giảm thể tích viên nén. Đối với mẫu mùn gỗ và nhãn chai, thể tích lớn hơn do lượng nylon còn lại. Mẫu nén ở 100°C có khối lượng lớn hơn và tỷ trọng cao hơn mẫu ở 120°C nhờ lực nén lớn và tốc độ gia nhiệt chậm.

3.2.3. Tỷ trọng viên đốt

Các mẫu mùn cưa nén ở 150 và 200°C đạt tiêu chuẩn loại 1 của Hàn Quốc [9] và châu Âu [10], nhưng không đạt tiêu chuẩn Nhật Bản [11] do tỷ trọng vượt ngưỡng. Mẫu mùn cưa kết hợp vỏ hộp sữa nén ở 150°C phù hợp với cả ba tiêu chuẩn Hàn Quốc [9], châu Âu [10] và Nhật Bản [11], nhưng mẫu nén ở 200°C vượt ngưỡng Nhật Bản [11]. Mẫu mùn cưa kết hợp nylon nén ở 150°C đạt cả ba tiêu chuẩn. Các mẫu mùn cưa dao động từ 712 đến 804,5 kg/m³, đạt tiêu chuẩn Hàn Quốc [9] và châu Âu [10], nhưng không đạt tiêu chuẩn Nhật Bản [11] ở một số mẫu do chênh lệch tỷ trọng. Các mẫu nén ở các nhiệt độ 110, 120 và 130°C đạt tiêu chuẩn Nhật Bản [11], nhưng mẫu ở 150°C vượt ngưỡng do nén tốt hơn ở nhiệt độ cao. Các mẫu mùn gỗ kết hợp nhãn chai nén ở 100°C

và 120°C đạt tiêu chuẩn Hàn Quốc [9] và châu Âu [10], nhưng mẫu ở 100°C vượt ngưỡng Nhật Bản [11], trong khi mẫu ở 120°C thấp hơn ngưỡng. Tỷ trọng giữa các mẫu không đồng đều, có chênh lệch lớn.

3.3. Đánh giá đáp ứng tiêu chuẩn và định hướng ứng dụng

Tổng hợp kết quả chính: độ ẩm tất cả mẫu <10%; độ bền phần lớn ≥97% (đa số đạt loại 1 Hàn Quốc); tỷ trọng viên 638-945 kg/m³ (lưu ý phân biệt với mật độ khối); nhiệt trị đa số mẫu ≥16,85-24,68 MJ/kg (đạt/vượt Hàn Quốc - EU; nhiều cấp phối đạt loại A/B Nhật); độ tro: nhóm mùn cưa + vỏ hộp sữa và một số mẫu mùn cưa 200°C vượt ngưỡng JP/EU dân dụng nhưng đáp ứng loại 2-3 Hàn Quốc.

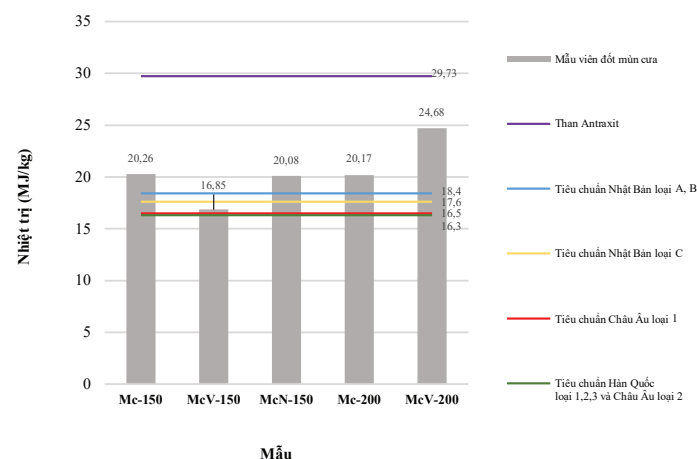
- Cấp phối 8:2 (mùn cưa/vỏ hộp sữa) ở 150-200°C: đề xuất cho lò hơi công nghiệp/đồng đốt; kiểm soát tro bằng giới hạn tạp nhôm của vỏ hộp sữa.

- Cấp phối 9:1 (mùn gỗ/nhãn chai) ở 130-150°C: tạo hình tốt; có thể hướng tới dân dụng nếu tiếp tục giảm tro bằng tiền xử lý.

- Mùn gỗ 110-150°C (10:0): đường cơ sở để so sánh cấp phối có chất kết dính rác.

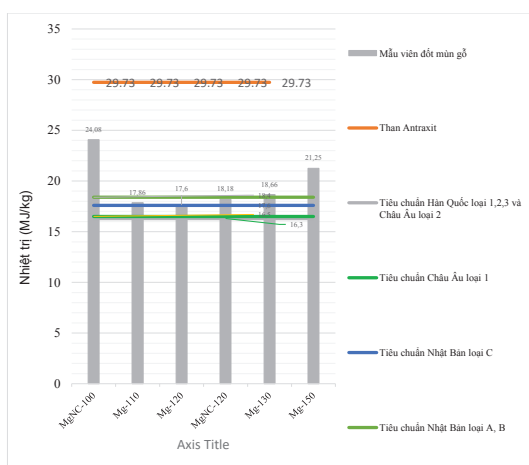
3.4. Đánh giá thông số nhiệt trị viên đốt

Sau khi có sản phẩm viên đốt từ nén ép nhiệt, nhiệt trị của viên đốt được xác định và đánh giá. Tiến hành so sánh nhiệt trị viên đốt sản phẩm với nhiệt trị của than Antraxit (29,73 MJ/kg) và nhiệt trị viên đốt tiêu chuẩn của Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11], châu Âu [10] qua biểu đồ 1 và 2.



Biểu đồ 1. So sánh nhiệt trị viên đốt mùn cưa với than Antraxit và các tiêu chuẩn Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11], châu Âu [10].

Nhận xét: Các mẫu mùn cưa, mùn cưa kết hợp vỏ hộp sữa và nylon nén ép ở 150°C và 200°C có nhiệt trị cao hơn 1,02 đến 1,5 lần so với tiêu chuẩn Hàn Quốc [9] và châu Âu [10], phù hợp với các tiêu chuẩn này. Tuy nhiên, mẫu mùn cưa kết hợp vỏ hộp sữa nén ép ở 150°C không đạt tiêu chuẩn Nhật Bản [11] với nhiệt trị 16,85 MJ/kg, thấp hơn tiêu chuẩn loại A, B và C của Nhật Bản [11]. Các mẫu khác đều đạt chuẩn loại A và B. Kết quả nhiệt trị thấp hơn tiêu chuẩn Nhật Bản [11] có thể do ảnh hưởng của lớp nhôm trong vỏ hộp sữa. So sánh với than antraxit, nhiệt trị của các mẫu thấp hơn, với mẫu mùn cưa kết hợp vỏ hộp sữa nén ở 200°C có nhiệt trị cao nhất là 24,68 MJ/kg, nhưng vẫn thấp hơn 1,2 lần so với than antraxit, và mẫu nén ở 150°C thấp hơn 1,8 lần.



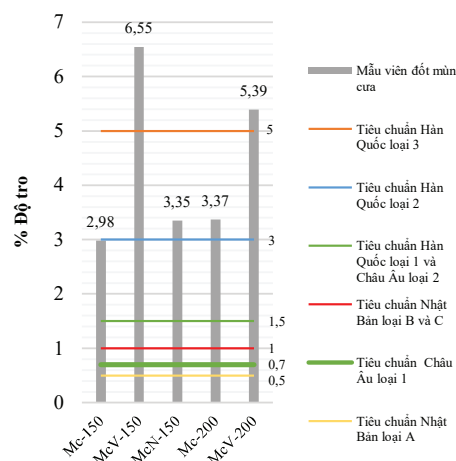
Biểu đồ 2. So sánh nhiệt trị viên đốt mùn gỗ với than Antraxit và các tiêu chuẩn Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11], châu Âu [10].

Nhận xét: Các mẫu mùn gỗ và mùn gỗ kết hợp nhãn chai nén ép ở nhiệt độ từ 100 đến 150°C đều đạt giá trị nhiệt trị cao hơn tiêu chuẩn của Hàn Quốc [9] và châu Âu [10] (từ 1,06 đến 1,5 lần).

So với tiêu chuẩn Nhật Bản [11], mẫu mùn gỗ nén ở 120°C không đạt loại C, mẫu nén ở 110°C chỉ đạt loại B và không đạt loại A. Mẫu mùn gỗ kết hợp nhãn chai nén ở 120°C cũng không đạt loại A nhưng vượt loại B. Các mẫu còn lại đều đạt tiêu chuẩn loại A Nhật Bản [11], cao hơn từ 1,014 đến 1,31 lần so với tiêu chuẩn. Tuy nhiên, nhiệt trị của các mẫu này vẫn nhỏ hơn so với than antraxit, với mẫu có nhiệt trị cao nhất (24,08 MJ/kg) nhỏ hơn 1,24 lần so với than, và mẫu có nhiệt trị thấp nhất (17,42 MJ/kg) nhỏ hơn 1,7 lần so với than.

3.5. Đánh giá thông số độ tro viên đốt

Sau khi có sản phẩm viên đốt từ nén ép nhiệt, ta đo và đánh giá nhiệt trị của viên đốt. Tiến hành so sánh độ tro đốt sản phẩm với độ tro viên đốt tiêu chuẩn của Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11], châu Âu [10].



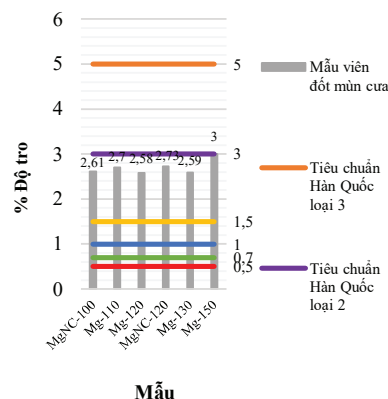
Biểu đồ 3. So sánh độ tro viên đốt mùn cưa với các tiêu chuẩn Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11] và châu Âu [10].

Kết quả biểu đồ 3 cho thấy, mẫu viên đốt từ mùn cưa nén ở 150°C có tỷ lệ tro dưới 3%, vượt tiêu chuẩn Nhật Bản [11] và châu Âu [10], nhưng đạt tiêu chuẩn loại 2 của Hàn Quốc [9].

Ở 200°C, tỷ lệ tro của viên nén mùn cưa cao gấp 3,37 lần tiêu chuẩn Nhật Bản [11] và 2,25 lần tiêu chuẩn châu Âu [10], không đạt loại 2 nhưng đạt loại 3 của Hàn Quốc [9], với tỷ lệ xấp xỉ 3,37%. Như vậy, cả hai mẫu mùn cưa nén ở 150 và 200°C không đáp ứng tiêu chuẩn nào của Nhật Bản [11] và châu Âu [10].

Đối với mẫu kết hợp mùn cưa và vỏ hộp sữa, tỷ lệ tro nén ở 150 và 200°C đều vượt tiêu chuẩn của Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11] và châu Âu [10], với tỷ lệ lần lượt là 6,5521 và 5,3874%, không đạt tiêu chuẩn nào.

Mẫu mùn cưa kết hợp nylon nén ở 150°C có tỷ lệ tro 3,3457%, đạt tiêu chuẩn loại 3 của Hàn Quốc [9], cao gấp 3,35 lần so với tiêu chuẩn Nhật Bản [11] và 2,2 lần so với tiêu chuẩn châu Âu.

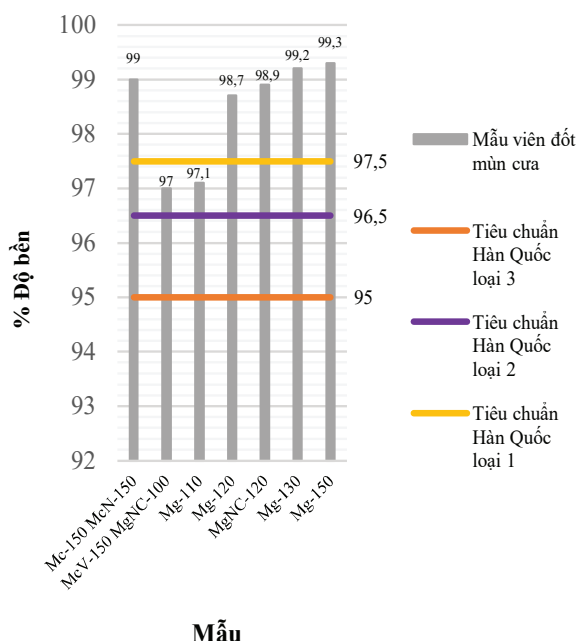


Biểu đồ 4. So sánh độ tro viên đốt mùn gỗ với các tiêu chuẩn Hàn Quốc [9], Nhật Bản [11] và châu Âu [10].

Kết quả biểu đồ 4 cho thấy, các mẫu sử dụng mùn gỗ làm nguyên liệu chính đều có phần trăm độ tro dưới 3%, đạt tiêu chuẩn loại 2 ($\leq 3\%$) và loại 3 ($\leq 5\%$) của Hàn Quốc [9]. Tuy nhiên, chúng không đạt tiêu chuẩn của Nhật Bản [11] và châu Âu [10], với độ tro cao hơn từ 2,58 đến 3 lần so với tiêu chuẩn Nhật Bản [11] và từ 1,72 đến 2 lần so với tiêu chuẩn châu Âu [10]. Đối với mẫu kết hợp mùn gỗ với nhãn chai, độ tro của viên nén ép ở 100 và 120°C cũng đạt tiêu chuẩn loại 2 và loại 3 của Hàn Quốc [9], nhưng vẫn không đáp ứng các tiêu chuẩn của Nhật Bản [11] và châu Âu [10].

3.6. Đánh giá thông số độ bền viên đốt

Sau khi có sản phẩm viên đốt từ nén ép nhiệt, ta tiến hành đo và đánh giá độ bền của viên đốt qua máy rung lắc và so sánh với tiêu chuẩn của Hàn Quốc [9].



Biểu đồ 5. So sánh độ hao hụt khối lượng sau rung lắc viên đốt với tiêu chuẩn Hàn Quốc [9].

Kết quả biểu đồ 5 cho thấy, đa phần các mẫu viên đốt từ mùn cưa và mùn gỗ đều đạt tiêu chuẩn độ bền loại 1 của Hàn Quốc [9] là $\geq 97,5\%$. Mẫu McV-150, McN-150 và MgNC-100 chỉ đạt được loại 2, 3 của Hàn Quốc [9] ($\geq 96,5\%$). Về cơ bản, độ bền của các mẫu viên đốt đều $\geq 97\%$ nên trong quá trình vận chuyển có sự va đập dẫn đến sự thay đổi về kết cấu viên đốt thì hoàn toàn chấp nhận được mức hao hụt $\leq 3\%$ khối lượng như kết quả độ bền đã phân tích.

3.7. Ảnh hưởng môi trường và phát thải

Trong quá trình đốt, thành phần nhựa (PE, PP, PET) và vỏ hộp sữa (cấu tạo từ giấy, nhựa PE và lớp nhôm) có thể sinh ra nhiều loại khí thải ảnh hưởng đến môi trường. Các chất phát thải bao gồm khí axit (HCl, HF), hydrocarbon, NO_x, SO_x và bụi mịn. Mức độ phát thải phụ thuộc vào tỷ lệ phối trộn nguyên liệu, điều kiện nhiệt độ - oxy trong quá trình cháy, cũng như hiệu quả của hệ thống xử lý khí thải được áp dụng.

Để giảm thiểu các tác động tiêu cực, cần có các biện pháp tiên xử lý phù hợp. Một số giải pháp được đề xuất gồm: tách hoặc giảm thiểu lớp nhôm trong vỏ hộp sữa; tăng cường công đoạn rửa để loại bỏ tạp chất vô cơ; đồng thời kiểm soát kích thước hạt nguyên liệu nhằm hạn chế lượng tro sinh ra trong quá trình đốt.

Song song đó, việc đo kiểm và đánh giá phát thải là rất quan trọng. Cần tiến hành phân tích thành phần nguyên tố (CHNS, kim loại nặng), thực hiện các thử nghiệm đốt ở quy mô pilot và đo lường khí thải phát sinh (CO, NO_x, SO₂, HCl, HF, VOC, bụi). Bên cạnh đó, cần xác định lượng tro bay và tro đáy, đồng thời đối chiếu kết quả với các ngưỡng quy định của thị trường mục tiêu để đảm bảo sản phẩm đầu ra đáp ứng yêu cầu môi trường.

Từ các phân tích trên có thể rút ra kết luận: những cấp phối nguyên liệu có hàm lượng tro cao không phù hợp cho phân khúc dân dụng do nguy cơ phát thải lớn và khó kiểm soát. Thay vào đó, chúng nên được ưu tiên ứng dụng trong các hệ thống công nghiệp hoặc đồng đốt, nơi đã có sẵn thiết bị xử lý khí thải hiện đại, đảm bảo an toàn và giảm thiểu rủi ro môi trường.

4. Kết luận

Nghiên cứu chứng minh khả năng sản xuất viên nén RDF từ mùn cưa, mùn gỗ (cành) và một phần rác thải sinh hoạt (vỏ hộp sữa, nilon, nhãn chai) với khối lượng nạp 15 g/viên, dải nhiệt nén 110-200°C, thời gian giữ 15 phút. Cấp phối phù hợp là 8:2 (mùn cưa/chất kết dính rác) và 9:1 (mùn gỗ/nhãn chai), cho tạo hình đẹp và liên kết tốt. Kết quả đo cho thấy: ẩm $< 10\%$, độ bền $\geq 97\%$, nhiệt trị đạt 16,85-24,68 MJ/kg; độ tro của một số cấp phối cao hơn chuẩn Nhật/EU dân dụng nhưng đáp ứng

tiêu chuẩn Hàn Quốc và phù hợp ứng dụng công nghiệp/đồng đốt. Hướng tiếp theo là giảm tro (tách lớp nhôm hộp sữa, tối ưu rửa/loại tạp), chuẩn hóa đo mật độ khối và chuẩn hóa phép đo độ bền theo ISO 17831-1 để tăng khả năng so sánh quốc tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Gendebien, A. Leavens, K. Blackmore, et al. (2003), "Refuse derived fuel, current practice and perspectives", *European Commission - Directorate General Environment*, pp.11-13.
- [2] T.T. Thao (2023), "Wood pellets: An environmentally friendly solution", <https://sinhquyennghien.com.vn/tin-tuc/Vien-nen-go-giai-phap-than-thien-voi-moi-truong-20yyxk>, accessed 30 June 2025 (in Vietnamese).
- [3] S.G. Nosenzo, R. Kelman (2025), "From fields to fuel: Analyzing the global economic and emissions potential of agricultural pellets, informed by a case study", *arXiv*, DOI: 10.48550/arXiv.2508.12457
- [4] MK Resources Governance (2025), "Promoting cooperation in wood pellet production, trade, and sustainable supply chain development between Vietnam and Japan", <https://www.mkresourcesgovernance.org/en/2025/05/23/thuc-day-hop-tac-san-xuat-thuong-mai-va-phat-trien-ben-vung-chuoi-cung-ung-vien-nen-go-giua-viet-nam-va-nhat-ban>, accessed 30 June 2025 (in Vietnamese).
- [5] Forest Trends & Vietnam Timber and Forest Products Association (2024), *Vietnam Export Wood Pellet and Woodchip in The First Half of 2024* (in Vietnamese).
- [6] D. Huong (2025), "Wood pellets: Standardizing production to meet market demand", *Government News*, <https://baohinhphu.vn/vien-nen-go-chuan-hoa-san-xuat-de-dap-ung-nhu-cau-thi-truong-102250711140753036.htm>, accessed 1 September 2025 (in Vietnamese).
- [7] R. García, M.D.P. Vázquez, F. Rubiera, et al. (2021), "Co-pelletization of pine sawdust and refused derived fuel (RDF) to high-quality waste-derived pellets", *Journal of Cleaner Production*, **328**, DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.129635.
- [8] Parr Instrument Co. (2008), *1341 Plain Jacket Bomb Calorimeter*, Operating Instruction Manual, No. 204M.
- [9] Korean Pellet Standard (2019), *Korean Wood Pellet Standard*, <http://surl.li/rgzxak>, accessed 30 July 2025.
- [10] European Pellet Standard (2019), *European Wood Pellet Standard*, <http://surl.li/onirco>, accessed 30 July 2025.
- [11] Japanese Pellet Standard (2023), *Japanese Wood Pellet Standard*, <http://surl.li/hglias>, accessed 30 July 2025.

Ứng dụng chuối chín ở các cấp độ khác nhau trong sản xuất bánh mì

Hà Thị Dung^{1*}, Nguyễn Thùy Linh¹, Khuất Thị Minh Tâm¹, Vũ Phương Lan¹,
Trần Ý Đoan Trang², Cao Thị Huệ³

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, 298 Cầu Diễn, phường Tây Tựu, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Công nghệ HaUI, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, 298 Cầu Diễn, phường Tây Tựu, Hà Nội, Việt Nam

³Khoa Hóa và Môi trường, Trường Đại học Thủy Lợi, 175 Tây Sơn, phường Kim Liên, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 27/7/2025; ngày chuyển phản biện 8/8/2025; ngày nhận phản biện 25/8/2025; ngày chấp nhận đăng 28/8/2025

Tóm tắt:

Chuối là loại quả phổ biến tại Việt Nam nhưng có tỷ lệ tổn thất sau thu hoạch cao do chín nhanh và khó bảo quản khi chín. Nghiên cứu này nhằm ứng dụng chuối tiêu (*Musa acuminata* AAA var. Cavendish) ở ba mức chín khác nhau dựa trên chỉ số màu vỏ (Peel Colour Index - PCI): PCI 6 (vỏ chín vàng), PCI 7 (vỏ có một vài đốm đen - chín trứng cuốc) và PCI 7+ (trên 80% vỏ bị thâm đen) vào sản xuất bánh mì ngọt và đánh giá ảnh hưởng của mức độ chín của chuối đến chất lượng bánh. Chuối được nghiền thành puree và thêm vào công thức bánh mì ngọt. Puree chuối và các mẫu bánh được đánh giá chỉ tiêu hóa lý (độ ẩm, pH, đường tổng, axit tổng, thể tích riêng) và cảm quan. Kết quả cho thấy, chuối ở mức chín PCI 7 có độ ẩm và hàm lượng đường cao hơn, trong khi độ axit giảm so với chuối chín PCI 6. Trong đó, chuối chín PCI 7 giúp bánh mì có màu sắc hấp dẫn, mùi vị chuối đặc trưng, cấu trúc xốp nhẹ và đạt điểm cảm quan cao nhất (8/9 điểm - rất thích). Kết quả cho thấy, trong điều kiện thí nghiệm, chuối chín PCI 7 là nguyên liệu tiềm năng cho chế biến thực phẩm, góp phần nâng cao giá trị nông sản và giảm thiểu tổn thất sau thu hoạch.

Từ khóa: bánh mì, cảm quan, chỉ tiêu hóa lý, chuối tiêu, độ chín.

Chỉ số phân loại: 2.10, 2.11, 4.1

Utilisation of bananas at different ripening stages in bread making

Thi-Dung Ha^{1*}, Thuy Linh Nguyen¹, Thi Minh Tam Khuat¹, Phuong Lan Vu¹, Y Doan Trang Tran², Thi Hue Cao³

¹Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, 298 Cau Dien Street, Tay Tuu Ward, Hanoi, Vietnam

²HaUI Institute of Technology, Hanoi University of Industry, 298 Cau Dien Street, Tay Tuu Ward, Hanoi, Vietnam

³Faculty of Chemistry and Environment, Thuyloi University, 175 Tay Son Street, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam

Received 27 July 2025; revised 25 August 2025; accepted 28 August 2025

Abstract:

Bananas are a popular fruit in Vietnam but experience high post-harvest losses due to rapid ripening and limited storability after ripening. This study aimed to investigate the use of Cavendish bananas (*Musa acuminata* AAA var. Cavendish) at three ripeness levels based on the peel colour index (PCI): PCI 6 (yellow ripe peel), PCI 7 (fully ripe bananas with scattered spots on the peel), and PCI 7+ (over 80% of the peel blackened) in sweet bread production, and evaluate the effects of banana ripeness on bread quality. Bananas were processed into a purée and incorporated into sweet bread formulation. Banana purée and bread samples were evaluated for physicochemical properties (moisture content, pH, total sugar, total acidity, and specific volume) as well as sensory attributes. The results showed that PCI 7 ripe bananas at higher ripeness levels had greater moisture and sugar contents, whereas acidity decreased than that of PCI 6 ripe bananas. In particular, bread with PCI 7 ripe bananas has attractive colour, a distinctive banana flavour, a light and spongy structure, and achieve the highest liking score (8/9 points, corresponding to “liked very much”). The results indicated that PCI 7 ripe bananas, under experimental conditions, represent a potential ingredient for food processing, contributing to increasing the value of agricultural products and minimising post-harvest losses.

Keywords: banana, bread, physicochemical properties, ripeness level, sensory attributes.

Classification numbers: 2.10, 2.11, 4.1

*Tác giả liên hệ: Email: dunght1@haui.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Chuối (*Musa spp.*) là một trong những loại trái cây nhiệt đới phổ biến nhất trên thế giới, đóng vai trò quan trọng trong an ninh lương thực và phát triển kinh tế tại nhiều quốc gia, bao gồm Việt Nam [1]. Tuy nhiên, đặc điểm dễ chín nhanh và khó bảo quản sau khi chín khiến chuối trở thành một trong những loại trái cây có tỷ lệ tổn thất sau thu hoạch cao [2]. Trong đó, chuối chín quá độ (chín cấp độ 7 trở lên theo thang đo màu của vỏ PCI - với vỏ bắt đầu có đốm thâm đen, thịt quả mềm thường bị loại bỏ khỏi chuối cung ứng tiêu dùng do không phù hợp thị hiếu người tiêu dùng [3, 4]. Ước tính, khoảng 8-20% tổng sản lượng chuối bị lãng phí ở giai đoạn này, tương đương khoảng 100 kg chất thải trên mỗi tấn chuối sản xuất [5].

Mặt khác, nghiên cứu cho thấy, chuối chín quá độ vẫn giữ giá trị dinh dưỡng cao, chứa nhiều vitamin C, khoáng chất (K, Na, Mg), các hoạt chất có hoạt tính sinh học cao như polyphenols, flavonoids và đường tự nhiên (sucrose, fructose và glucose) [6]. Hàm lượng đường trong chuối tăng gấp 7-10 lần khi chín nhờ quá trình thủy phân tinh bột [6, 7]. Điều đó mở ra tiềm năng tận dụng loại nguyên liệu này làm chất tạo ngọt tự nhiên trong chế biến thực phẩm. Việc ứng dụng chuối chín quá độ vào thực phẩm như bánh mì ngọt không chỉ giúp giảm thiểu lãng phí thực phẩm, mà còn nâng cao giá trị sử dụng của nông sản, phù hợp với mục tiêu phát triển thực phẩm bền vững và kinh tế tuần hoàn trong nông nghiệp.

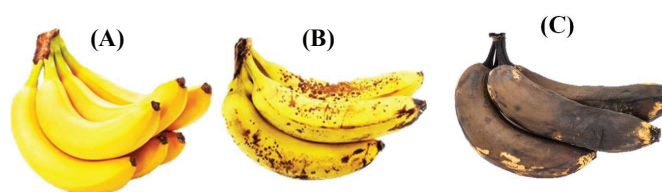
Bánh mì là một trong những thực phẩm có từ lâu đời và được tiêu thụ rộng rãi trên toàn thế giới, với mức tiêu thụ trung bình từ 59 đến 70 kg mỗi năm trên đầu người [8]. Trong chế biến bánh mì, đường kính trắng thường được sử dụng như nguyên liệu tạo ngọt và hỗ trợ quá trình lên men. Việc sử dụng hàm lượng đường có sẵn trong chuối chín tự nhiên để chế biến thực phẩm không chỉ góp phần giảm phụ thuộc vào đường tinh luyện, mà còn nâng cao hàm lượng dinh dưỡng và hương vị tự nhiên cho sản phẩm. Trong những năm gần đây, trong nước có nhiều nghiên cứu hơn về ứng dụng chuối chín trong chế biến thực phẩm như rượu chuối [9], chuối sấy dẻo [10], nước chuối [11], nhưng các công bố về ứng dụng chuối chín trong chế biến các loại bánh còn hạn chế.

Trên cơ sở đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung puree chuối ở các mức độ chín khác nhau đến chỉ tiêu hóa lý và cảm quan của bánh mì. Kết quả thu được có thể đóng góp vào việc phát triển các sản phẩm thực phẩm thân thiện với môi trường, nâng cao giá trị gia tăng cho chuối - một nông sản bản địa - đồng thời góp phần giảm thiểu lãng phí thực phẩm trong chuỗi cung ứng nông nghiệp.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu sử dụng

Nghiên cứu sử dụng chuối tiêu (*Musa acuminata* AAA var. Cavendish) được thu mua tại chợ đầu mối Bắc Từ Liêm, Hà Nội. Chuối được thu mua tại thời điểm đạt độ chín vỏ vàng PCI 6 (A) theo phân loại màu sắc của vỏ và tiếp tục để chín tới các độ chín vỏ trũng cuống PCI 7 (B) và chín vỏ thâm đen PCI 7+ (C) (hình 1). Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng sử dụng các nguyên liệu khác để làm bánh mì như bột mì số 11 (Interflour, Việt Nam), đường kính trắng (Việt Nam), sữa đặc (Vinamilk, Việt Nam), trứng gà (Việt Nam), bơ (Anchor, New Zealand), muối hạt nhỏ (Visaco Mặt trời, Việt Nam), dầu ăn (Tường An, Việt Nam), nấm men khô (Mauripan, Việt Nam).



Hình 1. Chuối tiêu ở các mức độ chín khác nhau: PCI 6 chín vỏ vàng (A); PCI 7 chín vỏ trũng cuống (B) và PCI 7+ chín vỏ thâm đen (C).

2.2. Công thức chế biến

Công thức chế biến bánh mì ngọt: 2 g men nở được hoạt hóa với 50 ml nước ấm, 15 g đường tinh luyện trong 10 phút. Sau khi men được hoạt hóa, hỗn hợp được trộn đều với 100 g bột mì, 0,5 g muối ăn, 7,5 g sữa đặc có đường, 2,5 g dầu ăn, 16 g trứng gà, 0,15 g axit ascorbic với máy trộn bột đa dụng Philips HR3750/00 cho tới khi bột đồng nhất. Tiếp tục chia bột thành các khối nhỏ theo kích thước khuôn bánh và được ủ trong 50 phút. Sau khi khối bột đã nở phồng, tiếp tục nướng với chế độ nhiệt độ lò trên 160°C và nhiệt độ lò dưới 140°C trong 28 phút. Bánh mì có bổ sung puree chuối được thực hiện tương tự như công thức trên, nhưng thay 50 ml nước bằng 50 g puree chuối, giảm 15 g đường tinh luyện xuống 5 g, không bổ sung thêm axit ascorbic.

2.3. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu hóa lý của puree chuối và bánh mì ngọt thành phẩm

Phương pháp đo độ ẩm: Độ ẩm của mẫu được đo bằng phương pháp sấy khô tới khối lượng không đổi ở nhiệt độ 105°C theo AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (2000) [12].

Phương pháp đo pH: Giá trị pH của mẫu được thực hiện bằng máy đo pH Mettler Toledo S220-K (SevenCompact S220, Thụy Sĩ).

Phương pháp đánh giá hàm lượng axit tổng số: Hàm lượng axit tổng số được xác định theo phương pháp chuẩn độ với dung dịch NaOH 0,1M cùng vài giọt phenolphthalein cho tới khi xuất hiện màu hồng bền theo TCVN 5483:2007 [13].

Phương pháp đánh giá hàm lượng đường hòa tan tổng số: Hàm lượng đường hòa tan tổng số được xác định bằng phương pháp phenol-axit sulfuric. Cụ thể, 1 ml mẫu sẽ được phản ứng với 1 ml dung dịch phenol 6% và 5 ml dung dịch axit sulfuric đặc trong 20 phút. Sau đó đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 490 nm bằng máy đo quang phổ Genesys 10S UV-Vis Spectrometer (Thermo Scientific, Mỹ). Glucose được sử dụng làm chất chuẩn [14].

Phương pháp đo thể tích riêng của bánh thành phẩm: Bánh mì thành phẩm được cắt theo kích thước 5×5×5 cm và tiến hành đo khối lượng bằng cân kỹ thuật 2 số lẻ Ohaus (PX3202, Mỹ). Thể tích bánh được đo bằng phương pháp hạt kê chiếm chỗ. Thể tích riêng là tỷ lệ giữa thể tích và khối lượng của bánh thu được.

Phương pháp đo màu: Màu của sản phẩm được đánh giá thông qua hệ màu CIE Lab sử dụng máy đo màu cầm tay NR-12A (Nippon Denshoku, Nhật Bản). Với giá trị độ sáng L^* có từ 0 đến 100, với hai phần không gian còn lại là giá trị a^* (từ xanh lục đến đỏ) và b^* (từ xanh dương đến vàng) [15]. Dựa trên kết quả đo màu, chỉ số hóa nâu (BI - Brown Index) được tính toán theo công thức (1):

$$BI = \frac{x - 0,31}{0,172} \times 100, \quad x = \frac{a^* + 1,75 \cdot L^*}{5,645 \cdot L^* + a^* - 3,012 \cdot b^*} \quad (1)$$

Sự khác biệt về màu sắc so với mẫu đối chứng ΔE được tính theo công thức (2):

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (2)$$

Phương pháp đánh giá cảm quan: Đánh giá cảm quan được thực hiện tại Phòng Thực hành Cảm quan, Bộ môn Công nghệ Thực phẩm, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, trong điều kiện nhiệt độ phòng duy trì ở mức $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Hệ thống chiếu sáng bằng đèn điện được bố trí đồng đều, không tạo khoảng tối, nhằm đảm bảo người thử có thể quan sát và đánh giá chính xác đặc trưng của sản phẩm. Nhóm người thử ($n=20$) gồm các tình nguyện viên là sinh viên Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, độ tuổi từ 18 đến 22, tỷ lệ nam và nữ tương đương, không có tiền sử dị ứng với thành phần sản phẩm và không sử dụng chất kích thích. Để đảm bảo tính khách quan, mẫu bánh mì sau khi nướng được để

nguội trong 2 giờ, sau đó mã hóa trước khi tiến hành thí nghiệm. Người thử được cung cấp mẫu theo trình tự ngẫu nhiên và đánh giá mức độ yêu thích dựa trên các tiêu chí về màu sắc, mùi, vị, cấu trúc và tổng thể sử dụng thang đo Hedonic 9 điểm, trong đó 1 điểm tương ứng với “cực kỳ không thích” và 9 điểm tương ứng với “cực kỳ thích” [16].

Phương pháp xử lý số liệu: Mỗi thí nghiệm đều được làm lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý tính toán sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2021. Phân tích phương sai một yếu tố (ANOVA) được xử lý bằng phần mềm PRISM 9 tại mức ý nghĩa $\alpha=0,05$.

Trước khi nghiên cứu được tiến hành, tất cả người tham gia đã được giải thích về nghiên cứu và đều đồng ý tự nguyện tham gia.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thành phần hóa lý của puree chuối tiêu nguyên liệu ở các độ chín khác nhau

Thành phần hóa lý của puree chuối tiêu nguyên liệu thay đổi khi ở các độ chín khác nhau (bảng 1). Độ ẩm của thịt quả tươi dao động từ 73 đến 80% với độ chín đo theo màu sắc của vỏ PCI 6 (vỏ chín vàng) tới PCI 7+ (trên 80% vỏ thâm đen). Sự thay đổi hàm lượng nước ảnh hưởng tới cấu trúc của thịt quả. Chuối càng chín, lượng nước trong chuối càng tăng, thịt quả càng mềm. Nguyên nhân có thể do nước là sản phẩm của quá trình hô hấp hoàn toàn ở quả tươi, cũng như do nước có thể di chuyển từ vỏ vào thịt quả trong quá trình chín. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của R.B. Watharkar và cs (2020) [6] và của S. Thaiphonit và cs (2010) [17]. Các kết quả đã chỉ ra hàm lượng nước trong chuối tăng dần từ 75 đến 80% với độ chín của quả từ PCI 6 (vỏ chín vàng) - PCI 8 (50% vỏ vàng, 50% vỏ thâm đen) [6, 17].

Bảng 1. Chỉ tiêu hóa lý của puree chuối tiêu nguyên liệu ở các độ chín khác nhau.

Các chỉ tiêu	Puree chuối tiêu chín cấp độ PCI 6	Puree chuối tiêu chín cấp độ PCI 7	Puree chuối tiêu chín cấp độ PCI 7+
Độ ẩm, %	73,86±0,04 ^a	74,63±0,02 ^b	79,48±0,09 ^c
Hàm lượng đường hòa tan tổng, %	34,01±0,63 ^a	45,71±0,90 ^b	43,24±0,12 ^c
Hàm lượng axit tổng số, %	3,07±0,03 ^a	2,45±0,01 ^b	2,23±0,03 ^c
pH	4,17±0,01 ^a	4,83±0,01 ^b	5,32±0,01 ^c
Chỉ số hóa nâu (BI)	46,31±1,50 ^a	46,35±1,75 ^a	55,81±6,53 ^b

Giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có nghĩa ($p<0,05$).

Hàm lượng đường hòa tan tổng số trong chuối tăng đáng kể từ 34,01 lên 45,71% từ độ chín PCI 6 sang PCI 7 khi quả đạt độ chín cực đại, quả trở nên ngọt hơn. Kết quả này tương đồng với kết quả tìm thấy trong nghiên cứu của J.W. Kim và cs (2013) [18] với hàm lượng đường hòa tan tổng số tăng từ 39 lên 44% ở cùng độ chín. Tuy nhiên khi tiếp tục để quả chín tiếp tới PCI 7⁺ thì hàm lượng đường hòa tan tổng số lại giảm xuống một cách đáng kể (45,71 xuống 43,24%) do quá trình hô hấp của quả.

Tỷ lệ đường và axit có liên quan chặt chẽ tới hương vị của quả khi chín. Độ chua của quả được thể hiện thông qua giá trị đo pH và hàm lượng axit hữu cơ tổng số. Độ chua giảm nhẹ khi chín với hàm lượng axit tổng số giảm nhẹ từ 3,07% xuống 2,23% khi quả càng chín từ PCI 6 sang PCI 7⁺, giảm hơn 20%, tương đương với kết quả tìm thấy trong nghiên cứu của S. Thaiphanit và cs (2010) [17] (giảm từ 3,47% xuống 1,92% khi tăng độ chín của chuối từ PCI 6 tới PCI 8). Hơn nữa, nghiên cứu đã chỉ ra rằng các axit chính trong chuối là citric, malic và oxalic [19]. Sự giảm hàm lượng axit tổng số do kết quả của quá trình hô hấp trong quá trình chín của quả. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với sự tăng giá trị pH của dịch chuối khi độ chín tăng dần.

Màu sắc của puree quả cũng thay đổi theo độ chín của quả và được thể hiện thông qua chỉ số hóa nâu. Chỉ số hóa nâu của puree chuối tăng dần theo độ chín từ 46 đến 56, trong đó rõ ràng nhất khi chuối chín cấp độ PCI 7⁺. Hay nói cách khác, chuối càng chín thì puree của nó càng sậm màu. Sự hóa nâu ở thịt quả thường xảy ra trong các tế bào của quả chín, nơi sự mất đi khả năng ngăn cách cho phép phenol tiếp xúc với các enzyme oxy hóa của chúng dẫn tới quá trình oxy hóa enzyme các hợp chất phenolic bởi polyphenol oxidase (PPO) và peroxidases (POD) [20].

Như vậy, puree chuối với đặc trưng hơn 70% là nước, hàm lượng đường hòa tan tổng số cao, có chứa nhiều axit hữu cơ, phù hợp để chế biến bánh mì ngọt, không cần bổ sung thêm nước, giảm hàm lượng đường thêm vào.

3.2. Thành phần hóa lý của bánh mì ngọt bổ sung puree chuối tiêu chín

Trong thí nghiệm, 50% puree chuối chín so với khối lượng bột mì ở các độ khác nhau được bổ sung trong quá trình chế biến bánh mì ngọt, để đảm bảo độ ngọt và hàm

lượng nước tương đương với mẫu đối chứng. Kết quả bảng 2 cho thấy, sau khi bổ sung puree chuối tiêu ở các độ chín khác nhau, chất lượng bánh mì thay đổi đáng kể. Độ ẩm của bánh mì khi bổ sung puree chuối nằm trong khoảng 34-39%, cao hơn đáng kể so với mẫu đối chứng không bổ sung puree chuối (32%). Sự tăng độ ẩm của bánh tỷ lệ thuận với độ chín chuối sử dụng, hoàn toàn phù hợp với kết quả độ ẩm của puree chuối thu được tại bảng 1. Hàm lượng độ ẩm cao giúp bánh mềm nhưng ảnh hưởng tới thời gian bảo quản của sản phẩm.

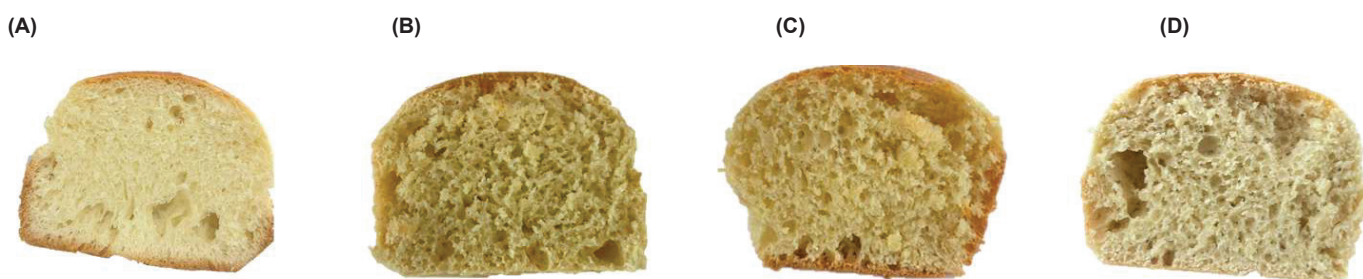
Bảng 2. Chỉ tiêu hóa - lý của bánh mì bổ sung puree chuối ở các cấp độ chín khác nhau.

Các chỉ tiêu	Mẫu đối chứng (không chuối)	Bánh mì chuối tiêu chín cấp độ PCI 6	Bánh mì chuối tiêu chín cấp độ PCI 7	Bánh mì chuối tiêu chín cấp độ PCI 7 ⁺
Độ ẩm, %	32,10±0,26 ^a	34,71±0,26 ^b	35,23±0,24 ^b	38,40±0,23 ^c
Hàm lượng đường hòa tan tổng, %	36,78±0,55 ^a	39,15±1,00 ^b	40,82±0,64 ^b	34,95±0,15 ^c
Hàm lượng axit tổng số, %	2,51±0,01 ^a	2,79±0,05 ^a	2,50±0,02 ^a	1,95±0,05 ^c
pH	5,12±0,01 ^a	4,90±0,01 ^b	5,21±0,01 ^c	5,24±0,01 ^c
Thể tích riêng, cm ³ /g	4,22±0,02 ^a	4,30±0,01 ^a	4,68±0,02 ^b	4,65±0,03 ^b

Giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có nghĩa (p<0,05).

Do chuối chín chứa nhiều đường tự nhiên, công thức bánh mì có bổ sung puree chuối được giảm khoảng ~67% lượng đường tinh luyện so với mẫu đối chứng nhằm tránh vị ngọt quá mức. Kết quả đánh giá hàm lượng đường hòa tan tổng số của bánh mì thành phẩm khi bổ sung puree chuối nằm trong khoảng 34-41%. Trong đó, mẫu bánh mì sử dụng puree chuối chín cấp độ PCI 7 (vỏ trứng cuốc) có hàm lượng đường hòa tan cao nhất (~41%), phản ánh độ ngọt cảm nhận cao hơn rõ rệt so với các mẫu còn lại và đối chứng. Mặt khác, hàm lượng axit tổng số trong sản phẩm bánh mì có sự giảm nhẹ nhưng không có sự khác biệt đáng kể so với mẫu đối chứng khi bổ sung puree chuối chín ở cấp độ PCI 6 và PCI 7⁺. Hàm lượng axit hữu cơ giảm kéo theo giá trị pH tăng lên.

Thể tích riêng của bánh mì có bổ sung puree chuối dao động từ 4,30 đến 4,68 cm³/g, cao hơn so với mẫu đối chứng. Thể tích riêng tăng phản ánh bánh có cấu trúc xốp hơn, khối lượng nhẹ hơn sau khi bổ sung puree



Hình 2. lát cắt bánh mì không bổ sung puree chuối (A), bổ sung puree chuối chín ở các cấp độ PCI 6 (B), PCI 7 (C) và PCI 7+ (D).

chuối. Trong đó, bánh có bổ sung chuối chín trứng cuốc và chín quá độ có cấu trúc nhẹ và xốp nhất. Điều này có thể giải thích do ở độ chín PCI 7 và PCI 7+, hàm lượng đường hòa tan tổng số đạt cao nhất (bảng 1), là cơ chất thuận lợi cho nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, giúp quá trình sinh khí CO₂ mạnh mẽ, giúp bánh nở tốt hơn, có cấu trúc xốp hơn. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của K. Hosokawa và cs (2020) [21], trong đó bánh mì bổ sung 10% bột chuối chín trứng cuốc (tuần 1-3) và 5% đường có thể tích riêng 4,0-4,5 cm³/g, với giá trị cao nhất ghi nhận khi bổ sung bột chuối chín ở tuần thứ 2. Cấu trúc xốp cũng được thể hiện qua lượng các lỗ rỗng trong bánh nhiều và to hơn khi bổ sung puree chuối so với bánh đối chứng (hình 2).

Bên cạnh đó, màu sắc của bánh mì thành phẩm cũng thay đổi rõ rệt sau khi bổ sung 50% puree chuối ở các độ chín khác nhau, thể hiện qua hình 2 và kết quả đo CIE Lab (bảng 3).

Bảng 3. Kết quả đo hệ màu CIE Lab, chỉ số hóa nâu và độ khác biệt màu sắc của bánh mì bổ sung puree chuối với các độ chín khác nhau.

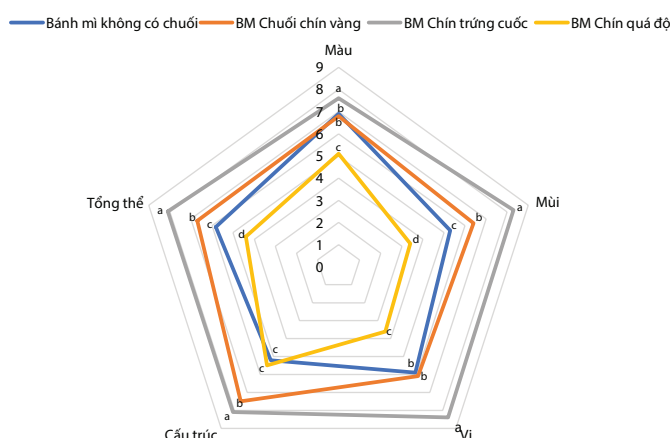
Hệ màu	Mẫu đối chứng (không chuối)	Bánh mì chuối tiêu chín cấp độ PCI 6	Bánh mì chuối tiêu chín cấp độ PCI 7	Bánh mì chuối tiêu chín cấp độ PCI 7+
L*	51,17±0,54 ^a	50,56±0,08 ^a	57,63±1,06 ^b	50,53±0,44 ^a
a*	1,78±0,06 ^a	1,95±0,06 ^a	2,00±0,09 ^a	0,85±0,14 ^b
b*	14,58±0,14 ^a	15,57±0,22 ^b	19,80±0,22 ^c	12,83±0,31 ^d
Chỉ số hóa nâu (BI)	35,39±0,36 ^a	38,87±0,50 ^b	43,69±0,85 ^c	29,89±1,28 ^d
ΔE	-	1,25±0,28 ^a	8,34±1,34 ^b	2,12±0,29 ^a

Giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một hàng thể hiện sự khác nhau có nghĩa (p<0,05).

Dựa trên các giá trị có trong bảng có thể thấy giá trị L* đại diện cho độ sáng của các mẫu, giá trị L* càng cao thì màu của mẫu càng sáng. Giá trị a* của các mẫu bánh mì có giá trị dương dao động từ 0,85 đến 2,00, có nghĩa là các mẫu có thiên hướng màu đỏ nhẹ. Giá trị dương cũng đo được với giá trị b* dao động từ 12,83 đến 19,80, phụ thuộc vào độ chín puree chuối bổ sung vào bánh. Với giá trị b* càng cao thì mẫu có màu vàng càng đậm. Với các giá trị L*, a* và b* đạt cao nhất, lần lượt là 57,63, 2,00 và 19,80, mẫu bánh mì bổ sung puree chuối chín trứng cuốc PCI 7 được ghi nhận có độ sáng cao, sắc đỏ và vàng nổi bật, kết hợp chỉ số hóa nâu BI cao nên bánh có màu nâu vàng hấp dẫn. Điều này có thể giải thích do phản ứng Maillard xảy ra giữa các đường khử và axit amin, làm tăng màu vàng nâu [22], dẫn tới chỉ số BI cao, nhưng ở độ chín này hàm lượng carotenoid (tạo sắc vàng) còn cao, cao hơn ở độ chín PCI 6 [19] nên bánh có màu vàng sáng với giá trị L* cao nhất. Tiếp theo, với giá trị L*, a*, b* thấp hơn, bánh mì bổ sung puree chuối tiêu chín vàng PCI 6 và bánh mì đối chứng có độ sáng trung bình, màu vàng đậm hơn, hơi sắc đỏ. Bánh mì có bổ sung puree chuối chín quá độ PCI 7+ có màu sắc kém hấp dẫn nhất với các giá trị L*a*b* thấp nhất.

Sự khác biệt màu sắc (ΔE) từ 0 đến 1,5 được xem là nhỏ, hầu như giống hệt nhau nếu quan sát bằng mắt thường, ΔE nằm trong khoảng từ 1,5 đến 5 thì khác biệt màu sắc có thể được biểu lộ, trong khi ΔE lớn hơn 5 thì biểu hiện một cách rõ ràng [23]. Kết quả thu được cho thấy, mẫu bánh mì bổ sung chuối chín trứng cuốc PCI 7 có hiệu ứng màu tích cực, dễ nhận thấy, và sự khác biệt rõ rệt về màu so với đối chứng. Trong khi đó, mẫu bánh mì có bổ sung puree chuối chín vàng PCI 6 và chuối chín quá độ PCI 7+ ít khác biệt hơn. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với hình ảnh quan sát được ở hình 2.

Kết quả đánh giá cảm quan bánh mì chuối theo thang đo Hedonic 9 điểm được trình bày trong hình 3.



Hình 3. Kết quả đánh giá cảm quan với các mẫu bánh mì có bổ sung puree chuối với các cấp độ chín khác nhau. (Giá trị có chữ cái khác nhau trong cùng một tiêu chí thể hiện sự khác nhau có nghĩa $p < 0,05$).

Từ kết quả hình 3 cho thấy, bánh mì có bổ sung puree chuối chín ở cấp độ PCI 6 và PCI 7 có điểm cảm quan mùi và vị đạt 6-8/9 điểm, cao hơn 1-2 điểm so với mẫu đối chứng do bánh có mùi chuối chín thơm khá dễ chịu, vị ngọt tự nhiên. Hương thơm của bánh quyết định bởi các ester của chuối chín (90% là các ester của acetate và butyrate) [6, 24] trước quá trình lên men, các hợp chất hình thành trong quá trình lên men bánh mì và các hợp chất hình thành từ phản ứng Maillard và caramel hóa trong quá trình nướng bánh mì [25]. Tuy nhiên, khi bổ sung puree chuối chín ở cấp độ PCI 7+, hàm lượng đường cao, lên men nhanh nên bánh thành phẩm thu được có mùi vị nồng hơn khiến cho điểm cảm quan mùi và vị chỉ đạt 3,4-3,6/9. Do cấu trúc bánh nhẹ và xốp hơn cũng điểm cảm quan cấu trúc đạt cao hơn. Với điểm cảm quan tổng thể đạt 8/9 điểm (rất thích), bánh mì có bổ sung puree chuối cấp độ chín PCI 7 (vỏ chín trứng cuốc) là bánh mì đạt điểm cảm quan yêu thích cao nhất. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chuối chín cấp độ PCI 7 - mặc dù ít được tiêu thụ ở dạng tươi - lại là nguyên liệu tiềm năng trong ngành chế biến thực phẩm, trong đó có sản xuất bánh mì ngọt, góp phần gia tăng giá trị nông sản và giảm thiểu lãng phí. Chuối chín quá độ cũng đã thành công sử dụng trong chế biến bánh quy cookie [26], cũng như trong chế biến bánh bông lan và bánh ngọt nhiều lớp [27].

4. Kết luận

Kết quả phân tích cho thấy, puree chuối ở mức độ chín PCI 6 đến PCI 7+ có đặc điểm chung là độ ẩm cao, hàm lượng đường tăng và độ axit giảm, từ đó góp phần cải thiện các đặc tính chất lượng khi ứng dụng trong chế biến bánh mì. Đặc biệt, khi sử dụng chuối chín hoàn toàn

(PCI 7) có xuất hiện đốm nâu, sản phẩm bánh mì ngọt đạt màu sắc hấp dẫn hơn, hương vị thơm rõ rệt và cấu trúc xốp, nhẹ. Đánh giá cảm quan cũng cho thấy, mẫu bánh bổ sung puree chuối ở cấp độ chín PCI 7 đạt điểm cảm quan yêu thích cao nhất. Trong các nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi định hướng nghiên cứu mở rộng đánh giá toàn diện thành phần dinh dưỡng của sản phẩm, khảo sát ảnh hưởng của các phương pháp bảo quản puree chuối chín đến chất lượng bánh, mở rộng đánh giá thị hiếu người tiêu dùng, đồng thời phân tích hiệu quả kinh tế của công thức mới, nhằm hoàn thiện quy trình công nghệ phục vụ sản xuất ở quy mô công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K.H. Maseko, T. Regnier, B. Meiring, et al. (2024), "Musa species variation, production, and the application of its processed flour: A review", *Scientia Horticulturae*, **325**, DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112688.
- [2] M. Al-Dairi, P.B. Pathare, R. Al-Yahyai, et al. (2023), "Postharvest quality, technologies, and strategies to reduce losses along the supply chain of banana: A review", *Trends in Food Science & Technology*, **134**, pp.177-191, DOI: 10.1016/j.tifs.2023.03.003.
- [3] C. Symmank, S. Zahn, H. Rohm (2018), "Visually suboptimal bananas: How ripeness affects consumer expectation and perception", *Appetite*, **120**, pp.472-481, DOI: 10.1016/j.appet.2017.10.002.
- [4] L. Mattsson, H. Williams, J. Berghel (2018), "Waste of fresh fruit and vegetables at retailers in Sweden-measuring and calculation of mass, economic cost and climate impact", *Resources, Conservation and Recycling*, **130**, pp.118-126, DOI: 10.1016/j.resconrec.2017.10.037.
- [5] N.I.R. Catalán, A.C. Salomón, P.J. Sebastian, et al. (2022), "Banana waste-to-energy valorization by microbial fuel cell coupled with anaerobic digestion", *Processes*, **10**(8), DOI: 10.3390/pr10081552.
- [6] R. B. Watharkar, Y. Pu, B.B. Ismail, et al. (2020), "Change in physicochemical characteristics and volatile compounds during different stages of banana (*Musa nana* Lour vs. Dwarf Cavendish) ripening", *Journal of Food Measurement and Characterization*, **14**(4), pp.2040-2050, DOI: 10.1007/s11694-020-00450-z.
- [7] M. Yap, W.M. Fernando, C.S. Brennan, et al. (2017), "The effects of banana ripeness on quality indices for puree production", *LWT - Food Science and Technology*, **80**, pp.10-18, DOI: 10.1016/j.lwt.2017.01.073.
- [8] M. Mesta-Corral, R. Gómez-García, N. Balagurusamy, et al. (2024), "Technological and nutritional aspects of bread production: An overview of current status and future challenges", *Foods*, **13**(13), DOI: 10.3390/foods13132062.
- [9] P.M. Thu, L.L. Khanh, D.T. Bach, et al. (2025), "Determine the microbiological properties and chemical composition of naturally fermented banana lemon wine", *Vietnam Medical Journal*, **546**(3), pp.334-339 (in Vietnamese).

- [10] T.T. Chung, P.B. Phuong, C.T. Duyen, et al. (2021), "Effects of physiological maturity on the quality of soft dried Bac Kan's banana", *Scientific journal of Tan Trao University*, **7(22)**, pp.87-93 (in Vietnamese).
- [11] D.T. Hanh, M.T. Vinh, N.T.H. Ngoc (2025), "Study on the processing of fermented banana juice using symbiotic colony of bacteria and yeast", *Journal of Science and Technology of Hanoi University of Industry*, **61(1)**, pp.188-195 (in Vietnamese).
- [12] Association of Official Analytical Chemists (2000), *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17th ed., Method 984.23, 920.39, 942.05, Washington, DC, USA.
- [13] Vietnam Ministry of Science and Technology, *TCVN 5483-2007: Fruit and vegetable products - Determination of Titratable Acidity*, (in Vietnamese).
- [14] F. Yue, J. Zhang, J. Xu, et al. (2022), "Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method", *Frontiers in Nutrition*, **9**, DOI: 10.3389/fnut.2022.963318.
- [15] R. Hirschler (2012), "Whiteness, yellowness, and browning in food colorimetry", *Color in Food: Technological and Psychophysical Aspects*, CRC Press, USA, pp.93-104.
- [16] J.J. Kalva, C.A. Sims, L.A. Puentes, et al. (2014), "Comparison of the hedonic general labeled magnitude scale with the hedonic 9-point scale", *Journal of Food Science*, **79(2)**, pp.S238-S245, DOI: 10.1111/1750-3841.12342.
- [17] S. Thaiphani, P. Anprung (2010), "Physicochemical and flavor changes of fragrant banana (*Musa acuminata* AAA group "Gros Michel") during ripening", *Journal of Food Processing and Preservation*, **34(3)**, pp.366-382, DOI: 10.1111/j.1745-4549.2008.00314.x.
- [18] J.W. Kim, K.S. Youn (2013), "Effects of ripeness degree on the physicochemical properties and antioxidative activity of banana", *Korean Journal of Food Preservation*, **20(4)**, pp.475-481, DOI: 10.11002/kjfp.2013.20.4.475.
- [19] R.D. Chandra, C.A. Siswanti, M.N. Prihastiyanti, et al. (2020), "Evaluating provitamin A carotenoids and polar metabolite compositions during the ripening stages of the Agung Semeru banana (*Musa paradisiaca* L. AAB)", *International Journal of Food Science*, **2020**, DOI: 10.1155/2020/8503923.
- [20] P.H. Huang, Y.T. Cheng, W.C. Lu, et al. (2024), "Changes in nutrient content and physicochemical properties of Cavendish bananas var. Pei chiaio during ripening", *Horticulturae*, **10(4)**, 384, DOI: 10.3390/horticulturae10040384.
- [21] K. Hosokawa, K. Ohishi, T. Ikeda, et al. (2020), "Properties of ripe banana flour and application to gluten-free breadmaking", *Journal of Food Processing and Preservation*, **44(10)**, DOI: 10.1111/jfpp.14789.
- [22] A. Mohamed, J. Xu, M. Singh (2010), "Yeast leavened banana-bread: Formulation, processing, colour and texture analysis", *Food Chemistry*, **118(3)**, pp.620-626, DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.05.044.
- [23] J.M. Obón, M.R. Castellar, M. Alacid, et al. (2009), "Production of a red-purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems", *Journal of Food Engineering*, **90(4)**, pp.471-479, DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2008.07.013.
- [24] H. Zhu, X.P. Li, R.C. Yuan, et al. (2010), "Changes in volatile compounds and associated relationships with other ripening events in banana fruit", *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **85(4)**, pp.283-288, DOI: 10.1080/14620316.2010.11512669.
- [25] J. Pico, I. Khomenko, V. Capozzi, et al. (2020), "Real-time monitoring of volatile compounds losses in the oven during baking and toasting of gluten-free bread doughs: A PTR-MS evidence", *Foods*, **9(10)**, DOI: 10.3390/foods9101498.
- [26] Y.V. Ng, T.A.T. Ismail, W.R.W. Ishak (2020), "Effect of overripe banana in developing high dietary fibre and low glycaemic index cookie", *British Food Journal*, **122(10)**, pp.3165-3177, DOI: 10.1108/BFJ-12-2019-0934.
- [27] C. Segundo, L. Román, M. Lobo, et al. (2017), "Ripe banana flour as a source of antioxidants in layer and sponge cakes", *Plant Foods for Human Nutrition*, **72(4)**, pp.365-371, DOI: 10.1007/s11130-017-0630-5.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI BÁO ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài báo gửi đăng trên Tạp chí phải là bài báo nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài báo trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài báo gửi qua Hệ thống gửi bài trực tuyến tại địa chỉ https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/about/submissions hoặc có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam) hoặc qua hòm thư điện tử: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn.

Cấu trúc của các loại bài báo khác nhau có thể thay đổi tùy theo loại hình nghiên cứu và nội dung của bài báo. Sau đây là chi tiết các thành phần chính của bài báo.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, in đậm, không gạch chân hay viết nghiêng.
- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.
- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số ^(1,2,...) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.
- Khí liệt kê cơ quan công tác của tác giả, cần nêu rõ tên cơ quan và địa chỉ cơ quan (số nhà, tên đường, phường, quận, thành phố, quốc gia) bằng tiếng Việt và tiếng Anh.

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh (khoảng 160-250 từ). Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khóa bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

1. Đặt vấn đề/Dẫn nhập/Mở đầu

Định nghĩa vấn đề; tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

2. Đối tượng/Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu. Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

3. Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

4. Bàn luận (phần này có thể gộp với phần kết quả)

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài. Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài. Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

5. Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

LỜI CẢM ƠN (nếu có)

Tác giả cảm ơn các tổ chức/cá nhân đã tài trợ kinh phí hoặc hỗ trợ cho nghiên cứu.

Phụ lục (nếu có)

Đăng tải bảng số liệu, thông tin để hỗ trợ thêm cho nội dung bài báo.

Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện ^(1,2,3,...) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với một hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

Lưu ý:

- Đối với trích dẫn trong bài báo: tài liệu tham khảo có nhiều hơn một tác giả chỉ để tên tác giả đầu tiên và cộng sự, viết tắt là cs, ví dụ: T.V. Nguyen và cs (năm xuất bản) [thứ tự trong danh mục tài liệu tham khảo].
- Đối với danh mục tài liệu tham khảo cuối bài: tài liệu tham khảo bằng tiếng Anh, các tài liệu không phải tiếng Anh cần được dịch sang tiếng Anh và chú thích ở cuối câu, ví dụ: (in Vietnamese), (in French)...
- Tài liệu tham khảo là các đường link cần bổ sung ngày truy cập.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập(số)**, trang/số trang/trang đầu-trang cuối (nếu có), số DOI (nếu có), URL (nếu có), ngày truy cập (ghi rõ ngôn ngữ nào nếu không phải tài liệu bằng tiếng Anh).

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả (chữ viết tắt đưa lên trước) với những tài liệu tham khảo có ≤3 tác giả; liệt kê 3 tác giả đầu tiên và theo sau là "et al." khi có từ 4 tác giả trở lên.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách... (chỉ viết hoa chữ cái đầu, trừ tên riêng và sau dấu hai chấm), viết trong ngoặc kép.

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được *in nghiêng*), viết hoa chữ cái đầu tiên của mỗi từ chính.

Tập(số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang/số trang/trang đầu cuối phần ảnh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng tác giả đầu tiên và cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a, 1986b...).

Nếu có một số tài liệu tham khảo có cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: A. Amber (1982, p.39).

Chi tiết vui lòng xem thêm tại: https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/quy-dinh-bai-viet.

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Toà soạn không trả lại bản thảo.
- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.
- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

Quy định này áp dụng từ năm 2022 trở đi.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng; kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 68 - Number 7 - July 2026

Phát triển ứng dụng web phân tích sai khác trình tự gen B646L của virus dịch tả lợn châu Phi bằng vibe coding trên nền tảng Websim.

Souriya Viliddeth, Đặng Hữu Anh, Mai Thị Ngân, Nguyễn Hữu Hân

Phát triển giao diện song ngữ Việt - Anh cho phần mềm Mathematical Modeling and Simulation.

Nguyễn Văn Sinh, Nguyễn Hùng Mạnh, Đặng Thị Thu Hương, Bùi Thị Tuyết Xuân, Nguyễn Tiến Dũng

Ảnh hưởng của điện trường ngoài và khuyết tật dạng vết nứt đến phân cực sắt điện của PbTiO_3 .

Trần Thế Quang, Nguyễn Hoàng Linh, Đỗ Văn Trường

Ảnh hưởng của dung môi chiết đến thành phần hóa học và hoạt tính kháng vi sinh vật của cao chiết lá măng cầu xiêm (*Annona muricata* L.).
Phạm Minh Thu, Lưu Lê Khanh, Nguyễn Lê Thùy Linh, Nguyễn Văn Chí

Hoạt tính ức chế xanthine oxidase của cao chiết methanol từ 22 loài thực vật thu thập tại Vườn quốc gia Phú Quốc.

Nguyễn Đức Hiền, Nguyễn Quốc Trung, Trương Quốc Hưng, Trần Hoài Tú, Đặng Hoàng Phú

Xây dựng phương pháp đánh giá hiệu suất phytosome hóa của andrographolid.

Vũ Bình Dương, Vũ Tiến Thắng, Nguyễn Hoàng Hiệp, Phạm Văn Hiền

Tổng hợp và thử hoạt tính gây độc trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 của một số dẫn chất amid của ibuprofen.

Nguyễn Thanh Trang, Phạm Thu Hương, Nguyễn Thị Trâm, Phan Anh Tú, Trần Thị Thủy Nga

Sàng lọc *in silico* các chất ức chế tiềm năng của enzyme FabI từ *Staphylococcus aureus*.

Hoàng Việt Nhâm

Phát hiện *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* trên cá rô phi (*Oreochromis* sp.) nuôi ở một số tỉnh miền Bắc Việt Nam.

Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Diễm Thu, Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Hồng Bửu Vinh, Phan Trọng Bình, Lê Thị Mây, Nguyễn Minh Quân, Đặng Thị Lua

Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của một số cao chiết thảo mộc đối với *Aeromonas schubertii* gây bệnh đốm trắng nội tạng ở cá lóc (*Channa* sp.).

Lê Văn Hậu, Lê Minh Nghĩa, Đặng Đình Khiêm, Nguyễn Thị Huỳnh Như, Lê Thị Thu Thảo, Ngô Huỳnh Phương Thảo

Nghiên cứu vi cấu trúc và một số tính chất của composite Ti-1vol.%MWCNT chế tạo bằng thiêu kết plasma xung điện.

Đoàn Đình Phương, Nguyễn Bình An, Trần Văn Hậu, Phạm Văn Trình

Chế tạo và đánh giá viên nhiên liệu RDF từ phụ phẩm gỗ và một số thành phần rác thải sinh hoạt đã phân loại.

Nguyễn Hồng Đức, Nguyễn Hồng Quân, Đinh Quang Hưng, Lý Bằng, Nguyễn Thành Hiếu

Ứng dụng chuối chín ở các cấp độ khác nhau trong sản xuất bánh mì.
Hà Thị Dung, Nguyễn Thùy Linh, Khuất Thị Minh Tâm, Vũ Phương Lan, Trần Ý Đoan Trang, Cao Thị Huệ

1 Development of a web application for analysing nucleotide sequence differences in the ASFV B646L gene using vibe coding on the Websim platform.

Souriya Viliddeth, Huu Anh Dang, Thi Ngan Mai, Huu Han Nguyen

8 Development of a Vietnamese-English user interface for the Mathematical Modeling and Simulation software.

Van Sinh Nguyen, Hung Manh Nguyen, Thi Thu Huong Dang, Thi Tuyen Xuan Bui, Tien Dung Nguyen

17 Effects of an external electric field and crack-line defects on the ferroelectric polarisation of PbTiO_3 .

The Quang Tran, Hoang Linh Nguyen, Van Truong Do

23 Effects of extraction solvents on the chemical composition and antimicrobial activities of soursop (*Annona muricata* L.) leaf extracts.
Minh Thu Pham, Le Khanh Luu, Le Thuy Linh Nguyen, Van Chi Nguyen

29 Xanthine oxidase inhibitory activity of methanolic extracts from 22 plant species collected in Phu Quoc National Park.

Duc Hien Nguyen, Quoc Trung Nguyen, Quoc Hung Truong, Hoai Tu Tran, Hoang Phu Dang

33 Development of a method for evaluating the entrapment efficiency of andrographolide.

Binh Duong Vu, Tien Thang Vu, Hoang Hiep Nguyen, Van Hien Pham

42 Synthesis and cytotoxic evaluation of ibuprofen amide derivatives on MCF-7 breast cancer cells.

Thanh Trang Nguyen, Thu Huong Pham, Thi Tram Nguyen, Anh Tu Phan, Thi Thuy Nga Tran

49 *In silico* screening of potential inhibitors of *Staphylococcus aureus* FabI.

Viet Nham Hoang

58 Detection of *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* in farmed tilapia (*Oreochromis* sp.) in some provinces in northern Vietnam.

Thi My Hanh Truong, Diem Thu Nguyen, Thi Hanh Nguyen, Hong Bui Vinh Nguyen, Trong Binh Phan, Thi May Le, Minh Quan Nguyen, Thi Lua Dang

65 Evaluation of the antibacterial activity of selected herbal extracts against *Aeromonas schubertii* causing visceral white spot disease in Snakehead fish (*Channa* sp.).

Van Hau Le, Minh Nghia Le, Dinh Khiem Dang, Thi Huynh Nhu Nguyen, Thi Thu Thao Le, Huynh Phuong Thao Ngo

73 Investigation of microstructure and selected properties of Ti-1vol.%MWCNT composites fabricated by spark plasma sintering.

Dinh Phuong Doan, Binh An Nguyen, Van Hau Tran, Van Trinh Pham

79 Production and characterisation of fuel pellets from wood residues and selected fractions of sorted household waste.

Hong Duc Nguyen, Hong Quan Nguyen, Quang Hung Dinh, Bang Ly, Thanh Hieu Nguyen

90 Utilisation of bananas at different ripening stages in bread making.

Thi-Dung Ha, Thuy Linh Nguyen, Thi Minh Tam Khuat, Phuong Lan Vu, Y Doan Trang Tran, Thi Hue Cao