



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

**Vietnam Journal
of Science and Technology**

B

Tập 63 - Số 3 - Tháng 3 năm 2021

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Nguyễn Văn Hiệu
Nguyễn Việt Anh
Bùi Chí Bửu
Vũ Dũng
Trần Thọ Đạt
Nguyễn Đình Đức
Vũ Minh Giang
Trương Nam Hải
Từ Quang Hiễn
Phạm Huy Khang
Phạm Gia Khánh
Hồ Đắc Lộc
Nguyễn Thị Mỹ Lộc
Bành Tiến Long
Lê Hữu Nghĩa
Lê Quan Nghiệm
Mai Trọng Nhuận
Nguyễn Thanh Phương
Nguyễn Thanh Thủy
Phạm Hùng Việt

TỔNG BIÊN TẬP

Đặng Ngọc Bảo

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hải Hằng
Nguyễn Thị Hương Giang

TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP

Phạm Thị Minh Nguyệt

TRƯỞNG BAN TRỊ SỰ

Lương Ngọc Quang Hưng

TRÌNH BÀY

Đinh Thị Luận

EDITORIAL COUNCIL

Nguyen Van Hieu
Nguyen Viet Anh
Bui Chi Buu
Vu Dung
Tran Tho Dat
Nguyen Dinh Duc
Vu Minh Giang
Truong Nam Hai
Tu Quang Hien
Pham Huy Khang
Pham Gia Khanh
Ho Dac Loc
Nguyen Thi My Loc
Banh Tien Long
Le Huu Nghia
Le Quan Nghiem
Mai Trong Nhuan
Nguyen Thanh Phuong
Nguyen Thanh Thuy
Pham Hung Viet

EDITOR-IN-CHIEF

Dang Ngoc Bao

DEPUTY EDITORS

Nguyen Thi Hai Hang
Nguyen Thi Huong Giang

HEAD OF EDITORIAL BOARD

Pham Thi Minh Nguyet

HEAD OF ADMINISTRATION

Luong Ngoc Quang Hung

ART DIRECTOR

Đinh Thị Luan

TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794
Email: khcnvn@most.gov.vn
Tạp chí điện tử: vjst.vn; vietnamscience.vjst.vn

EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794
Email: khcnvn@most.gov.vn
E-journal: vjst.vn; vietnamscience.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 1153/GP-BTTTT ngày 26/7/2011
Số 2528/GP-BTTTT ngày 26/12/2012
Số 592/GP-BTTTT ngày 28/12/2016
Giá: 18000^d

PUBLICATION LICENCE

No.1153/GP-BTTTT 26th July 2011
No.2528/GP-BTTTT 26th December 2012
No.592/GP-BTTTT 28th December 2016

Nghiên cứu hình thái bề mặt của màng polyaniline ảnh hưởng đến hiệu suất cảm biến khí NH_3 ở nhiệt độ phòng

Luyện Quốc Vương^{1,2}, Bùi Văn Dân¹, Nguyễn Trọng Nghĩa¹, Hoàng Thị Hiền^{1,3,4}, Hồ Trường Giang³, Trần Trung⁵, Trần Thanh Bình⁶, Chu Văn Tuấn^{1*}

¹Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Hưng Yên

²Trường Cao đẳng Cơ điện Hà Nội

³Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁴Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

⁵Trường Đại học Hòa Bình

⁶Trường Cao đẳng nghề Công nghiệp Hà Nội

Ngày nhận bài 4/8/2020; ngày chuyển phản biện 7/8/2020; ngày nhận phản biện 14/9/2020; ngày chấp nhận đăng 1/10/2020

Tóm tắt:

Trong bài báo này, các tác giả trình bày một số kết quả nghiên cứu về các hình thái bề mặt khác nhau của màng polyaniline (PANi) được tổng hợp trực tiếp trên bề mặt vi điện cực Pt/SiO₂ bằng phương pháp điện hóa. Kết quả phân tích cấu trúc hình thái bề mặt và thành phần hóa học của màng PANi được nghiên cứu lần lượt bằng kính hiển vi điện tử quét (FE-SEM) và phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR). Sản phẩm thu được với các dây nano có đường kính từ 50÷100 nm, chiều dài dây vài micromet phụ thuộc vào nồng độ aniline và điều kiện tổng hợp. Các kết quả thu được chứng minh rằng, các dây nano PANi là những đối tượng đầy tiềm năng cho phát hiện khí NH_3 ở nhiệt độ phòng.

Từ khóa: cảm biến khí, NH_3 , polyaniline.

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Khí NH_3 được sử dụng trong rất nhiều lĩnh vực như sản xuất phân bón, công nghiệp dệt may, công nghiệp dầu khí, công nghiệp thực phẩm, ứng dụng cho xử lý nước thải... Tuy vậy, NH_3 lại là một loại khí độc, có thể gây hại tới sức khỏe của con người ở nồng độ rất thấp (cỡ 25 ppm), nó có khả năng gây tổn thương mạnh đến da, mắt, đường hô hấp, thậm chí gây tử vong nếu bị nhiễm ở nồng độ cao. Vì thế, vấn đề phát hiện và phân tích nồng độ khí NH_3 để đưa ra cảnh báo, xử lý ở các giới hạn nguy hiểm khi phát thải ra môi trường không khí là rất cần thiết. Gần đây, cảm biến độ dẫn điện dựa trên các oxit kim loại cấu trúc nano cho phát hiện nhanh khí NH_3 như ZnO, WO₃, SnO₂ được quan tâm nghiên cứu do chúng có ưu điểm: độ nhạy cao, thời gian hồi đáp nhanh, nhỏ gọn, giá thành rẻ [1-3]. Tuy nhiên, một trong những nhược điểm lớn nhất của loại cảm biến này là hoạt động ở nhiệt độ cao (đến vài trăm độ), dẫn đến giảm tính ổn định theo thời gian hoạt động do sự thay đổi về hình thái cấu trúc hạt tinh thể của vật liệu nhạy khí [3, 4]. Vì vậy, việc tìm kiếm những vật liệu nhạy khí thay thế có thể hoạt động ở vùng nhiệt độ phòng được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm.

Vật liệu polymer dẫn như polyaniline - PANi hay

polypyrrole - PPy được quan tâm nghiên cứu cho khả năng nhạy khí tại nhiệt độ phòng. Trong đó, PANi cấu trúc nano được chế tạo và khảo sát cho nhạy khí NH_3 [5, 6]. PANi có thể được tổng hợp bằng các phương pháp khác nhau như hóa học, vật lý và điện hóa [6, 7]. Trong đó, phương pháp điện hóa là khá đơn giản để có thể đạt được lớp màng PANi đồng đều cấu trúc nano có độ xốp cao, phù hợp cho chế tạo các linh kiện cảm biến khác nhau. Hiện nay, các nghiên cứu về cấu trúc hình thái và tính chất của màng polymer nhằm giảm thời gian hồi phục/thời gia hồi đáp khi hoạt động ở nhiệt độ phòng vẫn là thách thức đối với các nhà khoa học.

Trong nghiên cứu này, các màng PANi được tổng hợp trực tiếp lên vi điện cực Pt/SiO₂ với hình thái bề mặt được khảo sát qua thay đổi nồng độ monomer aniline và định hướng cho nhạy khí NH_3 ở nhiệt độ phòng.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Tổng hợp các màng PANi từ sự thay đổi tỷ lệ nồng độ mol giữa axit H₂SO₄ và aniline bằng phương pháp điện hóa quét thế vòng tuần hoàn cyclic voltammetry (CV) trên hệ điện hóa AutoLab PGS302 (Metrohm AutoLab) trực tiếp lên vi điện cực Pt/SiO₂. Các monomer aniline ở bảng 1 với các nồng độ khác nhau (0,1; 0,2; 0,5 và 1 M) được lần lượt thêm

*Tác giả liên hệ: Email: chuantuan@utehy.edu.vn

Research on surface morphology of polyaniline film affecting NH_3 gas sensor efficiency at room temperature

Quoc Vuong Luyen^{1,2}, Van Dan Bui¹,
Trong Nghia Nguyen¹, Thi Hien Hoang^{1,3,4},
Truong Giang Ho³, Trung Tran⁵,
Thanh Binh Tran⁶, Van Tuan Chu^{1*}

¹Hung Yen University of Technology and Education

²Ha Noi College of Electromechanics

³Institute of Materials Science,

Vietnam Academy of Science and Technology

⁴Graduate University of Science and Technology,

Vietnam Academy of Science and Technology

⁵Hoa Binh University

⁶Ha Noi Industrial Vocational College

Received 4 August 2020; accepted 1 October 2020

Abstract:

In this paper, the authors presented some research results on the various surface morphologies of polyaniline (PANI) film, directly synthesised on Pt/SiO₂ interdigitated microelectrode area by electrochemical method. The outcomes of surface morphology and chemical composition structure analysis of PANi film were studied by Field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM) and Fourier-transform infrared (FT-IR), respectively. The PANi film was fabricated with the nanowires (NWs) form with their diameter from 50÷100 nm. The length of several micrometers depends on aniline concentration and synthesis condition. The obtained consequences demonstrated that the PANi - NWs are fully potential objects for the detection of NH_3 gas at room temperature.

Keywords: gas sensors, NH_3 , polyaniline.

Classification number: 1.4

vào trong dung dịch H_2SO_4 1 M và tạo ra một thể tích tổng cỡ 50 ml. Trong thí nghiệm này, thế quét được đặt từ -200 đến 1000 mV, tốc độ quét là 20 mV/s, số vòng quét là 12 vòng và các mẫu thu được được đặt tên tương ứng với các nồng độ aniline là PA-0,1; PA-0,2; PA-0,5; PA-1 (bảng 1).

Bảng 1. Thay đổi nồng độ của monomer aniline và cố định các thông số điện hóa.

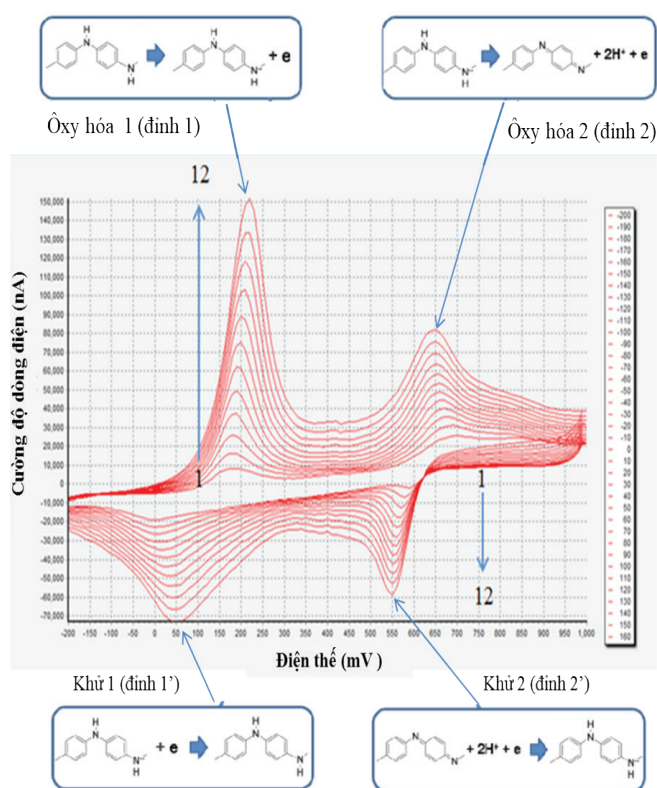
Tên mẫu	Nồng độ mol $\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$ (M)	Nồng độ mol H_2SO_4 (M)	Tốc độ quét (mV/s)	Số vòng quét
PA-0,1	0,1	1	20	12
PA-0,2	0,2			
PA-0,5	0,5			
PA-1	1			

Tất cả các mẫu thu được lại tiếp tục được điện hóa một lần nữa trong dung dịch H_2SO_4 0,05 M nhằm ổn định tính điện hóa của màng PANi. Sau đó, rửa bằng nước cất hai lần và đem sấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 phút. Quan sát thấy các màng PANi trên bề mặt vi điện cực đều có màu xanh sẫm. Để xác định thành phần cấu trúc, hình thái bề mặt vật liệu tổng hợp được, chúng tôi sử dụng các phương pháp phân tích sau: phương pháp kính hiển vi điện tử quét (FE-SEM), phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR) để xác định đặc trưng cấu trúc điện tử của vật liệu PANi. Thu thập và xử lý số liệu nhạy khí được thực hiện nhờ máy đo điện trở Keithley 6487 trên phần mềm VEE Pro.

Kết quả và thảo luận

Đường đặc trưng cyclic voltammetry (CV)

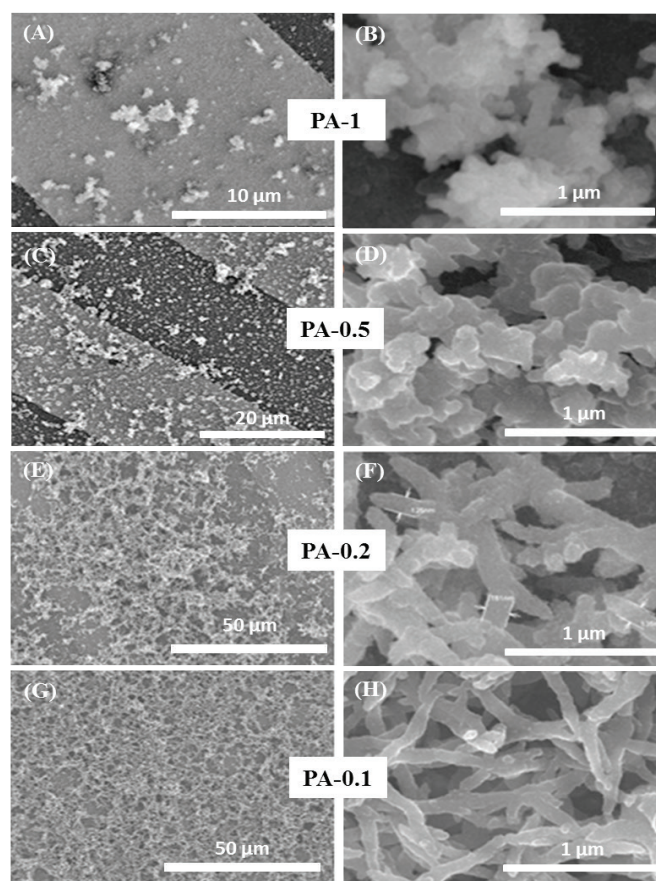
Đặc trưng CV của vật liệu PANi được tổng hợp trong dung dịch axit H_2SO_4 trên vi điện cực Pt/SiO₂ được thể hiện ở hình 1. Nhóm cặp oxy hóa khử thứ nhất nằm trong khoảng từ 0 đến 250 mV với điện cực so sánh là Ag/AgCl chỉ ra quá trình khử hoàn toàn leucoemeraldine sang dạng bán oxy hóa emeraldine. Nhóm cặp oxy hóa khử thứ hai xuất hiện trong khoảng từ 500 đến 700 mV với điện cực so sánh là Ag/AgCl chỉ ra quá trình chuyển emeraldine thành pernigraniline bị oxy hóa hoàn toàn. Ngoài ra, nhóm cặp oxy hóa khử thứ hai liên quan rất nhiều đến sự hình thành quá trình proton hóa. Những kết quả trên chỉ ra rằng, các màng PANi đã được tổng hợp thành công thông qua con đường lắng đọng điện hóa. Sự thay đổi cường độ dòng điện trong quá trình oxy hóa được cho là sự đóng góp của các ion tạp chất (H^+ và SO_4^{2-}) trong suốt quá trình tổng hợp. Khi tăng thời gian phản ứng oxy hóa khử làm cho cường độ dòng điện tăng, dẫn đến kích thước của màng trở nên lớn hơn.



Hình 1. Đường cong CV của mẫu màng PA-0,1 trong dung dịch H_2SO_4 với số vòng quét là 12 vòng.

Hình thái bề mặt của vật liệu PANi qua ảnh hiển vi điện tử quét (FE-SEM)

Ảnh FE-SEM của những mẫu màng PANi được tổng hợp bằng phương pháp điện hóa quét vòng CV, khi giảm nồng độ mol của aniline lần lượt từ 1, 0,5, 0,2 và 0,1 M trong dung dịch H_2SO_4 1 M với tốc độ quét 20 mV/s, số vòng quét 12, thế quét từ -200 đến 1000 mV ta thu được các mẫu PA-1, PA-0,5, PA-0,2 và PA-0,1 tương ứng với hình thái bề mặt (hình 2). Từ những ảnh FE-SEM phóng đại thấp của mẫu PA-0,1 (hình 2G) cho thấy, sự phân bố của màng PANi trải đều trên bề mặt của vi điện cực Pt/SiO₂. Trong khi đó, ảnh FE-SEM phóng đại thấp của những mẫu PA-0,2, PA-0,5, PA-1 lần lượt trên các hình 2E, C, A chỉ ra rằng sự phân bố của màng PANi trên bề mặt của vi điện cực Pt/SiO₂ không đồng đều và thưa dần khi tăng nồng độ aniline trong dung dịch điện hóa. Ảnh FE-SEM phóng đại cao của 4 mẫu PA-1, PA-0,5, PA-0,2, PA-0,1 được quan sát lần lượt trên hình 2B, D, F, H tương ứng cho thấy rõ một sự khác nhau hoàn toàn về hình thái bề mặt của các mẫu. Cụ thể là mẫu PA-1 quan sát được có hình dạng giống như các cục san hô mọc trên bề mặt vi điện cực Pt/SiO₂, với các mầm nhỏ nhú ở xung quanh.

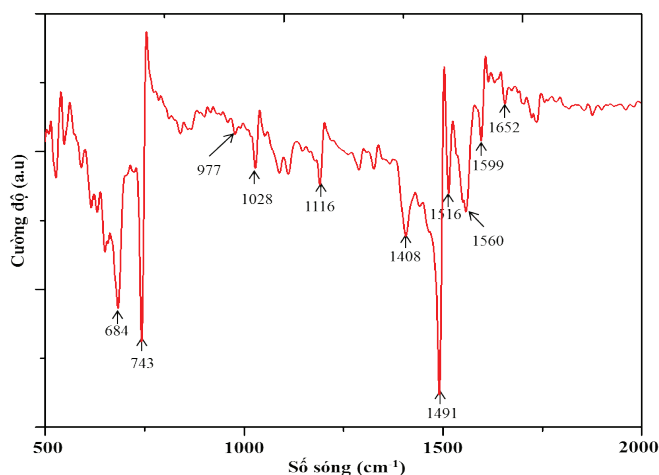


Hình 2. Ảnh FE-SEM của màng PANi tổng hợp được khi thay đổi nồng độ mol aniline. 1 M: mẫu PA-1 (A, B); 0,5 M: mẫu PA-0,5 (C, D); 0,2 M: mẫu PA-0,2 (E, F) và 0,1 M: mẫu PA-0,1 (G, H).

Trong khi đó, những mầm nhú ở xung quanh của mẫu PA-0,5 phát triển dài ra và mật độ phân bố của các cục san hô trên bề mặt vi điện cực Pt/SiO₂ cũng tăng lên khá nhiều. Khi tiếp tục giảm nồng độ monome aniline xuống 0,2 M (mẫu PA-0,2), một sự thay đổi đáng kể khác là đã xuất hiện các dây với đường kính vẫn còn khá lớn và chiều dài ngắn. Khi nồng độ monome aniline giảm xuống 0,1 M, các dây PANi trong mẫu PA-0,1 phát triển dài ra và đường kính giảm xuống đáng kể. Điều này có thể giải thích như sau: khi giảm nồng độ monome aniline trong dung dịch điện hóa từ 1 M xuống 0,1 M và giữ nguyên nồng độ mol của H_2SO_4 1 M làm cho tốc độ polymer hóa nhanh, dẫn đến màng PANi thu được xốp và đồng đều hơn. Như vậy, các màng nano PANi đã được tổng hợp thành công bằng phương pháp điện hóa, hình thái bề mặt và sự phân bố của màng trên bề mặt vi điện cực Pt/SiO₂ phụ thuộc rất nhiều vào tỷ lệ nồng độ monome aniline và các chất trong dung dịch điện hóa. Trong số những mẫu trên, mẫu PA-0,1 được xem như là có nhiều hứa hẹn trong lĩnh vực ứng dụng cảm biến khí.

Đặc trưng cấu trúc điện tử của màng PANi

Cấu trúc của màng PANi trên vi điện cực Pt/SiO₂ được nghiên cứu thông qua phổ FT-IR. Hình 3 là phổ FT-IR của màng PANi (mẫu PA-0,1) trong thang đo từ 500 đến 2000 cm⁻¹. Dải sóng dài có tâm nằm ở vị trí 1652 cm⁻¹ được quy cho là những dao động liên kết C=N. Những pic ở các vị trí có số sóng 1599, 1560, 1516, 1491 cm⁻¹ đặc trưng cho những dao động liên kết C=C. Trong đó, dải sóng ở vị trí 1599 và 1491 cm⁻¹ đặc trưng cho PANi được proton hóa và được cho là những dao động kéo căng C=C của vòng benzen và quinoid [8]. Dao động kéo căng C-N⁺ được tìm thấy ở số sóng 1408 cm⁻¹ [9]. Ngoài ra trên phổ FT-IR còn cho thấy, dao động kéo dãn mạnh ở số sóng 1028 cm⁻¹ đặc trưng cho liên kết -NH⁺- và -NH⁺= cũng cho thấy sự hình thành polaron trong quá trình điện hóa màng PANi là chủ yếu, chứng tỏ mức độ quá trình oxy hóa lớn và dẫn đến một lượng lớn muối emeraldine. Theo quá trình này, một dải kích thích giữa vùng dẫn và vùng hóa trị có thể hình thành, điều này có một vai trò quan trọng trong sự dẫn điện của màng PANi. Đồng thời, dải hồng ngoại từ 1116 cm⁻¹ cũng chỉ ra quá trình tổng hợp proton trong PANi [10]. Trong phổ FT-IR, các dao động uốn cong bên ngoài mặt phẳng được tìm thấy ở vị trí 977 cm⁻¹. Ngoài ra, sự thay thế ortho ở các vị trí 1, 2 trong vòng benzen ở vị trí 743 cm⁻¹, các dao động của hợp chất aryl nitro ở vị trí 684 cm⁻¹.



Hình 3. Phổ FT-IR của màng PANi trên vi điện cực Pt/SiO₂.

Khảo sát tính chất nhạy khí NH₃ ở nhiệt độ phòng của màng PANi

Các kết quả khảo sát đặc trưng nhạy khí được đo trên nồng độ khí NH₃ thay đổi từ 45 đến 350 ppm và đo ở nhiệt độ phòng. Độ đáp ứng của cảm biến đã được nghiên cứu thông qua sự thay đổi điện trở của lớp màng nhạy khí tiếp xúc với khí cần phân tích NH₃ trong môi trường khí mang là không khí (N₂ và O₂) và khi chỉ có khí mang.

Độ đáp ứng của cảm biến được tính toán dựa vào công thức sau:

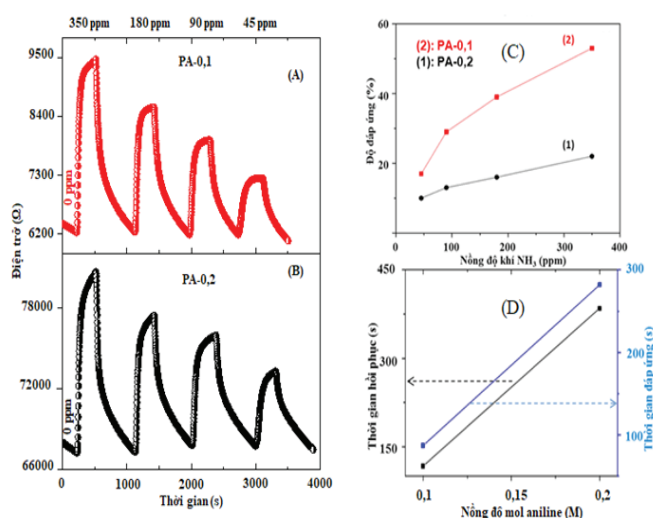
$$S = \frac{R_{\text{gas}} - R_{\text{air}}}{R_{\text{air}}} \times 100$$

Trong đó, R_{gas} là điện trở của cảm biến trong môi trường khí NH₃, R_{air} là điện trở của cảm biến trong môi trường không khí.

Trong số 4 cảm biến PA-1, PA-0,5, PA-0,2 và PA-0,1 được tổng hợp bằng phương pháp điện hóa quét thế vòng CV khi thay đổi nồng độ monome aniline từ 1 xuống 0,1 M tương ứng, các kết quả đo đạc và phân tích cho thấy: cảm biến PA-1 có điện trở rất lớn không đo được, cảm biến PA-0,5 cũng có điện trở khá lớn và không có tính thuận nghịch, không ổn định khi tiếp xúc với khí NH₃ do đó kết quả không trình bày ở đây mà chỉ tập trung vào cảm biến PA-0,2 và PA-0,1. Các đặc trưng nhạy khí NH₃ ở các nồng độ 45, 90, 180 và 350 ppm của cảm biến khí PA-0,2 và PA-0,1 được trình bày ở hình 4. Khi nồng độ aniline giảm từ 0,2 xuống 0,1 M, thì điện trở ban đầu của các màng cảm biến PA-0,2 và PA-0,1 lần lượt là 67487 và 6190 Ω, chứng tỏ tính dẫn điện của các màng PANi tăng. Hình 4A, B chỉ ra điện trở đáp ứng với các nồng độ khí NH₃ theo thời gian cho thấy khi được tiếp xúc với khí NH₃ trong môi trường khí mang là không khí thì điện trở của hai cảm biến đều tăng và dần đạt tới giá trị bão hòa, sau đó ngắt khí NH₃ đi chỉ còn lại khí mang, quan sát thấy điện trở giảm và trở về trạng thái ban đầu. Chứng tỏ rằng, các cảm biến đều có tính thuận nghịch tốt, do điện trở của cảm biến tăng khi có khí NH₃ chứng tỏ vật liệu màng PANi tổng hợp được đóng vai trò như một bán dẫn loại p khi tiếp xúc với khí khử NH₃ với đặc trưng cho điện tử.

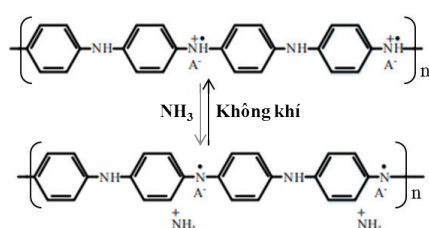
Hình 4C thể hiện độ đáp ứng của các cảm biến PA-0,2 và PA-0,1 theo nồng độ khí NH₃. Quan sát thấy, khi nồng độ khí NH₃ tăng từ 45 đến 350 ppm thì độ đáp ứng của các cảm biến màng PANi đều tăng và tăng khá tuyến tính, cụ thể là cảm biến PA-0,2 tăng từ 10-22%; cảm biến PA-0,1 tăng từ 17-53%. Tuy nhiên, độ đáp ứng của cảm biến PA-0,1 cao hơn so với độ đáp ứng của cảm biến PA-0,2 ở cả 4 nồng độ khí NH₃ là 45, 90, 180 và 350 ppm. Độ đáp ứng cao nhất của cảm biến dựa trên lớp nhạy màng PANi tổng hợp được bằng phương pháp điện hóa quét thế vòng CV là 53% (của cảm biến PA-0,1) khi tiếp xúc với 350 ppm khí NH₃.

Thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục của cảm biến PA-0,1 và PA-0,2 khi cho tiếp xúc với khí NH₃ ở cùng nồng độ 350 ppm đã được tính toán từ đường cong điện trở đáp ứng theo thời gian (hình 4A, B) và được chỉ ra như ở hình 4D. Những tính toán chỉ ra rằng cảm biến PA-0,1 cho thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục lần lượt là 87 và 117 s, nhỏ hơn nhiều so với thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục của cảm biến PA-0,2 tương ứng là 282 và 385 s.



Hình 4. Các đặc trưng nhạy khí NH₃ ở các nồng độ 45, 90, 180 và 350 ppm của các cảm biến PA-0,2 và PA-0,1 khi thay đổi nồng độ mol aniline 0,2 và 0,1 M, tương ứng. (A, B) Điện trở độ đáp ứng theo thời gian ở các nồng độ khí NH₃; (C) Độ đáp ứng theo nồng độ khí NH₃; (D) Thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục của các cảm biến PA-0,1 và PA-0,2 khi tiếp xúc với khí NH₃ ở cùng nồng độ 350 ppm.

Một cơ chế cho cảm biến nhạy khí NH₃ của các màng PANi có thể được hiểu như sau: khi cho cảm biến màng PANi tiếp xúc với khí NH₃ thì màng PANi sẽ hấp thụ các phân tử khí ở trên bề mặt, sau đó những phân tử này sẽ khuếch tán vào bên trong. Hơn nữa, với đặc tính xốp và đường kính nhỏ cũng cho phép các phân tử khí khuếch tán vào và ra toàn bộ khối màng dây nano một cách nhanh chóng. Màng PANi là một polymer dẫn loại p và NH₃ được biết đến là một khí khử. Vì vậy, cơ chế đáp ứng và cơ chế hồi phục của màng PANi với việc phát hiện khí NH₃ có thể được giải thích bằng sự hấp thụ và giải phóng proton [11]. Cặp điện tử tự do của nguyên tử N trong phân tử NH₃ có thể kết hợp với quỹ đạo điện tử tự do của proton pha tạp. Điều này dẫn đến sự hấp thụ của nguyên tử N trong PANi, gây ra sự giảm các polaron và do đó làm tăng điện trở của màng PANi. Cơ chế nhạy khí của cảm biến màng PANi với khí NH₃ có thể được biểu diễn bằng sơ đồ hình 5.



Hình 5. Sơ đồ minh họa cơ chế tương tác của màng PANi (PANi-ES) với khí NH₃.

Những kết quả ở trên chứng tỏ rằng, cảm biến PA-0,1 với hình thái là các dây nano với đường kính nhỏ trong khoảng từ 50 đến 100 nm và có chiều dài tới hàng trăm micro mét là phù hợp cho hiệu suất cảm biến để phát hiện khí NH₃. Điều

đáng nói là các cảm biến dựa trên màng PANi đều vận hành ở nhiệt độ phòng.

Kết luận

Nghiên cứu đã tổng hợp được vật liệu PANi bằng phương pháp điện hóa, hình thái bề mặt của vật liệu PANi phụ thuộc vào nồng độ anilin và điều kiện tổng hợp. Bên cạnh đó, nhóm nghiên cứu đã sử dụng vật liệu PANi để khảo sát tính chất nhạy khí NH₃ ở nhiệt độ phòng. Cảm biến khí sử dụng màng PANi ở nồng độ 350 ppm khí NH₃ cho độ nhạy 53%, thời gian đáp ứng và thời gian hồi phục lần lượt là 87 và 117 s. Vật liệu nano polyaniline nhóm nghiên cứu đã tổng hợp thành công rất phù hợp cho việc chế tạo cảm biến khí hoạt động ở nhiệt độ phòng với hiệu suất cao, ứng dụng trong các thiết bị quan trắc môi trường không khí.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 12/2020/TN. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K. Shingange, et al. (2016), "Highly selective NH₃ gas sensor based on Au loaded ZnO nanostructures prepared using microwave-assisted method", *J. Colloid. Interface. Sci.*, **479**, pp.127-138.
- [2] G.S. Trivikrama Rao, et al. (1999), "Gas sensitivity of ZnO based thick film sensor to NH₃ at room temperature", *Sens. Actuators B Chem.*, **55(2-3)**, pp.166-169.
- [3] G. Korotcenkov (2007), "Metal oxides for solid-state gas sensors: What determines our choice Mater", *Sci. Eng. B*, **139**, pp.1-23.
- [4] G. Korotcenkov (2008), "The role of morphology and crystallographic structure of metal oxides in response of conductometric-type gas sensors", *Mate. Sci. Eng.*, **61**, pp.1-39.
- [5] A. Kaushik, et al. (2015), "Organic-inorganic hybrid nanocomposite-based gas sensors for environmental monitoring", *Chemical Reviews*, **115**, pp.4571-4606.
- [6] M.J. Setka, et al. (2017), "Nanostructured polypyrrole-based ammonia and volatile organic compound sensors", *Sensors*, **17**, pp.562-590.
- [7] S. Wang, et al. (2013), "Organic/inorganic hybrid sensors: A review", *Sensors and Actuators B*, **182**, pp.467-481.
- [8] E. Song, et al. (2013), "Conducting polyaniline nanowire and its applications in chemiresistive sensing", *Nanomaterials*, **3(3)**, pp.498-523.
- [9] B. Butoi, et al. (2017), "Morphological and structural analysis of polyaniline and poly(o-anisidine) layers generated in a DC glow discharge plasma by using an oblique angle electrode deposition configuration", *Polymers*, **9(12)**, pp.732-750.
- [10] X. Du, et al. (2014), "Polyaniline with high crystallinity degree: Synthesis, structure, and electrochemical properties", *J. Appl. Polym. Sci.*, **131**, p.40827.
- [11] A.N. Jarad, et al. (2016), "Synthesis and characterization thin films of conductive polymer (PANi) for optoelectronic device application", *AIP Conference Proceedings*, **1733**, p.020020.

Nghiên cứu khả năng hấp phụ các ion kim loại Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} của vật liệu copolyme điều chế bằng kỹ thuật ghép bức xạ γCo^{60}

Phạm Bảo Ngọc, Nguyễn Giảng, Lê Văn Toàn, Lê Xuân Cường, Nguyễn Minh Hiệp, Vũ Ngọc Bích Đào, Trần Thị Tâm, Lê Văn Thức, Lê Thị Thùy Linh, Lê Thị Bích Thy, Hán Huỳnh Điện, Nguyễn Trọng Hoàng Phong*

Trung tâm Công nghệ bức xạ và Công nghệ sinh học, Viện Nghiên cứu Hạt nhân

Ngày nhận bài 17/8/2020; ngày chuyển phản biện 21/8/2020; ngày nhận phản biện 30/9/2020; ngày chấp nhận đăng 6/10/2020

Tóm tắt:

Copolyme (PVA-g-AA) có tỷ lệ PVA (Polyvinyl alcohol) và AA (Acid acrylic) khác nhau theo khối lượng (w/w) được điều chế bằng phản ứng ghép bức xạ gamma Co-60. Các yếu tố ảnh hưởng tới hàm lượng gel tạo thành đã được khảo sát. Ở liều chiếu xạ 20 kGy, lượng gel tạo thành đạt 92,39% với độ trương nước khoảng 905%. Các đặc trưng tính chất và cấu trúc của vật liệu đã được xác định bằng phổ hồng ngoại chuyển đổi chuỗi Fourier (FTIR) và phân tích nhiệt quét vi sai (DSC). Hình thái bề mặt trước và sau khi ghép mạch bức xạ được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM). Các yếu tố ảnh hưởng đến sự hấp phụ kim loại như pH, thời gian hấp phụ và nồng độ các ion kim loại sử dụng ban đầu cũng đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy, lượng hấp phụ cực đại của vật liệu sau 240 phút ở pH=5 đối với Pb^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} và Ni^{2+} lần lượt là 178, 161, 117 và 110 mg/g.

Từ khóa: copolyme, ghép bức xạ, PVA-g-AA.

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Ngày nay, đi cùng với sự phát triển của các ngành công nghiệp là sự ô nhiễm môi trường đất và nước do các kim loại nặng được thải ra thông qua các hoạt động sản xuất hay sinh hoạt của con người, làm ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe con người và hệ sinh thái. Trong cơ thể, chúng không bị chuyển hóa, mà được chuyển từ bộ phận này sang bộ phận khác, bị đào thải qua đường bài tiết và tích tụ lại trong một số cơ quan với hàm lượng tăng dần theo thời gian tiếp xúc. Các ion kim loại Zn, Co, Ni, Pb có độ hòa tan trong môi trường rất lớn, khi có mặt trong cơ thể ở nồng độ cao những ion này chuyển hóa và gây hại cho sức khỏe con người như: tổn thương nội tạng, tổn thương hệ thần kinh, ung thư và thậm chí có thể tử vong [1]. Do đó, vấn đề loại bỏ các ion kim loại nặng từ nước thải sinh hoạt và nước thải công nghiệp đã trở thành vấn đề cấp thiết. Có nhiều phương pháp được áp dụng nhằm tách các ion kim loại nặng ra khỏi môi trường nước như: phương pháp hấp phụ, phương pháp trao đổi ion, phương pháp kết tủa... Trong đó, phương pháp hấp phụ được áp dụng rộng rãi và cho kết quả rất khả thi bởi vì hiệu quả cao, chi phí thấp, dễ dàng thu gom xử lý. Gần đây, việc sử dụng các hydrogel, copolyme để hấp phụ các ion kim loại đã được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi vì các vật liệu hydrogel chỉ trương mà không tan trong nước. Ngoài ra, các vật liệu này thường chứa các nhóm chức ưa nước khác nhau như (COOH , OH , NH_2) trong cấu trúc mạng nên dễ dàng hấp phụ được các ion kim loại có trong nước thải [2, 3].

Hydrogel có thể được điều chế bằng phương pháp vật lý, hóa học nhưng phương pháp sử dụng bức xạ gamma Co-60 để ghép khâu mạch tạo mạng lưới không gian 3 chiều được cho là hiệu quả nhất do có tính ưu việt sau: tốc độ phản ứng nhanh, có thể kiểm soát tốc độ phản ứng, và đặc biệt không cần sử dụng chất xúc tác nên sản phẩm thu được có độ sạch cao [4-6]. Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của các thông số gia công đến hàm lượng gel, độ trương nước và khả năng hấp phụ các ion kim loại của vật liệu copolyme được điều chế bằng kỹ thuật chiếu xạ gamma Co-60 từ Polyvinyl alcohol và Acid acrylic (PVA-g-AA).

Phương pháp nghiên cứu

Điều chế copolyme bằng kỹ thuật ghép bức xạ

Copolyme PVA-g-AA được tổng hợp bằng phản ứng trùng hợp gốc tự do dưới tác dụng của bức xạ gamma Co-60. Hòa tan 10 g PVA trong 90 ml nước cất, khuấy đều bằng máy khuấy cơ với tốc độ 250 vòng/phút, ở nhiệt độ 80°C. Dung dịch được khuấy liên tục trong 5 giờ, sau đó làm nguội đến nhiệt độ phòng, tiếp theo thêm từ từ một lượng AA vào để đạt các tỷ lệ PVA:AA (w/w) là 1:1; 1:2 và 1:3. Khuấy đều bằng máy khuấy cơ với tốc độ 500 vòng/phút trong 60 phút. Hỗn hợp sau khi khuấy được chia nhỏ vào các túi PE, sau đó chiếu xạ trên thiết bị chiếu xạ Gamma Chamber 5000 ở khoảng liều xạ 0-25 kGy. Mẫu sau khi chiếu xạ được sấy khô ở 40°C đến khối lượng không đổi và xác định các đặc trưng tính chất.

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

Study on the adsorption of heavy metal ions Pb^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} from the aqueous solution of the copolymer prepared by gamma induced radiation polymerization

Bao Ngoc Pham, Giang Nguyen, Van Toan Le, Xuan Cuong Le, Minh Hiep Nguyen, Ngoc Bich Dao Vu, Thi Tam Tran, Van Thuc Le, Thi Thuy Linh Le, Thi Bich Thy Le, Huynh Dien Han, Trong Hoanh Phong Nguyen*

Radiation Technology and Biotechnology Center,
Dalat Nuclear Research Institute

Received 17 August 2020; accepted 6 October 2020

Abstract:

Copolymer hydrogel (PVA-g-AA) having varied PVA (Polyvinyl alcohol) and AA (Acrylic acid) content is prepared by gamma induced radiation polymerization. The parameters affecting the gel fraction yield have been studied. The gel fraction and the swelling property are found to be 92.39 and 905% respectively at an absorbed dose of 20 kGy. Structural and property characteristics were determined by Fourier Transform Infrared (FTIR) spectrometer and Differential Scanning Calorimetry (DSC). The surface morphology of PVA and copolymer has been studied with Scanning Electron Microscope (SEM). The factors affecting the metal uptake such as pH, time, and initial feed metal concentration were investigated. It is found that at pH 5 and after 240 minutes the maximum adsorption amount are 178, 161, 117, and 110 mg/g for Pb^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , and Ni^{2+} respectively.

Keywords: copolymer, PVA-g-AA, radiation polymerization.

Classification number: 1.4

Xác định các đặc trưng tính chất của copolyme

Hàm lượng gel tạo thành: các mẫu copolyme khô được ngâm nước cất trong 12 giờ ở $80^{\circ}C$, lấy ra và rửa bằng nước nóng để loại bỏ phần hòa tan, sau đó sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ $40^{\circ}C$. Hàm lượng gel tạo thành được tính toán theo công thức sau:

$$\text{Gel (\%)} = \frac{W_d}{W_0} \cdot 100 \quad (1)$$

Trong đó, W_d và W_0 lần lượt là các khối mẫu khô sau và trước khi chiết.

Tinh sạch copolyme: các mẫu copolyme khô được ngâm nước cất trong 12 giờ ở $80^{\circ}C$, lấy ra và rửa bằng nước nóng để loại bỏ phần hòa tan, sau đó sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ $40^{\circ}C$. Mẫu sau khi sấy khô được nghiền nhỏ, bảo quản trong các túi PE. Các mẫu copolyme sau khi tinh sạch sẽ được sử dụng để kiểm tra các đặc trưng tính chất.

Độ trương nước bão hòa (TNBH): được xác định bằng phương pháp Tea Bag: cân 1 lượng copolyme đã tinh sạch M_1 cho vào túi vải không thấm nước có khối lượng là M_0 , sau đó ngâm trương trong nước 24h. Tiếp đó, để ráo nước hoặc thấm nước bằng giấy thấm cho tới khi không còn thấy nước nhỏ giọt và cân khối lượng (M_2). Thí nghiệm lặp lại 3 lần, lấy kết quả trung bình. Độ TNBH của vật liệu được tính theo công thức:

$$\text{TNBH(\%)} = \frac{M_2 - M_0}{M_1} \cdot 100 \quad (2)$$

Khảo sát khả năng hấp phụ các ion kim loại của copolyme

Cân 0,1 g copolyme khô đã tinh sạch cho vào bình tam giác có chứa 100 ml dung dịch Pb^{2+} nồng độ 200 mg/l. Khuấy trên máy khuấy từ với tốc độ 250 vòng/phút trong 150 phút. Dung dịch sau đó đem đi lọc và xác định nồng độ Pb^{2+} còn lại trong dung dịch bằng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử AAS. Tiến hành thí nghiệm tương tự với các ion Co^{2+} , Ni^{2+} và Zn^{2+} .

Khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng hấp phụ các ion kim loại của copolyme

Cân 0,1 g copolyme khô đã tinh sạch cho vào bình tam giác có chứa 100 ml dung dịch Pb^{2+} nồng độ 200 mg/l. Khuấy trên máy khuấy từ với tốc độ 250 vòng/phút, chỉnh pH dung dịch nằm trong khoảng 2-6, tiếp tục khuấy trong 150 phút. Dung dịch sau đó đem đi lọc và xác định nồng độ Pb^{2+} còn lại trong dung dịch bằng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử AAS. Tiến hành thí nghiệm tương tự với các ion Co^{2+} , Ni^{2+} và Zn^{2+} . Các dung dịch HNO_3 0,1 M; 0,01 M và NaOH 0,1 M; 0,01 M được dùng để hiệu chỉnh pH.

Xác định dung lượng hấp phụ các ion kim loại của copolyme

Cân 0,1 g copolyme rồi lần lượt cho vào bình tam giác 250 ml chứa 100 ml dung dịch ion Pb^{2+} nồng độ 200 mg/l, khuấy ở tốc độ 250 vòng/phút, thời gian khuấy lần lượt là 30, 60, 90, 120, 150, 180 và 240 phút. Dung dịch sau khi khuấy được lọc và xác định dung lượng hấp phụ ion kim loại của copolyme bằng phương pháp AAS trên máy quang

phổ hấp thụ nguyên tử Shmadzu A4-6800 (Nhật Bản).

Hiệu suất hấp phụ được tính theo công thức:

$$H\% = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad (3)$$

Trong đó, C_0 là nồng độ kim loại ban đầu trong dung dịch (mg/l), C_e là nồng độ ion kim loại còn lại trong dung dịch (mg/l).

Dung lượng hấp phụ được tính theo công thức:

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{W} \quad (4)$$

Trong đó, q_e là lượng ion kim loại bị hấp phụ (mg/g), C_0 là nồng độ kim loại ban đầu trong dung dịch (mg/l), C_e là nồng độ ion kim loại còn lại trong dung dịch (mg/l), W là khối lượng chất hấp phụ đã dùng (g), V thể tích dung dịch (l).

Mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir

Irving Langmuir đã xây dựng mô hình hấp phụ với các giả thiết sau [7]: sự hấp phụ xảy ra tại các vị trí xác định trên bề mặt của chất hấp phụ; tất cả các vị trí hấp phụ trên bề mặt vật liệu hấp phụ đều giống nhau; bề mặt của chất hấp phụ được phủ một lớp đơn phân tử chất bị hấp phụ; không có sự tương tác giữa các phân tử chất bị hấp phụ trên bề mặt chất hấp phụ. Khi đó, trong hệ lỏng - rắn, phương trình Langmuir có dạng:

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (5)$$

Dạng tuyến tính phương trình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_m} + \frac{1}{q_m \cdot K_L} \quad (6)$$

Trong đó, q_e (mg/g) là độ hấp phụ được tính bằng lượng chất tan bị hấp phụ bởi một đơn vị khối lượng chất hấp phụ ở trạng thái cân bằng, K_L là hằng số hấp phụ Langmuir, C_e (mg/l) là nồng độ của chất tan trong pha lỏng ở trạng thái cân bằng, q_m (mg/g) là lượng chất bị hấp phụ cực đại trên một đơn vị khối lượng chất bị hấp phụ.

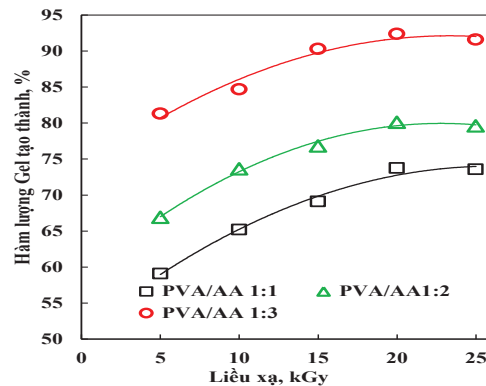
Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0. Sử dụng phân tích phương sai một yếu tố với mức tin cậy là 95% ($p < 0,05$).

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của liều xạ tới hàm lượng gel tạo thành và độ trương nước của copolymer

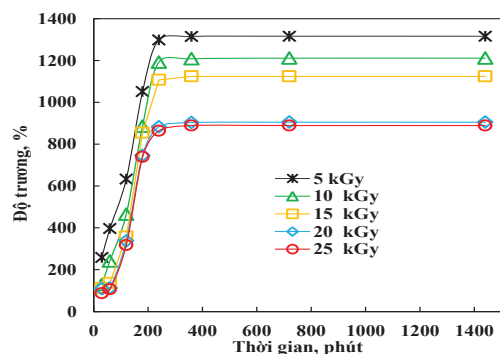
Ảnh hưởng của liều xạ đến hàm lượng gel tạo thành với các tỷ lệ PVA/AA khác nhau được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Ảnh hưởng của liều xạ tới hàm lượng gel tạo thành.

Kết quả khảo sát cho thấy, liều chiếu xạ có ảnh hưởng rất lớn đến hàm lượng gel tạo thành. Hàm lượng gel tạo thành tăng theo liều xạ và hàm lượng AA sử dụng. Điều này có thể giải thích rằng, monome AA chứa liên kết đôi $C=C$ không bão hòa, dưới tác dụng của bức xạ sẽ hình thành gốc tự do $-[CH_2-CH^{\bullet}-COOH]_n-$ và các gốc tự do này sẽ liên kết vào mạch chính của PVA tạo các liên kết ngang, từ đó gel được hình thành. Ngoài ra, khi liều xạ càng cao thì mức độ hình thành liên kết ngang trong phân tử copolymer càng nhiều, do đó mức độ hình thành gel lớn hơn. Tuy nhiên, khi ở khoảng liều xạ trên 20 kGy mức độ hình thành gel bão hòa và có dấu hiệu suy giảm. Nguyên nhân có thể được lý giải là: khi ở khoảng liều xạ 0-20 kGy quá trình khâu mạch bức xạ diễn ra và hàm lượng gel tạo thành bắt đầu tăng. Nhưng ở khoảng liều xạ 20-25 kGy quá trình khâu mạch bức xạ và cắt mạch bức xạ copolymer xảy ra đồng thời với mức độ khác nhau dẫn đến hàm lượng gel tạo thành bị hạn chế và có thể suy giảm. Cụ thể, trong khoảng liều xạ từ 5-20 kGy hàm lượng gel tạo thành tăng dần, đạt 92,39% tại liều xạ 20 kGy đối với mẫu copolymer có tỷ lệ PVA/AA là 1:3 (w/w), khi tăng liều xạ lên 25 kGy hàm lượng gel tạo thành suy giảm chỉ đạt 91,61%.

Ảnh hưởng của liều xạ đến độ trương nước của vật liệu copolymer tỷ lệ PVA/AA là 1:3 (w/w) theo thời gian được trình bày ở hình 2.

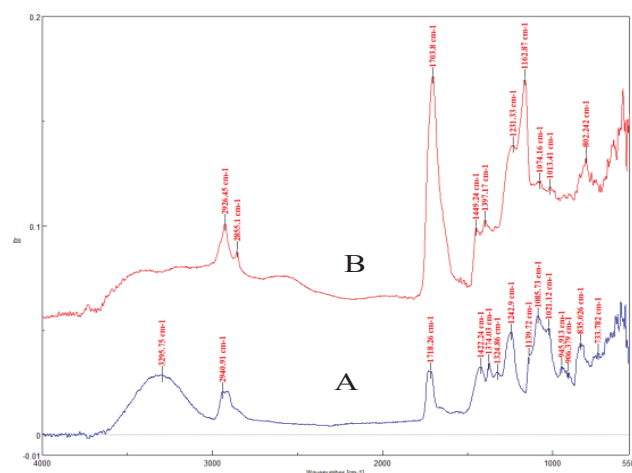


Hình 2. Ảnh hưởng của liều xạ đến độ trương nước của copolymer theo thời gian.

Kết quả khảo sát cho thấy, độ trương nước của vật liệu copolyme tăng theo thời gian và đạt trạng thái bão hòa sau 360 phút. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, độ TNBH tỷ lệ nghịch với liều chiếu xạ, nghĩa là khi tăng dần liều xạ lên thì độ trương nước của vật liệu copolyme giảm trong cùng một điều kiện. Cụ thể, độ TNBH của vật liệu copolyme chiếu xạ 5; 10; 15; 20 và 25 kGy lần lượt là 1315; 1208; 1124; 905 và 889%. Điều này cho thấy, khi chiếu xạ ở liều xạ cao mức độ khâu mạch càng lớn và làm hạn chế khả năng trương nước của vật liệu.

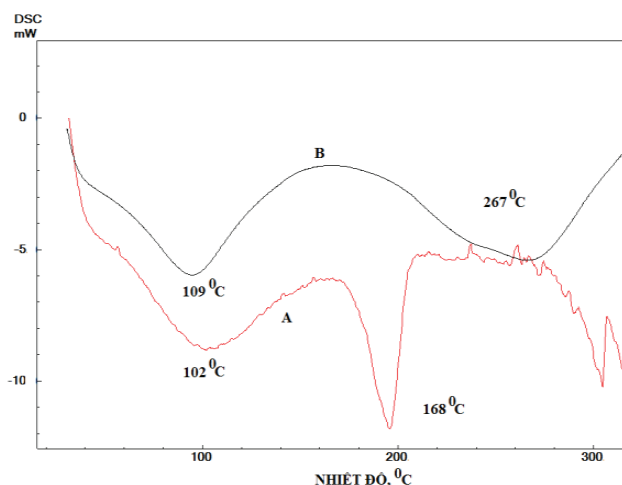
Các đặc trưng tính chất của copolyme

Phổ hồng ngoại: phổ hồng ngoại IR của PVA và PVA-g-AA cho kết quả ở hình 3. Trên phổ hồng ngoại của PVA (hình 3A) có đỉnh hấp thụ ở 3295 cm^{-1} đặc trưng cho dao động của nhóm O-H và đỉnh hấp thụ tại 2940 cm^{-1} đặc trưng cho dao động của nhóm C-H, đỉnh hấp thụ ở 1718 cm^{-1} đặc trưng cho dao động của nhóm C=O trong phân tử của PVA. Ngoài ra, các đỉnh hấp thụ từ $1324\text{--}1425\text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho dao động biến dạng của nhóm $-\text{CH}_2$, các đỉnh hấp thụ 1139 và 1085 cm^{-1} đặc trưng cho dao động của C-C và C-O, đỉnh hấp thụ từ $906\text{--}1085\text{ cm}^{-1}$ đặc trưng cho dao động của nhóm C-O-C.



Hình 3. Phổ hồng ngoại của PVA (A) và PAA-g-AA (B).

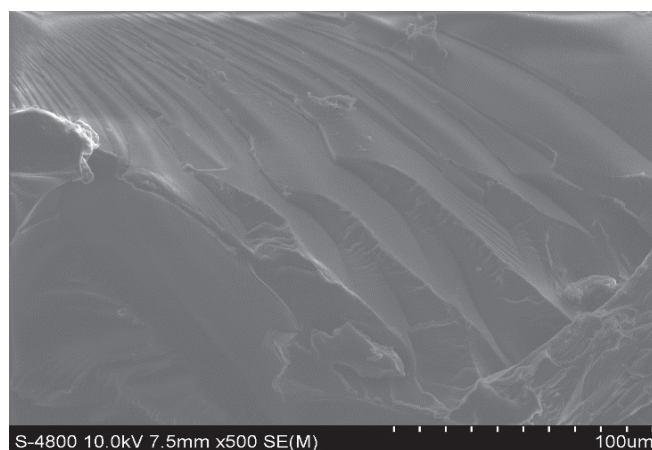
Trên phổ hồng ngoại của PVA-g-AA (hình 3B) cho thấy, có sự chồng chéo của dao động O-H trong nhóm cacboxylic với nhóm alcohol O-H của phân tử PVA và một dao động rất mạnh tại 1703 cm^{-1} tương trưng cho dao động C=O của nhóm cacboxylic có trong mạch PVA. Ngoài ra, dao động kéo CO của PVA ở 1718 cm^{-1} đã chuyển dịch về 1703 cm^{-1} , và cường độ của nó tăng lên cho thấy các tương tác liên kết hydro của PVA đã được thay thế bằng tương tác liên kết hydro giữa PVA và AA. Kết quả khảo sát cũng cho thấy, dao động kéo dài C-O ở 1085 cm^{-1} được giảm nhẹ và dịch về 1074 cm^{-1} và dao động của C-C tăng lên dịch chuyển lên 1162 cm^{-1} . Điều này là do phản ứng ester hóa giữa các nhóm acid cacboxylic trong phân tử polyacrylic acid và nhóm hydroxyl trong phân tử PVA.



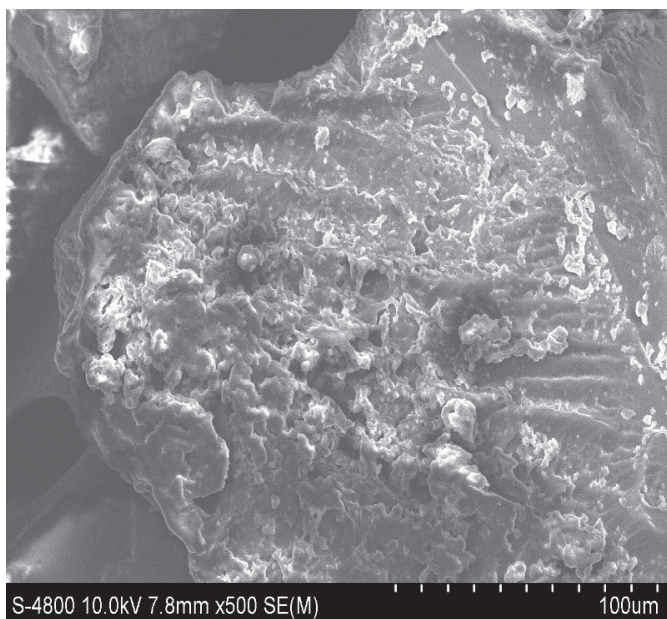
Hình 4. Giải đồ nhiệt của PVA (A) và PAA-g-AA (B).

Phân tích nhiệt vi sai DSC: trên giản đồ nhiệt ở hình 4 cho thấy, nhiệt độ nóng chảy T_m và nhiệt độ chuyển thủy tinh thể T_g của PVA (A) và PVA-g-AA (B) có sự thay đổi rõ ràng. Với mẫu PVA (hình 4A) T_m ở nhiệt độ 102°C đặc trưng nhiệt độ chuyển pha thủy tinh và T_m là 165°C đặc trưng cho nhiệt độ nóng chảy của PVA. Ở giản đồ nhiệt của PVA-g-AA (hình 4B), ngoài T_m ở nhiệt độ $109,43^\circ\text{C}$ đặc trưng nhiệt độ chuyển pha thủy tinh và sự mất nước hấp thụ của vật liệu ghép còn có một T_m ở nhiệt độ $268,20^\circ\text{C}$ cho thấy sự phá hủy các liên kết chéo trong phân tử copolyme, điều này cũng phù hợp với nghiên cứu của Raju và cộng sự (2007) [8].

Ảnh SEM của PVA và PVA-g-AA: kết quả chụp ảnh SEM của PVA ở hình 5 cho thấy PVA có bề mặt khá bằng phẳng và đơn giản. Tuy nhiên, sau khi tiến hành ghép AA bằng kỹ thuật bức xạ lên phân tử PVA ở hình 6 cho thấy, bề mặt của vật liệu ghép rất gồ ghề và phức tạp. Ngoài ra, trên bề mặt có rất nhiều lỗ mao quản nhỏ, điều này cho thấy AA đã được ghép lên PVA và polymer ghép bức xạ rất thích hợp làm vật liệu hấp phụ.



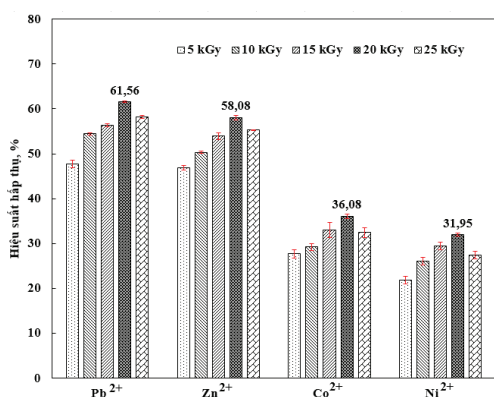
Hình 5. Ảnh SEM của PVA.



Hình 6. Ảnh SEM của PVA-g-AA.

Khả năng hấp phụ các ion kim loại của vật liệu copolymer

Khả năng hấp phụ ion kim loại của copolymer ở các liều chiếu xạ khác nhau: khả năng hấp phụ các ion kim loại Pb^{2+} ; Ni^{2+} ; Zn^{2+} và Co^{2+} nồng độ 200 ppm của copolymer chiếu xạ với các liều xạ khác nhau trong 150 phút được trình bày ở hình 7.

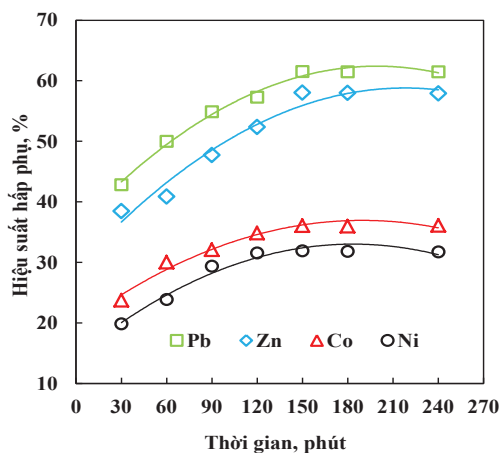


Hình 7. Khả năng hấp phụ ion kim loại của copolymer.

Các kết quả nghiên cứu cho thấy khi liều xạ tăng dần thì hiệu suất hấp phụ các ion kim loại của vật liệu copolymer tăng. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy, copolymer chiếu xạ ở liều xạ 20 kGy có hiệu suất hấp phụ cao nhất đối với các ion kim loại Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} lần lượt là 61,56; 58,08; 36,08 và 31,95%. Mặt khác, copolymer chiếu xạ ở liều xạ 25 kGy cho hiệu suất hấp phụ thấp hơn, có thể ở liều xạ cao hơn 20 kGy đã xảy ra quá trình cắt mạch làm đứt gãy các liên kết của các nhóm chức. Vì vậy, hiệu suất hấp phụ của vật liệu giảm dần.

Ảnh hưởng của thời gian và pH đến khả năng hấp phụ

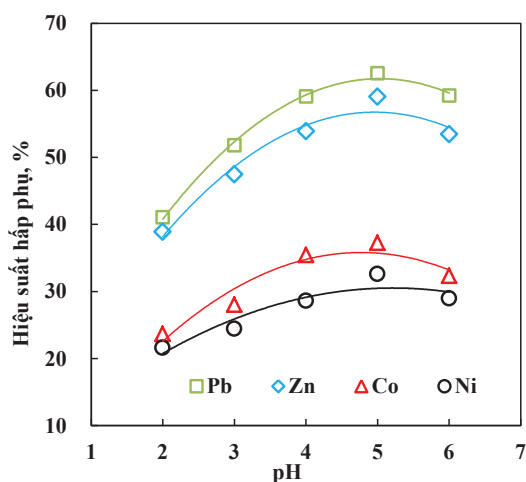
của vật liệu: ảnh hưởng của thời gian đến khả năng hấp phụ các ion kim loại của vật liệu copolymer được chỉ ra ở hình 8.



Hình 8. Ảnh hưởng của thời gian đến khả năng hấp phụ của vật liệu.

Các kết quả nghiên cứu cho thấy hiệu suất hấp phụ của vật liệu tăng theo thời gian và đạt trạng thái bão hòa ở 240 phút. Cụ thể, hiệu suất hấp phụ các ion kim loại sau 240 phút của copolymer tương ứng với các ion kim loại Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} lần lượt là 61,50; 57,94; 36,13 và 31,77%.

Ảnh hưởng của pH đến khả năng hấp phụ của vật liệu trong khoảng pH 2-6 được trình bày ở hình 9.



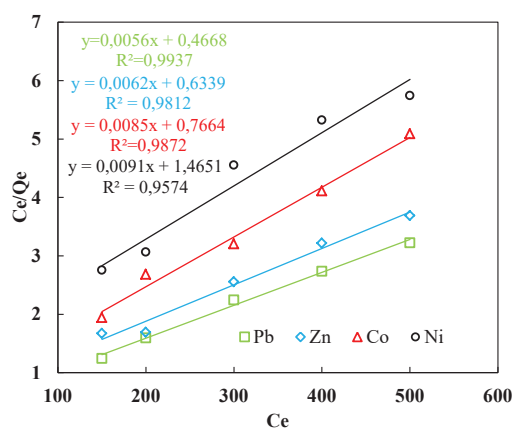
Hình 9. Ảnh hưởng của pH đến khả năng hấp phụ của vật liệu.

Kết quả khảo sát cho thấy, hiệu suất hấp phụ các ion kim loại của vật liệu ở các môi trường pH khác nhau không có quy luật nhất định. Cụ thể, khi pH tăng trong khoảng từ 2-5 thì hiệu suất hấp phụ các ion kim loại tăng, nhưng khi tiếp tục tăng pH=6 thì hiệu suất hấp phụ của copolymer lại giảm. Như vậy, khi pH thấp thì làm gia tăng ion H^+ trên bề mặt chất hấp phụ, điều này gây nên tương tác tĩnh điện mạnh giữa bề mặt chất hấp phụ tích điện dương làm cản trở

sự tương tác tĩnh điện giữa các nhóm chức trong phân tử copolyme với các ion kim loại tồn tại dưới dạng Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} . Ngược lại, khi $pH > 6$ thì có sự cạnh tranh hấp phụ giữa ion OH^- diễn ra ở bề mặt chất hấp phụ và trong dung môi, làm giảm khả năng hấp phụ của copolyme.

Dung lượng hấp phụ của copolyme

Trên cơ sở các điều kiện thời gian, pH tối ưu đã tìm được, tiến hành quá trình hấp phụ với nồng độ Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} ban đầu khác nhau. Các dữ liệu hấp phụ được phân tích theo mô hình đẳng nhiệt hấp phụ Langmuir. Dạng tuyến tính của phương trình Langmuir được biểu diễn trên hình 10.



Hình 10. Dạng tuyến tính của phương trình Langmuir đối với các ion kim loại.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir mô tả khá chính xác sự hấp phụ của Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} lên vật liệu copolyme. Dung lượng hấp phụ cực đại q_{max} của copolyme đối với Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} lần lượt là 178,57; 161,29; 117,64 và 109,89 mg/g. Năng lượng liên kết b (Kq_{max}) trong trường hợp này là: $Pb^{2+}=0,4668$; $Zn^{2+}=0,6339$; $Co^{2+}=0,7664$ và $Pb^{2+}=0,9574$.

Kết luận

Sử dụng kỹ thuật ghép bức xạ AA lên phân tử PVA được thực hiện trong khoảng liều xạ 0-25 kGy, hàm lượng gel tạo thành phụ thuộc vào liều chiếu xạ và đạt 92,39% tại liều xạ 20 kGy. Sự hình thành các liên kết ngang trong phân tử copolyme tạo mạng lưới không gian 3 chiều làm cho vật liệu chỉ trương mà không tan trong nước với độ trương khoảng 905%. Các kết quả phân tích FTIR và DSC chứng

minh rằng AA đã được ghép lên khung của PVA bởi sự hình thành các liên kết ngang thông qua phản ứng ester hóa giữa các nhóm acid cacboxylic trong phân tử polyacrylic acid và nhóm hydroxyl trong phân tử PVA. Ảnh SEM cho thấy, bề mặt của vật liệu ghép rất gồ ghề, phức tạp và trên bề mặt có rất nhiều lỗ mao quản nhỏ, điều này cho thấy AA đã được ghép lên PVA. Các kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, dung lượng hấp phụ cực đại q_{max} của copolyme đối với Pb^{2+} ; Zn^{2+} ; Co^{2+} và Ni^{2+} lần lượt là 178,57; 161,29; 117,64 và 109,89 mg/g. Năng lượng liên kết b (Kq_{max}) trong trường hợp này là: $Pb^{2+}=0,4668$; $Zn^{2+}=0,6339$; $Co^{2+}=0,7664$ và $Pb^{2+}=0,9574$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lê Huy Bá (2008), *Độc học môi trường cơ bản*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
- [2] M.A. Barakat (2011), "New trends in removing heavy metals from industrial wastewater", *Arabian Journal of Chemistry*, **4**(4), pp.361-77.
- [3] H.F. Yahya Al-qudah, A. Ghada, M.A. Mahmoud, Abdel Khalek (2014), "Radiation crosslinked poly (vinyl alcohol)/acrylic acid copolymer for removal of heavy metal ions from aqueous solutions", *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, **7**, pp.135-145.
- [4] N.A. Maziad, M. Mohsen, E. Gomaaand, R. Mohammed (2015), "Radiation copolymerization of hydrogels based in polyacrylic acid/polyvinyl alcohol applied in water treatment processes", *Journal of Materials Science and Engineering A*, **5**, pp.11-12.
- [5] H.F. Yahya Al-Qudah, M.A. Mahmoud, Abdel-Khalek (2014), "Radiation crosslinked poly (vinyl alcohol)/acrylic acid copolymer for removal of heavy metal ions from aqueous solutions", *J. Rad. Res. Appl. Sci.* **7**(2), pp.135-145.
- [6] H.L. Abd El-Mohdy, E.A. Hegazy, E.M. El-Nesr, M.A. Wahab (2013), "Metal sorption behavior of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone)/ (acrylic acid-co-styrene) hydrogels synthesized by gamma radiation", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **1**(3), pp.328-338.
- [7] A.O. Dada, A.P. Olalekan, A.M. Olatunya, O. DaDa (2012), "Langmuir, freundlich, temkin and dubinin-radushkevich isotherms studies of equilibrium sorption of Zn^{2+} onto phosphoric acid modified rice husk", *Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, **3**(1), pp.38-45.
- [8] Ch. Linga Raju, J.L. Rao, B.C.V. Reddy, K. Veera Brahmam (2007), "Thermal and IR studies on copper doped polyvinyl alcohol", *Bulletin of Materials Science*, **30**, pp.215-218.

Hoạt tính chống oxy hóa, đối kháng của cao chiết từ lá và thành phần tinh dầu loài Bưởi bung (*Acronychia pedunculata* (L.) Miq.)

Phùng Thị Tuyền^{1*}, Ma Minh Nguyệt¹, Phạm Thanh Hà¹, Nguyễn Như Ngọc²

¹Khoa Quản lý tài nguyên rừng và môi trường, Trường Đại học Lâm nghiệp

²Viện Công nghệ sinh học lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp

Ngày nhận bài 22/9/2020; ngày chuyển phản biện 2/10/2020; ngày nhận phản biện 23/11/2020; ngày chấp nhận đăng 16/12/2020

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số, hoạt tính chống oxy hóa và đối kháng của cao chiết từ lá và thành phần các chất có trong tinh dầu từ lá Bưởi bung (*Acronychia pedunculata* (L.) Miq.). Kết quả cho thấy, dịch chiết lá Bưởi bung khi sử dụng dung môi ethanol 100% (E100) có hàm lượng polyphenol và flavonoid thấp hơn dịch chiết khi sử dụng ethanol 70% (E70). Tuy vậy, hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ dung môi E100 ($IC_{50}=612,9\pm12,9$ $\mu\text{g/ml}$) lại mạnh hơn dịch chiết từ dung môi E70 ($IC_{50}=1225,5\pm6,9$ $\mu\text{g/ml}$). Về hoạt tính đối kháng, dịch chiết lá Bưởi bung từ E100 và E70 ức chế sinh trưởng chiều dài rễ của Cải củ nhưng lại kích thích tăng trưởng chiều dài rễ của Xà lách. Đặc biệt, ở nồng độ 3 mg/ml dịch chiết từ E100 đã ức chế sinh trưởng rễ của Cải củ tới 48,1%. Khi sử dụng dung môi là nước, dịch chiết thu được đều làm giảm khả năng sinh trưởng rễ của cả hai loài Cải củ và Xà lách. Hỗn hợp tinh dầu lá Bưởi bung và nước thu được khi sử dụng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước được phân tích bằng máy sắc ký khí khối phổ (GC-MS). Kết quả đã xác định được 33 hợp chất, trong đó các hợp chất chính bao gồm caryophyllene (47,09%), humulene (17,28%), α -copaene (4,98%), isodene (3,59%) và (-)- α -panasinsen (3,51%), các chất còn lại chiếm tỷ lệ nhỏ hơn 3%.

Từ khóa: bưởi bung, caryophyllene, hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính đối kháng, tinh dầu.

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Thực vật nói chung và thực vật có chứa các hoạt chất sinh học nói riêng có ý nghĩa quan trọng đối với con người. Các loài thực vật này đã được sử dụng để cung cấp thực phẩm, thuốc chữa bệnh, mỹ phẩm, nguyên vật liệu phục vụ cuộc sống của con người [1].

Chi *Acronychia* thuộc họ Cam (Rutaceae) gồm 50 loài, chủ yếu là cây bụi, cây gỗ nhỏ, phân bố tự nhiên ở các vùng nhiệt đới như Ấn Độ, Sri Lanka, Malaysia, phía nam Trung Quốc, New Caledonia và phía tây châu Úc [2, 3]. Tuy nhiên, vùng lớn nhất có các loài trong chi này đa dạng nhất là New Guinea và Tây Úc [2]. Trong số các loài thuộc chi *Acronychia*, Bưởi bung là cây gỗ nhỏ thường xanh, cành, lá và quả có tinh dầu thơm. Rễ, thân, lá và quả Bưởi bung được sử dụng như một loại dược liệu để chữa các bệnh như tiêu chảy, ho, hen suyễn, mụn nhọt, viêm da, mẩn ngứa, da bong vảy, đau nhức, thấp khớp [3, 4]. Ngoài ra, Bưởi bung được dùng như một loại thuốc chữa hạ sốt và cầm máu [3].

Mặc dù Bưởi bung là một loài cây có nhiều giá trị về dược liệu, nhưng những nghiên cứu về hoạt tính sinh học và các hợp chất thiên nhiên của loài cây này còn hạn chế. Vì vậy, việc làm rõ một số hoạt tính sinh học của Bưởi bung, bao gồm hoạt tính đối kháng, hoạt tính chống oxy hóa, hàm lượng tinh dầu và thành phần các chất có trong tinh dầu Bưởi bung sẽ góp phần là cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo để làm rõ giá trị dược lý của loài, từ đó có biện pháp khai thác và sử dụng bền vững trong tương lai.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

Đối tượng: nghiên cứu thực hiện với loài Bưởi bung (*Acronychia pedunculata* (L.) Miq.) thuộc họ Cam (Rutaceae). Cành mang lá, hoa và cành mang lá, quả của loài Bưởi bung thu tại khu danh thắng Tây Thiên thuộc tỉnh Vĩnh Phúc (hình 1). Mẫu tiêu bản đang được lưu trữ tại Bộ môn Thực vật rừng, Khoa Quản lý tài nguyên rừng và môi trường, Trường Đại học Lâm nghiệp.

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

Antioxidant, allelopathic activities of leaf extracts and essential oil compositions of *Acronychia pedunculata* (L.) Miq.

Thi Tuyen Phung^{1*}, Minh Nguyet Ma¹, Thanh Ha Pham¹, Nhu Ngoc Nguyen²

¹Faculty of Forest Resources and Environmental Management, Vietnam National University of Forestry

²College of Forestry Biotechnology, Vietnam National University of Forestry

Received 22 September 2020; accepted 16 December 2020

Abstract:

This research aims to exploit total polyphenol, flavonoid contents, antioxidant and allelopathic activities of leaf extracts, and essential oil compositions from leaves of *Acronychia pedunculata* (L.) Miq. The results indicated that the leaf extract from ethanol 100% (E100) possessed a lower total polyphenol and flavonoid content than the extract from ethanol 70% (E70). In contrast, the antioxidant activity from E100 extract with $IC_{50}=612.9\pm12.9$ $\mu\text{g/ml}$ was stronger than that of E70 extract with $IC_{50}=1225.5\pm6.9$ $\mu\text{g/ml}$. Regarding allelopathic activity, while the extracts from E100 and E70 inhibited root growth of radish, both extracts promoted root growth of lettuce. Especially, E100 extract with 3 mg/ml inhibited root growth of radish up to 48.1%. Moreover, using water solvents, the extracts reduced root growth of both the radish and lettuce. By GC-MS analyses, 33 compounds were identified from *A. pedunculata* essential oil. The major constituents were caryophyllene (47.09%), humulene (17.28%), α -copaene (4.98%), isodene (3.59%), and (-)- α -panasinsen (3.51%), other compounds were accounted for lower 3%.

Keywords: *Acronychia pedunculata* (L.) Miq., allelopathic activity, antioxidant activity, caryophyllene, essential oil.

Classification number: 1.4



(A)

(B)

(C)

(D)

Hình 1. Bưởi bung *Acronychia pedunculata* (L.) Miq. (A) Cảnh mang lá và nụ hoa; (B) Hoa; (C) Quả; (D) Lá và hoa.

Một lượng mẫu lá (2 kg) được rửa sạch bằng nước và sấy khô ở nhiệt độ 50°C, sau đó nghiền thành bột. Mẫu được sử dụng để xác định hoạt tính chống oxy hóa, hoạt tính đối kháng, xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số. Mẫu lá tươi Bưởi bung được sử dụng để chưng cất tinh dầu và xác định thành phần các hợp chất có trong tinh dầu.

Hạt giống Cải củ (*Raphanus sativus* L.) và Xà lách (*Lactuca sativa* L.) là sản phẩm của Công ty Giống cây trồng Hoàng Nông. Tỷ lệ nảy mầm của hai loại hạt giống này là >80%. Cải củ và Xà lách được lựa chọn trong nghiên

cứu này vì đây là loài cây hai lá mầm, rất nhạy cảm và được sử dụng phổ biến trong việc nghiên cứu hoạt tính đối kháng của các loài thực vật [5].

Hóa chất: gồm các dung môi ethanol và methanol độ tinh khiết >98% được cung cấp bởi Công ty Hóa chất Biển xanh (Hà Nội). Các hóa chất 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Folin-Ciocalteu's reagent, Na_2CO_3 , NaOH, AlCl_3 được mua từ Sigma-Aldrich.

Chuẩn bị dịch chiết từ Bưởi bung: 10 g mẫu bột khô

lá Bưởi bung được ngâm trong dung môi ethanol 100% (E100) và dung môi ethanol 70% (E70) trong vòng 24h ở nhiệt độ phòng, sau đó dịch chiết được lọc bằng giấy lọc (GB/T1914-2007 xuất xứ Trung Quốc). Quy trình ngâm mẫu được lặp lại 3 lần. Dịch chiết được gom lại và tách dung môi bằng máy cô quay (EYELA Rotary evaporator N1000, EYELA OIL BATH OSB-2000, Tokyo Rikakikai Co., LTD) ở nhiệt độ 50°C. Cao chiết thu được được hòa tan bằng dung môi methanol 100% để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo gọi là dịch chiết.

Mẫu bột khô (5 g) được ngâm trong 100 ml nước cất trong 3 ngày ở nhiệt độ phòng, sau đó dịch chiết được lọc bằng giấy lọc (GB/T1914-2007 xuất xứ Trung Quốc). Dịch chiết thu được từ 5 g bột khô/100 ml nước cất được coi là nồng độ 5%. Sau đó dung dịch mẫu 5% được pha loãng bằng nước cất tới nồng độ 2,5 và 1%.

Phương pháp nghiên cứu

Xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số: hàm lượng polyphenol được xác định theo phương pháp của Singleton và cs (1999) [6]. Một lượng dung dịch mẫu là 500 µl (nồng độ 100 µg/ml) được trộn với 250 µl Folin-Ciocalteu (20%), hỗn hợp được lắc đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Một lượng 250 µl dung dịch Na_2CO_3 10% được cho thêm vào, hỗn hợp được ủ tiếp ở nhiệt độ 37°C trong vòng 30 phút trong tối. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 765 nm bằng máy Multiskan™ Microplate Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Osaka, Japan). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng phenol tổng số được xác định bằng cách sử dụng đường chuẩn từ gallic acid (nồng độ 2-10 µg/ml). Hàm lượng phenol tổng số được quy đổi thông qua hàm lượng tương đương của gallic acid (µg gallic acid/g chất khô) theo công thức $y = 0,073x + 0,071$ ($R^2=0,999$).

Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định theo phương pháp của Bag và cs (2015) [7]. Dung dịch mẫu là 400 µl (100 µg/ml) được hòa tan trong methanol cho phản ứng với 40 µl dung dịch NaNO_2 5%. Hỗn hợp được lắc đều và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Một lượng 40 µl dung dịch AlCl_3 10% được cho thêm vào hỗn hợp và lắc đều. Hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ phòng trong thời gian 6 phút. Dung dịch NaOH 1 M (400 µl) và 120 µl H_2O được cho thêm vào hỗn hợp và trộn đều. Độ hấp thụ của hỗn hợp được đo ở bước sóng 510 nm sử dụng máy Multiskan™ Microplate Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Osaka, Japan). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hàm lượng flavonoid tổng số được tính toán thông qua việc sử dụng quercetin làm chất chuẩn nồng độ (20-100 µg/ml) và quy đổi tương đương µg quercetin/g chất khô theo công thức $y = 0,005x + 0,076$.

Nghiên cứu hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ lá Bưởi bung: khả năng kháng oxy hóa của cao chiết từ lá cây Bưởi bung được thực hiện theo phương pháp DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) [8]. Phản ứng bao gồm 500 µl dịch chiết (nồng độ 100-1500 mg/ml), 500 µl DPPH (6×10^{-4} M) và 250 µl acetact buffer (pH=5), thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong tối 15 phút, sau đó đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 517 nm. IC_{50} (Inhibition concentration) là nồng độ mà dịch chiết ức chế được 50% gốc tự do của DPPH được xác định. Gallic acid được sử dụng làm chất đối chứng dương.

% ức chế gốc tự do DPPH = $(\text{Abs đối chứng} - \text{Abs mẫu}) / \text{Abs đối chứng} \times 100$. Trong đó: Abs đối chứng là độ hấp thụ của mẫu đối chứng; Abs mẫu là độ hấp thụ của hỗn hợp dung dịch có mặt của dịch chiết Bưởi bung.

Nghiên cứu hoạt tính đối kháng của dịch chiết Bưởi bung đối với Cải củ và Xà lách: dịch chiết lá Bưởi bung 4 ml nồng độ 1, 2, 3 mg/ml được bơm lần lượt vào đĩa petri (đường kính 9 cm) có lót 2 lớp giấy mềm. Sau 6h, dung môi methanol đã bay hơi hết, 4 ml nước cất được bơm vào từng đĩa petri. Hạt giống của 2 loài Cải củ và Xà lách (20 hạt) được gieo vào đĩa Petri. Công thức đối chứng sử dụng nước cất thay cho dịch chiết. Tất cả các công thức thí nghiệm trên được bố trí ở nhiệt độ 25-27°C, sử dụng đèn LED chiếu sáng (Led grow light - Model: A600 W-S, LED power 600W - China) với thời gian chiếu sáng là 10h/ngày. Lượng nước cất 2 ml được thêm vào mỗi đĩa petri 2 ngày/lần. Số lượng hạt nảy mầm, chiều dài của thân (chồi) và rễ được đo đếm sau 7 ngày. Các công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần [9].

Dịch chiết lá Bưởi bung bằng nước cất (4 ml) với các nồng độ khác nhau 5, 2,5, 1% được bơm lần lượt vào đĩa petri (đường kính 9 cm) có lót 2 lớp giấy mềm. Hạt giống (20 hạt) của hai loài thực vật bao gồm Cải củ và Xà lách được gieo vào đĩa petri. Công thức đối chứng được thực hiện với nước cất. Tất cả các công thức thí nghiệm được đặt ở nhiệt độ phòng 25-27°C với thời gian chiếu sáng sử dụng đèn LED (Led grow light - Model: A600 W-S, LED power 600W - China) là 10h/ngày. Lượng nước cất 2 ml được thêm vào mỗi đĩa petri 2 ngày/lần. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số lượng hạt nảy mầm, chiều dài của thân (chồi) và rễ được đo đếm sau 7 ngày [8].

Xác định hàm lượng tinh dầu của Bưởi bung: hàm lượng tinh dầu thu được được xác định theo công thức của Dược điển Việt Nam (1971).

$$X = \frac{a \cdot 100}{b}$$

Trong đó: X là hàm lượng tinh dầu (ml/g); a là thể tích của tinh dầu chưng cất được; b là khối lượng của mẫu khô.

Xác định thành phần hợp chất có trong tinh dầu của Bưởi bung: thành phần của tinh dầu được phân tích bằng máy sắc ký khí khối phổ GC-MS (GC7890B-MS 5977A-Agilent) với cột DB-5MS (30 m x 0,25 mm I.D. x 0,25 μ m Agilent Technologies, J & W Scientific Products, Folsom, CA, USA). Chương trình nhiệt độ: 50°C giữ một phút, sau đó tăng đến 280°C với tốc độ gia nhiệt 5°C/phút và giữ một phút. Nhiệt độ injector là 200°C, tốc độ khí mang là 1 ml/phút. Nhiệt độ nguồn ion là 230°C, nhiệt độ tứ cực là 150°C và khoảng quét là 45-500 amu. Các chất được xác định bằng cách so sánh với các chất có trong thư viện NiSt.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA) thông qua phân tích phương sai ANOVA một nhân tố. Sự khác biệt có ý nghĩa được kiểm tra bằng cách sử dụng Tukey's test ($p=0,05$) và được biểu diễn bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (standard deviation). Tỷ lệ nảy mầm được tính toán bằng công thức số lượng hạt nảy mầm của từng công thức thí nghiệm/số hạt giống được gieo trên đĩa $\times 100$.

Tỷ lệ % ức chế sinh trưởng = $100\% - [(chiều\ dài\ thân\ hoặc\ rễ\ của\ công\ thức\ thí\ nghiệm/chiều\ dài\ thân\ hoặc\ rễ\ của\ công\ thức\ đối\ chứng) \times 100]$.

Kết quả và thảo luận

Hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và hoạt tính chống oxy hóa

Hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và hoạt tính chống oxy hóa của Bưởi bung được chiết xuất bằng dung môi ethanol E100 và E70 được thể hiện trong bảng 1. Kết quả cho thấy, dịch chiết E70 có hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số cao hơn dịch chiết E100 tương ứng với 2,7 và 3,1 lần.

Bảng 1. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số của dịch chiết Bưởi bung.

Dung môi	Polyphenol (μ g/g bột khô)	Flavonoid (μ g/g bột khô)	DPPH IC ₅₀ (μ g/ml)
E100	0,62 $\pm$ 0,03 ^b	32,03 $\pm$ 8,12 ^b	612,9 $\pm$ 12,9 ^b
E70	1,68 $\pm$ 0,20 ^a	97,72 $\pm$ 9,81 ^a	1225,5 $\pm$ 6,9 ^c
Gallic acid			66,8 $\pm$ 1,9 ^a

Số liệu trong bảng được biểu diễn bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$). Giá trị IC₅₀ càng nhỏ thể hiện hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh.

Khả năng chống oxy hóa của dịch chiết E100 và E70 của Bưởi bung được xác định thông qua khả năng khử gốc tự do DPPH (bảng 1). Hiệu quả loại bỏ gốc tự do của dịch chiết được xác định thông qua giá trị IC₅₀ (là nồng độ của dịch chiết khử được 50% gốc tự do của DPPH). Giá trị IC₅₀ càng nhỏ thì hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh. Căn cứ vào giá trị IC₅₀ cho thấy, dịch chiết từ E100 có hoạt tính chống oxy hóa mạnh hơn so với dịch chiết từ E70. Điều này có nghĩa là hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số tỷ lệ nghịch với hoạt tính chống oxy hóa.

Hoạt tính đối kháng của dịch chiết từ lá Bưởi bung bằng dung môi ethanol đến khả năng nảy mầm và sinh trưởng của Cải củ

Dịch chiết Bưởi bung E100 và E70 với các nồng độ khác nhau đều ảnh hưởng đến quá trình nảy mầm và sinh trưởng của Cải củ (bảng 2). Dịch chiết E100 (3 mg/ml) ức chế khả năng nảy mầm của Cải củ (tỷ lệ nảy mầm đạt 83,3%) mạnh hơn so với các nồng độ dịch chiết khác và đối chứng. Tuy nhiên, kết quả thống kê không có sự khác biệt về tỷ lệ nảy mầm giữa các công thức thí nghiệm. Bên cạnh đó, dịch chiết E100 tại nồng độ 2 và 3 mg/ml ức chế sinh trưởng chiều dài thân và rễ của Cải củ mạnh hơn so với các công thức thí nghiệm khác và đối chứng ($p<0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của dịch chiết Bưởi bung bằng dung môi ethanol đến tỷ lệ nảy mầm và sinh trưởng của Cải củ.

Dung môi	Nồng độ (mg/ml)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều dài thân (mm)	Chiều dài rễ (mm)
E100	1	96,7 $\pm$ 5,8 ^a	7,6 $\pm$ 2,8 ^{ab} (0,9)	59,3 $\pm$ 23,5 ^a (13,5)
	2	90,00 $\pm$ 5,0 ^a	6,0 $\pm$ 2,9 ^b (21,3)	36,4 $\pm$ 20,9 ^b (46,9)
	3	83,3 $\pm$ 10,4 ^a	6,1 $\pm$ 3,2 ^b (19,5)	35,6 $\pm$ 22,9 ^b (48,1)
E70	1	95,0 $\pm$ 6,0 ^a	6,1 $\pm$ 2,6 ^b (20,6)	62,4 $\pm$ 33,1 ^a (9,0)
	2	85,0 $\pm$ 5,0 ^a	9,3 $\pm$ 5,7 ^a (-22,5)	55,4 $\pm$ 32,9 ^a (19,3)
	3	86,7 $\pm$ 7,6 ^a	8,6 $\pm$ 4,4 ^a (-12,6)	56,8 $\pm$ 29,0 ^a (17,2)
Đối chứng		100 $\pm$ 0,0 ^a	7,6 $\pm$ 2,9 ^{ab} (0,0)	68,6 $\pm$ 23,7 ^a (0,0)

Số liệu trong bảng được biểu diễn bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($p<0,05$). Số liệu trong dấu ngoặc đơn là tỷ lệ % ức chế của cao chiết so với đối chứng. Giá trị trong ngoặc đơn với dấu (-) nghĩa là tỷ lệ % kích thích so với đối chứng. Công thức đối chứng sử dụng nước cất thay cho dịch chiết.

Đối với dịch chiết E70, nồng độ 1 mg/ml có khả năng ức chế chiều dài thân của Cải củ mạnh hơn so với 2 nồng độ còn lại và thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh với kết quả của công thức đối chứng ($p<0,05$).

Khi so sánh hoạt tính đối kháng của dịch chiết từ hai loại dung môi E100 và E70, cho thấy dịch chiết lá Bưởi bung từ E100 có hoạt tính mạnh hơn E70.

Hoạt tính đối kháng của dịch chiết lá Bưởi bung bằng dung môi ethanol đến khả năng nảy mầm và sinh trưởng của Xà lách

Dịch chiết Bưởi bung từ E100 và E70 đều có ảnh hưởng rõ rệt tới tỷ lệ nảy mầm của Xà lách (bảng 3). Trong đó, dịch chiết E70 thể hiện khả năng ức chế nảy mầm Xà lách cao hơn so với dịch chiết E100. Nồng độ của dịch chiết không ảnh hưởng đến tỷ lệ nảy mầm của Xà lách, bởi khi nồng độ tăng lên thì tỷ lệ nảy mầm của Xà lách không giảm. Dịch chiết E70, nồng độ 1 mg/ml có khả năng ức chế mạnh hơn tới khả năng nảy mầm của Xà lách với tỷ lệ nảy mầm là 75% so với các công thức thí nghiệm khác.

Dịch chiết Bưởi bung E100 và E70 kích thích tăng trưởng mạnh chiều dài rễ của Xà lách (bảng 3). Dịch chiết E100 nồng độ 2 mg/ml có khả năng kích thích mạnh nhất chiều dài rễ của Xà lách (41,9 mm), tương đương với tăng 66,6% chiều dài rễ khi so sánh với kết quả đối chứng.

Bảng 3. Ảnh hưởng của dịch chiết Bưởi bung từ dung môi ethanol đến tỷ lệ nảy mầm và sinh trưởng của Xà lách.

Dung môi	Nồng độ (mg/ml)	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều dài thân (mm)	Chiều dài rễ (mm)
E100	1	88,3±5,8 ^{ab}	3,2±1,7 ^a (-2,7)	38,6±21,5 ^{ab} (-53,2)
	2	95,0±0,0 ^a	3,0±1,3 ^a (3,2)	41,9±22,3 ^a (-66,6)
	3	86,7±5,8 ^{ab}	2,8±1,5 ^a (9,7)	32,1±19,7 ^{abc} (-27,5)
E70	1	75,0±10 ^b	2,9±2,0 ^a (7,0)	30,6±21,6 ^a (-21,6)
	2	80,0±5,0 ^{ab}	3,1±2,1 ^a (0,0)	30,7±22,9 ^{bc} (-21,9)
	3	83,3±5,8 ^{ab}	3,3±1,8 ^a (-6,5)	34,7±21,1 ^{abc} (-37,9)
Đối chứng		90,0±5,0 ^{ab}	3,1±1,8 ^a (0,0)	25,2±13,6 ^a (0,0)

Số liệu trong bảng được biểu diễn bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$). Số liệu trong dấu ngoặc đơn là tỷ lệ % ức chế của cao chiết so với đối chứng. Giá trị trong ngoặc đơn với dấu (-) nghĩa là tỷ lệ % kích thích so với đối chứng. Công thức đối chứng sử dụng nước cất thay cho dịch chiết.

Hoạt tính đối kháng của dịch chiết từ lá Bưởi bung bằng nước đến khả năng nảy mầm và sinh trưởng của Cải củ và Xà lách

Dịch chiết Bưởi bung từ nước ức chế mạnh tới quá trình nảy mầm của Cải củ khi so sánh với công thức đối chứng (bảng 4). Trong đó, nồng độ 5% có ảnh hưởng mạnh hơn đến khả năng nảy mầm của Cải củ so với nồng độ 1 và 2,5%. Tỷ lệ nảy mầm của Cải củ đạt 48,3% khi áp dụng dịch

chiết Bưởi bung 5% và giảm 41,7% so với công thức đối chứng (bảng 4). Dịch chiết bằng nước từ lá Bưởi bung cũng làm giảm quá trình nảy mầm của Xà lách. Tỷ lệ nảy mầm của Xà lách chỉ đạt 80% khi áp dụng dịch chiết Bưởi bung nồng độ 1% và giảm 18,3% so với công thức đối chứng.

Dịch chiết lá Bưởi bung ảnh hưởng rõ rệt tới sinh trưởng chiều dài rễ của Cải củ. Trong đó, nồng độ 5% đã làm giảm 46,7 mm chiều dài rễ của Cải củ, tương đương với khả năng ức chế mạnh tới 77,2% khi so sánh với đối chứng. Nồng độ 1 và 2,5% cũng làm giảm chiều dài rễ của Cải củ 44,9-49,0% so với đối chứng (bảng 4).

Đối với Xà lách, nồng độ 2,5 và 5% làm tăng chiều dài thân của Xà lách lần lượt 13,2 và 30,2%, nhưng lại làm giảm chiều dài rễ của Xà lách 14,5 và 38,8% (bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của dịch chiết bằng nước từ lá Bưởi bung đến tỷ lệ nảy mầm và sinh trưởng của Cải củ và Xà lách.

Nồng độ (%)	Loại cây	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều dài thân (mm)	Chiều dài rễ (mm)
1	Cải củ	51,7±2,9 ^b	5,5±5,9 ^b (30,4)	33,4±36,7 ^b (44,9)
2,5		78,3±10,4 ^a	11,3±6,4 ^a (-43,5)	30,9±20,6 ^b (49,0)
5		48,3±16,1 ^b	7,9±8,5 ^b (0,0)	13,8±16,0 ^c (77,2)
Đối chứng		90,0±5,0 ^a	7,9±3,4 ^b (0,0)	60,5±29,4 ^a (0,0)
1	Xà lách	80,0±10,0 ^b	5,1±3,4 ^b (3,5)	26,9±18,3 ^{ab} (19,6)
2,5		86,7±5,8 ^{ab}	6,0±3,5 ^{ab} (-13,2)	28,7±17,4 ^a (14,5)
5		91,67±2,89 ^{ab}	6,9±4,5 ^a (-30,2)	20,5±10,6 ^b (38,8)
Đối chứng		98,3±2,9 ^a	5,3±2,0 ^b (0,0)	33,5±13,4 ^a (0,0)

Số liệu trong bảng được biểu diễn bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong cùng một cột có chữ cái khác nhau là sai khác có ý nghĩa ($p < 0,05$). Số liệu trong dấu ngoặc đơn là tỷ lệ % ức chế của cao chiết so với đối chứng. Giá trị trong ngoặc đơn với dấu (-) nghĩa là tỷ lệ % kích thích so với đối chứng. Công thức đối chứng sử dụng nước cất thay cho dịch chiết.

Hàm lượng tinh dầu và các hợp chất có trong tinh dầu loài Bưởi bung

Kết quả xác định hàm lượng tinh dầu của Bưởi bung là 0,09% v/w trọng lượng khô.

Hỗn hợp tinh dầu lá Bưởi bung và nước sau khi phân tích bằng máy sắc ký khối phổ (GC-MS) đã xác định được 33 hợp chất (bảng 5). Trong đó, các hợp chất chính bao gồm caryophyllene (47,09%), humulene (17,28%), α -copaene (4,98%), isodene (3,59%) và (-)- α -panasinsen (3,51%), các hợp chất còn lại có hàm lượng chiếm tỷ lệ nhỏ hơn 3%.

Bảng 5. Các hợp chất trong tinh dầu của Bưởi bung xác định bằng máy sắc ký khí khối phổ (GC-MS).

TT	Tên hợp chất tinh dầu	Thời gian xuất hiện	Diện tích của peak sắc ký	% diện tích peak sắc ký (% Area)
1	α -pinene	6,66	91251	1,20
2	β -pinene	8,06	5301	0,07
3	2-carene	8,82	1215	0,02
4	D-limonene	9,18	13540	0,18
5	Eucalyptol	9,27	11352	0,15
6	3-carene	9,61	6504	0,09
7	γ -terpinene	9,98	4745	0,06
8	Nerolidyl acetate	11,17	2437	0,03
9	Camphor	12,56	4540	0,06
10	Carotol	16,49	70378	0,92
11	α -guaiene	18,38	8294	0,11
12	Isoledene	18,52	273462	3,59
13	γ -muurolene	18,69	139454	1,83
14	α -copaene	18,83	379622	4,98
15	β -panasinsene	19,28	43178	0,57
16	β -clovene	19,40	8151	0,11
17	Isocaryophyllene	19,57	21679	0,28
18	(-)-aristolene	19,64	90747	1,19
19	Guaia-3,9-diene	19,75	89078	1,17
20	Longifolene-(V4)	19,86	58730	0,77
21	Caryophyllene	19,98	3589978	47,09
22	(-)- α -panasinsen	20,34	267459	3,51
23	Isocaryophyllene	20,43	153855	2,02
24	β -neoclovene	20,63	215222	2,82
25	Longifolene	20,71	9943	0,13
26	Humulene	20,87	1317042	17,28
27	Alloaromadendrene	20,98	142596	1,87
28	Guaia-1(10),11-diene	21,30	81728	1,07
29	Neoisolongifolene	21,64	82083	1,08
30	Thujopsene-I3	21,74	99803	1,31
31	γ -muurolene	22,28	40583	0,53
32	Epizonarene	22,39	172754	2,27
33	γ -himachalene	23,46	5847	0,08

Thảo luận

Chất chống oxy hóa đóng vai trò quan trọng đối với sức khỏe con người. Các hợp chất này giúp bảo vệ cơ thể và loại bỏ các tác nhân gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe, hạn chế được các bệnh như cao huyết áp, thần kinh... [10]. Phương pháp DPPH đã được sử dụng rộng rãi để kiểm tra khả năng loại bỏ gốc tự do và nhóm hydro của các dịch chiết từ thực vật [11]. Trong nghiên cứu này, hoạt tính chống oxy hóa thông qua phương pháp DPPH của lá Bưởi bung đã được xác định. Kết quả so sánh giá trị IC_{50} của Bưởi bung từ E100 (612,9 μ g/ml) thấp hơn so với Cà gai

leo (*Solanum hainanense* Hance) (1734 μ g/ml) và cây Nhàu (*Morinda citrifolia*) từ lá, trái xanh, rễ cây Nhàu với giá trị IC_{50} lần lượt là 917,16, 1025,2 và 1531,4 μ g/ml và Hà thủ ô (*Streptocaulon juvenas*) IC_{50} là 2586 μ g/ml [11]. Điều này có nghĩa là khả năng chống oxy hóa của Bưởi bung là cao hơn so với các loài được so sánh (giá trị IC_{50} càng nhỏ thể hiện hoạt tính chống oxy hóa càng mạnh).

Các loài trong chi *Acronychia* đã được chứng minh là có hàm lượng tinh dầu từ 0,1 đến 0,5%, chỉ riêng loài *Acronychia oblongifolia* có hàm lượng 1,3-1,8% [2]. Bưởi bung trong nghiên cứu này được xác định là có hàm lượng 0,09% v/w. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Brophy và cs (2004) [2]. Với 33 hợp chất được xác định trong thành phần tinh dầu, Caryophyllene có hàm lượng lớn nhất (bảng 5). Có 4 hợp chất được tìm thấy trùng với nghiên cứu trước đó là α -pinene, β -pinene, alloaromadendrene và humulene [12]. Kết quả của nghiên cứu này khác so với kết quả đã công bố trước đó. Cụ thể là, nghiên cứu trước đã chỉ ra lá Bưởi bung có hàm lượng chất pinene là lớn nhất 57,4% [12]. Điều này có thể lý giải là do thời gian lấy mẫu khác nhau và cây phân bố ở các khu vực khác nhau nên hàm lượng các chất có trong tinh dầu sẽ thay đổi.

Nghiên cứu về chất đối kháng từ thực vật đã được chú ý trong những năm gần đây và được áp dụng nhiều trong nông nghiệp để phòng trừ cỏ dại thay cho việc dùng chất diệt cỏ [9]. Chất đối kháng có trong dịch chiết và bột nghiền từ nhiều loài thực vật đã khẳng định khả năng ức chế cảm nhiễm đối với nhiều loài thực vật khác và được sử dụng trong việc kiểm soát cỏ [5]. Mặc dù, hoạt tính của các chất đối kháng từ thực vật thực tế có thể yếu hơn so với các chất diệt cỏ tổng hợp, nhưng nó sẽ giúp tiến tới một nền nông nghiệp sạch và phát triển bền vững khi có sự kết hợp chỉ một lượng rất nhỏ chất diệt cỏ tổng hợp với chất đối kháng từ thực vật [13]. Kết quả nghiên cứu này đã chỉ ra lá của Bưởi bung có hoạt tính đối kháng. Điều này được chứng minh bởi những ảnh hưởng khác nhau từ dịch chiết lá Bưởi bung tới tỷ lệ nảy mầm và sinh trưởng của Cải củ và Xà lách (bảng 2-4). Nguyên nhân là do các chất đối kháng tồn tại trong dịch chiết từ lá của Bưởi bung. Chất đối kháng có khả năng làm cho các tế bào thân và rễ của các loài thực vật bị thay đổi vị trí sắp xếp, thay đổi cấu trúc tế bào và cuối cùng sẽ làm hư hại tới tế bào thân và rễ [8, 14]. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, rễ của Cải củ và Xà lách bị ảnh hưởng từ dịch chiết của Bưởi bung nhiều hơn thân, điều này đã được giải thích bởi Yoshimura và cs (2011) [15]. Nguyên nhân là do tế bào rễ trực tiếp tiếp xúc với dịch chiết của Bưởi bung trên đĩa petri, nên nồng độ của chất đối kháng thực vật ở phần rễ là cao hơn so với ở phần thân. Mặt khác, tế bào thân được bảo vệ tốt bởi tầng cu tin, còn tế bào rễ lại không được bảo vệ tốt như tế bào thân, điều này làm cho chất đối kháng ảnh hưởng tới tế bào rễ lớn hơn tế bào ở phần thân. Do vậy, quá trình sinh trưởng của rễ sẽ bị ảnh hưởng nhiều hơn so với tế bào thân.

Đã từ lâu, các hợp chất polyphenol như phenolic hay flavonoid được coi là chất đối kháng phổ biến có trong thực vật và đã được chứng minh bởi nhiều nhà khoa học trên thế giới [9, 16, 17]. Nhóm chất phenolic được sử dụng trong một số lĩnh vực sản xuất thuốc trừ sâu, chất gây nở, chất độc hay thuốc nhuộm. Bên cạnh đó, nhiều hợp chất phenolic có thể dùng để tẩy màu trong công nghiệp chế biến giấy, và đặc biệt một phần không thể thiếu đó là polyphenol đã đóng vai trò quan trọng trong nông lâm nghiệp như một loại chất diệt cỏ, trừ sâu và nấm [17].

Nghiên cứu tìm ra một nguồn chất đối kháng mới có hoạt tính cao là rất cần thiết để áp dụng cho các sản phẩm sinh học trong việc phòng trừ cỏ dại. Việc khẳng định được hoạt tính đối kháng của lá Bưởi bung trong nghiên cứu này là điểm mới chưa được thực hiện trong bất cứ nghiên cứu nào trước đó. Mặc dù chi tiết về các hợp chất có trong dịch chiết từ dung môi ethanol và nước của Bưởi bung chưa được định danh nhưng hàm lượng các chất polyphenol và flavonoid tổng số đã được xác định (bảng 1). Kết quả này cũng chứng minh cho sự tồn tại của các hợp chất thứ cấp và các chất này đóng vai trò là chất đối kháng trong lá của Bưởi bung làm ảnh hưởng tới quá trình nảy mầm và sinh trưởng của hai loài thực vật là Cải củ và Xà lách trong thí nghiệm.

Kết luận

Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số, hàm lượng và thành phần các chất có trong tinh dầu chiết xuất từ lá, hoạt tính chống oxy hóa và hoạt tính đối kháng từ dịch chiết lá loài Bưởi bung đã được xác định trong nghiên cứu này. Việc sử dụng dung môi ethanol 70% có thể đạt hiệu quả chiết cao hơn ethanol 100%, tuy nhiên hoạt tính chống oxy hóa của dịch chiết từ lá bằng dung môi ethanol 100% lại cao hơn dịch chiết bằng dung môi ethanol 70%. Dịch chiết từ lá Bưởi bung cho thấy hoạt tính đối kháng đối với hai loài Cải củ và Xà lách. Điều này được thể hiện thông qua việc dịch chiết làm giảm tỷ lệ nảy mầm và ức chế sinh trưởng đối với Cải củ và Xà lách. Hàm lượng tinh dầu của lá Bưởi bung xác định được là 0,09% v/w trọng lượng khô với 33 hợp chất được tìm thấy bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ. Caryophyllene (47,09%), humulene (17,28%), α -copaene (4,98%), isodene (3,59%) và (-)- α -panasinsen (3,51%) là các hợp chất chính có trong tinh dầu. Kết quả của nghiên cứu đã bước đầu khẳng định Bưởi bung là loài tiềm năng có thể cung cấp nguyên liệu trong công nghiệp dược hay nông nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Lê Đình Mối (Chủ biên), Trần Minh Hợi, Dương Đức Huyền, Trần Huy Thái, Ninh Khắc Bản (2005), *Tài nguyên thực vật Việt Nam: những cây chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.

[2] J.J. Brophy, R.J. Goldsack, P.I. Forster (2004), "Leaf essential oils of the Australian species of *Acronychia* (Rutaceae)", *Journal Essential oil Research*, **16**(6), pp.597-607.

[3] W. Han, et al. (2004), "Isolation of high purity 1-[2',4'-dihydroxy-3',5'-di-(3"-methylbut-2"-enyl)-6'-methoxy] phenylethanone from *Acronychia pedunculata* (L.) by high-speed counter-current chromatography", *Journal of Chromatography A*, **1022** (1-2), pp.213-216.

[4] R.D.N. Karunatilaka, et al. (2016), "In vitro antibacterial activity of hexane, chloroform and methanolic extracts of different parts of *Acronychia pedunculata* grown in Sri Lanka", *International Journal of Advanced Research (IJAR)*, **4**(8), pp.1574-1579.

[5] T.D. Xuan, T.N. Minh, K.H. Trung, T.D. Khanh (2016), "Allelopathic potential of sweet potato varieties to control weeds: *Imperata cylindrica*, *Bidens pilosa* and *Ageratum conyzoides*", *Allelopathy Journal*, **38**(1), pp.41-54.

[6] V.L. Singleton, et al. (1999), "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent", *Methods in Enzymology*, **299**, pp.152-178.

[7] G.C. Bag, et al. (2015), "Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *Hedychium* species of Manipur valley", *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **30**(1), pp.54-159.

[8] P.T. Tuyen, et al. (2018), "Weed suppressing potential and isolation of potent plant growth inhibitors from *Castanea crenata*", *Molecules*, **23**, p.345.

[9] Hồ Lệ Thi và cs (2016), *Kết quả chiết xuất và định danh chất đối kháng cỏ dại N-trans-Cinnamoyl tyramine từ giống lúa OM 5930*, Hội thảo quốc gia về khoa học cây trồng lần thứ hai.

[10] A. Yadav, et al. (2016), "Antioxidants and its functions in human body - A review", *Research in Environment and Life Sciences*, **9**(11), pp.1328-1331.

[11] Đái Thị Xuân Trang, Võ Thị Tú Anh, Lâm Hồng Bảo Ngọc (2015), "Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và kháng oxy hóa của cao methanol cây Hà thủ ô trắng (*Streptocaulon juvenas* Merr.)", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ, Phần A: Khoa học Tự nhiên, Công nghệ và Môi trường*, **40**, tr.1-6.

[12] D. Lesueur, et al. (2008), "Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Acronychia pedunculata* (L.) Miq. from Vietnam", *Natural Product Research*, **22**(5), pp.393-398.

[13] T.D. Khanh, et al. (2006), "Weed suppression by *Passiflora edulis* and its potential allelochemicals", *European Weed Research Society*, **46**, pp.296-303.

[14] S.U. Chon, C.J. Nelson (2010), "Allelopathy in compositae plants", *Agronomy for Sustainable Development*, **30**, pp.349-358.

[15] H. Yoshimura, et al. (2011), "1,8-cineole inhibits both proliferation and elongation of BY-2 cultured tobacco cells", *Journal of Chemical Ecology*, **37**, pp.320-328.

[16] F. Deba, et al. (2007), "Herbicidal and fungicidal activities and identification of potential phytotoxins from *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff", *Weed Biology and Management*, **83**, pp.77-83.

[17] Z.H. Li, et al. (2010), "Phenolics and plant allelopathy", *Molecules*, **15**, pp.8933-8952.

Khảo sát điều kiện lên men của chủng vi khuẩn biển *Bacillus velezensis* AlgSm1 để thu nhận alginate lyase

Cao Thị Thúy Hằng*, Võ Mai Như Hiếu, Phạm Đức Thịnh, Nguyễn Ngọc Linh,
Nguyễn Đình Thuật, Trần Thị Thanh Vân

Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

Ngày nhận bài 27/10/2020; ngày chuyển phản biện 3/11/2020; ngày nhận phản biện 7/12/2020; ngày chấp nhận đăng 30/12/2020

Tóm tắt:

Alginate lyase là enzym bẻ gãy mạch alginate để tạo ra các oligoalginate có hoạt tính sinh học nhằm ứng dụng trong các lĩnh vực y dược, công nghiệp, nông nghiệp... Trong nghiên cứu này, điều kiện lên men của chủng vi khuẩn biển *Bacillus velezensis* AlgSm1 đã được khảo sát nhằm thu nhận enzym alginate lyase có hàm lượng và hoạt tính cao. Các thành phần dinh dưỡng như nguồn carbon, nitơ, pH môi trường nuôi cấy ban đầu và thời gian lên men đã được khảo sát. Kết quả cho thấy, điều kiện để chủng *B. velezensis* AlgSm1 sinh tổng hợp alginate lyase có hoạt tính cao là 5 mg/ml alginate; nguồn nitơ tốt nhất là 0,8 mg/l cao chiết nấm men; pH môi trường ban đầu 5,5 và thời gian thu nhận enzym sau 18h lên men ở 28-30°C.

Từ khóa: alginate lyase, *Bacillus velezensis*, điều kiện lên men.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Alginate là một anion polysaccharide, phân bố rộng rãi trong thành tế bào của rong nâu và được tổng hợp bởi một số vi khuẩn, bao gồm cả *Pseudomonas aeruginosa* và *Azotobacter vinelandii* [1]. Đây là polysaccharide dị trùng hợp bao gồm hai axit uronic: α -L-guluronic (G) và β -D-mannuronic (M) sắp xếp với nhau thành các khối β -D-mannuronate (poly M), α -L-guluronate G (poly G) và heteropolymer (polyMG), các uronic acid này được liên kết với nhau thông qua liên kết 1,4-glycosidic [2]. Alginate đã được ứng dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp thực phẩm, mỹ phẩm và dược phẩm do các đặc tính vật lý độc đáo của nó để tạo thành gel. Tuy nhiên, việc ứng dụng alginate trong y học còn nhiều hạn chế do khối lượng phân tử lớn và độ nhớt cao. Do đó, nhiều nhà khoa học đã tập trung nghiên cứu điều chế alginate khối lượng phân tử thấp với mục đích tăng khả năng ứng dụng trong lĩnh vực y dược cũng như trong việc nghiên cứu cấu trúc và hoạt tính sinh học của chúng [3]. Một trong những phương pháp để điều chế alginate khối lượng phân tử thấp là sử dụng alginate lyase để bẻ gãy mạch.

Alginate lyase là enzym có khả năng xúc tác cắt mạch alginate bằng sự khử liên kết glucoside để tạo ra các oligoalginate. Dựa vào đặc hiệu cơ chất, alginate lyase được chia làm 4 loại với tính đặc hiệu gồm: G-block (EC4.2.2.11), M-block (EC4.2.2.3),

GM-block và MG-block [4]. Dựa vào cơ chế hoạt động, alginate lyase được chia làm 2 nhóm là endolytic alginate lyase và exolytic alginate lyase. Dựa vào cấu trúc sơ cấp của enzym, alginate lyase nằm trong 7 họ của polysaccharide lyase là 5, 6, 7, 14, 15, 17 và 18. Hầu hết, exolytic alginate lyases nằm trong họ polysaccharide lyase số 15 và 17. Phần lớn alginate lyase thu nhận từ vi khuẩn được chia vào các họ polysaccharide lyase số 5, 7, 15 và 17. Alginate lyase thu từ động vật thân mềm thuộc họ polysaccharide lyase số 14 [5]. Alginate lyase đa chức là enzym có khả năng cắt liên kết G-M block được chia riêng vào họ polysaccharide lyase số 18 [5]. Ngoài ra, alginate lyase còn được phân loại theo trọng lượng phân tử: nhỏ (25-30 kDa), trung bình (khoảng 40 kDa) và lớn (hơn 60 kDa).

Vi khuẩn biển là nguồn chính để thu nhận enzym vì có nhiều ưu điểm vượt trội về chất lượng cũng như khả năng sản xuất alginate lyase [4]. Trong đó, alginate lyase từ vi sinh vật biển được nghiên cứu khá nhiều. Một số chủng vi khuẩn có thể kể đến: gram dương là *Bacillus circulans* và gram âm là *Azotobacter vinelandii*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa* đã được nghiên cứu cho sản xuất alginate lyase [6]. Vi khuẩn là sinh vật có khả năng sinh sản nhanh, phát triển mạnh, thích ứng tốt với điều kiện công nghiệp. Môi trường dinh

*Tác giả liên hệ: Email: caohang.nitra@gmail.com

Study on culture conditions for extracellular alginate lyase production by *Bacillus velezensis* AlgSm1

Thi Thuy Hang Cao*, Mai Nhu Hieu Vo,
Duc Thinh Pham, Ngoc Linh Nguyen,
Dinh Thuat Nguyen, Thi Thanh Van Tran

Nhatrang Institute of Technology Research and Application, VAST

Received 27 October 2020; accepted 30 December 2020

Abstract:

Alginate lyase is an enzyme that degrades alginate to create bioactive oligoalginate for application in medicine, industry, agriculture... In this study, cultural conditions of marine bacteria, *Bacillus velezensis* AlgSm1 have been investigated for producing alginate lyase with high content and activity. The nutritional components such as carbon source, nitrogen source, initial pH value, and cultural time were investigated. The results showed that the cultural conditions of *B. velezensis* AlgSm1 to biosynthesize alginate lyase with high activity were 5 mg/ml alginate, 0.8 mg/ml yeast extract; pH 5.5 and 18-hours fermentation at 28-30°C.

Keywords: alginate lyase, *Bacillus velezensis*, culture conditions.

Classification number: 1.6

để nuôi vi khuẩn rẻ tiền, dễ kiếm. Do đó, enzyme thu được từ việc nuôi vi khuẩn sẽ nhanh hơn, giá thành rẻ hơn. Nhiều yếu tố như nguồn carbon, nitơ có ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật cũng như việc sản xuất alginate lyase. Tuy nhiên, chỉ có một vài báo cáo liên quan đến tối ưu hóa điều kiện của quá trình lên men nuôi cấy vi sinh vật để sản xuất alginate lyase [7, 8]. Hầu hết các công bố liên quan đến sản xuất alginate lyase từ vi khuẩn biển đều sử dụng môi trường biển có bổ sung alginate là nguồn carbon cảm ứng vi khuẩn sinh enzyme [7-9]. Do đó, khi nghiên cứu vi sinh vật sinh enzyme alginate lyase thì cần nghiên cứu ảnh hưởng của chất cảm ứng.

Trong công trình trước [10], chúng tôi đã tìm ra được chủng vi khuẩn biển *B. velezensis* AlgSm1 có khả năng bẻ mạch alginate chiết từ rong *Sargassum mcclurei* thu nhận tại vùng biển Khánh Hòa, Việt Nam, do đó trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát điều kiện nuôi cấy của chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 để có thể thu nhận enzyme với hiệu suất cao nhất.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Cơ chất: alginate từ rong nâu *Sargassum mcclurei* được cung cấp bởi Phòng Hóa phân tích và triển khai công nghệ, Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang và được chiết theo quy trình nghiên cứu của Zvyagintseva và cs (2003) [11].

Môi trường chung nuôi cấy vi khuẩn: môi trường chung để lên men vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 là MB có chứa 10 g pepton, 5 g saccharose, 0,1 g KH_2PO_4 , 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 500 ml nước cất và 500 ml nước biển, pH 7,0-7,2 [10].

Phương pháp nghiên cứu

Thu nhận dịch chiết enzyme: chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 được lên men trong môi trường MB lỏng (không chứa agar) trong 24h ở 30°C, tốc độ lắc 180 vòng/phút. Sau đó, ly tâm dịch nuôi cấy ở 3.000 vòng/phút, 10°C trong 30 phút. Phần dịch nổi thu nhận được sử dụng như là dịch enzyme ngoại bào, phần sinh khối tế bào được huyền phù lại với đệm 10 mM Tris HCl 0,02M, pH 7,5, phá vỡ tế bào bằng sóng siêu âm với tần số 20 Hz trong tổng thời gian 2 phút. Dịch chiết thu sau khi ly tâm với tốc độ 9.000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C được sử dụng như là dịch chiết nội bào để thử nghiệm hoạt tính enzyme.

Thử nghiệm hoạt tính enzyme: hoạt tính alginate lyase được đánh giá bằng phương pháp đĩa thạch alginate [10]. 100 µl dịch enzyme được đưa lên đĩa thạch MB chứa 0,5% alginate. Đĩa thạch được ủ ở 37°C, trong 6h, sau đó nhuộm bởi gram's iodine. Hoạt tính alginate lyase được tính bằng đường kính vòng phân giải không bị nhuộm màu bởi thuốc nhuộm.

Khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon trong môi trường lên men: chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 được lên men trong môi trường MB lỏng với các nguồn carbon khác nhau ở nồng độ 5 mg/ml bao gồm: saccharose, glucose và alginate.

Khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ trong môi trường lên men: chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 được lên men trong môi trường MB với nguồn carbon là alginate 5 mg/ml, nitơ thay đổi là: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , pepton, cao chiết nấm men. Bình môi trường nuôi cấy được lắc với tốc độ 180 vòng/phút trong 24h ở 28-30°C.

Khảo sát pH ban đầu của môi trường lên men: chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 được lên men trong môi trường MB lỏng với nguồn carbon và nitơ ở nồng độ đã được lựa chọn là alginate 5 mg/ml và cao chiết nấm men 0,8 mg/ml, pH môi trường thay đổi từ 4,0 đến 9,0 với tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 24h ở 28-30°C.

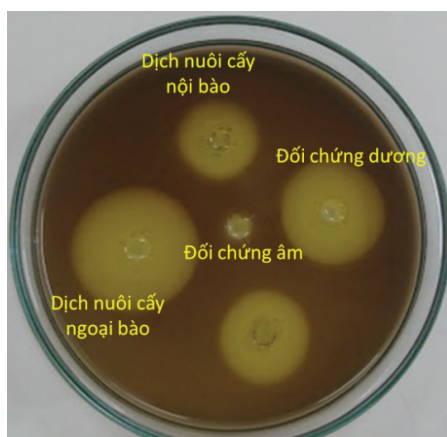
Khảo sát thời gian lên men: chủng vi sinh vật lựa chọn được nuôi trong môi trường lên men với thành phần môi trường tối ưu cho sự phát triển của vi khuẩn. Tốc độ nuôi cấy

180 vòng/phút ở 28-30°C trong khoảng thời gian 1-32h. Tốc độ sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn được xác định theo phương pháp đo độ đục ở bước sóng 660 nm, hoạt tính alginate lyase được đo bằng phương pháp đĩa thạch alginate.

Kết quả và thảo luận

Xác định vị trí thu nhận alginate lyase

Dịch chiết nội bào và ngoại bào của chủng vi khuẩn nghiên cứu được thử nghiệm hoạt tính alginate lyase bằng phương pháp đĩa thạch alginate (hình 1). Kết quả cho thấy, dịch chiết ngoại bào có đường kính vòng phân giải trên đĩa thạch alginate cao hơn so với dịch chiết nội bào. Do đó, trong các nghiên cứu tiếp theo chúng tôi tập trung thử nghiệm hoạt tính enzym trên dịch chiết ngoại bào. Kết quả này của chúng tôi tương tự với các kết quả nghiên cứu về alginate lyase từ vi khuẩn biển chủ yếu là dịch enzym ngoại bào như extracellular alginate lyase từ chủng vi khuẩn *Pseudoalteromonas atlantica* AR06 [12], *Bacillus* sp. Alg07 [3].

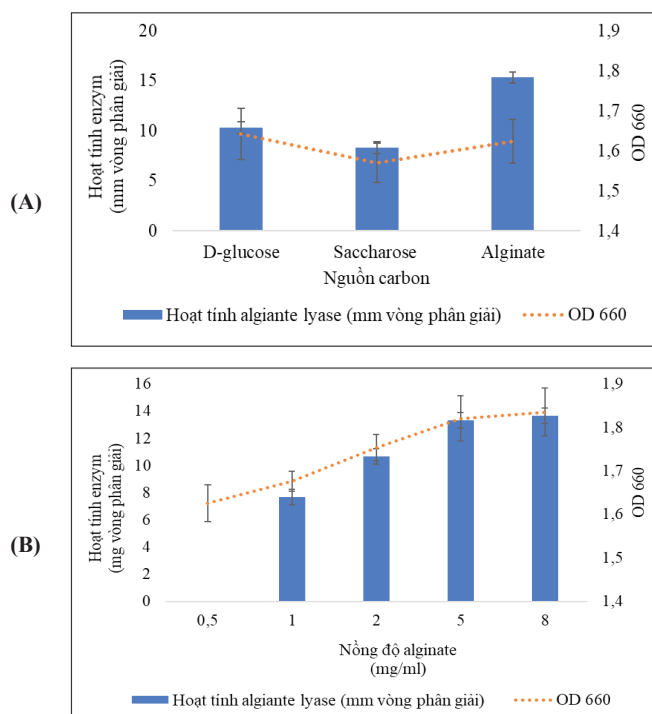


Hình 1. Hoạt tính dịch chiết nội bào và ngoại bào của chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 trên môi trường đĩa thạch alginate chiết từ rong *S. Mcclurei* (đối chứng âm là môi trường MB không chứa vi khuẩn, đối chứng dương là alginate lyase từ Sigma).

Ảnh hưởng của nguồn carbon

Chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 được nuôi cấy trong các môi trường có bổ sung các nguồn carbon khác nhau, nuôi lắc 180 vòng/phút trong 24h ở nhiệt 30°C để kiểm tra hoạt tính alginate lyase từ dịch chiết ngoại bào. Kết quả thí nghiệm (hình 2A) cho thấy, sự sinh trưởng của vi khuẩn biển *B. velezensis* AlgSm1 trong 3 môi trường có nguồn carbon khác nhau không đáng kể, trong đó sinh trưởng tốt nhất trong môi trường chứa D-glucose với giá trị OD660 đạt 1,64 sau 24h lên men và đường kính vòng phân giải alginate là 10±0,5 mm. Trong khi đó, chủng vi khuẩn này lên men trong môi trường chứa alginate đạt giá trị OD660 là 1,62, thấp hơn không đáng kể so với môi trường chứa D-glucose, nhưng hoạt tính alginate lyase lại tốt nhất với đường kính vòng phân giải lên đến 15±0,5 mm. Do

đó, nguồn carbon phù hợp cho chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 sinh alginate lyase là alginate. Kết quả khảo sát nồng độ alginate tối ưu để chủng vi khuẩn này sinh alginate lyase được thể hiện ở hình 2B. Kết quả cho thấy ở nồng độ 8 mg/ml, chủng vi khuẩn biển này sinh enzym tốt nhất với đường kính vòng phân giải là 13,6±0,5 mm. Tuy nhiên, ở nồng độ alginate là 5 mg/ml hoạt tính alginate lyase thấp hơn không đáng kể với đường kính vòng phân giải alginate là 13,3±0,5 mm, do đó để tiết kiệm chi phí và dễ dàng cho quá trình tinh sạch enzym ngoại bào, chúng tôi lựa chọn nồng độ alginate cho chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 sinh enzym là 5 mg/ml.

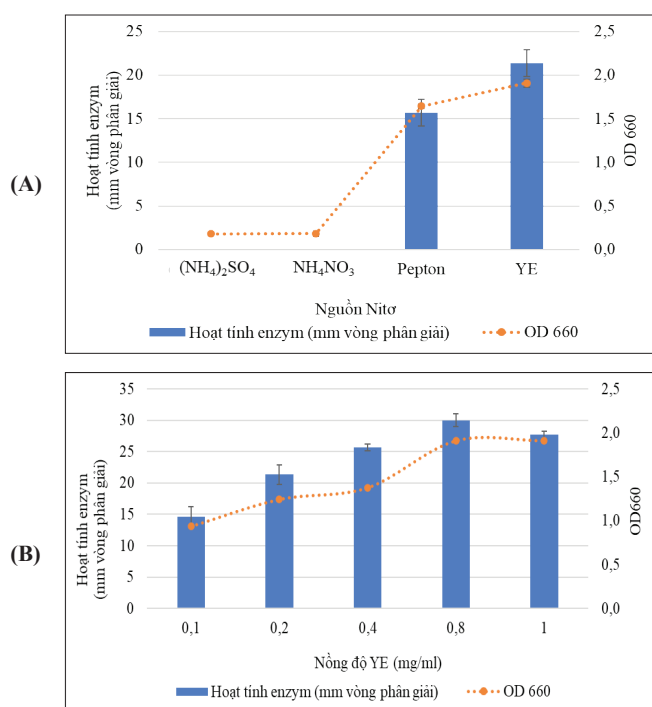


Hình 2. Ảnh hưởng của nguồn carbon (D-glucose, saccharose, alginate) và nồng độ alginate lên sự sinh trưởng và hoạt tính alginate lyase từ chủng *B. velezensis* AlgSm1.

Trong một nghiên cứu khác về ảnh hưởng của nguồn carbon lên quá trình sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. TAG8, các nhà khoa học cũng đưa ra nguồn carbon mà chủng vi khuẩn sử dụng tối ưu là alginate nhưng nồng độ alginate là 8 mg/ml, lớn hơn so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi là 5 mg/ml [6]. Điều này có thể là do các chủng vi khuẩn *Bacillus* có nguồn gốc khác nhau và tác động trên nguồn cơ chất khác nhau. Trong nghiên cứu này, alginate sử dụng được chiết xuất từ rong nâu *S. mcclurei* ở Việt Nam, còn H. Tavafi và cs (2017) đã sử dụng alginate thương mại của Sigma [6].

Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Hình 3 thể hiện sự ảnh hưởng của nguồn nitơ trong môi trường lên men đến khả năng sinh và hoạt tính alginate lyase ngoại bào của chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1.

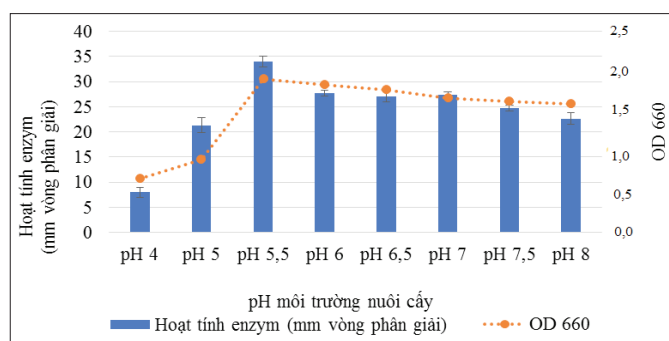


Hình 3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ và nồng độ của YE lên sự sinh trưởng và hoạt tính alginate lyase từ chủng *B. velezensis* AlgSm1.

Kết quả cho thấy, khi sử dụng nguồn nitơ vô cơ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và NH_4NO_3 , vi khuẩn sinh trưởng yếu và dịch ngoại bào không thể hiện hoạt tính enzyme. Còn khi sử dụng nguồn nitơ hữu cơ là peptone và cao chiết nấm men (YE) để lên men, có thể thấy hoạt tính alginate lyase thể hiện một cách rõ rệt. Kết quả cho thấy, nguồn nitơ thích hợp cho chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 lên men là YE với nồng độ 0,8 mg/ml.

Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy

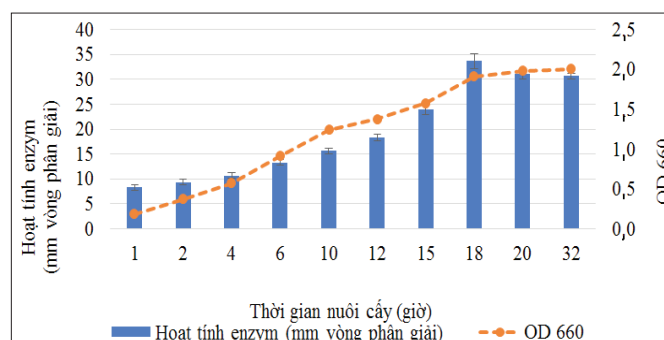
Hình 4 thể hiện ảnh hưởng của pH trong lên men tới khả năng sinh và hoạt tính alginate lyase ngoại bào của chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1. Chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 có khoảng pH sinh trưởng khá rộng, pH 5-8 vẫn có thể sinh trưởng và phát triển tốt (tối ưu ở pH 5,5).



Hình 4. Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy lên sự sinh trưởng và hoạt tính alginate lyase từ chủng *B. velezensis* AlgSm1.

Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

Thời gian lên men là một trong những thông số được quan tâm nghiên cứu nhằm ứng dụng hiệu quả vào quá trình sản xuất vì nó liên quan trực tiếp tới quá trình vận hành máy móc, thiết bị và nhân công.



Hình 5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy lên sự sinh trưởng và hoạt tính alginate lyase từ chủng *B. velezensis* AlgSm1.

Nghiên cứu này cho thấy, thời gian lên men để chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 sinh trưởng phát triển và sinh enzyme alginate lyase tốt nhất là 18h nuôi cấy, ở môi trường lên men pH 5,5, nhiệt độ 30°C (hình 5). Ở 18h, vi khuẩn ở giai đoạn đầu của pha cân bằng trong quá trình sinh trưởng và sản sinh enzyme cao nhất. Ở thời điểm lên men 20-32h, là giai đoạn cân bằng của quá trình sinh trưởng và sau đó vi khuẩn sẽ bước vào giai đoạn suy thoái, enzyme không được sản xuất thêm nữa. Do đó, thời gian thích hợp để thu nhận alginate lyase ngoại bào của chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 là 18h nuôi cấy.

Kết luận

Điều kiện lên men để chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 sinh trưởng và sản sinh alginate lyase tốt nhất là pH 5,5, với nguồn carbon là alginate 5 mg/ml, nguồn nitơ là cao chiết nấm men với hàm lượng là 0,8 mg/ml, thời gian lên men là 18 giờ, nuôi cấy ở 28-30°C. Kết quả của nghiên cứu giúp định hướng chủng vi khuẩn *B. velezensis* AlgSm1 sinh enzyme alginate lyase với hàm lượng và hoạt tính cao để tiếp tục nghiên cứu tinh sạch, xác định đặc tính xúc tác cũng như sử dụng enzyme nhằm điều chế oligoalginate có hoạt tính sinh học ứng dụng trong lĩnh vực y dược, thực phẩm chức năng.

LỜI CẢM ƠN

Kết quả của nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí của đề tài độc lập cấp quốc gia mã số ĐTĐL.CN-57/19 và đề tài KH&CN cấp Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Công nghệ Nha Trang “Nghiên cứu thu nhận, tinh sạch và đặc tính xúc tác của alginate lyase từ chủng vi khuẩn biển *Bacillus Velezensis* AlgSm1”. Các tác giả chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Y. Iwamoto, et al. (2003), "Enzymatically depolymerized alginate oligomers that cause cytotoxic cytokine production in human mononuclear cells", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**(2), DOI: 10.1271/bbb.67.258.
- [2] K.Y. Lee, D.J. Mooney (2012), "Alginate: properties and biomedical applications", *Prog. Polym. Sci.*, **37**, pp.106-126.
- [3] P. Chen, et al. (2018), "Purification and characterization of a novel alginate lyase from the marine bacterium bacillus sp. Alg07", *Mar. Drugs*, **16**, DOI: 10.3390/md16030086.
- [4] B. Zhu, H. Yin (2015), "Alginate lyase: review of major sources and classification, properties, structure-function analysis and applications", *Bioengineered*, **6**, pp.125-131.
- [5] V. Lombard, et al. (2014), "The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013", *Nucleic Acids Res.*, **42**, pp.490-495.
- [6] H. Tavafi, et al. (2017), "Screening of alginate Lyase-producing bacteria and optimization of media compositions for extracellular alginate Lyase production", *Iran. Biomed. J.*, **21**, pp.48-56.
- [7] X. Fu, et al. (2008), "Optimization of culturing condition and medium composition for the production of alginate lyase by a marine *Vibrio* sp. YKW-34", *J. Ocean Univ. China*, **7**, pp.97-102.
- [8] T. Li, et al. (2017), "Screening of alginate degrading Bacteria and optimization of its enzyme-producing conditions", *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, **53**(6), pp.1115-1121.
- [9] H. Yagi, et al. (2016), "Purification and characterization of a novel alginate lyase from the marine bacterium *Cobetia* sp. NAP1 isolated from brown algae", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80**, pp.2338-2346.
- [10] N.T. Thuận, T.N.H. Vy, V.T.D.T. Trang, C.T.T. Hằng, V.M.N. Hiếu, N.N. Linh, T.T.T. Vân (2019), "Tiềm năng sinh alginate lyase từ vi khuẩn biển phân lập được ở vùng biển Việt Nam", *Tạp chí Sinh học*, **41**, tr.273-280.
- [11] T.N. Zvyagintseva, et al. (2003), "Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds: distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions", *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.*, **294**, pp.1-13.
- [12] R. Matsushima, et al. (2010), "Analysis of extracellular alginate lyase and its gene from a marine bacterial strain, *Pseudoalteromonas atlantica* AR06", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **86**, pp.567-576.

Phân lập và đánh giá khả năng phân hủy lá mía của các dòng vi khuẩn trong đất phèn trồng mía ở Đồng bằng sông Cửu Long

Vũ Văn Long^{1*}, Trần Văn Dũng²

¹Khoa Tài nguyên - Môi trường, Trường Đại học Kiên Giang

²Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

Ngày nhận bài 23/12/2020; ngày chuyển phản biện 28/12/2020; ngày nhận phản biện 5/2/2021; ngày chấp nhận đăng 17/2/2021

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và đánh giá khả năng phân hủy lá mía của nhóm vi khuẩn bản địa trong đất phèn canh tác mía ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Mẫu đất được thu thập tại ba vùng đất phèn có diện tích canh tác mía lớn ở ĐBSCL: huyện Bến Lức (Long An), huyện Phụng Hiệp (Hậu Giang) và huyện Hòn Đất (Kiên Giang). Tổng cộng có 6 mẫu đất được thu thập gồm: LA1, LA2, HG1, HG2, KG1 và KG2. Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 18 dòng vi khuẩn có khả năng sản xuất enzyme cellulase phân hủy cellulose gồm: LA2-4b, LA2-1, LA2-4a, LA2-2, KG2-1, KG2-2a, KG2-2b, KG2-3, KG2-20, KG2-21, KG2-22, KG2-24, KG2-26, KG2-27, LA1-1, LA1-2, LA1-3, LA1-7. Tất cả các dòng vi khuẩn được phân lập đều có khả năng phân hủy hữu hiệu lá mía, có tiềm năng ứng dụng vào thực tiễn sản xuất và góp phần cải tạo chất lượng đất phèn ở ĐBSCL. Trong đó, 5 dòng vi khuẩn được chọn (LA1-1, LA2-4a, LA2-4b, KG2-2b và KG2-24) có khả năng phân hủy lá mía cao hơn khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với nghiệm thức không có vi khuẩn.

Từ khóa: cellulase, cellulose, đất phèn, lá mía, phân lập, vi khuẩn.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Trong quá trình canh tác mía tại ĐBSCL, lá mía thường được cây vùi và để phân hủy tự nhiên thông qua quá trình phân hủy sinh học của nhiều loài vi sinh vật trong đất. Sự phân hủy các thành phần trong lá mía hay dư thừa thực vật thường phụ thuộc vào nhiều yếu tố như tính chất lý, hóa học của môi trường đất [1], phương pháp quản lý đồng ruộng [2-6], số lượng và tính chất của tàn dư thực vật [7, 8], hoặc cấu trúc của cộng đồng vi sinh vật trong đất [9, 10]. Ngoài ra, tốc độ phân hủy của các dư thừa thực vật trong đất còn phụ thuộc lớn vào tỷ lệ C/N của đất và tàn dư thực vật [11, 12]. Một số nghiên cứu trước đây cho thấy tỷ lệ C/N lớn hơn 60 thường làm giảm tốc độ phân hủy các tàn dư thực vật [1, 13]. Cây mía có tỷ lệ C/N khoảng 150, do đó lá mía thường phân hủy rất chậm trong tự nhiên, và khi cây vùi lá mía trực tiếp vào đất sẽ gây bất động dinh dưỡng trong đất [14].

Đất phèn là một trong hai nhóm đất có diện tích lớn nhất tại ĐBSCL bên cạnh nhóm đất phù sa [15]. Hoạt động của các vi sinh vật trong đất phèn thường bị ảnh hưởng do độ chua và nồng độ độc chất cao. Trong đó, độc chất Al được xem là yếu tố giới hạn sinh trưởng quan trọng nhất đối với cây trồng và vi sinh vật trong đất phèn [16].

Tàn dư thực vật của cây mía có chứa khoảng 40-50% cellulose

[17]. Cellulose là một polysaccharide mạch thẳng - một chuỗi của các đường đơn. Do lực liên kết hóa học C-O-C giữa các phân tử đường của cellulose khó bị phá vỡ, nên để phá vỡ cellulose từng bước cần có sự tham gia của một hợp chất hữu cơ đặc biệt là enzyme cellulase [1]. Kết quả nghiên cứu của Johnson và cs (2007) [18] cho thấy, một số dòng vi khuẩn có khả năng sản xuất enzyme cellulase để phân hủy cellulose trong tàn dư thực vật của cây mía như *Cellulomonas cellulovorans*, *Corynebacterium urealyticum*... Tuy nhiên, việc xác định nhóm vi khuẩn trong đất phèn có khả năng phân hủy lá mía còn rất hạn chế. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhanh lá mía. Đây cũng là cơ sở quan trọng cho việc sản xuất chế phẩm sinh học phân hủy lá mía nói riêng, các phế phụ phẩm nông nghiệp nói chung, góp phần duy trì độ phì nhiêu cho đất sản xuất nông nghiệp ở ĐBSCL.

Phương pháp nghiên cứu

Mẫu vật thí nghiệm

Mẫu đất được thu thập tại 3 địa điểm canh tác mía lớn ở ĐBSCL gồm: huyện Bến Lức (tỉnh Long An), huyện Phụng Hiệp (tỉnh Hậu Giang) và huyện Hòn Đất (tỉnh Kiên Giang). Tại mỗi tỉnh thu 2 mẫu đất trên 2 loại đất, gồm: đất phèn hoạt động nặng và đất phèn hoạt động trung bình. Các mẫu đất được mã hoá theo

*Tác giả liên hệ: Email: vvlong@vnkgu.edu.vn

Isolation and evaluation of the ability to decompose sugarcane leaves of bacterial strains from acid sulfate soils in the Mekong River Delta

Van Long Vu^{1*}, Van Dung Tran²

¹College of Natural Resources - Environment, Kien Giang University

²College of Agriculture, Can Tho University

Received 23 December 2020; accepted 17 February 2021

Abstract:

The objectives of this study were to isolate and determine the ability of bacterial strains to decompose sugarcane leaves from acid sulfate soils in the Mekong River Delta (MRD). Soil samples were collected from three acid sulfate soils in Ben Luc district, Long An province, Phung Hiep district, Hau Giang province, and Hon Dat district, Kien Giang province where large sugarcane areas cultivated. Six soil samples were collected and coded: LA1, LA2, HG1, HG2, KG1, and KG2. The results of the study have isolated 18 strains of bacteria are capable of producing cellulase enzyme that breaks down cellulose including LA2-4b, LA2-1, LA2-4a, LA2-2, KG2-1, KG2-2a, KG2-2b, KG2-3, KG2-20, KG2-21, KG2-22, KG2-24, KG2-26, KG2-27, LA1-1, LA1-2, LA1-3, LA1-7. All isolated bacterial strains have the ability to effectively decompose sugarcane leaves, have the potential to apply in practical production, and contribute to improving the quality of acid sulfate soils in the MRD. In which, five selected bacterial strains (LA1-1, LA2-4a, LA2-4b, KG2-2b, and KG2-24) were significantly higher ($p < 0.05$) in the decomposition of sugarcane leaves than the treatment without bacteria.

Keywords: acid sulfate soils, bacteria, cellulase, cellulose, isolation, sugarcane leaves.

Classification number: 1.6

tỉnh Kiên Giang (KG), Long An (LA) và Hậu Giang (HG) gồm: KG-1, KG-2, LA-1, LA-2, HG-1 và HG-2. Kết quả phân tích cho thấy đất tại 3 tỉnh có pH đất thấp, dao động từ 3,49-4,33, khả năng trao đổi cation (CEC) ở ngưỡng thấp đến trung bình (10,6-16,8 $\text{cmol}_{(+)}/\text{kg}$). Hàm lượng đạm (N) tổng số trong đất tại các tỉnh Kiên Giang (0,29-0,55 %N), Hậu Giang (0,16-0,22%N), và Long An (0,33-0,36%N) được đánh giá ở mức trung bình. Mật số vi sinh vật và một số tính chất hoá học khác trong đất ban đầu tại các địa điểm nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Một số tính chất đất tại 3 tỉnh Kiên Giang, Hậu Giang và Long An.

Các chỉ tiêu	Các nhóm đất nghiên cứu					
	KG-1	KG-2	HG-1	HG-2	LA-1	LA-2
pH	3,49	4,31	3,67	4,33	3,86	4,21
K trao đổi ($\text{cmol}_{(+)}/\text{kg}$)	0,32	0,44	0,48	0,20	0,19	0,09
CEC ($\text{cmol}_{(+)}/\text{kg}$)	13,6	10,6	16,8	13,9	12,7	12,3
N tổng số (%N)	0,55	0,29	0,22	0,16	0,36	0,33
NH_4^+-N (mg/kg)	9,52	10,1	2,01	1,97	2,00	1,92
NO_3^--N (mg/kg)	2,31	0,22	5,77	6,54	14,6	7,27
P-Bray 2 (mg/kg)	17,9	74,1	55,7	7,30	61,9	108
Mật số VSV ($\text{CFU/g} \times 10^6$)	0,29	1,69	0,52	4,12	3,98	14,6

Ghi chú: CEC: khả năng trao đổi cation; VSV: vi sinh vật.

Phân lập các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy lá mía

Phương pháp phân lập các dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy lá mía được thực hiện theo phương pháp của Sirisena và Manamendra (1995) [19]. Cân 1 g đất vào bình tam giác 100 ml chứa 24 ml môi trường khoáng tối thiểu gồm: 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1 g K_2HPO_4 ; 1 g KH_2PO_4 ; 1 g NH_4NO_3 ; 0,05 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ và 0,02 g CaCl_2 trong 1 l nước khử khoáng có bổ sung 0,5% carboxymethyl cellulose - CMC (5 g CMC - là nguồn carbon duy nhất trong môi trường nuôi cấy). Mỗi mẫu đất được bố trí với 1 lần lặp lại. Mẫu đối chứng được thực hiện tương tự nhưng không có mẫu đất. Sau đó đặt trên máy lắc với tốc độ 90 v/ph ở điều kiện nhiệt độ phòng, được che tối trong suốt quá trình nuôi cấy và đây được xem là thể hệ vi sinh vật nuôi cấy đầu tiên. Sau 10 ngày nuôi cấy, hút 1 ml dung dịch vi khuẩn của thể hệ nuôi cấy đầu tiên chuyển sang bình tam giác 100 ml mới đã tiệt trùng chứa 24 ml dung dịch môi trường khoáng tối thiểu lỏng và tiếp tục lắc trong tối ở nhiệt độ phòng trong 10 ngày để thu thể hệ vi sinh vật nuôi cấy thứ hai; quy trình này được lặp lại liên tục 5 lần. Sau mỗi lần cấy chuyển, sự đa dạng vi sinh vật trong môi trường giảm dần, đồng thời mật số của các vi sinh vật có tiềm năng sử dụng CMC tăng lên, tạo nguồn để phân lập các vi sinh vật có khả năng tiết ra enzyme cellulase.

Khảo sát sự hiện diện enzyme cellulase của các dòng vi khuẩn đã phân lập

Phương pháp khảo sát enzyme cellulase được thực hiện theo phương pháp của Sirisena và Manamendra (1995) [19]. Sử dụng kim cấy lấy khuẩn lạc, sau đó chuyển sang môi trường TSA bổ sung 1% CMC. Các đĩa petri được ủ trong tối, ở điều kiện phòng trong 3 ngày để tạo nguồn vi khuẩn chuẩn bị cho việc bố trí các thí nghiệm đánh giá khả năng phân hủy lá mía của vi khuẩn. Sau 3 ngày ủ, các đĩa petri được đem ra ngoài, dùng tăm bông và nước khử khoáng để loại bỏ colony của vi khuẩn. Hút 5 ml dung dịch thuốc nhuộm Congo red 0,1% cho vào các đĩa petri này, để yên trong 20 phút, sau đó loại bỏ thuốc nhuộm, rửa nhẹ với nước. Thêm 5 ml dung dịch NaCl 1M, để yên 30 phút. Loại bỏ dung dịch NaCl, quan sát và ghi nhận đường kính vùng sáng màu cam nhạt, vùng sáng này gọi là vòng halo, do enzyme cellulase của vi khuẩn tiết ra đã phân hủy hết CMC nên thuốc nhuộm không bị giữ

lại, đường kính vòng halo càng lớn thì lượng enzyme do vi khuẩn tiết ra càng nhiều; vùng sáng màu đỏ do vẫn còn CMC nên thuốc nhuộm bị giữ lại.

Đánh giá khả năng phân hủy lá mía của các dòng vi khuẩn được phân lập

Việc đánh giá khả năng phân hủy lá mía được thực hiện theo phương pháp của Gupta và cs (2012) [20]. Nguồn lá mía dùng cho thí nghiệm được thu thập, phơi khô, cắt thành đoạn ngắn khoảng 1,5 cm, rửa sạch với nước máy 3 lần, rửa lại 2 lần với nước cất, trải mỏng và phơi khô trong không khí ở điều kiện phòng thí nghiệm.

Lấy 12,5 g vật liệu lá mía cho vào đĩa petri, hiệu chỉnh ẩm độ khô kiệt thu được 2,5 g, tiệt trùng 3 lần ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút bằng máy thanh trùng ướt. Sau đó, nhỏ đều 2 ml dung dịch chứa vi khuẩn đã được chuẩn bị lên trên bề mặt vật liệu và trộn đều. Dán parafilm bên ngoài đĩa petri để tránh nhiễm mẫu. Các đĩa petri được ủ ở nhiệt độ phòng trong 45 ngày.

Thí nghiệm bố trí theo dạng hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức và 3 lần lặp lại, bao gồm 5 dòng vi khuẩn được tuyển chọn: LA2-4a, LA2-4b, LA1-1, KG2-2b, KG2-24 và đối chứng. Nghiệm thức đối chứng chỉ có lá mía đã tiệt trùng, không chứa vi khuẩn.

Chỉ tiêu theo dõi: khối lượng lá mía tại các thời điểm 15, 30 và 45 ngày sau khi ủ. Các đĩa petri chứa lá mía trong thí nghiệm được sấy ở nhiệt độ 105°C trong 8 giờ bằng tủ sấy, sau đó các đĩa này được đem cân để xác định trọng lượng giảm đi theo thời gian thí nghiệm.

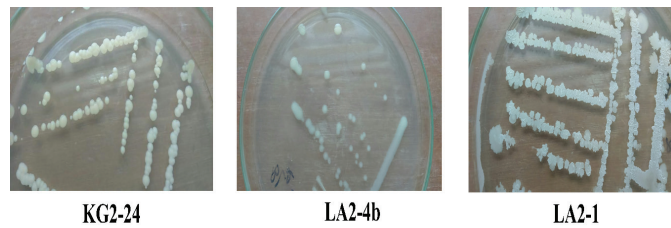
Xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính toán, vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel và được xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab V.16; kiểm định Tukey để đánh giá khác biệt ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức phân hủy lá mía ở mức ý nghĩa 5%.

Kết quả và thảo luận

Các dòng vi khuẩn được phân lập có khả năng phân hủy lá mía

Sau quá trình hoạt hóa và làm giàu mật số vi sinh vật trong môi trường lỏng, tổng cộng có 18 dòng vi khuẩn được phân lập có tiềm năng phân hủy lá mía được ký hiệu: LA2-4b, LA2-1, LA2-4a, LA2-2, KG2-1, KG2-2a, KG2-2b, KG2-3, KG2-20, KG2-21, KG2-22, KG2-24, KG2-26, KG2-27, LA1-1, LA1-2, LA1-3, LA1-7. Kết quả cho thấy không có dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy lá mía trên 2 nhóm đất tại tỉnh Hậu Giang. Hình dạng tế bào của 18 dòng vi khuẩn đã phân lập được quan sát dưới kính hiển vi quang học ở vật kính E100, gồm có 2 dạng: dạng hình que và hình cầu. Dạng tế bào hình que gồm các dòng vi khuẩn: LA2-1, LA2-4a, LA2-2, KG2-2a, KG2-18, KG2-26, KG2-27, LA1-1 và LA1-7. Dạng tế bào hình cầu gồm các dòng vi khuẩn: LA2-4b, KG2-1, KG2-2b, KG2-3, KG2-21, KG2-22, KG2-24, LA1-2 và LA1-3 (hình 1).



Hình 1. Hình dạng khuẩn lạc của một số dòng vi khuẩn được phân lập.

Sự hiện diện của enzyme cellulase ở các dòng vi khuẩn đã được phân lập

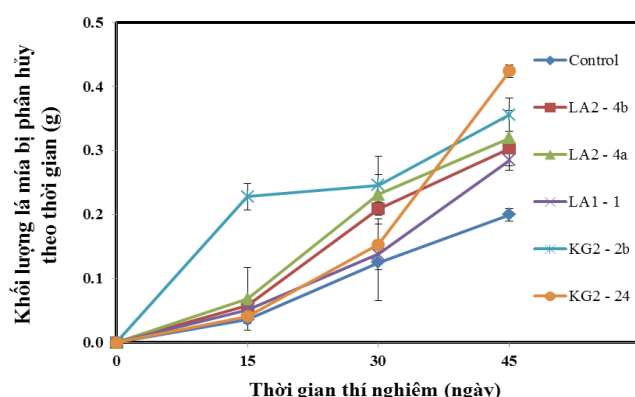
Kết quả khảo sát sự hiện diện của enzyme cellulase của 18 dòng vi khuẩn cho thấy, tất cả các dòng vi khuẩn này đều có khả năng tiết enzyme cellulase để phân hủy cơ chất CMC. Đường kính vòng thủy phân không màu quanh khuẩn lạc được trình bày ở bảng 2. Kết quả cho thấy, dòng vi khuẩn ký hiệu LA2-1 tạo vòng thủy phân có đường kính là 29 mm, cao nhất trong 18 dòng phân lập được, hai dòng vi khuẩn ký hiệu LA1-1 và KG2-24 tạo vòng thủy phân có đường kính 28 mm. Ba dòng vi khuẩn ký hiệu KG2-3, KG2-2a và KG2-22 tạo vòng thủy phân có đường kính 5 mm, thấp nhất trong 18 dòng phân lập được.

Bảng 2. Khả năng phân hủy CMC của 18 dòng vi khuẩn sau 3 ngày nuôi cấy.

Ký hiệu	Đường kính vòng Halo (mm)	Ký hiệu	Đường kính vòng Halo (mm)
LA1-1	28	KG2-2a	5
LA1-2	16	KG2-2b	19
LA1-3	14	KG2-3	5
LA1-7	14	KG2-20	9
LA2-1	29	KG2-21	17
LA2-2	25	KG2-22	5
LA2-4a	26	KG2-24	28
LA2-4b	26	KG2-26	17
KG2-1	10	KG2-27	16

Khả năng phân hủy lá mía của năm dòng vi khuẩn được tuyển chọn

Kết quả đánh giá khả năng phân hủy lá mía sau 15, 30 và 45 ngày nuôi cấy của 5 dòng vi khuẩn tuyển chọn được trình bày ở hình 2. Khối lượng lá mía bị phân hủy có xu hướng tăng dần theo thời gian, đặc biệt trong giai đoạn từ 30-45 ngày và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ($p < 0,05$). Ở thời điểm 15 ngày, dòng vi khuẩn ký hiệu KG2-2b phân hủy được khoảng 0,25 g cơ chất lá mía và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Dòng vi khuẩn ký hiệu KG2-24 thể hiện khả năng phân hủy lá mía tương đối thấp ở thời điểm 15 và 30 ngày; tuy nhiên, ở thời điểm 45 ngày lại thể hiện khả năng phân hủy cao nhất, điều này có thể do dòng vi khuẩn này đã thích ứng và phát triển đủ mật số.



Hình 2. Khối lượng cơ chất lá mía bị phân hủy theo thời gian thí nghiệm.

Các thanh dọc thể hiện sai số chuẩn của giá trị trung bình (n=3).

Tại thời điểm 15 ngày, phần trăm khối lượng lá mía bị phân hủy của 5 dòng vi khuẩn thí nghiệm dao động từ 1,62-9,15%, tương ứng với khối lượng lá mía bị phân hủy từ 0,04-0,25 g; dòng vi khuẩn ký hiệu KG2-2b có phần trăm phân hủy cao nhất (9,15%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng và 4 dòng vi khuẩn còn lại. Ở thời điểm 30 ngày, phần trăm khối lượng cơ chất bị phân hủy bởi 5 dòng vi khuẩn thí nghiệm cao hơn so với nghiệm thức đối chứng và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Khả năng phân hủy lá mía của 5 dòng vi khuẩn thí nghiệm biến động từ 5,53-9,84%. Trong đó, dòng vi khuẩn KG2-2b có khả năng phân hủy cao nhất (9,84%) và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại. Tốc độ phân hủy của lá mía trong nghiên cứu này cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Johnson và cs (2007) [18] trong điều kiện không tiết trùng, có tốc độ phân hủy chỉ dao động từ 2,10-4,28% sau 28 ngày. Sau 45 ngày, nhìn chung tất cả các dòng vi khuẩn đều thể hiện khả năng phân hủy lá mía, phần trăm khối lượng phân hủy biến động từ 11,19-17,0% và đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nghiệm thức đối chứng. Hai dòng vi khuẩn ký hiệu KG2-24 và KG2-2b có phần trăm phân hủy lá mía cao nhất, lần lượt là 14,3 và 17,0%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng và các dòng vi khuẩn còn lại.

Kết luận

Trong các loại đất phèn hoạt động nặng và đất phèn hoạt động trung bình canh tác mía tại ba tỉnh Long An, Hậu Giang và Kiên Giang ở ĐBSCL đã phân lập được 18 dòng vi khuẩn có khả năng phân hủy lá mía gồm: LA2-4b, LA2-1, LA2-4a, LA2-2, KG2-1, KG2-2a, KG2-2b, KG2-3, KG2-20, KG2-21, KG2-22, KG2-24, KG2-26, KG2-27, LA1-1, LA1-2, LA1-3, LA1-7. Các dòng vi khuẩn này đều có thể sản xuất ra enzyme cellulase để phân hủy cellulose trong lá mía. Trong đó, có 5 dòng vi khuẩn được tuyển chọn (LA1-1, LA2-4a, LA2-4b, KG2-2b và KG2-24) có khả năng phân hủy lá mía nhanh hơn so với đối chứng không có vi khuẩn. Để khẳng định hiệu quả phân hủy lá mía, cần tiếp tục thực hiện các thí nghiệm ngoài đồng ruộng nhằm đánh giá một cách toàn diện khả năng phân hủy lá mía của 5 dòng vi khuẩn được tuyển chọn này trên các loại đất phèn canh tác mía ở ĐBSCL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Weil, N.C. Brady (2017), *The nature and properties of soils*, England.
- [2] G. Singh, M. Dhakal, L. Yang, G. Kaur, K.W. Williard, J.E. Schoonover, A. Sadeghpour (2020), "Decomposition and nitrogen release of cover crops in reduced and no tillage systems", *Agronomy Journal*, **112**, pp.3605-3618.
- [3] N. Dal Ferro, I. Piccoli, A. Berti, R. Polese, F. Morari (2020), "Organic carbon storage potential in deep agricultural soil layers: Evidence from long-term experiments in northeast Italy", *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **300**, p.106967.
- [4] K. Glissmann, S. Weber, R. Conrad (2001), "Localization of processes involved in methanogenic degradation of rice straw in anoxic paddy soil", *Environmental Microbiology*, **3**, pp.502-511.
- [5] C. Witt, K. Cassman, D. Olk, U. Biker, S. Liboon, M. Samson, J. Ottow (2000), "Crop rotation and residue management effects on carbon sequestration, nitrogen cycling and productivity of irrigated rice systems", *Plant and Soil*, **225**, pp.263-278.
- [6] M.M. Van Vuuren, D. Robinson, C.M. Scrimgeour, J.A. Raven, A.H. Fitter (2000), "Decomposition of ^{13}C -labelled wheat root systems following growth at different CO_2 concentrations", *Soil Biology and Biochemistry*, **32**, pp.403-413.
- [7] P. Puget, L. Drinkwater (2001), "Short-term dynamics of root-and shoot-derived carbon from a leguminous green manure", *Soil Science Society of America Journal*, **65**, pp.771-779.
- [8] R. Malpassi, T. Kaspar, T. Parkin, C. Cambardella, N. Nubel (2000), "Oat and rye root decomposition effects on nitrogen mineralization", *Soil Science Society of America Journal*, **64**, pp.208-215.
- [9] Y. Bao, Y. Feng, J.C. Stegen, M. Wu, R. Chen, W. Liu, et al. (2020), "Straw chemistry links the assembly of bacterial communities to decomposition in paddy soils", *Soil Biology and Biochemistry*, **148**, p.107866.
- [10] Z. Zhu, T. Ge, Y. Luo, S. Liu, X. Xu, C. Tong, et al. (2018), "Microbial stoichiometric flexibility regulates rice straw mineralization and its priming effect in paddy soil", *Soil Biology and Biochemistry*, **121**, pp.67-76.
- [11] S. Jayasekara, R. Ratnayake (2019), *Microbial cellulases: an overview and applications*, United Kingdom.
- [12] T. Sievers, R.L. Cook (2018), "Aboveground and root decomposition of cereal rye and hairy vetch cover crops", *Soil Science Society of America Journal*, **82**, pp.147-155.
- [13] M. Kimura, J. Murase, Y. Lu (2004), "Carbon cycling in rice field ecosystems in the context of input, decomposition and translocation of organic materials and the fates of their end products (CO_2 and CH_4)", *Soil Biology and Biochemistry*, **36**, pp.1399-1416.
- [14] E. Paul (2014), *Soil microbiology, ecology and biochemistry*, Academic press, 552p.
- [15] Trần Văn Dũng, Đỗ Bá Tân, Vũ Văn Long (2020), "Đánh giá thích nghi đất đai cho các mô hình canh tác lúa tại thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, **56**, tr.153-158.
- [16] S. Muhrizal, J. Shamshuddin, M. Husni, I. Fauziah (2003), "Alleviation of aluminum toxicity in an acid sulfate soil in Malaysia using organic materials", *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **34**, pp.2993-3011.
- [17] T.C. Mokkena, M.J. Mochane, T.E. Motaung, L.Z. Lingano, O.M. Thekiso, S.P. Songca (2018), "Sugarcane bagasse and cellulose polymer composites", *Sugarcane - Technology and Research*, DOI: 10.5772/intechopen.71497.
- [18] R. Johnson, R. Viator, M. Grisham, E. Richard, R. Boopathy (2007), *Microbial degradation of post-harvest residues*, International Society of Sugar Cane Technologists 2007, Durban, South Africa.
- [19] D. Sirisena, T. Manamendra (1995), "Isolation and characterization of cellulolytic bacteria from decomposing rice straw", *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, **23**, pp.25-30.
- [20] P. Gupta, K. Samant, A. Sahu (2012), "Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential", *International Journal of Microbiology*, **2012**, 5p.

Xác định đặc điểm vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của phân loài Vân sam Phan Xi Păng (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang) Rushforth) ở Việt Nam

Nguyễn Hùng Mạnh^{1,2}, Lại Thị Thu Hằng³, Nguyễn Thị Hồng Mai¹,
Nguyễn Thị Phương Trang^{1,2*}, Nguyễn Văn Sinh^{1,2}

¹Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

³Viện Môi trường Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 28/7/2020; ngày chuyển phản biện 3/8/2020; ngày nhận phản biện 4/9/2020; ngày chấp nhận đăng 20/10/2020

Tóm tắt:

Vân sam Phan Xi Păng (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang) Rushforth) là loài thực vật bản địa thường phân bố ở độ cao từ 2.400 m so với mực nước biển. Đây là loài nằm trong danh lục các loài thực vật nguy cấp cần được bảo vệ và bị cấm khai thác, sử dụng vì mục đích thương mại. Quần thể Vân sam của Việt Nam tập trung duy nhất ở một vùng núi thuộc đỉnh Phan Xi Păng với đường kính quần thể khoảng 3 km, ở độ cao 2.600-2.950 m, cách xa quần thể Vân sam ở Cang Shan, Trung Quốc khoảng 500 km. Trong nghiên cứu này, nhằm tìm hiểu rõ hơn về sự sai khác di truyền giữa loài Vân sam phân bố ở Phan Xi Păng Việt Nam với loài Vân sam phân bố tại Trung Quốc, các tác giả đã tiến hành đọc trình tự 2 vùng gen lục lạp gồm *rbcL* và *trnH-psbA* và so sánh với loài Vân sam của Trung Quốc. Kết quả cho thấy, phân loài Vân sam Phan Xi Păng của Việt Nam có một vị trí Nucleotide sai khác so với loài *Abies nukiangensis* của Trung Quốc ở vị trí số 455 trên vùng gen *rbcL* và 2 vị trí Nucleotide sai khác trên vùng gen *trnH-psbA* ở vị trí số 332 và 503. Trình tự hai vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của loài Vân sam Phan Xi Păng của Việt Nam đã được đăng ký lên Ngân hàng gen thế giới (GenBank) với mã số truy cập là MK783132 và MK783131.

Từ khóa: *Abies delavayi*, *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*, DNA chloroplast, *rbcL*, *trnH-psbA*, Việt Nam.

Chỉ số phân loại: 1.6

Mở đầu

Chi Vân sam (*Abies*) có khoảng 48 loài, là một trong những chi có số lượng loài lớn nhất so với các chi khác trong họ Thông (*Pinaceae*) [1]. Chi này được ghi nhận và đặt tên bởi nhà khoa học Miller vào năm 1754 [2]. *Abies* phân bố rải rác ở Trung và Bắc Mỹ, châu Âu, Bắc Phi, châu Á (phía nam dãy Himalaya, phía nam Trung Quốc) [3]. Hầu hết các nghiên cứu về chi này trên thế giới đều chỉ ra rằng đây là những loài thực vật ngoài có giá trị kinh tế cao, còn có vai trò quan trọng trong các hệ sinh thái á nhiệt đới, ôn đới, một trong những vùng đầu nguồn đặc biệt nhạy cảm [1-6].

Theo Danh lục đỏ của IUCN (ver. 2013.1) [7] về các loài bị đe dọa toàn cầu, Vân sam Phan Xi Păng (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*) được xếp vào mức độ đe dọa rất nguy cấp, còn theo Sách đỏ Việt Nam xuất bản năm 2007 thì chúng được xếp ở mức sẽ nguy cấp (VU) [8]. Từ năm 2006 đến nay, Vân sam Phan Xi Păng luôn được xếp vào nhóm IA là nhóm cấm khai thác và sử dụng vì mục đích thương mại [9, 10].

Phân loài Vân sam ở Việt Nam được ghi nhận và mô tả bởi Frajon và Siba năm 1990 [2] với tên khoa học *Abies delavayi* var. *nukiangensis* auct.non (W.C. Cheng & L.K. Fu) Frajon & Siba, sau đó được nhà khoa học Trung Quốc Q.P. Xiang đặt lại tên khoa học là *Abies fansipanensis* Q.P. Xiang [11]; đến năm 1999, loài này được Rushforth mô tả và đặt lại tên là *Abies delavayi* subsp. *fansipanensi* (Q.P. Xiang) Rushforth. Tuy nhiên, các tác giả này mới chỉ dừng lại ở phương pháp định loại chủ yếu dựa trên quan điểm hình thái mà chưa đi sâu phân tích đặc điểm di truyền của loài. Theo Keith Rushforth [1], về mặt hình thái (màu sắc của nón cái, cụ thể màu sắc của nón cái phân loài Vân sam Phan Xi Păng có màu tím nhạt hơn màu của *A. nukiangensis*), loài này có sự khác biệt với loài Vân sam ở Trung Quốc nên đề loài Vân sam Phan Xi Păng là bậc dưới loài (tức là loài đặc hữu Hoàng Liên). Vấn đề này còn nhiều tranh cãi do chưa có thông tin về đặc điểm di truyền (gen) của loài Vân sam Phan Xi Păng để khẳng định nó là *Abies delavayi* Franch. hay là *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang) Rushforth [5].

Trong vài năm trở lại đây, phân loại học dựa trên các chi

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

Molecular characteristic of *rbcL* and *trnH-psbA* of *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Xiang Q.P.) Rurhforth in Vietnam

Hung Manh Nguyen^{1,2}, Thi Thu Hang Lai³,
Thi Hong Mai Nguyen¹, Thi Phuong Trang Nguyen^{1,2*},
Van Sinh Nguyen^{1,2}

¹Institute of Ecology and Biological Resources, VAST

²Graduate University of Science and Technology, VAST

³Institute for Agricultural Environment, VAAS

Received 28 July 2020; accepted 20 October 2020

Abstract:

Abies delavayi subsp. *fansipanensis* (Xiang Q.P.) Rurhforth) or *Abies delavayi* var. *nukiangensis* auct. non is a native plant, distributes at altitudes about 2,400 m above sea level. This plant belongs to the Pinaceae family and is listed in endangered, precious and rare species banned from commercial exploitation. The *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* population in Vietnam only concentrates in a mountainous area at the peak of Fansipan with a population diameter of about 3 km at an altitude of 2,600 to 2,950 m, and is about 500 km far from the *Abies delavayi* population in Cang Shan (China). In this study, the author sequenced the region of the *rbcL* and *trnH-psbA* of *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* in Vietnam, compared with the *Abies delavayi* of China to better understand the genetic characteristics of *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* in Vietnam. The results showed that the *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* in Vietnam has a different nucleotide position compared to the Chinese *Abies nukiangensis* at nucleotide no. 455 on the *rbcL* gene region and two other nucleotide positions in the *trnH-psbA* genome at positions 332 and 503. The sequences of the *rbcL* and *trnH-psbA* gene regions of *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* from Vietnam were registered into the GenBank with the accession number MK783132 and MK783131, respectively.

Keywords: *Abies delavayi*, *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis*, DNA chloroplast, *rbcL*, *trnH-psbA*, Vietnam.

Classification number: 1.6

thị phân tử được phát triển mạnh mẽ bởi các phân tích ADN cho phép thực hiện được ngay cả trên các mẫu vật không còn nguyên vẹn, đặc biệt không bị ảnh hưởng bởi bất cứ yếu tố khách quan nào. Hiện nay, phân tích ADN được coi là phương pháp quan trọng, tin cậy trong các nghiên cứu về phân loại học, đặc biệt trong công tác giám định pháp y.

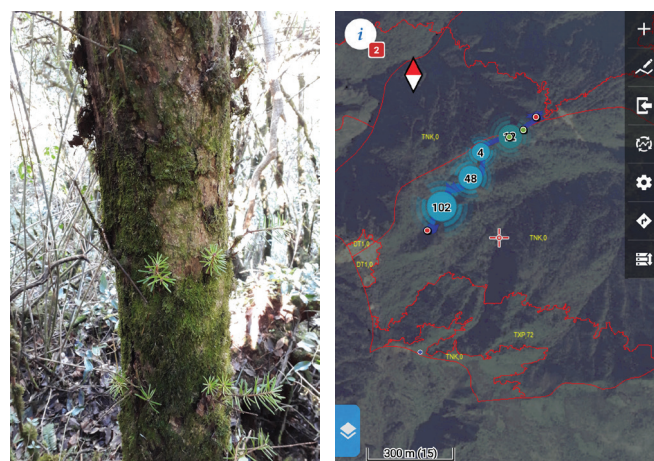
Ở thực vật, với lợi thế là có kích thước nhỏ, số lượng bản sao lớn và di truyền ổn định qua các thế hệ nên các gen trong hệ gen lục lạp thường được sử dụng như những chỉ thị phân tử trong các nghiên cứu về phân loại. Tuy nhiên, với mỗi nhóm thực vật khác nhau thì khả năng phân loại chính xác của các chỉ thị phân tử là khác nhau, do vậy việc sử dụng kết hợp nhiều chỉ thị phân tử đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu. Trong một nghiên cứu về các loài thực vật ở cận đẳng trên Tạp chí PNAS năm 2009, Hiệp hội nghiên cứu mã vạch sự sống (The Consortium for the Barcode of Life - CBOL) đã chứng minh 4 vùng gen mã hoá gồm *matK*, *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1* và 3 vùng gen không mã hoá trong hệ gen lục lạp là *atpF-atpH*, *trnH-psbA*, *psbK-psbI* là những chỉ thị phân tử hữu hiệu trong các nghiên cứu về phân loại ở thực vật trên cạn, đặc biệt sự kết hợp giữa các vùng gen này sẽ cho kết quả đáng tin cậy cao hơn [12].

Trong nghiên cứu này, để tìm hiểu rõ hơn về sự sai khác ở cấp độ phân tử giữa loài Vân sam phân bố ở Việt Nam với loài Vân sam Trung Quốc, chúng tôi đã thực hiện giải mã trình tự hai vùng gen lục lạp gồm *rbcL* và *trnH-psbA*. Đây là 2 vùng gen mã vạch (barcoding) phổ biến nhất thường được lựa chọn sử dụng trong các nghiên cứu về phân loại/ giám định loài thực vật.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Mẫu lá của một cây Vân sam Phan Xi Păng cao 12 m, đường kính 38 cm, được thu tại độ cao 2.636 m (N: 22°18,554', E: 103°46.743), ký hiệu mẫu: A70 (hình 1).



Hình 1. Hình ảnh cây Vân sam Phan Xi Păng được thu mẫu và vị trí tọa độ của mẫu thu (nguồn: Nguyễn Hùng Mạnh, 2019).

Mẫu thu được bảo quản trong silicagen và lưu giữ tại Phòng Hệ thống học phân tử và di truyền bảo tồn, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật để phục vụ cho phân tích ADN.

Phương pháp

Tách chiết ADN tổng số: mẫu lá được tách chiết bằng CTAB theo quy trình của J.J. Doyle và D.J. Doyle (1987) [13] (có cải tiến để phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm). Kiểm tra độ sạch và nồng độ ADN bằng đo quang phổ trên máy NanoDrop One. ADN tổng số sau đó được pha loãng đạt nồng độ 10 ng/μl để dùng cho phản ứng khuếch đại gen (PCR).

Trình tự các cặp mồi dùng cho khuếch đại vùng gen *trnH-psbA* và *rbcL* được tổng hợp dựa theo các kết quả nghiên cứu của Kress và cs (2005) [14] và Hasebe và cs (1994) [15] (bảng 1).

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi sử dụng.

Tên vùng gen	Mồi xuôi	Mồi ngược	Nhiệt độ bắt cặp mồi	Chiều dài vùng gen	Tham khảo
<i>trnH-psbA</i>	GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C	CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC	50	600	[12]
<i>rbcL</i>	TCTAGCACACGAA AGTCGAAGT	CTTCGGCACAAAA TACGAAACG ATCT CTCCA	56	700	[15]

Nhân bản vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* bằng phản ứng PCR: phản ứng nhân gen được thực hiện trong tổng thể tích là 50 μl với các thành phần gồm: 32 μl H₂O, 5 μl đệm, 5 μl dNTP, 3 μl mồi xuôi F (30 pM), 3 μl mồi ngược R (30 pM), 1 μl ADN tổng số, 1 μl enzyme Taq polymerase. Chu trình nhiệt được thực hiện trên máy PCR system 9700 với các chu kỳ gồm: biến tính ở 95°C trong 3 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ lặp lại với mỗi chu kỳ cụ thể như sau: biến tính ở 95°C 30 giây; bắt cặp ở 50°C (đối với gen *trnH-psbA*) và 56°C (đối với gen *rbcL*) trong 1 phút, kéo dài ở 72°C trong 1 phút, cuối cùng kết thúc phản ứng ở 72°C trong 5 phút để kết thúc phản ứng và bảo quản mẫu ở 4°C.

Sản phẩm PCR sau đó được điện di kiểm tra trên gel agarose 1% (có chứa gel red), soi gel trên đèn chiếu ánh sáng UV.

Giải mã trình tự gen và xử lý số liệu: sản phẩm PCR được tinh sạch bằng Sephadex G50 (Sigma). Phản ứng giải mã trình tự nucleotide được thực hiện với bộ kit BigDye terminator v3.1 trên máy đọc trình tự ABI 3100 Avant genetic analyzer (Applied Biosystems).

Sử dụng công cụ BLAST để kiểm tra tính chính xác của vùng gen được khuếch đại bằng cách xác định các trình tự tương đồng với trình tự này trong cơ sở dữ liệu trên GenBank.

Kết quả sau đó được so sánh với trình tự của một số loài *Abies* khác trên GenBank (bảng 2). Loài Thông kim tiền (*Pseudolarix amabilis* - MH749294.1) được sử dụng làm loài ngoài nhóm.

Bảng 2. Danh sách các loài trên GenBank được dùng để so sánh.

TT	Danh sách	GenBank Code	
		<i>rbcL</i>	<i>trnH-psbA</i>
1	<i>Abies delavayi</i>	JF940551.1	JN043652.2
2	<i>Abies squamata</i>	JF940610.1	JN043711.2
3	<i>Abies nukiangensis</i>	JF940536.1	JN043711.2
4	<i>Abies forrestii</i>	JF940579.1	
5	<i>Abies holophylla</i>	JQ512508.1	JQ512263.1
6	<i>Abies densa</i>	JF940556.1	
7	<i>Abies spectabilis</i>	MF786477.1	HQ833523.1
8	<i>Abies firma</i>	JQ512506.1	
9	<i>Abies veichii</i>	JN935621.1	
10	<i>Abies pinsapo</i>	FR831932.1	
11	<i>Abies recurvata</i>	HQ833560.1	HQ833516.1
12	<i>Abies alba</i>	FR832521.2	FR832521.2
13	<i>Abies nephrolepis</i>	JF940596.1	
14	<i>Abies homolepis</i>	AB015648.1	
15	<i>Abies cilicica</i>	MH069637.1	
16	<i>Abies balsamea</i>	JN935605.1	
17	<i>Abies bracteata</i>	AB029647.1	
18	<i>Abies magnifica</i>	EU331927.1	
19	<i>Abies hidalgensis</i>	EU269028.1	
20	<i>Abies grandis</i>	AB029646.1	
21	<i>Abies fabri</i>		JN043666.2
22	<i>Abies fargesii</i>		JN043671.2
23	<i>Abies beshanzuensis</i>		JN043643.2
24	<i>Abies ferreana</i>		JN043675.2
25	<i>Abies nebrodensis</i>		FR832517.2
26	<i>Abies fanjingshanensis</i>		JN043641.2
27	<i>Abies chensiensis</i>		JN043646.2

Phần mềm ClustalW [16], GenDoc và MEGA5.2 [17] được dùng để phân tích dẫn liệu, bằng khoảng cách di truyền được thiết lập theo phương pháp tối giản (Maximum Parsimony), mức độ khác biệt di truyền được tính toán theo mô hình Kimura hai tham số. Thực hiện với 1.000 lần lặp lại để xác định giá trị ủng hộ (bootstrap) trong cây ML (MLBS) và BI (BPP). Ngoài ra, các nút trong cây ML được đánh giá với giá trị bootstrap 75% trở lên và các nút có BPP 95% trở lên có ý nghĩa trong phân tích BI. Khoảng cách di truyền (*P*) giữa các loài trong chi được tính toán bằng Mega 7.0.

Tách chiết DNA tổng số: ADN tổng số của mẫu nghiên cứu được tách chiết thành công với kết quả đo OD260/OD280 = 1,81, chứng tỏ hàm lượng DNA thu được có độ tinh khiết cao.

700bp →
600bp →

M 1 2

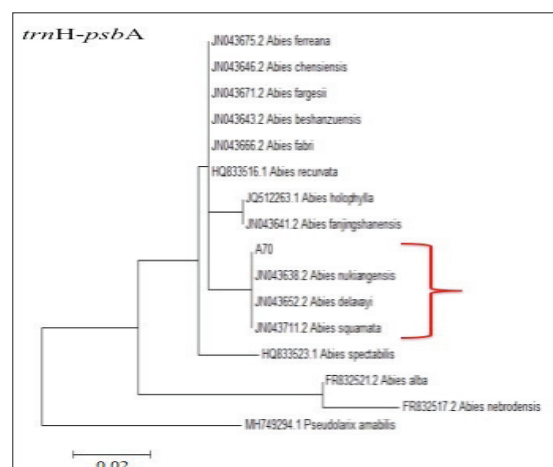
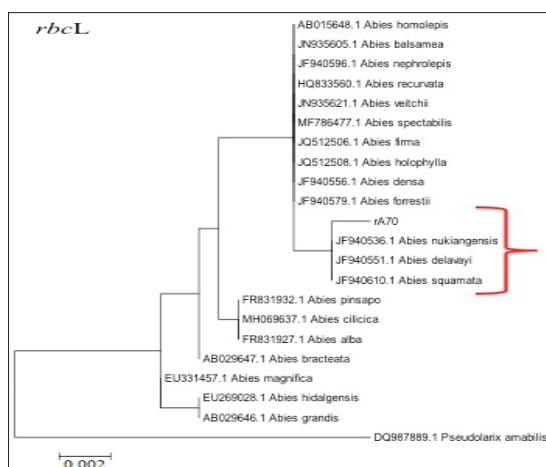
Sản phẩm PCR được thực hiện đọc trình tự 2 chiều. Kết quả giải trình tự hai chiều nhận được của mỗi đoạn gen sau đó được ghép nối với nhau để thu về một trình tự duy nhất bằng phần mềm Chromas Pro. Trình tự thu được sau hiệu chỉnh ở định dạng file fasta (.fas) được kiểm tra bằng công cụ BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) để so sánh với các trình tự sẵn có trên GenBank. Kết quả phân tích trình tự trên phần mềm Chromas Pro cho thấy đã giải mã tốt được đoạn gen có chiều dài 700 bp cho vùng gen *rbcL* và đoạn gen dài 600 bp cho gen *trnH-psbA*.

Kết quả phân tích lần lượt 2 vùng gen này bằng phần mềm ClustalW và so sánh với các loài *Abies* khác (bảng 2) cho thấy, đoạn gen *rbcL* dài 700 bp của phân loài Vân sam Phan

Đối với đoạn gen *trnH-psbA* dài 600 bp của phân loài Vân sam Phan Xi Păng thu tại Việt Nam, sau khi hiệu chỉnh và cắt ghép, một đoạn gen dài 568 bp được thu nhận và dùng để phân tích. Kết quả phân tích cho thấy, đoạn gen *trnH-psbA* dài 568 bp đã mã hoá cho 176 acid amin, trong đó tỷ lệ G, T, A và C lần lượt là 21, 31,7, 28,3 và 19%. Phát hiện được 2 Nucleotide sai khác ở vị trí số 332 và 503 (C->A) so với mẫu *A. nukiangensis* của Trung Quốc (hình 3). Tuy nhiên, cả 2 vị trí Nucleotide sai khác này đều không mang ý nghĩa Parsimony.

<i>rbhL</i>		<i>trnH-psbA</i>	
	22466]		113394 45]
	519512]		238453795 80]
	477592]		9908912375 53]
#rA70	GGCGAA	[	CCCTGGCACC GC
#JF940536.1 <i>Abies_nukiangensis</i>	...T..	#A70	CCCTGGCACC GC
#JF940551.1 <i>Abies_delavayi</i>	...T..	#JN043638.2 <i>Abies_nukiangensis</i>	A...A
#JF940579.1 <i>Abies_forrestii</i>	...T..	#JN043652.2 <i>Abies_delavayi</i>	A...A
#JF940610.1 <i>Abies_squamata</i>	...T..	#JN043711.2 <i>Abies_squamata</i>	A...A
#JF940556.1 <i>Abies_densa</i>	...T..	#JQ512263.1 <i>Abies_holophylla</i>	C...A..T
#JQ512508.1 <i>Abies_holophylla</i>	...T..	#HQ835516.1 <i>Abies recurvata</i>	C...A...A
#JQ512506.1 <i>Abies_firma</i>	...T..	#JQ53523.1 <i>Abies_spectabilis</i>	C...A...A
#MF764477.1 <i>Abies_spectabilis</i>	...T..	#JN043666.2 <i>Abies_fabri</i>	C...A...A
#JN334621.1 <i>Abies_veitchii</i>	...T..	#JN043643.2 <i>Abies_benzhuensis</i>	C...A...A
#FR831932.1 <i>Abies pinsapo</i>	CC.T.C	#JN043761.2 <i>Abies_fargesii</i>	C...A...A
#HQ835560.1 <i>Abies_holophylla</i>	...T..	#JN043675.2 <i>Abies_ferreana</i>	C...A...A
#JF940596.1 <i>Abies_nebrodensis</i>	...T..	#FR832521.2 <i>Abies_alba</i>	T...C...A..G
#AB015648.1 <i>Abies_homoilepis</i>	...T..	#FR832517.2 <i>Abies_nebrodensis</i>	TTT.CTA.G..A
#MH069637.1 <i>Abies_cilicica</i>	CC.T.C	#JN043641.2 <i>Abies_fanjinghanensis</i>	C...A...T
#JN935605.1 <i>Abies_balsamea</i>	...T..	#JN043646.2 <i>Abies_chensiensis</i>	GC...A...A
#JN029647.1 <i>Abies_bracteata</i>	CC.T.T		
#FR831927.1 <i>Abies_alba</i>	CC.T.C		
#EU331457.1 <i>Abies_magnifica</i>	CC.TCT		
#EU269028.1 <i>Abies_hidalgensis</i>	CCCTCT		
#AB029646.1 <i>Abies_grandis</i>	CCCTCT		

Kết quả phân tích quan hệ di truyền cho thấy, mẫu nghiên cứu có mối quan hệ gần gũi nhất với nhóm gồm *A. delavayi*, *A. nukiangensis* và *A. Squamata* (hình 4). Trong đó, mẫu nghiên cứu có khoảng cách di truyền so với *A. nukiangensis* và *A. delavayi* đều là 0,001, khoảng cách di truyền so với *A. squamata* là 0,014.



Hình 4. Sơ đồ quan hệ di truyền của mẫu nghiên cứu (A70) với một số loài Vân sam khác dựa trên phân tích trình tự gen *rbcL* và *trnH-psbA*.

Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã giải mã thành công trình tự 2 vùng gen lục lạp gồm *rbcL* và *trnH-psbA* của mẫu phân loài Vân sam Phan Xi Păng thu tại Việt Nam. Kết quả so sánh trình tự vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* với mẫu *A. nukiangensis* thu tại Trung Quốc cho thấy, mẫu phân loài Vân sam Phan Xi Păng có một vị trí Nucleotide sai khác trên trình tự vùng gen *rbcL* và 2 vị trí Nucleotide sai khác trên trình tự vùng gen *trnH-psbA*. Về mặt hình thái, theo nghiên cứu của Keith Rushforth thì loài này có sự khác biệt với *A. nukiangensis* ở màu sắc của nón, cụ thể là nón của Vân sam Phan Xi Păng có màu tím nhạt hơn.

Các nghiên cứu về Vân sam từ trước đến nay đều cho rằng phân loài Vân sam tại đỉnh Phan Xi Păng chính là loài Vân sam *A. nukiangensis* của Trung Quốc. Việc phát hiện ra 3 vị trí Nucleotide sai khác trên 2 vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của mẫu Vân sam thu tại Phan Xi Păng có ý nghĩa quan trọng trong việc xác định lại vị trí phân loại của phân loài Vân sam ở đây. Tuy nhiên, để khẳng định các Nucleotide sai khác trên vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* là các sai khác mang ý nghĩa di truyền hay chỉ là các sai khác do khoảng cách địa lý thì cần tiến hành phân tích và so sánh đặc điểm di truyền trên số lượng mẫu thu nhiều hơn.

Trình tự hai vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của phân loài Vân sam Phan Xi Păng ở Việt Nam đã được đăng ký lên GenBank với mã số truy cập lần lượt là MK783132 và MK783131.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện thông qua đề tài cấp Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam (mã số VAST04.04/20-21). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Q.P. Xiang, et al. (2009), "Phylogeny of *Abies* (Pinaceae) inferred from nrITS sequence data", *Taxon*, **58**(1), pp.141-152.
- [2] A. Farjon (1990), "*Pinaceae*: drawings and descriptions of the genera *Abies*, *Cedrus*, *Pseudolarix*, *Keteleeria*, *Nothotsuga*, *Tsuga*, *Cathaya*, *Pseudotsuga*, *Larix* and *Picea*. Koeltz Scientific Books, Koenigstein", *Edinburgh Journal of Botany*, **50**, pp.121-122.
- [3] S.A. Semerikova, V.L. Semerikov (2014), "Molecular phylogenetic analysis of the genus *Abies* (Pinaceae) based on the

nucleotide sequence of chloroplast DNA", *Russian Journal of Genetics*, **50**, pp.12-25.

- [4] <http://www.conifers.org/pi/Abies.php>.
- [5] Nguyễn Tiến Hiệp và cs (2004), *Hiện trạng bảo tồn các loài Thông Việt Nam*, Báo cáo dự án Fauna and Flora International Vietnam Programme.
- [6] <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942214002234>.
- [7] IUCN (2013), *Red List of Threatened Species*, World Conservation Press.
- [8] Bộ Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2007), *Sách đỏ Việt Nam (Phần thực vật)*, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ.
- [9] Chính phủ (2006), *Nghị định số 32/2006/NĐ-CP ngày 30/3/2006 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý hiếm*.
- [10] Chính phủ (2019), *Nghị định 06/2019/NĐ-CP ngày 22/1/2019 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp*.
- [11] Q.P. Xiang (1997), "*Abies fansipanensis* - A new species of the genus *Abies* from Vietnam", *Acta Phytotaxonomica Sinica*, **35**(4), pp.356-359.
- [12] CBOL Plant Working Group (2009), "A DNA barcode for land plants", *PNAS*, **106**(31), pp.12794-12797.
- [13] J.J. Doyle, D.J. Doyle (1987), "A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue", *Phytochemistry Bulletin*, **19**, pp.11-15.
- [14] J.W. Kress, et al. (2005), "Use of DNA barcodes to identify flowering plants", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, pp.8369-8374.
- [15] M. Hasebe, et al. (1994), "*rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns", *PNAS*, **91**(12), pp.5730-5734.
- [16] J.D. Thompson, et al. (1994), "CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice", *Nucleic Acids Research*, **22**, pp.4673-4680.
- [17] K. Tamura, et al. (2011), "MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method", *Molecular Biology and Evolution*, **28**, pp.2731-2739.

Phát triển phương pháp xác định tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp sử dụng đáp ứng trở kháng và mạng nơ-ron nhân tạo

Lưu Trần Hữu Tín, Hồ Đức Duy*

Khoa Kỹ thuật xây dựng, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 17/8/2020; ngày chuyển phản biện 20/8/2020; ngày nhận phản biện 21/9/2020; ngày chấp nhận đăng 5/10/2020

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, một phương pháp xác định tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp của kết cấu bê tông cốt thép ứng suất trước sử dụng đáp ứng trở kháng kết hợp với mạng nơ-ron nhân tạo được phát triển. Trước tiên, cơ sở lý thuyết về đáp ứng trở kháng, phương pháp chẩn đoán sự xuất hiện và mức độ của tổn hao ứng suất trước được giới thiệu. Trong đó, sự xuất hiện của tổn hao ứng suất trước được xác định bằng chỉ số đánh giá MAPD (Mean Absolute Percentage Deviation). Sau đó, mức độ của tổn hao ứng suất trước được xác định bằng mạng nơ-ron nhân tạo. Tính khả thi của phương pháp kiến nghị được kiểm chứng thông qua mô phỏng số cho vùng neo cáp với nhiều mức độ tổn hao khác nhau. Độ tin cậy mô phỏng số của đáp ứng trở kháng được đánh giá bằng cách so sánh với kết quả thực nghiệm. Cuối cùng, sự xuất hiện và mức độ của tổn hao ứng suất trước được xác định chính xác bằng phương pháp kiến nghị. Các kết quả từ nghiên cứu cho thấy phương pháp kiến nghị đạt được hiệu quả cao trong việc xác định tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp.

Từ khóa: mạng nơ-ron nhân tạo, theo dõi và chẩn đoán kết cấu, tổn hao ứng suất trước, trở kháng, vùng neo cáp.

Chỉ số phân loại: 2.1

Giới thiệu

Trong thế kỷ vừa qua, lĩnh vực theo dõi và chẩn đoán sức khỏe kết cấu (Structural Health Monitoring - SHM) ngày càng được quan tâm, chú trọng, nhằm sớm phát hiện các hư hỏng và kịp thời đưa ra các giải pháp xử lý, đảm bảo an toàn và tuổi thọ của các công trình xây dựng. Nhiều phương pháp chẩn đoán kết cấu đã được nghiên cứu và ứng dụng. Trong đó, phương pháp chẩn đoán sử dụng đáp ứng trở kháng cơ - điện là một phương pháp mới và có tính hiệu quả cao khi có thể phát hiện kịp thời những hư hỏng từ lúc mới hình thành mà không gây phá hủy kết cấu [1]. Phương pháp trở kháng lần đầu tiên được giới thiệu bởi Liang và cộng sự vào năm 1994 [2]. Sau đó, phương pháp này đã được phát triển và ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như cơ khí, hàng không, xây dựng và trên rất nhiều loại kết cấu khác nhau như: kết cấu dàn [3], kết cấu tấm mỏng [4], kết cấu thép [5], kết cấu bê tông [6], vùng neo của dầm bê tông ứng suất trước [7], kết cấu bê tông có gia cường FRP [8].

Hiện nay, cùng với sự bùng nổ của cuộc cách mạng công nghiệp 4.0, các thuật ngữ về trí tuệ nhân tạo đang dần trở nên phổ biến và được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực của đời sống. Trong đó, mạng nơ-ron nhân tạo (Artificial Neural Networks - ANNs) là một mô hình toán học được xây dựng dựa trên ý tưởng của mạng nơ-ron sinh học. Mạng ANNs

bao gồm nhóm các nơ-ron nhân tạo (nút) được nối với nhau và thông tin trong mạng được xử lý bằng cách truyền theo các kết nối và tính giá trị mới tại các nút. Thông qua quá trình học hỏi và huấn luyện, mạng ANNs có khả năng lưu giữ những kinh nghiệm, hiểu biết, tri thức và sử dụng những tri thức đó trong việc dự đoán các dữ liệu chưa biết [9]. Tại Việt Nam, việc ứng dụng mạng nơ-ron nhân tạo trong lĩnh vực xây dựng vẫn còn khiêm tốn. Mạng ANNs đã được ứng dụng trong một số nghiên cứu như phát hiện hư hỏng trong dầm giản đơn [10], dự đoán sức chịu tải tới hạn của cầu kiện thép chữ Y [11].

Trong lĩnh vực xây dựng, kết cấu bê tông cốt thép ứng suất trước được sử dụng rất phổ biến. Đối với loại kết cấu này, tổn hao ứng suất trước là một mục tiêu rất quan trọng cần được theo dõi và chẩn đoán nhằm đảm bảo độ an toàn cho kết cấu. Từ những nhu cầu thực tế đặt ra và kế thừa các nghiên cứu trước, mục tiêu chính của bài báo này là phát triển một phương pháp chẩn đoán tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp của kết cấu bê tông cốt thép ứng suất trước sử dụng đáp ứng trở kháng kết hợp với mạng nơ-ron nhân tạo. Đầu tiên, cơ sở lý thuyết về đáp ứng trở kháng và phương pháp chẩn đoán tổn hao ứng suất trước được trình bày. Tiếp theo, một mô phỏng số cho vùng neo cáp với nhiều mức độ tổn hao khác nhau được thực hiện bằng phần

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

Development of prestress-loss identification method in the cable-anchorage system using impedance responses and artificial neural networks

Tran Huu Tin Luu, Duc Duy Ho*

Faculty of Civil Engineering,
Ho Chi Minh city University of Technology,
Vietnam National University Ho Chi Minh city

Received 17 August 2020; accepted 5 October 2020

Abstract:

In this paper, a method for identifying the loss of prestressing force (prestress-loss) in the cable-anchorage system of prestressed concrete structures using the impedance responses and artificial neural networks (ANNs) is developed. First, theories of impedance responses and damage detection methods for diagnosing the occurrence and the severity of prestress-loss are presented. In which, the occurrence of prestress-loss is determined by MAPD (Mean Absolute Percentage Deviation) index. Then, the severity of the prestress-loss is determined by ANNs. The feasibility of the developed method is verified by numerical simulations for a real cable-anchorage system with different levels of prestress-loss. The reliability of the numerical simulations for impedance responses is evaluated by comparison to experimental results. Finally, the occurrence and severity of the prestress-loss are exactly identified by the proposed method. The results of this study show that the proposed method is highly effective in determining the prestress-loss in the cable-anchorage system.

Keywords: artificial neural networks, cable-anchorage system, impedance response, prestress-loss, structural health monitoring.

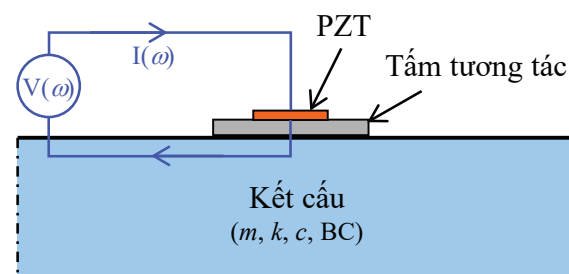
Classification number: 2.1

mềm ANSYS. Độ tin cậy của đáp ứng trở kháng mô phỏng được kiểm chứng với kết quả thực nghiệm. Cuối cùng, sự xuất hiện và mức độ của tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp được chẩn đoán chính xác khi sử dụng phương pháp kiến nghị.

Đáp ứng trở kháng và phương pháp chẩn đoán tổn hao ứng suất trước

Đáp ứng trở kháng cơ - điện

Kết cấu cần chẩn đoán được miêu tả bằng các đặc trưng như là khối lượng (m), độ cứng (k), hệ số cản (c) và điều kiện biên (BC) tương ứng. Cảm biến PZT được làm từ vật liệu áp điện được miêu tả như một mạch điện điều hòa với hiệu điện thế và cường độ dòng điện. Trong một số nghiên cứu gần đây [1], tấm tương tác làm từ vật liệu nhôm được sử dụng nhằm làm tăng độ nhạy của đáp ứng trở kháng đo được từ PZT khi các đặc trưng của kết cấu thay đổi. Hình 1 thể hiện sự tương tác cơ - điện giữa cảm biến PZT, tấm tương tác và kết cấu.



Hình 1. Sự tương tác cơ - điện giữa cảm biến PZT, tấm tương tác và kết cấu.

Đáp ứng trở kháng cơ - điện của hệ là một hàm số kết hợp giữa trở kháng cơ của kết cấu $Z_s(\omega)$ và trở kháng điện của cảm biến PZT $Z_a(\omega)$ được diễn tả bằng công thức sau [1]:

$$Z(\omega) = \frac{V(\omega)}{I(\omega)} = \left(i\omega \frac{w_a l_a}{t_a} \left(\bar{\epsilon}_{33}^T - \frac{1}{Z_a(\omega)/Z_s(\omega)+1} d_{31}^T \bar{Y}_{11}^E \right) \right)^{-1} \quad (1)$$

trong đó: $\bar{Y}_{11}^E = (1 + i\eta)Y_{11}^E$ là mô đun đàn hồi của PZT khi điện trường bằng 0; $\bar{\epsilon}_{33}^T = (1 - i\delta)\epsilon_{33}^T$ là hằng số điện dung của PZT khi ứng suất bằng 0; d_{31}^T là hằng số áp điện của PZT khi ứng suất bằng 0; w_a, l_a, t_a lần lượt là chiều rộng, chiều dài và chiều dày của cảm biến PZT; η và δ lần lượt là hệ số mất mát cản và hệ số mất mát điện môi của PZT.

Đáp ứng trở kháng cơ của kết cấu $Z_s(\omega)$ là một hàm số phụ thuộc vào các đặc trưng động lực học (như khối lượng, độ cứng, hệ số cản) và điều kiện biên. Do đó, bất kỳ sự thay đổi nào trong các đặc trưng động lực học và điều kiện biên (được xem là hư hỏng) đều có thể dẫn đến sự thay đổi trong đáp ứng trở kháng cơ - điện $Z(\omega)$; và ngược lại có thể sử dụng sự thay đổi của đáp ứng trở kháng cơ - điện để đánh giá hư hỏng trong kết cấu. Theo công thức (1), khi kết cấu

xuất hiện hư hỏng, đáp ứng trở kháng cơ $Z_s(\omega)$ của kết cấu sẽ thay đổi và làm thay đổi đáp ứng trở kháng cơ - điện $Z(\omega)$. Hư hỏng trong kết cấu được phát hiện khi có sự sai lệch của hai đáp ứng trở kháng ở hai khoảng thời điểm khảo sát khác nhau. Đối với hư hỏng của kết cấu, phần thực của đáp ứng trở kháng nhạy hơn so với phần ảo; cho nên, phần thực thường được sử dụng trong các phương pháp chẩn đoán hư hỏng [12].

Phương pháp chẩn đoán

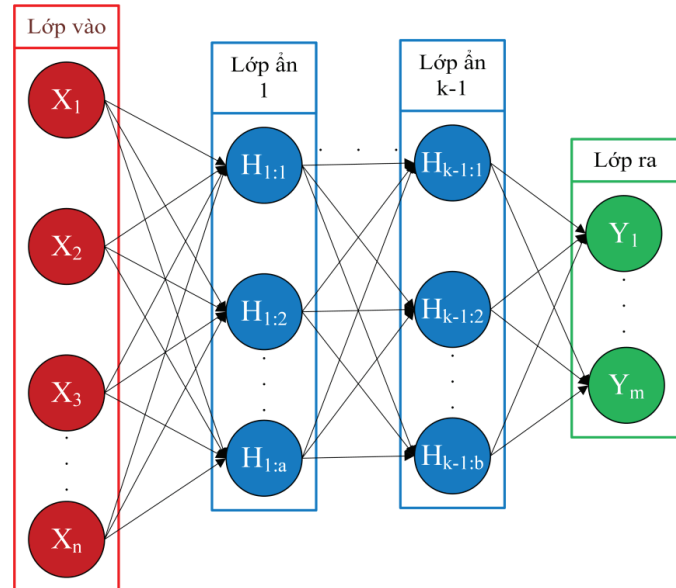
Sự hư hỏng của kết cấu được thể hiện bằng sự thay đổi của đáp ứng trở kháng. Sự thay đổi này được định lượng thông qua các chỉ số đánh giá. Trong nghiên cứu này, một phương pháp bao gồm hai bước để chẩn đoán sự xuất hiện và mức độ của tổn hao ứng suất trước được phát triển. Trong bước một, chỉ số MAPD (Mean Absolute Percentage Deviation) [13] được sử dụng để đánh giá sự thay đổi giữa hai trạng thái trước và sau khi xuất hiện tổn hao ứng suất trước:

$$MAPD = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left| \frac{Z^*(\omega_i) - Z(\omega_i)}{Z(\omega_i)} \right| \quad (2)$$

trong đó: $Z(\omega_i)$ và $Z^*(\omega_i)$ là đáp ứng trở kháng của hai trạng thái được khảo sát, trước và sau khi xuất hiện tổn hao ứng suất trước, tương ứng với tần số thứ i ; n là số điểm tần số trong miền khảo sát. Nếu giá trị MAPD lớn hơn 0 thì kết cấu có xuất hiện tổn hao và ngược lại nếu giá trị bằng 0 thì kết cấu không xuất hiện tổn hao.

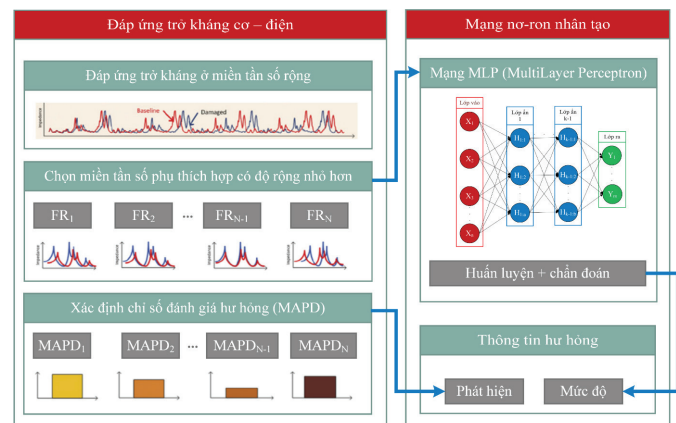
Từ kết quả của bước 1, sự xuất hiện của tổn hao ứng suất trước được xác định. Trong bước hai, mạng ANNs MLP (MultiLayer Perceptron) được triển khai để chẩn đoán mức độ của tổn hao ứng suất trước. Khi có tổn hao ứng suất trước xảy ra, đáp ứng trở kháng sẽ thay đổi không theo quy luật tuyến tính. Mục đích của mạng ANNs là tìm ra hàm phi tuyến có thể xấp xỉ quy luật thay đổi của đáp ứng trở kháng thông qua quá trình huấn luyện và điều chỉnh các trọng số liên kết. Một mạng MLP tổng quát (hình 2) là mạng có k lớp (không tính lớp vào), trong đó có $k-1$ lớp ẩn và một lớp ra (lớp thứ k). Mỗi nơ-ron liên kết với tất cả các nơ-ron ở lớp trước đó với các trọng số (W) riêng. Đầu ra của nơ-ron ở lớp trước là đầu vào của nơ-ron thuộc lớp liền sau đó [9]. Nguyên lý hoạt động của mạng ANNs MLP như sau: các nơ-ron ở lớp ẩn thứ nhất sẽ nhận dữ liệu từ lớp vào và xử lý bằng cách tính tổng trọng số, gửi tới hàm truyền rồi xuất kết quả ra (là kết quả của hàm truyền); kết quả này sẽ được truyền tới các nơ-ron thuộc lớp ẩn thứ hai (nếu có); các nơ-ron tại đây tiếp nhận như là dữ liệu đầu vào, xử lý và gửi kết quả đến lớp ẩn kế tiếp; quá trình tiếp tục cho đến khi các nơ-ron thuộc lớp ra cho kết quả. Quá trình học của ANNs MLP thực ra là quá trình điều chỉnh các trọng số của các dữ liệu đầu vào để có được kết quả đầu ra mong muốn. Về bản chất, nhiệm vụ của một nơ-ron trong mạng có thể hiểu là có một tập các giá trị đầu vào X sẽ ánh xạ ra một tập các giá trị Y thông qua hàm truyền f như sau:

$$Y = f\left(\sum_{i=1}^n W_i X_i + W_0\right) \quad (3)$$



Hình 2. Mô hình mạng ANNs MLP.

Hình 3 thể hiện sơ đồ chẩn đoán tổn hao ứng suất trước sử dụng kết hợp đáp ứng trở kháng cơ - điện và mạng nơ-ron nhân tạo. Đầu tiên, theo dõi đáp ứng trở kháng trong miền tần số rộng, thông thường là 10~100 kHz. Tiếp theo, chọn miền tần số phụ thích hợp có độ rộng nhỏ hơn trong miền tần số rộng đã khảo sát; miền tần số phụ thích hợp là miền tần số có độ nhạy cao với tổn hao. Sau đó, chỉ số đánh giá MAPD được xác định trong miền tần số phụ để có thể phát hiện được sự xuất hiện của tổn hao. Cuối cùng, đáp ứng trở kháng trong miền tần số phụ của các trường hợp đã phát hiện tổn hao được dùng làm tập dữ liệu đầu vào cho việc chẩn đoán mức độ tổn hao trong mạng ANNs MLP.

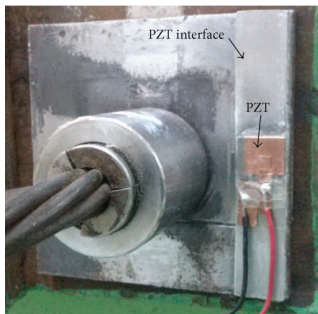


Hình 3. Sơ đồ chẩn đoán hư hỏng sử dụng kết hợp đáp ứng trở kháng cơ - điện và mạng nơ-ron nhân tạo.

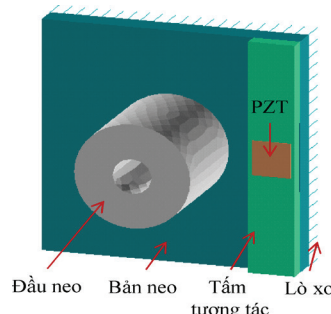
Bài toán phân tích

Thiết lập bài toán

Một vùng neo cáp của dầm bê tông cốt thép ứng suất trước được chọn để mô phỏng trong nghiên cứu này. Chi tiết thực tế của vùng neo cáp được thể hiện trên hình 4 [7]. Trong đó, tấm tương tác bằng nhôm có kích thước $100 \times 18 \times 6$ mm, bị khuyết lỗ $30 \times 18 \times 1$ mm được đặt lên bản neo bằng thép có kích thước $100 \times 100 \times 10$ mm. Đầu neo bằng thép có đường kính ngoài $D=45$ mm, đường kính trong $d=15,2$ mm. Cảm biến PZT-5A có kích thước $15 \times 15 \times 0,51$ mm được dán lên trên tấm tương tác. Điện áp được kích thích điều hòa với hiệu điện thế 1 V. Đặc trưng của các vật liệu sử dụng trong mô phỏng được lấy theo tài liệu [14]. Các trường hợp tổn hao ứng suất trước khảo sát được liệt kê ở bảng 1. Trong đó, 4 trường hợp huấn luyện được lấy theo tài liệu [14]; và 4 trường hợp cần chẩn đoán được đặt ra trong nghiên cứu này.



Hình 4. Mô hình thực nghiệm vùng neo cáp [7].



Hình 5. Mô hình phần tử hữu hạn vùng neo cáp.

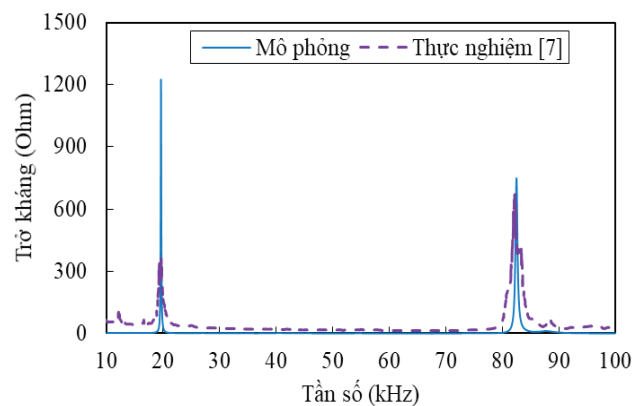
Bảng 1. Các trường hợp tổn hao ứng suất trước để huấn luyện và chẩn đoán.

Tập dữ liệu	Trường hợp tổn hao	Mức độ tổn hao (%)	Lực ứng suất trước (kN)	Độ cứng lò xo (N/m)
Huấn luyện	T0	0	49,05	120×10^6
Huấn luyện	T1	20	39,20	105×10^6
Huấn luyện	T2	40	29,40	90×10^6
Huấn luyện	T3	60	19,60	75×10^6
Chẩn đoán	T1'	5	46,60	$116,3 \times 10^6$
Chẩn đoán	T2'	30	34,34	$97,5 \times 10^6$
Chẩn đoán	T3'	55	22,07	$78,8 \times 10^6$
Chẩn đoán	T4'	70	14,72	$67,5 \times 10^6$

Theo cơ chế tiếp xúc, sự tương tác tại vị trí tiếp xúc có thể được đơn giản hóa bằng hệ số cản và độ cứng của lò xo. Mặt khác, sự biến đổi của hệ số cản và độ cứng lò xo có liên quan đến sự thay đổi của áp lực tiếp xúc [15]. Theo nghiên cứu [14], lực ứng suất trước được mô hình hóa thông qua độ cứng lò xo. Khi kết cấu bị hư hỏng, lực ứng suất trước giảm, đồng nghĩa với việc độ cứng lò xo bị giảm đi tương ứng. Vì vậy, đáp ứng trở kháng của kết cấu sẽ thay đổi theo độ cứng lò xo tại vị trí tiếp xúc. Trong mô hình, độ cứng lò xo tại vị trí tiếp xúc của vùng neo là một thông số chưa biết và không chắc

chắn. Trong nghiên cứu này, giá trị độ cứng lò xo được xác định bằng cách sử dụng phương pháp thử dần (trial and error), so sánh với đáp ứng trở kháng từ thực nghiệm cho trường hợp không tổn hao (T0) và tổn hao (T3). Từ đó, phương pháp nội suy và ngoại suy tuyến tính được sử dụng để xác định giá trị độ cứng lò xo cho các trường hợp còn lại [16].

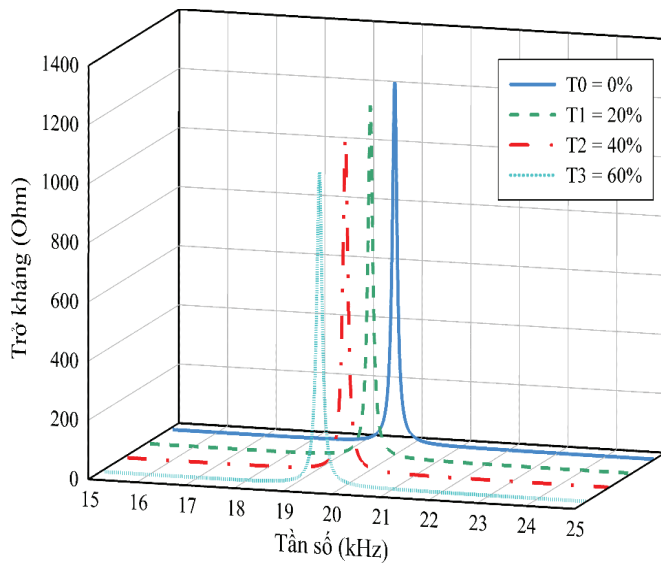
Trong nghiên cứu này, phần mềm ANSYS APDL có tính năng mô phỏng trở kháng cơ - điện, được sử dụng để thiết lập mô hình phần tử hữu hạn (PTHH) cho vùng neo cáp. Hình 5 thể hiện mô hình PTHH của vùng neo cáp trong ANSYS. Bản neo, đầu neo và tấm tương tác được mô hình hóa bằng phần tử khối đặc có 8 nút SOLID45. Cảm biến PZT được mô hình hóa bằng phần tử cơ - điện có 8 nút SOLID5. Hệ lò xo được mô hình hóa bằng phần tử đàn hồi COMBIN14. Đáp ứng trở kháng từ mô phỏng được so sánh với kết quả thực nghiệm tương ứng trong [7] để minh chứng tính chính xác và tính khả thi của mô phỏng số. Hình 6 thể hiện kết quả so sánh đỉnh trở kháng giữa mô phỏng và thực nghiệm cho trường hợp T0. Kết quả so sánh cho 4 trường hợp huấn luyện được tổng hợp trong bảng 2. Kết quả này cho thấy sự chênh lệch nhỏ hơn 1%. Điều đó chứng tỏ, mô hình PTHH của vùng neo cáp có độ tin cậy rất cao và có thể được sử dụng để đại diện cho vùng neo cáp thực tế trong vấn đề chẩn đoán tổn hao ứng suất trước. Hình 7 và hình 8 cho thấy rằng đáp ứng trở kháng trong miền tần số 15~25 kHz nhạy hơn so với trong miền tần số 77~87 kHz khi có tổn hao xảy ra nên sẽ ưu tiên sử dụng miền tần số 15~25 kHz để chẩn đoán tổn hao.



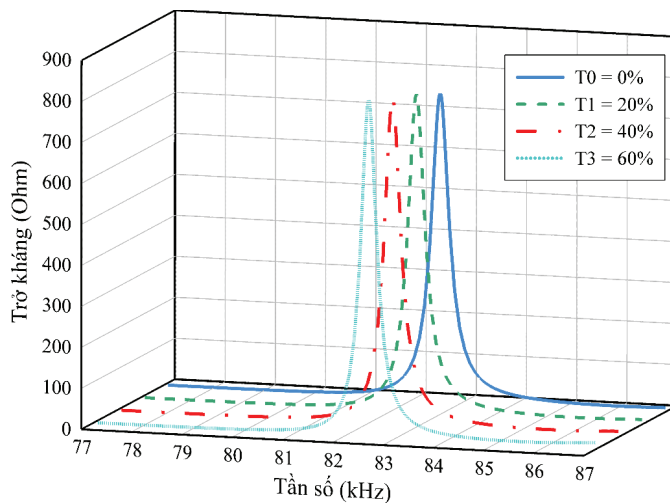
Hình 6. Đáp ứng trở kháng của trường hợp T0.

Bảng 2. So sánh đỉnh trở kháng giữa mô phỏng và thực nghiệm.

Trường hợp tổn hao	Mức độ tổn hao (%)	Mô phỏng f_1 (kHz)	Thực nghiệm f_1 (kHz)	Δf_1 (%)	Mô phỏng f_2 (kHz)	Thực nghiệm f_2 (kHz)	Δf_2 (%)
T0	0	19,67	19,63	0,20	82,51	82,23	0,34
T1	20	19,63	19,63	0,00	82,50	82,15	0,43
T2	40	19,58	19,57	0,05	82,49	82,03	0,56
T3	60	19,52	19,53	0,05	82,48	-	-



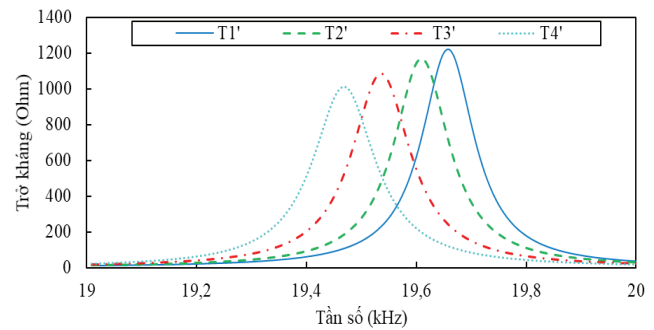
Hình 7. Đáp ứng trở kháng mô phỏng 15~25 kHz.



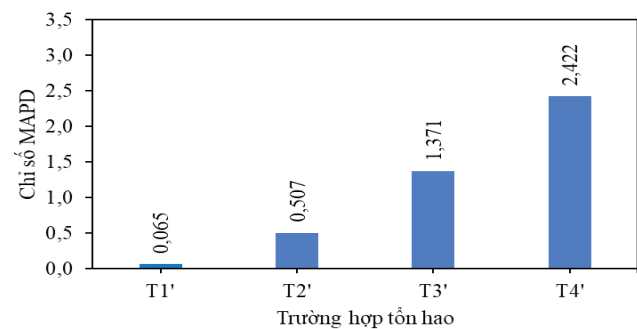
Hình 8. Đáp ứng trở kháng mô phỏng 77~87 kHz.

Chẩn đoán tổn hao ứng suất trước

Miền tần số 19~20 kHz được chọn để khảo sát cho vấn đề tổn hao ứng suất trước. Cần lưu ý đây là bài toán chẩn đoán ngược, các trường hợp giả định tổn hao $T1'$, $T2'$, $T3'$, $T4'$ là chưa biết được mức độ tổn hao bao nhiêu, cần được chẩn đoán; còn các trường hợp $T0$, $T1$, $T2$, $T3$ là đã biết được mức độ tổn hao, được dùng để huấn luyện. Hình 9 thể hiện đáp ứng trở kháng của 4 trường hợp cần chẩn đoán. Các trường hợp này được chẩn đoán thành công có xuất hiện tổn hao thông qua chỉ số MAPD (hình 10). Chỉ số MAPD càng cao khi mức độ tổn hao càng lớn. Tuy nhiên, chỉ số này không thể cho biết mức độ của tổn hao cụ thể như thế nào. Do vậy, mạng nơ-ron nhân tạo được sử dụng để chẩn đoán mức độ của tổn hao.

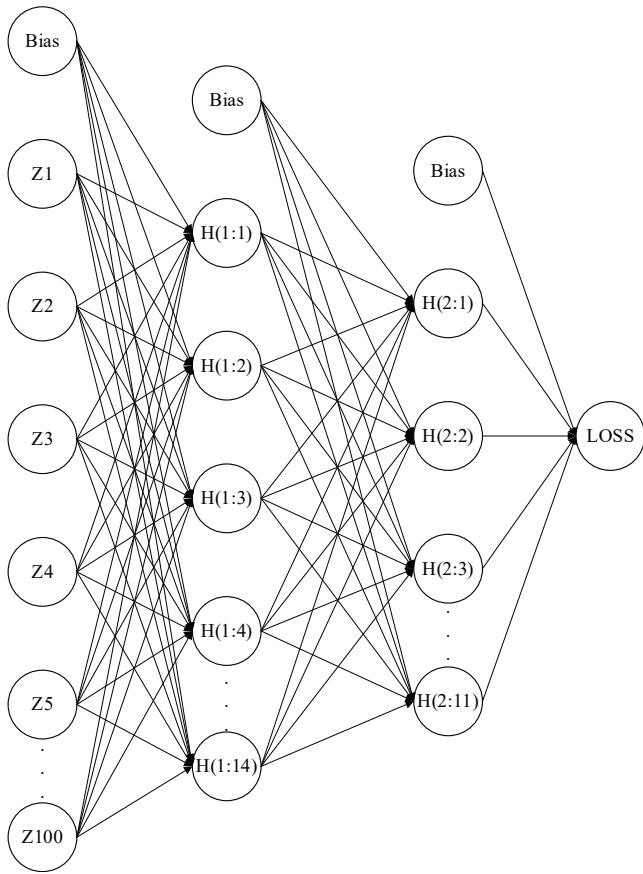


Hình 9. Đáp ứng trở kháng của các trường hợp cần chẩn đoán.

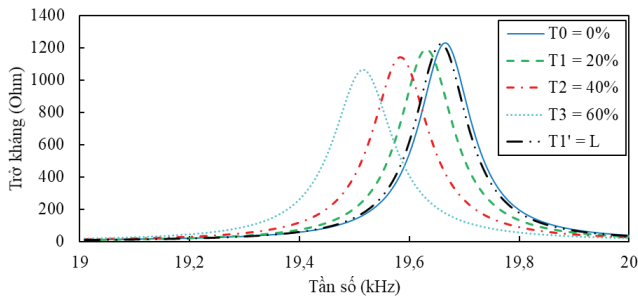


Hình 10. Chỉ số MAPD của các trường hợp cần chẩn đoán.

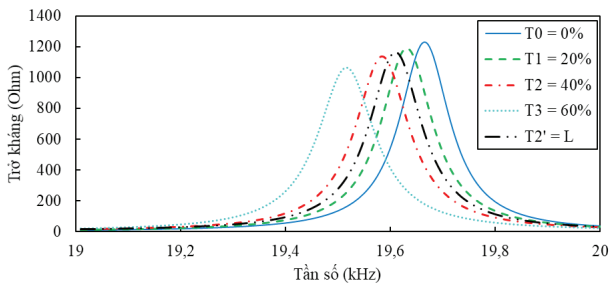
Mạng ANNs được xây dựng trong miền tần số 19~20 kHz, với độ rộng 1 kHz (1000 Hz) và bước tần số 10 Hz, do đó sẽ có $1000/10=100$ biến đầu vào để chẩn đoán tổn hao. Trong nghiên cứu này, mạng ANNs là mạng truyền thẳng có nhiều lớp (MLP), như hình 11, được xây dựng bằng công cụ Neural Networks trong phần mềm IBM SPSS [17]. Theo đó, sơ đồ mạng gồm 1 lớp vào, 2 lớp ẩn và 1 lớp ra xuất kết quả. Lớp vào có 100 nơ-ron tương ứng là đáp ứng trở kháng tại các vị trí tần số; số nơ-ron trong lớp ẩn được phần mềm kiến nghị để cho kết quả tối ưu nhất, lớp ẩn 1 có 14 nơ-ron và lớp ẩn 2 có 11 nơ-ron; lớp ra có 1 nơ-ron tương ứng là tổn hao cần chẩn đoán (LOSS). Các trọng số liên kết được lựa chọn tự động ngẫu nhiên và sẽ điều chỉnh thay đổi qua các lần huấn luyện. Tại mỗi lớp đều có thêm một biến ngưỡng (Bias); biến này được thêm vào để điều chỉnh giá trị kết quả của hàm truyền, làm tăng khả năng thích nghi của mạng trong quá trình huấn luyện. Hình 12 đến hình 15 thể hiện các đáp ứng trở kháng tương ứng với dữ liệu đầu vào của từng trường hợp cần chẩn đoán. Trong đó, đáp ứng trở kháng có giá trị tổn hao L là chưa biết. Mục tiêu của mạng ANNs MLP là tìm giá trị L này. Các kết quả sau khi chạy mạng ANNs MLP được trình bày trong hình 16 và bảng 3. Kết quả phân tích cho thấy mạng ANNs MLP chẩn đoán chính xác mức độ tổn hao ứng suất trước cho cả bốn trường hợp, sai số dao động từ 0~13%.



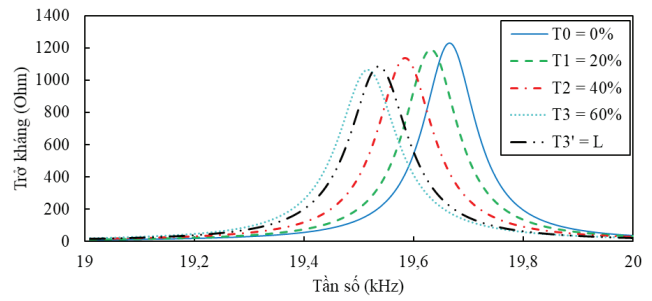
Hình 11. Sơ đồ mạng ANNs MLP.



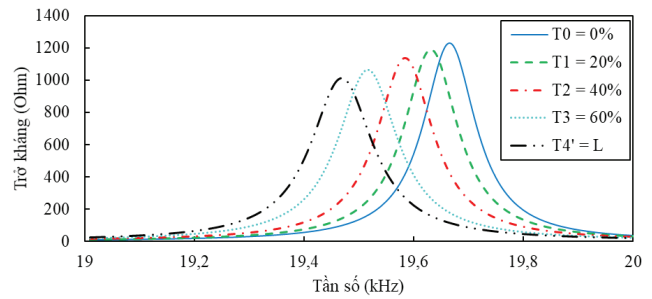
Hình 12. Đáp ứng trở kháng để chẩn đoán T1'.



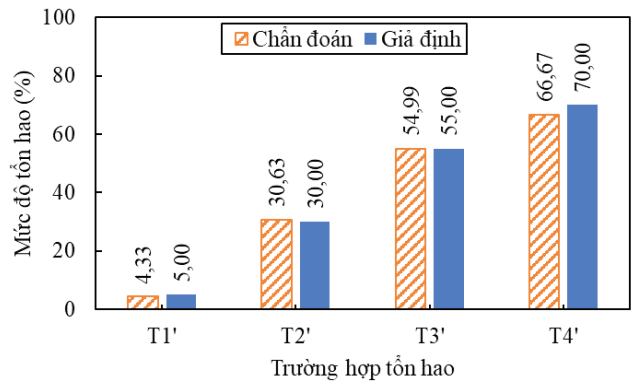
Hình 13. Đáp ứng trở kháng để chẩn đoán T2'.



Hình 14. Đáp ứng trở kháng để chẩn đoán T3'.



Hình 15. Đáp ứng trở kháng để chẩn đoán T4'.



Hình 16. Kết quả chẩn đoán mức độ tổn hao.

Bảng 3. Kết quả chẩn đoán mức độ tổn hao từ ANNs MLP.

Trường hợp tổn hao	Giả định (%)	Chẩn đoán (%)	Sai số (%)
T1'	5,00	4,33	13,40
T2'	30,00	30,63	2,10
T3'	55,00	54,99	0,02
T4'	70,00	66,67	4,76

Kết luận

Trong bài báo này, một phương pháp chẩn đoán sự xuất hiện và mức độ của tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp sử dụng đáp ứng trở kháng cơ - điện kết hợp với mạng nơ-ron nhân tạo đã được phát triển thành công. Các kết luận sau được rút ra từ các kết quả phân tích:

(1) Mô phỏng số đáp ứng trở kháng cơ - điện của một vùng neo cáp đã được mô phỏng thành công. Đáp ứng trở kháng từ mô hình PTHH rất phù hợp với kết quả thực nghiệm.

(2) Chỉ số MAPD đã phát hiện thành công sự xuất hiện của tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp. Chỉ số MAPD gia tăng khi mức độ tổn hao ứng suất trước gia tăng.

(3) Mạng nơ-ron nhân tạo ANNs MLP đã chẩn đoán chính xác mức độ tổn hao ứng suất trước, với độ chính xác đạt được từ 87 đến 100%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh trong khuôn khổ Đề tài mã số B2020-20-06. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.-C. Huynh, N.-L. Dang, J.-T. Kim (2017), "Advances and challenges in impedance-based structural health monitoring", *Structural Monitoring and Maintenance*, **4**(4), pp.301-329.
- [2] C. Liang, F.P. Sun, and C.A. Rogers (1994), "Coupled electro-mechanical analysis of adaptive material systems - determination of the actuator power consumption and system energy transfer", *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, **5**(1), pp.12-20.
- [3] F.P. Sun, Z. Chaudhry, C. Liang, and C.A. Rogers (1995), "Truss structure integrity identification using PZT sensor-actuator", *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, **6**(1), pp.134-139.
- [4] V. Giurgiutiu and A. Zagari (2005), "Damage detection in thin plates and aerospace structures with the electro-mechanical impedance method", *Structural Health Monitoring*, **4**(2), pp.99-118.
- [5] S. Park, C.-B. Yun, Y. Roh, and J.-J. Lee (2005), "Health monitoring of steel structures using impedance of thickness modes at PZT patches", *Smart Structures and Systems*, **1**(4), pp.339-353.
- [6] S. Park, S. Ahmad, C.B. Yun, and Y. Roh (2006), "Multiple crack detection of concrete structures using impedance-based structural health monitoring techniques", *Experimental Mechanics*, **46**(5), pp.609-618.
- [7] T.-C. Huynh and J.-T. Kim (2014), "Impedance-based cable force monitoring in tendon-anchorage using portable PZT-interface technique", *Mathematical Problems in Engineering*, pp.1-11.
- [8] W. Li, S. Fan, S.C.M. Ho, J. Wu, and G. Song (2018), "Interfacial debonding detection in fiber-reinforced polymer rebar-reinforced concrete using electro-mechanical impedance technique", *Structural Health Monitoring*, **17**(3), pp.461-471.
- [9] C.C. Aggrawal (2018), *Neural Networks and Deep Learning: a textbook*, Springer International Publishing.
- [10] Nguyễn Hữu Hưng (2018), "Nghiên cứu sử dụng mạng nơ-ron nhân tạo phát hiện hư hỏng trong dầm giản đơn thông qua biến dạng của dầm", *Tạp chí Cầu đường Việt Nam*, **2018**(1+2), tr.39-43.
- [11] Lý Hải Bằng, và Nguyễn Thùy Anh (2020), "Nghiên cứu ứng dụng mô hình mạng nơ-ron nhân tạo để dự đoán sức chịu tải tới hạn của cầu kiện thép chữ Y", *Tạp chí Giao thông vận tải*, **2020**(3), tr.45-49.
- [12] S. Bhalla and C. Kiong Soh (2003), "Structural impedance based damage diagnosis by piezo-transducers", *Earthquake Engineering & Structural Dynamics*, **32**(12), pp.1897-1916.
- [13] A.N. Zagari and V. Giurgiutiu (2001), "Electro-mechanical impedance method for crack detection in thin plates", *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, **12**(10), pp.709-718.
- [14] T.-C. Huynh, Y.-H. Park, J.-H. Park, and J.-T. Kim (2015), "Feasibility verification of mountable PZT-interface for impedance monitoring in tendon-anchorage", *Shock and Vibration*, **2015**, Article ID 262975.
- [15] K.L. Johnson (1987), *Contact mechanics*, Cambridge University Press.
- [16] S. Ritdumrongkul, M. Abe, Y. Fujino, and T. Miyashita (2003), "Quantitative health monitoring of bolted joints using a piezoceramic actuator-sensor", *Smart Materials and Structures*, **13**(1), p.20.
- [17] IBM SPSS (2017), *IBM SPSS Neural Networks 25*, IBM Corporation.

Nghiên cứu khả năng kháng uốn của bê tông siêu tính năng gia cố cốt sợi thép dưới tác dụng của tải trọng động

Ngô Trí Thường*, Hoàng Văn Hải

Trường Đại học Thủy lợi

Ngày nhận bài 5/11/2020; ngày chuyển phản biện 12/11/2020; ngày nhận phản biện 14/1/2021; ngày chấp nhận đăng 29/1/2021

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, khả năng kháng uốn của vật liệu bê tông siêu tính năng gia cố cốt sợi thép (ultra-high-performance fiber-reinforced concrete - UHPFRC) với các hàm lượng cốt sợi thép khác nhau, dưới tác dụng của tải trọng tĩnh và tải trọng động đã được khảo sát, nghiên cứu. 36 mẫu UHPFRC kích thước $0,5 \times 0,5 \times 210$ (mm), gia cố bởi 0,5 và 1,5% thể tích (vol.%) cốt sợi thép trơn ($d=0,2$ mm, $l=19$ mm) được chế tạo và thí nghiệm uốn ba điểm, dưới tác dụng của tải trọng tĩnh (tốc độ biến dạng $0,000167 \text{ s}^{-1}$) và tải trọng tốc độ cao (tốc độ biến dạng đến 210 s^{-1}). Kết quả thí nghiệm cho thấy, cường độ uốn của vật liệu UHPFRC tăng lên đáng kể khi hàm lượng cốt sợi tăng lên. Đồng thời, khi tốc độ gia tải tăng, khả năng kháng uốn của vật liệu cũng tăng lên. Cường độ kéo uốn của vật liệu UHPFRC gia cố bởi 0,5 và 1,5 vol.% cốt sợi là 17,7 và 30,0 MPa dưới tác dụng của tải trọng tĩnh, tăng lên đến 23,6 và 51,92 MPa ở tốc độ gia tải trung bình 110 s^{-1} và tăng lên đến 28,86 và 61,04 MPa ở tốc độ gia tải trung bình là 210 s^{-1} .

Từ khóa: bê tông siêu tính năng, cốt sợi thép, cường độ kéo uốn, tải trọng động.

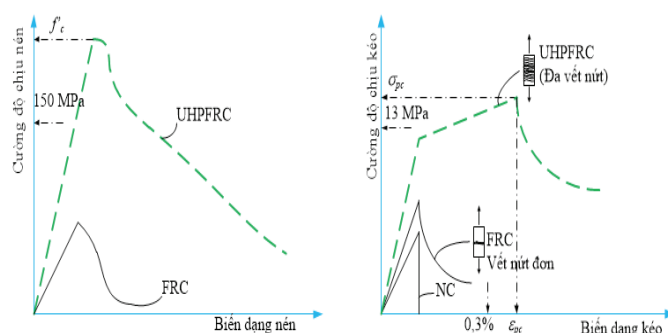
Chỉ số phân loại: 2.1

Đặt vấn đề

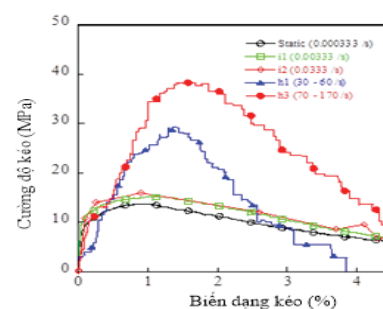
Bê tông siêu tính năng gia cố cốt sợi thép (ultra-high-performance fiber-reinforced concrete - UHPFRC) đã và đang được biết đến như một loại bê tông đặc biệt so với bê tông cốt sợi thông thường (fiber-reinforced concrete - FRC) hay bê tông thông thường (normal concrete - NC): cường độ chịu nén rất cao ($>150 \text{ MPa}$), cường độ chịu kéo tốt khi được gia cố một hàm lượng cốt sợi thép vừa phải ($>10 \text{ MPa}$), khả năng hấp thụ năng lượng tốt khi bị phá hủy ($>30 \text{ kJ}$) [1-9], như thể hiện trong hình 1A. Hơn nữa, nhiều nghiên cứu cho thấy loại bê tông này còn có khả năng tiếp

tục tăng cường độ sau khi vết nứt đầu tiên xuất hiện (strain-hardening response) và khả năng tăng sức kháng khi tốc độ gia tải tăng (strain-rate dependent), như thể hiện trong hình 1B [4, 10].

Nhờ những đặc tính trên, loại bê tông này được kỳ vọng khi áp dụng vào thực tiễn sẽ giúp giảm kích thước hình học, tăng khả năng chịu lực cho các công trình xây dựng như cầu đường, các công trình hạ tầng kỹ thuật, các công trình quân sự như tường bê tông chịu các tác dụng của tải trọng cực đoan (va đập, nổ) hoặc tường, bia chịu đạn bắn. Tuy nhiên, việc áp dụng loại vật liệu này vào các công trình thực tế còn



(A) Ứng xử kéo - nén của UHPFRC so với FRC và NC



(B) Ứng xử kéo của UHPFRC dưới các tốc độ tải khác nhau

Hình 1. Tính chất kéo, nén của vật liệu UHPFRC [10].

* Tác giả liên hệ: Email: trithuong@tlu.edu.vn

Flexural behaviour of ultra-high-performance fiber-reinforced concrete at high strain rates

Tri Thuong Ngo*, Van Hai Hoang

Thuyloi University

Received 5 November 2020; accepted 29 January 2021

Abstract:

In this study, the flexural resistance of ultra-high-performance fiber-reinforced concrete (UHPFRCs) containing different fiber volume content, under static and dynamic flexural loading was investigated. Thirty-six specimens of UHPFRCs, size 0.5x0.5x210 (mm), reinforced with 0.5%, and 1.5% volume of smooth steel fiber ($d=0.2$ mm, $l=19$ mm) were cast and tested by three-point bending test, under the static load (strain rate $1.67 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$) and high acceleration load (strain rate up to 210 s^{-1}). Experimental results show that the flexural strength of UHPFRCs increases significantly when the fiber reinforcement content increases. In addition, as the loading speed increases, the flexural resistance of the material also increases. The flexural strength of UHPFRC material reinforced with 0.5 and 1.5% of fiber volume content was 17.7 and 30.0 MPa at static loads, increased to 23.6 and 51.92 MPa at a loading rates of 110 s^{-1} and 28.86 and 61.04 MPa at loading rate of 210 s^{-1} .

Keywords: bending behaviour, high strain rates, smooth steel fiber, ultra-high-performance fiber-reinforced concrete (UHPFRC).

Classification number: 2.1

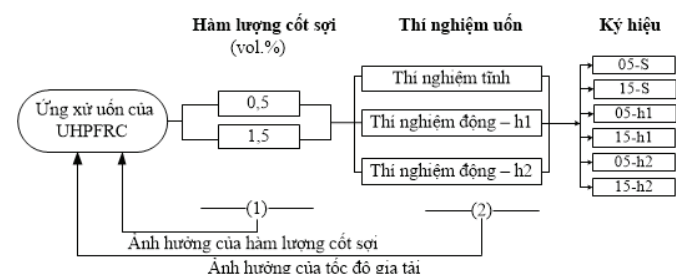
hiều hạn chế, do giá thành sản xuất còn cao, quy trình trộn và bảo dưỡng khắt khe, đặc biệt là các tính chất cơ học của nó khá phức tạp (phụ thuộc nhiều vào loại, hàm lượng cốt sợi, phụ thuộc vào tải trọng tác động - kéo, nén, uốn hoặc cắt), chưa có quy trình thí nghiệm, kiểm tra và đánh giá chất lượng. Đặc biệt, dưới tác dụng của tải trọng có tốc độ gia tải cao, cấu kiện thường bị phá hủy bởi trạng thái phá hủy tổng hợp bao gồm cắt, uốn và phá hủy cục bộ.

Một số tác giả đã tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng cốt sợi và tốc độ gia tải đến khả năng kháng uốn của UHPFRC [11-16]. Các nghiên cứu cho thấy, khả năng kháng uốn của bê tông siêu cường độ (ultra-high-performance matrix - UHPC) tăng đáng kể khi được gia cố

bởi cốt sợi thép và trong giới hạn hàm lượng nghiên cứu, khả năng kháng uốn tăng khi hàm lượng cốt sợi tăng lên. Tuy nhiên, rất ít các nghiên cứu về ứng xử uốn của vật liệu UHPFRC dưới tác dụng của tải trọng động [17-20] và các nghiên cứu này chỉ dừng lại ở tốc độ gia tải vừa phải. Meng và cộng sự [17] nghiên cứu khả năng kháng uốn của UHPFRC dưới tác dụng của các tốc độ gia tải khác nhau (0,05, 0,50, 1,25, 2,50 và 5,00 mm/phút) cho thấy cường độ uốn tăng khi tốc độ gia tải tăng lên. Habel và Gauvreau [19] nghiên cứu khả năng kháng uốn của UHPFRC ở tốc độ cao cho thấy cường độ uốn của UHPFRC ở tốc độ biến dạng 2 s^{-1} cao hơn 25% so với trường hợp tĩnh tải. Parant và cộng sự [20] báo cáo rằng, cường độ kháng uốn của UHPFRC tăng bốn lần ở tốc độ gia tải là 500 GPa/s.

Trong nghiên cứu này, các tác giả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng cốt sợi và tốc độ gia tải cao (va đập) đến khả năng chịu uốn của vật liệu UHPFRC, một trong những đặc tính quan trọng, phổ biến khi kết cấu chịu tác dụng của lực kéo uốn như dầm cầu, nhà hay các công trình quân sự chống sự phá hoại của vật liệu nổ, đạn bắn. Mục tiêu cụ thể là: 1) Nghiên cứu sự ảnh hưởng của hàm lượng cốt sợi đến khả năng kháng uốn của vật liệu UHPFRC; 2) Nghiên cứu sự ảnh hưởng của tốc độ gia tải đến khả năng kháng uốn của vật liệu UHPFRC. Thí nghiệm kháng uốn được thực hiện bằng thí nghiệm uốn ba điểm dưới tải trọng tĩnh của máy thí nghiệm đa năng (universal test machine - UTM) và tải trọng động bằng hệ thống thiết bị thí nghiệm khung năng lượng (strain energy frame impact machine - SEFIM).

Chương trình thí nghiệm



Hình 2. Chương trình thí nghiệm.

Một chương trình thí nghiệm được thiết kế để khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng cốt sợi và tốc độ gia tải đến khả năng kháng uốn của vật liệu UHPFRC (hình 2) gồm sáu loạt mẫu (kích thước 50x50x210 (mm)), được đúc và thử nghiệm. Ký hiệu của từng loạt mẫu được đặt theo hàm lượng cốt sợi (05, 15 tương ứng với hàm lượng cốt sợi là 0,5 và 1,5 vol.%); tốc độ gia tải ("S" tương ứng với tải trọng tĩnh, "h1" và "h2" tương ứng với tốc độ gia tải cao mức 1 và mức 2).

Vật liệu và mẫu thí nghiệm

Thành phần cấp phối của UHPC được thể hiện trong bảng 1 và đặc tính của cốt sợi thép được thể hiện trong bảng

2. Cường độ chịu nén trung bình của mẫu nén lập phương (50x50x50 mm) là 184 MPa theo kết quả thí nghiệm của Ngo và cộng sự [21]. Cốt sợi gia cố là loại cốt sợi thép trơn, đường kính $d=0,2$ mm, chiều dài $l=19$ mm, hàm lượng cốt sợi là 0,5 và 1,5 vol.%.

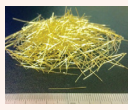
Quá trình trộn và chuẩn bị mẫu có thể tham khảo trong các tài liệu của [5, 22]. Máy trộn công suất 20 l có thể điều chỉnh tốc độ quay được dùng để trộn hỗn hợp UHPC. Đầu tiên, muối silic (silica fume) và cát quartz (silica sand) được trộn khô với nhau trong khoảng 5 phút. Sau đó, xi măng loại I (cement - type I) và bột khoáng (silica powder) được cho vào trộn tiếp trong khoảng 5 phút (với tốc độ quay của máy trộn khác nhau). Khi hỗn hợp khô đã đồng đều, nước và phụ gia siêu dẻo (superplasticizer) được cho vào từ từ và trộn tiếp cho đến khi hỗn hợp đạt được độ dẻo cần thiết. Độ dẻo của hỗn hợp được kiểm tra bằng thí nghiệm độ chảy theo tiêu chuẩn ASTM C1437 [23]. Cuối cùng, cốt sợi thép được rải đều vào hỗn hợp bằng tay và tiếp tục trộn thêm khoảng 2 phút. Hỗn hợp được cho vào khuôn chuẩn bị sẵn mà không cần phải đầm lèn. Mẫu và khuôn được để trong phòng thí nghiệm khoảng 48 h trước khi tháo khuôn và bảo dưỡng trong tể nước nóng $90\pm 2^\circ\text{C}$ trong vòng 72 h để đạt 100% cường độ.

Bảng 1. Thành phần cấp phối UHPC theo tỷ lệ khối lượng.

Xi măng (loại I)	Muối silic	Cát quartz	Bột khoáng	Phụ gia siêu dẻo	Nước
1,00	0,25	1,10	0,30	0,067	0,2

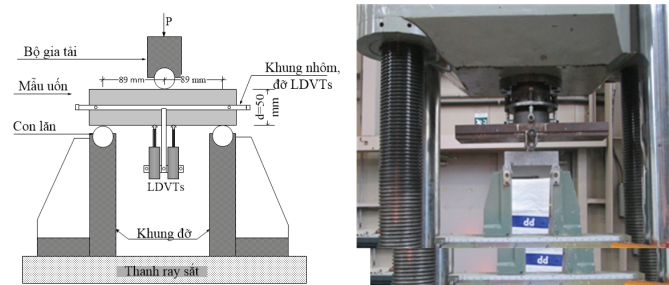


Bảng 2. Tính chất của cốt sợi thép.

Loại cốt sợi	Đường kính, d_r (mm)	Chiều dài, l_r (mm)	Mật độ, ρ (g/cc)	Cường độ kéo, σ_u (MPa)	Mô đun đàn hồi, E (GPa)	Hình ảnh cốt sợi
Cốt sợi trơn	0,2	19	7,90	2580	200	

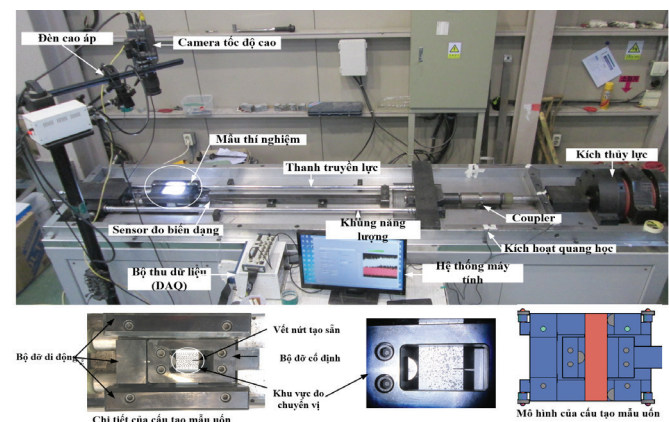
Thí nghiệm

Thí nghiệm uốn ba điểm được vận hành bằng máy nén đa năng (universal test machine - UTM) với chế độ kiểm soát chuyển vị (hình 3). Tải trọng tác dụng được đo bằng cảm biến lực cài đặt trong UTM, trong khi dịch chuyển thẳng đứng (δ) của mẫu được đo bằng hai biến áp vi sai tuyến tính (linear variable differential transformer - LDVT) được gắn vào đáy mẫu bằng khung nhôm. Tốc độ ghi dữ liệu của máy là 1 Hz.



Hình 3. Thí nghiệm uốn ba điểm dưới tải trọng tĩnh.

Hệ thống thí nghiệm động bằng khung năng lượng (improved - strain elastic frame impact machine - I-SEFIM) được đề xuất bởi Tran và cộng sự [24], nâng cấp bởi Park và cộng sự [4] tại Đại học Sejong (Hàn Quốc), đã và đang được dùng hữu hiệu để thí nghiệm kéo mẫu UHPFRC dưới tác dụng của tải trọng động. Trong nghiên cứu này, một bộ thí nghiệm uốn ba điểm được chế tạo để cài vào máy I-SEFIM phục vụ thí nghiệm uốn ở tốc độ gia tải siêu cao, như thể hiện trong hình 4. Kích thước mẫu, điều kiện biên của thí nghiệm động được chế tạo, cài đặt giống với thí nghiệm uốn ba điểm ở tải trọng tĩnh để loại trừ ảnh hưởng của kích thước mẫu, điều kiện biên đến kết quả thí nghiệm.



Hình 4. Thí nghiệm uốn động (I-SEFIM).

Nguyên lý hoạt động cơ bản của I-SEFIM là tạo ra lực gia tải với tốc độ cao bằng khung năng lượng. Khi khung năng lượng làm bằng sắt hoặc hợp kim cường độ cao được kéo dẫn bởi hệ thống kích thủy lực, năng lượng đàn hồi sẽ được tạo ra và tích lũy trong khung. Khi lực kéo dẫn đạt đến một giá trị nhất định, vượt qua giới hạn chảy của hệ thống khớp nối (coupler) làm bằng kim loại và được tạo sẵn mặt cắt phá hoại, hệ thống coupler sẽ bị đứt, năng lượng đàn hồi trong khung kim loại sẽ được giải phóng đột ngột, dẫn tới cả hệ thống khung năng lượng sẽ được di chuyển với một tốc độ rất cao, kéo theo mẫu thí nghiệm bị phá hủy. Tốc độ gia tải có thể được điều chỉnh, kiểm soát bằng cách điều chỉnh vật liệu và đường kính thanh của khung năng lượng hoặc điều chỉnh giới hạn chảy của hệ thống coupler. Trong thí nghiệm này đã sử dụng 2 tổ hợp giữa khung năng lượng và bộ coupler: 1) Coupler loại 800 kN và khung năng lượng bằng thép cường độ cao; 2) Coupler loại

400 kN và khung năng lượng làm bằng titan. Vận tốc va chạm lý thuyết được ước tính là 13,8 và 13,1 m/s bằng cách sử dụng phương trình (1) tương ứng với các tổ hợp trên.

$$V = C \times \varepsilon_f \quad (1)$$

trong đó, C là tốc độ sóng của khung năng lượng ($C = \sqrt{E/\rho}$), E là mô đun đàn hồi của khung năng lượng, ρ là khối lượng riêng của vật liệu làm khung, và ε_f là biến dạng của khung tại thời điểm coupler bị phá hủy.

Lực kháng của mẫu được đo gián tiếp thông qua độ biến dạng đàn hồi của thanh truyền lực (transmitter bar) bằng 2 bộ đo biến dạng động (dynamic strain gauges) được gắn trên bề mặt. Trong khi đó, biến dạng của mẫu được đo thông qua chuyển động của các điểm được đánh dấu trên bề mặt mẫu bằng hệ thống camera tốc độ cao và bộ thu thập dữ liệu tần suất cao. Lực và chuyển vị của mẫu ở thí nghiệm động được tính toán bằng công thức (2) và (3) tương ứng. Chi tiết về nguyên lý và cách phân tích dữ liệu đo chuyển vị được diễn giải chi tiết trong Ngo và cộng sự [6]:

$$P = \varepsilon_{tr} \times A_{tr} \times E_{tr} \quad (2)$$

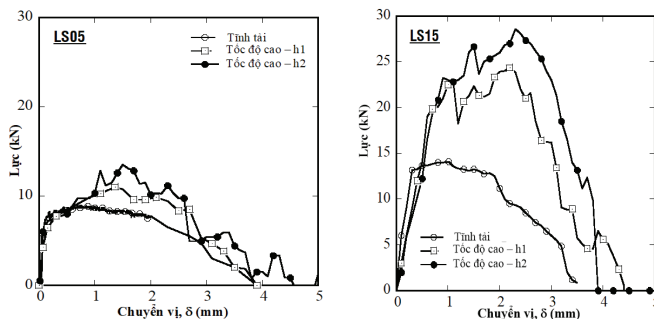
$$\delta = d_1 - d_2 \quad (3)$$

trong đó, ε_{tr} , A_{tr} và E_{tr} là biến dạng đàn hồi, diện tích mặt cắt ngang và mô đun đàn hồi của thanh truyền lực; d_1, d_2 là chuyển vị của điểm 1 và điểm 2 trên bề mặt bộ đỡ di động và bộ đỡ cố định (hình 4).

Kết quả thí nghiệm và nhận xét

Mối quan hệ giữa lực và chuyển vị của mẫu UHPFRC dưới tác dụng của các tốc độ gia tải khác nhau được thể hiện trong hình 5 và kết quả cụ thể của từng mẫu được liệt kê trong bảng 3.

Hình 5 cho thấy, lực và chuyển vị của mẫu UHPFRC tăng khi hàm lượng cốt sợi và tốc độ gia tải tăng lên. Như được liệt kê trong bảng 3, lực lớn nhất (P_{max}) của mẫu UHPFRC tăng từ 8,32 kN lên đến 14,05 kN khi hàm lượng cốt sợi tăng từ 0,5 đến 1,5 vol.%. Đồng thời, khi tốc độ gia tải tăng, P_{max} của UHPFRC gia cố bởi 0,5 vol.% tăng từ 8,32 kN ở tĩnh tải (tốc độ biến dạng $1,67 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$) lên 11,03 kN ở tốc độ biến dạng $108,10 \text{ s}^{-1}$ và 13,51 kN ở tốc độ biến dạng $214,05 \text{ s}^{-1}$. Tương tự, P_{max} của UHPFRC gia cố bởi 1,5 vol.% tăng từ 14,05 đến 24,31 và 28,58 kN.



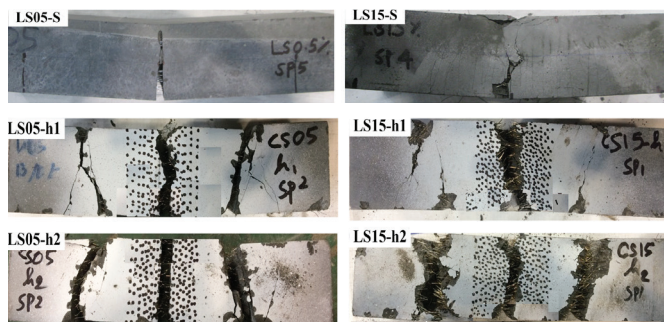
Hình 5. Đường cong lực - chuyển vị của UHPFRC dưới tốc độ gia tải khác nhau.

Bảng 3. Kết quả thí nghiệm uốn.

Đợt thí nghiệm	Số hiệu mẫu	Tốc độ biến dạng (s^{-1})	Lực lớn nhất, P_{max} (kN)	Chuyển vị, δ (mm)	Mô men uốn, R_f (MPa)
05-S	SP1	$1,67 \times 10^{-5}$	7,35	0,87	15,71
	SP2		8,92	0,81	19,05
	SP3		9,28	0,69	19,82
	SP4		7,75	0,71	16,55
	SP5		7,65	0,85	16,35
	SP6		8,97	0,68	19,16
	TB*	$1,67 \times 10^{-5}$	8,32	0,77	17,77
	SD**		0,8	0,1	4,9
05-h1	SP1	107,90	10,10	1,90	21,57
	SP2	110,45	10,33	1,15	22,06
	SP3	111,54	11,04	1,30	23,59
	SP4	101,25	11,77	1,30	25,14
	SP5	111,66	11,47	1,30	24,50
	SP6	105,78	11,47	1,30	24,50
	TB*	108,10	11,03	1,38	23,56
	SD**	4,6	0,7	0,3	1,4
05-h2	SP1	222,96	11,97	1,10	25,57
	SP2	209,93	14,12	1,50	30,16
	SP3	198,68	14,19	1,20	30,30
	SP4	232,61	14,36	1,50	30,67
	SP5	217,27	12,93	1,67	27,62
	SP6	202,87	13,50	1,77	28,83
	TB*	214,05	13,51	1,46	28,86
	SD**	14,8	0,9	0,3	2,0
15-S	SP1	$1,67 \times 10^{-5}$	13,24	0,88	28,28
	SP2		13,38	0,90	28,57
	SP3		14,27	1,04	30,49
	SP4		14,86	1,03	31,75
	SP5		14,61	1,25	31,20
	SP6		13,92	1,04	29,73
	TB*	$1,67 \times 10^{-5}$	14,05	1,02	30,00
	SD**		0,66	0,13	1,40
15-h1	SP1	119,13	24,78	2,25	52,92
	SP2	125,02	22,27	2,40	47,56
	SP3	101,98	26,62	2,04	56,86
	SP4	110,20	24,62	2,20	52,58
	SP5	105,82	23,27	2,00	49,71
	SP6	101,44	24,29	2,30	51,89
	TB*	110,60	24,31	2,20	51,92
	SD**	9,6	1,5	0,2	3,2
15-h2	SP1	214,44	29,73	2,03	63,51
	SP2	212,53	28,95	2,35	61,83
	SP3	207,86	27,41	2,34	58,54
	SP4	201,11	28,37	2,77	60,61
	SP5	209,14	28,29	1,98	60,43
	SP6	217,12	28,71	2,40	61,33
	TB*	210,37	28,58	2,31	61,04
	SD**	5,9	0,8	0,3	1,7

Ghi chú: TB*: giá trị trung bình; SD**: độ lệch chuẩn.

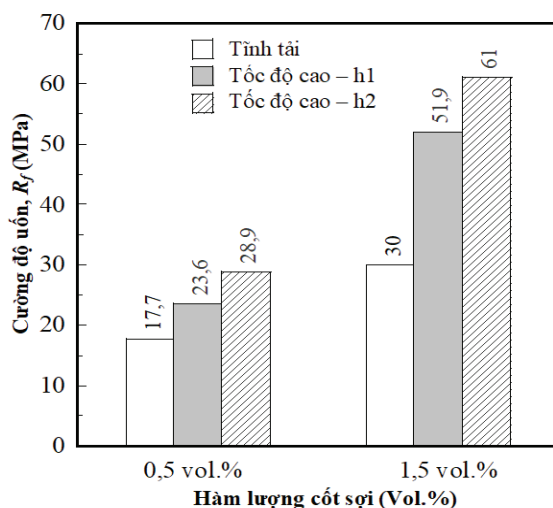
Hình 6 thể hiện vết nứt mẫu dưới tác dụng của thí nghiệm uốn. Từ hình 6 có thể thấy UHPFRC gia cố bởi 0,5 vol.% bị phá hủy với vết nứt đơn, trong khi UHPFRC gia cố bởi 1,5 vol.% xuất hiện thêm nhiều vết nứt nhỏ bên cạnh vết nứt phá hủy do uốn. Điều này cũng giải thích thêm rằng, hàm lượng cốt sợi tăng lên cũng dẫn tới cường độ uốn của vật liệu tăng, nhờ vào khả năng hạn chế vết nứt của cốt sợi. Mặt khác, dưới tác dụng của tốc độ gia tải cao, mẫu thí nghiệm bị phá hủy thành những phần riêng biệt. Trong đó, vết nứt giữa là phá hủy do lực uốn tác dụng, còn các vết nứt 2 bên là do sự phản hồi của bộ kẹp thí nghiệm gây ra bởi năng lượng dư của máy.



Hình 6. Ứng xử nứt của mẫu bê tông chịu uốn.

Hình 7 thể hiện mô men uốn (R_f) của các mẫu UHPFRC gia cố bởi hàm lượng cốt sợi khác nhau và các trường hợp tốc độ gia tải khác nhau. Trong đó, mô men uốn của mẫu được tính toán theo công thức (4). Trong công thức (4), P_{max} (kN) là lực tác dụng lớn nhất đo được từ máy thí nghiệm; L (mm): chiều dài nhịp, là khoảng cách giữa hai gối đỡ mẫu thí nghiệm; b và d (mm) lần lượt là bề rộng và chiều cao mẫu.

$$R_f = \frac{3xP_{max} \times L}{2xbxd^2} = \frac{3xP_{max} \times 1000 \times 178}{2 \times 50 \times 50^2} \quad (4)$$



Hình 7. Cường độ chịu uốn của mẫu dưới các tốc độ gia tải khác nhau.

Từ hình 7 có thể thấy, cường độ uốn của vật liệu (R_f) tăng khi hàm lượng cốt sợi gia cố tăng và tốc độ gia tải tăng lên. R_f của UHPFRC tăng từ 17,7 lên đến 30 MPa khi hàm lượng cốt sợi tăng từ 0,5 lên 1,5 vol.%. Việc cường độ uốn của mẫu UHPFRC tăng khi hàm lượng cốt sợi tăng được ghi nhận ở một số tác giả trước như [11-16] và được giải thích bởi khả năng hạn chế xuất hiện và phát triển vết nứt trong mẫu bê tông của các cốt sợi thép tăng lên. Từ hình 7 cũng cho thấy, cường độ uốn của vật liệu UHPFRC tăng lên khi tốc độ gia tải tăng cho cả trường hợp gia cố 0,5 và 1,5 vol.% cốt sợi thép. Sự gia tăng cường độ khi tốc độ gia tải tăng được giải thích như sau: cường độ chịu kéo uốn của bê tông gia cố cốt sợi chủ yếu được hình thành bởi lực dính kết giữa bề mặt cốt sợi và lớp vữa xung quanh (interfacial bond strength) do quá trình co ngót của bê tông khi đông cứng và ma sát giữa hai bề mặt tiếp xúc; khi vữa bê tông xung quanh cốt sợi chuyển động có gia tốc bởi gia tải tốc độ cao, lực quán tính xuất hiện ở các hạt vữa làm gia tăng lực dính kết giữa cốt sợi và vữa xung quanh nó. Lực dính kết giữa cốt sợi và vữa tăng góp phần làm tăng cường độ của vật liệu UHPFRC khi tốc độ gia tải tăng lên. Xu hướng tăng cường độ khi tốc độ gia tải tăng cũng đã được nghiên cứu và ghi nhận bởi một số tác giả ở tốc độ gia tải thấp như [18, 20].

Kết luận

Từ kết quả thí nghiệm cho thấy, ngoài cường độ chịu nén cao, bê tông siêu tính năng gia cố cốt sợi có cường độ chịu uốn cũng rất cao nhưng phụ thuộc nhiều vào hàm lượng cốt sợi được gia cố. Cường độ chịu uốn của UHPFRC đạt được trung bình 30,0 MPa khi gia cố bởi 1,5 vol.% cốt sợi thép trơn. Khi tốc độ gia tải tăng, cường độ chịu uốn của UHPFRC được tăng lên đến 61,04 MPa ở tốc độ biến dạng trung bình 210 s^{-1} . Những tính chất này hứa hẹn việc áp dụng vật liệu UHPFRC vào công trình thực tế, không chỉ làm tăng tính thẩm mỹ, cường độ, kích thước hình học công trình mà còn phù hợp cho các cấu kiện, công trình chịu tải trọng động như động đất, va chạm, phá nổ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số: 107.01-2019.03. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K. Wille, S. El-Tawil, A.E. Naaman (2014), "Properties of strain hardening ultra high performance fiber reinforced concrete (UHPFRC) under direct tensile loading", *Cem. Concr. Compos.*, **48**, pp.53-66.
- [2] N.T. Tran, T.K. Tran, and D.J. Kim (2015), "High rate response of ultra-high-performance fiber-reinforced concretes under direct tension", *Cem. Concr. Res.*, **69**, pp.72-87.
- [3] N.T. Tran, T.K. Tran, J.K. Jeon, J.K. Park, and D.J. Kim (2016), "Fracture energy of ultra-high-performance fiber-reinforced concrete at high strain rates", *Cem. Concr. Res.*, **79**, pp.169-184.
- [4] S.H. Park, D.J. Kim, and S.W. Kim (2016), "Investigating the

impact resistance of ultra-high-performance fiber-reinforced concrete using an improved strain energy impact test machine”, *Constr. Build. Mater.*, **125**, pp.145-159.

[5] T.T. Ngo, J.K. Park, S. Pyo, and D.J. Kim (2017), “Shear resistance of ultra-high-performance fiber-reinforced concrete”, *Constr. Build. Mater.*, **151**, pp.246-257.

[6] T.T. Ngo and D.J. Kim (2018), “Shear stress versus strain responses of ultra-high-performance fiber-reinforced concretes at high strain rates”, *Int. J. Impact Eng.*, **111**, pp.187-198.

[7] H. Wu, Q. Zhang, F. Huang, and Q. Jin (2005), “Experimental and numerical investigation on the dynamic tensile strength of concrete”, *Int. J. Impact Eng.*, **32**, pp.605-617.

[8] Z. Wu, C. Shi, W. He, and D. Wang (2017), “Static and dynamic compressive properties of ultra-high performance concrete (UHPC) with hybrid steel fiber reinforcements”, *Cem. Concr. Compos.*, **79**, pp.148-157.

[9] L. Mao, S. Barnett, D. Begg, G. Schleyer, and G. Wight (2014), “Numerical simulation of ultra high performance fibre reinforced concrete panel subjected to blast loading”, *Int. J. Impact Eng.*, **64**, pp.91-100.

[10] N.T. Tran (2016), *Direct Tensile Behavior of Ultra-High-Performance Fiber-Reinforced Concrete Subjected to Impact Loading*, Doctoral Thesis, Sejong Univ., 163pp.

[11] D.Y. Yoo, S.W. Kim, and J.J. Park (2017), “Comparative flexural behavior of ultra-high-performance concrete reinforced with hybrid straight steel fibers”, *Constr. Build. Mater.*, **132**, pp.219-229.

[12] D.J. Kim, A.E. Naaman, and S. El-Tawil (2009), “High performance fiber reinforced cement composites with innovative slip hardening twisted steel fibers”, *Int. J. Concr. Struct. Mater.*, **3**, pp.119-126.

[13] D.J. Kim, S.H. Park, G.S. Ryu, and K.T. Koh (2011), “Comparative flexural behavior of hybrid ultra high performance fiber reinforced concrete with different macro fibers”, *Constr. Build. Mater.*, **25**, pp.4144-4155.

[14] D.Y. Yoo, S.T. Kang, and Y.S. Yoon (2016), “Enhancing the flexural performance of ultra-high-performance concrete using long steel fibers”, *Compos. Struct.*, **147**, pp.220-230.

[15] D.Y. Yoo, S. Kim, G.J. Park, J.J. Park, and S.W. Kim (2017), “Effects of fiber shape, aspect ratio, and volume fraction on flexural behavior of ultra-high-performance fiber-reinforced cement composites”, *Compos. Struct.*, **174**, pp.375-388.

[16] Trần Bá Việt, Lê Xuân Lâm (2015), “Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng sợi thép đến các tính chất của bê tông tính năng siêu cao”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **2(7)**, tr.1-6.

[17] W. Meng, Y. Yao, B. Mobasher, and K.H. Khayat (2017), “Effects of loading rate and notch-to-depth ratio of notched beams on flexural performance of ultra-high-performance concrete”, *Cem. Concr. Compos.*, **83**, pp.349-359.

[18] S.G. Millard, T.C.K. Molyneaux, S.J. Barnett, and X. Gao (2010), “Dynamic enhancement of blast-resistant ultra high performance fibre-reinforced concrete under flexural and shear loading”, *Int. J. Impact Eng.*, **37**, pp.405-413.

[19] K. Habel and P. Gauvreau (2008), “Response of ultra-high performance fiber reinforced concrete (UHPFRC) to impact and static loading”, *Cem. Concr. Compos.*, **30**, pp.938-946.

[20] E. Parant, P. Rossi, E. Jacquelin, and C. Boulay (2007), “Strain rate effect on bending behavior of new ultra-high-performance cement-based composite”, *ACI Mater. J.*, **104**, pp.458-463.

[21] T.T. Ngo and D.J. Kim (2018), “Synergy in shear response of ultra-high-performance hybrid-fiber-reinforced concrete at high strain rates”, *Compos. Struct.*, **195**, pp.276-287.

[22] J.J. Park, S.T. Kang, K.T. Koh, and S.W. Kim (2008), “Influence of the ingredients on the compressive strength of UHPC as a fundamental study to optimize the mixing proportion”, *Proceeding Second Int. Symp. Ultra High Perform. Concr. Kassel, Ger.*, pp.102-105.

[23] ASTM International (2001), *ASTM C 1437 Standard Test Method for Flow of Hydraulic Cement Mortar*, pp.1-2.

[24] T.K. Tran and D.J. Kim (2012), “Strain energy frame impact machine (SEFIM)”, *J. Adv. Concr. Technol.*, **10**, pp.126-136.

Chế tạo đầu đo nhấp nháy CsI(Tl) ghép nối quang điốt ghi đo bức xạ gamma

Phạm Đình Khang^{1*}, Đinh Tiên Hùng², Đinh Kim Chiến²,
Cao Văn Hiệp², Nguyễn Xuân Hải³, Nguyễn Ngọc Anh³

¹Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

²Viện Hóa học và Môi trường Quân sự

³Viện Nghiên cứu Hạt nhân Đà Lạt, Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam

Ngày nhận bài 1/10/2020; ngày chuyển phản biện 5/10/2020; ngày nhận phản biện 2/11/2020; ngày chấp nhận đăng 18/11/2020

Tóm tắt:

Đầu đo nhấp nháy là loại đầu đo có hiệu suất ghi cao, sử dụng đơn giản, giải quyết tốt được mục tiêu của nhiều nghiên cứu, ứng dụng và đào tạo. Vì thế việc nội địa hóa quá trình chế tạo đầu đo sẽ mang lại nhiều ích lợi. Việc sử dụng quang điốt thác lũ thay cho ống nhân quang điện (PMT) cho phép tiết kiệm năng lượng, rút gọn thể tích đầu đo và loại bỏ khối cao áp công suất lớn. Tổ hợp chất nhấp nháy CsI(Tl), quang điốt thác lũ, tiền khuếch đại nhạy điện tích, hệ thống khuếch đại dải rộng và hệ nguồn nuôi đã được tích hợp trong đầu đo. Bài nghiên cứu này đưa ra một số kết quả mới trong việc chế tạo thử nghiệm đầu đo nhấp nháy sử dụng quang điốt thác lũ. Các đầu đo này có thể được sử dụng trong các trạm quan trắc môi trường, các hệ trình sát bức xạ, các bệnh viện và các phòng thí nghiệm hạt nhân của các trường đại học phục vụ đào tạo và huấn luyện sinh viên...

Từ khóa: detector nhấp nháy, hệ khuếch đại, quang điốt thác lũ, tiền khuếch đại nhạy điện tích.

Chỉ số phân loại: 2.3

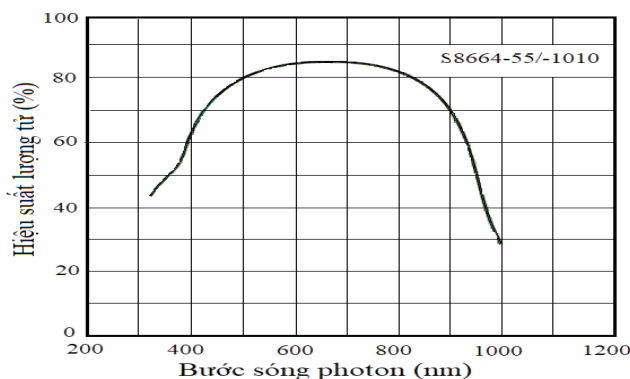
Mở đầu

Các hệ trình sát bức xạ cầm tay và các hệ lắp trên xe chỉ huy tác chiến của quân đội rất cần có các đầu đo nhấp nháy ghi đo gamma gọn nhẹ, có hiệu suất ghi cao, bền với môi trường và tiết kiệm năng lượng. Trong nhiều trường hợp, các đầu đo nhấp nháy sử dụng ống nhân quang điện (PMT) đã không được sử dụng do đòi hỏi có khối cao áp công suất lớn, chất lượng cao và kích thước hệ đo dùng ống PMT lớn. Với sự phát triển của công nghệ vật liệu bán dẫn, việc sử dụng quang điốt thác lũ thay thế cho PMT trong đầu đo nhấp nháy ghi đo gamma là một giải pháp tốt nhằm để có các hệ đo. Xuất phát từ hướng đi đó, công việc chế tạo đầu đo nhấp nháy CsI(Tl) ghép nối với quang điốt đã được triển khai với sự hợp tác của các cán bộ khoa học của Trường Đại học Bách khoa Hà Nội; Viện Hóa học và Môi trường Quân sự và Viện Nghiên cứu Hạt nhân thuộc Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam.

Thực nghiệm

Ghép tinh thể nhấp nháy và quang điốt thác lũ

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu thay thế ống PMT và thử nghiệm với một số loại nhấp nháy mới mà tiêu biểu là ở các công bố [1-4]. Tinh thể nhấp nháy CsI(Tl) là một trong số các loại nhấp nháy phù hợp với việc sử dụng hệ biến đổi quang điện - các quang điốt thác lũ được chế tạo từ Si [4]. Cụ thể, dải bước sóng các photon được CsI(Tl) phát ra nhiều nhất chủ yếu nằm ở vùng có hiệu suất lượng tử cao nhất của quang



Hình 1. Hiệu suất lượng tử của quang điốt thác lũ S8664-55 [5].

điốt. Có nhiều loại quang điốt, nhưng để ghép với tinh thể nhấp nháy thì chỉ có một số loại có tốc độ nhanh để hình thành những xung điện cỡ μs , điện dung thấp, dòng rò nhỏ và ít thay đổi theo nhiệt độ là phù hợp, ví dụ như các loại quang điốt S3590, S8664, S3204...[5]. Các quang điốt thương mại dùng trong đầu đo nhấp nháy có hình vuông với tiết diện cỡ cm^2 , vì vậy các tinh thể nhấp nháy cũng được chọn lựa có kích thước và hình dạng tương đương. Trong thực nghiệm của bài báo này, nhóm nghiên cứu đã sử dụng tinh thể CsI(Tl) kích thước $1 \times 1 \times 3$ cm ghép với quang điốt S8664-55 với kích thước 5×5 mm. S8664-55 thuộc loại quang điốt thác lũ, có hiệu suất lượng tử phụ thuộc bước sóng ánh sáng tới (hình 1). Các photon do

* Tác giả liên hệ: Email: phamkhang@fpt.vn

Designing and setting up the scintillation detector using CsI(Tl) crystals and avalanche photodiode for gamma-ray measurement

Dinh Khang Pham^{1*}, Tien Hung Dinh², Kim Chien Dinh²,
Van Hiep Cao², Xuan Hai Nguyen³, Ngoc Anh Nguyen³

¹Hanoi University of Science and Technology

²Military Institute of Chemical and Environmental Engineering

³Dalat Nuclear Research Institute, Vietnam Atomic Energy Institute

Received 1 October 2020; accepted 18 November 2020

Abstract:

Localization of the scintillation detectors manufacturing process has many benefits because of the high detection efficiency of the detectors, user-friendly, and consistent with general research objectives. Using a photodiode instead of a photomultiplier tube (PMT) allows saving energy, shortening the detector volume, and removing high voltage power supply and amplifier. The combination of CsI(Tl) scintillator, avalanche photodiode, charge sensitive preamplifier, wide range amplifier, and power supply system has been integrated into the detector. This study presents new results in manufacturing a home-made scintillation detector using avalanche photodiode. The detectors of this type can be used in hospitals, in the nuclear laboratory of universities for the students training, etc.

Keywords: amplifier module (system), avalanche photodiode, charge sensitive preamplifier, scintillation detector.

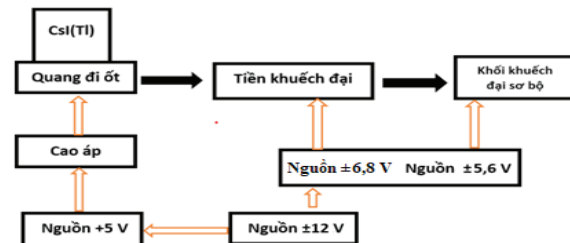
Classification number: 2.3

CsI(Tl) phát ra có bước sóng chủ yếu nằm ở dải 430 đến 730 nm và trùng với vùng hiệu suất lượng tử đạt giá trị trên 70% của S8664-55.

Có nhiều loại keo dẫn quang để ghép tinh thể nhấp nháy với quang điốt. Để vừa dẫn quang tốt, vừa gắn chặt quang điốt với tinh thể nhấp nháy, nhóm nghiên cứu đã sử dụng loại keo dẫn quang OE-6662 gồm 2 thành phần chất dẫn quang và chất hóa rắn, trộn theo tỷ lệ 10:1. Sau khi ghép xong, đặt cụm tinh thể quang điốt thắp lử vào buồng âm, sấy trong 24 giờ để keo dẫn quang hóa rắn. Cụm tinh thể nhấp nháy - quang điốt thắp lử được đặt gần sát tiền khuếch đại để giảm điện dung ký sinh trên mạch vào của tiền khuếch đại.

Hệ thống nguồn nuôi và mạch điện

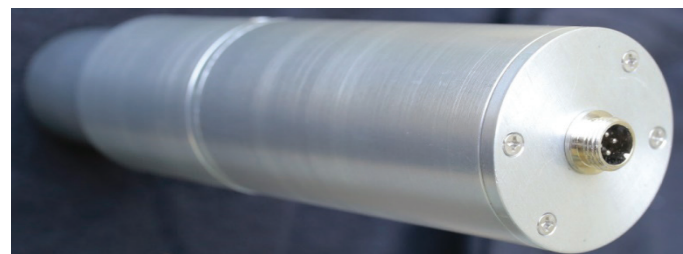
Hệ thống nguồn nuôi, mạch điện trong đầu đo được thể hiện ở hình 2. Các điện áp cung cấp cho quang điốt, mạch tiền khuếch đại và khối khuếch đại sơ bộ được tạo ra từ các mạch tạo điện áp và ổn định độc lập để tránh ảnh hưởng lẫn nhau. Điện áp cung cấp cho các mạch biến đổi điện áp nêu trên là ± 12 V.



Hình 2. Sơ đồ khối của đầu đo.

Điện áp +5 V được tạo nên từ +12 V bằng LM7805. Nguồn 5 V cung cấp năng lượng để tạo nên điện áp 380 V nhờ linh kiện tổ hợp C10940-53 do Hãng Hamamatsu sản xuất. Điện trở bias nối với quang điốt có giá trị 200 MΩ - như vậy công suất tiêu thụ của mạch chỉ vào khoảng 2 mW, dòng tiêu thụ nhỏ hơn 10 nA. Tiền khuếch đại được sử dụng là CR110-R2 của Hãng Cremat. Tiền khuếch đại được ghép với quang điốt thắp lử theo kiểu ghép AC để đảm bảo tốc độ đếm xung cao [6] và loại trừ ảnh hưởng của dòng dò. Khối khuếch đại sơ bộ là hệ khuếch đại dải rộng để bảo toàn dạng xung và quy chuẩn tín hiệu ra từ đầu đo đạt biên độ 200 mV khi tia gamma có năng lượng 662 keV bị hấp thụ hoàn toàn ở nhấp nháy CsI(Tl). Hệ thống quy chuẩn này là cần thiết nhằm ghép nối đầu đo với các hệ phân tích biên độ xung sử dụng kỹ thuật xử lý số. ADC lấy mẫu trong hệ xử lý số có dải biên độ 0÷1 V tương ứng dải đo 0÷3 MeV.

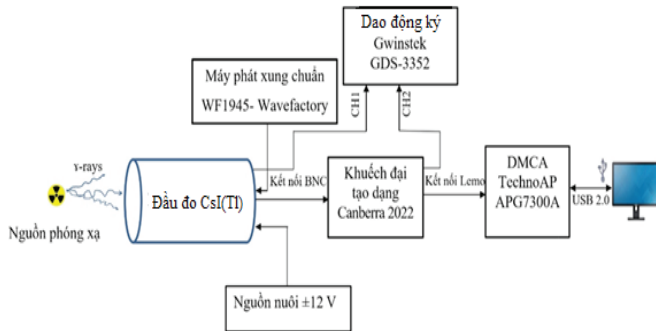
Toàn bộ hệ nhấp nháy, quang điốt thắp lử và hệ điện tử được đặt trong vỏ nhôm, nhằm chống nhiễu điện từ tác động đến dạng và biên độ xung ra (hình 3). Đầu đo được chế tạo với hai ngăn, ngăn thứ nhất gồm tinh thể nhấp nháy, quang điốt thắp lử và mạch gắn tiền khuếch đại; ngăn thứ 2 chứa hệ nguồn nuôi, tạo cao áp và hệ khuếch đại sơ bộ - kiểu thiết kế này cho phép giảm ảnh hưởng của hệ thống điện tử tới mạch tiền khuếch đại. Để tăng độ bền và độ cách điện, vỏ đầu đo được anốt hóa, cách xử lý như vậy cho phép vỏ đầu đo chịu được hóa chất, nước biển mà không tổn hao hay có dấu hiệu hỏng hóc, suy giảm chất lượng.



Hình 3. Hình ảnh đầu đo được chế tạo.

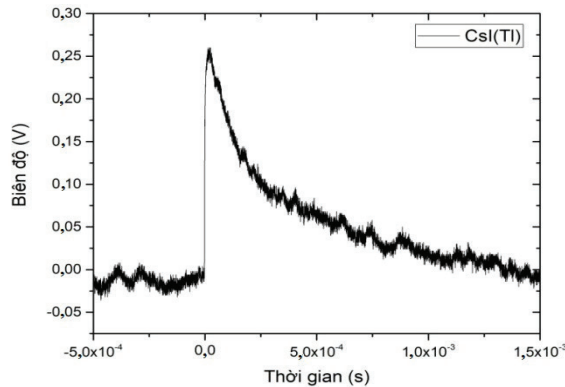
Các đặc trưng của đầu đo

Hệ thống thực nghiệm xác định các đặc trưng của đầu đo được đưa ra ở hình 4.



Hình 4. Sơ đồ thực nghiệm xác định các đặc trưng của đầu đo.

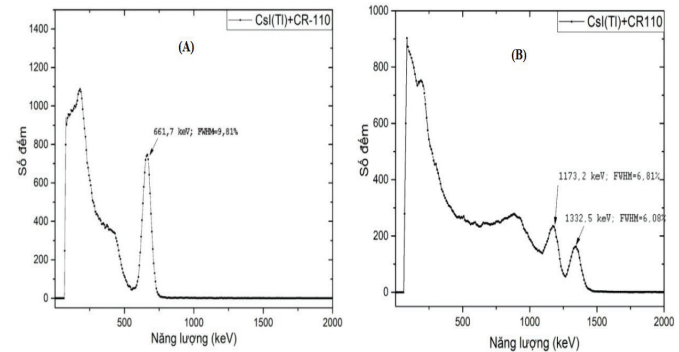
Dạng xung ở lối ra: sử dụng dao động ký Gwinstek model GDS-3352 để thu dạng xung lối ra của đầu đo (kênh CH1). Tiền khuếch đại CR110-R2 có hằng số thời gian $C_f R_f = 140 \mu s$, với C_f và R_f là điện dung của tụ phản hồi và điện trở phản hồi của tiền khuếch đại. Mặt tăng của xung ra bằng [6] trong trường hợp xung điện tích đi vào tiền khuếch đại có mặt tăng cỡ vài chục ns. Trong trường hợp ghép với tinh thể CsI(Tl), thời hằng của chớp sáng là cỡ $1 \mu s$ và phải hết khoảng 5 lần thời hằng thì mới có thể coi là toàn bộ các điện tích do các photon tạo ra được nạp lên tụ C_f . Vì vậy, mặt tăng xung ra của đầu đo vào khoảng $5 \mu s$, còn mặt giảm có thời hằng cỡ $140 \mu s$ như ở hình 5.



Hình 5. Dạng xung ra của đầu đo (sau khối khuếch đại sơ bộ).

Độ phân giải năng lượng: phổ tia gamma thu được thể hiện ở hình 6A và 6B, đo với nguồn ^{137}Cs và ^{60}Co . Các giá trị độ phân giải năng lượng với các đỉnh 661,7; 1173,2 và 1332,5 keV tương ứng là 9,81; 6,81 và 6,08%. Việc so sánh với các kết quả của Martín Gascón [7] (tinh thể CsI(Tl) $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ bọc teflon + lá nhôm; quang điốt S8664-1010; tiền khuếch đại IH 142 ORTEC) cho thấy độ phân giải năng lượng ở [7] là 4,42%, tốt hơn hẳn so với công bố này. Điều đó có thể lý giải là do việc bọc teflon và lá nhôm cộng với sử dụng S8664-1010 đã hạn chế

mất photon do CsI(Tl) phát ra khi lượng tử gamma tương tác với nhấp nháy; tiền khuếch đại IH 142 ORTEC có hệ số khuếch đại vòng hở ≥ 40000 lần [8], còn của CR-110 chỉ là 3000 lần. Sự khác biệt về hệ số khuếch đại này dẫn đến tiếng ồn ENC của tiền khuếch đại ORTEC nhỏ hơn nên độ phân giải của hệ tốt hơn. Tuy nhiên, sự gọn nhẹ của CR-110 lại dẫn đến khả năng sử dụng chế tạo đầu đo gamma cao hơn và trong thực tế, kết quả của công bố này là với đầu đo nhấp nháy sử dụng quang điốt thác lũ thay cho ống PMT đã chế tạo được. Độ phân giải năng lượng của đầu đo hiện tại tương đương như của đầu đo nhấp nháy gắn ống PMT. Những ghép nối các khối như trong [7] để tổ hợp thành một đầu đo bức xạ còn cần có một giai đoạn khá dài để tối ưu các vấn đề vật lý, điện tử...



Hình 6. Phổ ^{137}Cs (A) và phổ ^{60}Co (B).

Hiệu suất ghi nội toàn phần và hiệu suất ghi nội quang điện: việc đo đặc thực nghiệm hiệu suất ghi được thực hiện theo hệ thống thực nghiệm (hình 4) với bộ nguồn chuẩn do IAEA cung cấp, khoảng cách nguồn - đầu đo là 20 cm và có so sánh với kết quả tính toán mô phỏng hiệu suất ghi theo các thông số thiết kế của đầu đo. Hiệu suất ghi nội toàn phần được xác định bằng tỷ số xung ghi nhận được và số lượng tử tới bề mặt detector theo công thức 1 [9]:

$$\epsilon_{ins-p} = \frac{N_c}{N_d} \quad (1)$$

trong đó ϵ_{ins} là hiệu suất ghi nội toàn phần, N_c là số xung ghi nhận được, N_d là số lượng tử gamma đi đến bề mặt đầu đo.

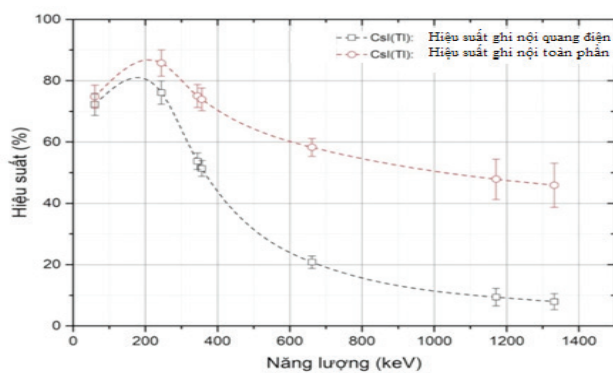
Hiệu suất ghi nội quang điện được xác định bằng tỷ số xung ghi nhận tại đỉnh năng lượng hấp thụ toàn phần và số lượng tử gamma đi tới bề mặt đầu đo theo công thức 2 [4]:

$$\epsilon_{ins-p} = \frac{N_{photopeak}}{N_d} \quad (2)$$

trong đó, ϵ_{ins-p} là hiệu suất ghi nội quang điện, $N_{photopeak}$ là diện tích đỉnh năng lượng hấp thụ toàn phần, N_d là số lượng tử gamma đi tới bề mặt đầu đo. Kết quả được thể hiện ở bảng 1 và hình 7.

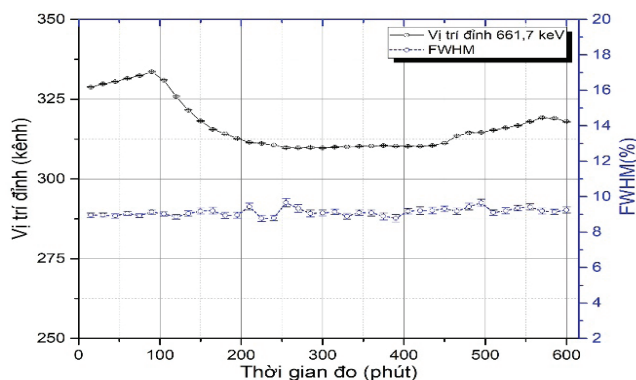
Bảng 1. Các giá trị thực nghiệm của hiệu suất ghi nội toàn phần, hiệu suất ghi nội quang điện.

Đồng vị	Năng lượng phát (keV)	Detector CsI(Tl)	
		Hiệu suất ghi nội toàn phần (%)	Hiệu suất ghi nội quang điện (%)
Am-241	59,5	74,8±3,0	72,3±6,5
Ba-133	356,0	73,9±5,2	51,4±2,6
Eu-152	244,7	85,8±4,3	76,2±3,8
	344,3	75,0±3,8	53,7±1,6
Cs-137	661,6	58,3±3,5	20,8±1,6
Co-60	1173,2	47,9±4,3	9,4±0,3
	1332,5	45,9±3,2	7,9±0,6



Hình 7. Hiệu suất ghi nội toàn phần và hiệu suất ghi nội quang điện của đầu đo.

Độ ổn định: mức độ ổn định của hệ số chuyển đổi năng lượng tia bức xạ sang vị trí kênh của đỉnh hấp thụ quang điện được đánh giá bằng sự thay đổi của vị trí đỉnh theo thời gian đo. Nhằm đánh giá độ ổn định phổ đầu đo được chế tạo nêu trên, thực nghiệm khảo sát độ ổn định phổ theo thời gian dài đã được thực hiện. Thời gian thử nghiệm là 10 giờ, bước chia 15 phút/phổ để đánh giá sự ổn định của vị trí đỉnh phổ ^{137}Cs và độ phân giải năng lượng. Đo theo điều kiện môi trường, với nhiệt độ biến thiên từ 25°C lúc 8g00 sáng và đạt cực đại 35°C lúc 13g00. Kết quả khảo sát sự ổn định phổ của đầu đo CsI(Tl) được thể hiện ở hình 8.



Hình 8. Khảo sát sự ổn định phổ của detector CsI(Tl) theo thời gian.

Có thể thấy độ phân giải năng lượng không thay đổi nhiều theo thời gian đo, còn vị trí đỉnh thay đổi từ kênh 335 đến 310 (25 kênh, cỡ 8%). Cũng có thể do ở khoảng giữa thời gian thực nghiệm, nhiệt độ môi trường đã tăng lên nên hệ số khuếch đại của S8664-55 đã giảm đi và 8% đó là do ảnh hưởng của nhiệt độ môi trường tới đầu đo. Như vậy, việc khảo sát này sẽ cần được thực hiện lại với đảm bảo chắc chắn không có sự thay đổi của nhiệt độ môi trường.

Năng lượng tiêu thụ: nguồn nuôi cho đầu đo là $\pm 12\text{ V}$, cường độ dòng điện là 49 và 26 mA tương ứng. Như vậy, tổng công suất tiêu thụ của đầu đo là 900 mW.

Kết luận

Nghiên cứu này được tiến hành gần tương tự như các nghiên cứu [1-3]. Các số liệu kết quả cho thấy nghiên cứu này đã đạt được những kết quả tích cực, độ phân giải detector có thể so với giá trị ~6,4% ở 1,17 MeV và 5,5% ở 1,33 MeV trong nghiên cứu [3], nếu tiếp tục cải thiện có thể mang lại khả năng thương mại hóa các đầu đo nhấp nháy sử dụng quang điốt thác lũ. Có thể đánh giá đây là một thành công của việc nội địa hóa trang thiết bị ghi đo bức xạ hạt nhân của Việt Nam. Các thử nghiệm với tiền khuếch đại có độ nhạy cao hơn sẽ được thực hiện trong thời gian tới để nâng cao độ phân giải năng lượng và hạ thấp ngưỡng đo dưới của đầu đo.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả trân trọng cảm ơn Trường Đại học Bách khoa Hà Nội đã tài trợ cho nghiên cứu này thông qua đề tài T2018-PC-124.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Jin Hyoungh Bai, Joo Ho Whang (2011), "The optimization of CsI(Tl)-PIN photodiode for high-energy gamma-ray detection", *Nuclear Science and Technology*, **1**, pp.308-311.
- [2] Y.T. Vyday, et al. (2006), "Stability of spectrometric characteristics of CsI:Tl detectors depending on the surface treatment method", *Instruments and Experimental Techniques*, **49**(3), pp.314-317.
- [3] R. Scafè, R. Pani, R. Pellegrini, G. Iurlaro, L. Montani & M. Nerina Cinti (2007), "Si-APD readout for LaBr₃:Ce scintillator", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, **571**(1-2), pp.355-357.
- [4] G. Knoll (2000), *Radiation Detection and Measurement*, John Wiley & Sons, Ltd.
- [5] Hamamatsu Photonics (2017), *Si APD S8664 series data sheet*, 6pp.
- [6] <https://www.cremat.com/CR-110-R2.1.pdf>.
- [7] Martín Gascón, et al. (2008), "Optimization of energy resolution obtained with CsI(Tl) crystals for the R3B calorimeter", *IEEE Transactions on Nuclear Science*, **55**(3), pp.1259-1262.
- [8] <https://www.ortec-online.com/>.
- [9] G.R. Gilmore (2008), *Practical Gamma-ray Spectrometry*, John Wiley & Sons, Ltd.

Nghiên cứu công nghệ mài bóng quang học gương cầu vật liệu thép hợp kim

Phạm Hồng Tuấn*, Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Thành Hợp

Trung tâm Quang điện tử, Viện Ứng dụng Công nghệ

Ngày nhận bài 13/7/2020; ngày chuyển phản biện 17/7/2020; ngày nhận phản biện 28/8/2020; ngày chấp nhận đăng 7/9/2020

Tóm tắt:

Tại Việt Nam, công nghệ gia công bề mặt cầu của các thấu kính thủy tinh bằng phương pháp mài nghiền dùng bột mài không liên kết đã được nghiên cứu và áp dụng rộng rãi. Tuy nhiên, phương pháp này gặp nhiều khó khăn đối với bài toán mài bóng quang học gương cầu làm từ vật liệu thép hợp kim. Bài báo giới thiệu một số kết quả ban đầu trong nghiên cứu công nghệ mài bóng quang học gương cầu vật liệu thép hợp kim, bao gồm các vấn đề: lựa chọn phương pháp và thiết bị gia công, thiết kế dụng cụ hỗ trợ và dụng cụ gia công, thử nghiệm và thiết lập quy trình gia công, đánh giá chất lượng sản phẩm. Gương cầu trên nền vật liệu thép hợp kim, đường kính 50 mm, bán kính cầu 70 mm đã được mài đánh bóng quang học thành công. Kết quả đo kiểm cho thấy, mẫu gương đáp ứng các yêu cầu đề ra đối với sản phẩm quang học ($N=1$, $\Delta N=1$, độ nhám bề mặt $R_z=0,05 \mu m$).

Từ khóa: đánh bóng, gương cầu thép hợp kim, mài quang học.

Chỉ số phân loại: 2.3

Đặt vấn đề

Bề mặt cầu là bề mặt cơ bản của hầu hết các thấu kính, gương - phần tử cơ bản của mọi dụng cụ hay hệ thống quang học. Công nghệ chế tạo các bề mặt cầu đã được nghiên cứu, phát triển từ rất lâu. Hiện nay, công nghệ chế tạo mặt cầu có thể được phân ra 4 nhóm: mài nghiền dùng bột mài không liên kết [1], mài dùng bột mài liên kết (đá mài) trên máy phay chính xác [2], mài trên máy tự động điều khiển số (máy CNC) sử dụng đá mài kim cương [2], tiện kim cương (Diamond turning) [3].

Tại Việt Nam, từ hơn 50 năm trở lại đây, phương pháp mài nghiền quang học chế tạo các thấu kính thủy tinh đã và đang được áp dụng rộng rãi tại các cơ sở sản xuất thiết bị quang học. Các ưu điểm chính của mài nghiền là: công nghệ đơn giản, chi phí đầu tư không lớn (máy mài, dụng cụ, vật tư), chế tạo được các thấu kính có kích thước trong dải rộng.

Trong khi đó, trên thế giới các nhà máy sản xuất thiết bị quang học đã chuyển sang áp dụng quy trình công nghệ mài bằng đá mài và công nghệ mài trên máy CNC. Ưu điểm của các công nghệ này là tạo ra năng suất cao hơn, giá thành gia công hạ, sản xuất linh hoạt theo các đơn hàng với số lượng sản phẩm khác nhau. Mặc dù các công nghệ này đã rất thành công với các thấu kính thủy tinh, nhưng với các bề mặt kim loại hay hợp kim thì hầu như chưa được công bố trên ấn phẩm đại chúng.

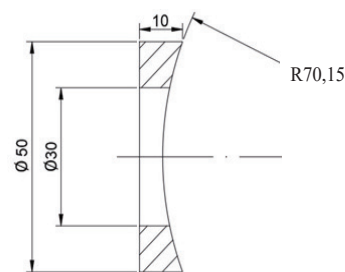
Trong bài viết này, chúng tôi giới thiệu kết quả nghiên cứu ứng dụng quy trình công nghệ mài dùng bột mài liên kết

trên máy mài tốc độ cao, phục vụ mài và đánh bóng quang học mặt cầu của gương làm từ thép hợp kim, tạo tiền đề cho việc chế tạo các hệ quang học đặc biệt, hoặc chế tạo khuôn ép phun thấu kính plastic độ chính xác cao.

Thực nghiệm

Chi tiết gương cầu

Gương cầu (hình 1) có bề mặt cầu bán kính R70,15 mm được mài đánh bóng quang học.



Hình 1. Chi tiết gương cầu.

Vật liệu nền của chi tiết là thép hợp kim (thành phần thép: Fe 51%, Al 10%, Co 14%, Ni 18,5%, Cu 4%), độ cứng bề mặt 52 HRC. Bề mặt cầu bán kính R=70,15 mm cần được mài đạt độ chính xác bán kính 0,05%, được mài mịn đánh bóng đạt độ chính xác quang học ($N=1$; $\Delta N=1$), độ nhám bề mặt $R_z=0,05 \mu m$.

*Tác giả liên hệ: Email: phamhongtuan1@yahoo.com

Research on the optical grinding and polishing technology of spherical mirror based on alloy steel materials

Hong Tuan Pham*, Xuan Thanh Nguyen,
Thanh Hop Nguyen

Center for Optoelectronics, National Center for Technological Progress

Received 13 July 2020; accepted 7 September 2020

Abstract:

In Vietnam, the technology of fabricating spherical surfaces of glass lenses by the loose abrasive grinding method has been researched and widely applied. However, this technology does not really match the needs of grinding and polishing optically the sphere on the basis of alloy steel. This paper introduces some initial results in researching the technology of optical mirror polishing of alloy steel materials. The issues studied include the selection of processing methods and equipment, design and manufacture of auxiliary tools and machining processes, and the methodology for characterisation product quality. A spherical mirror of 50 mm in diameter, 70 mm in spherical radius, based on alloy steel material has been optically polished. Test results show that the sample meets the requirements for optical products ($N=1$; $\Delta N=1$, surface roughness $R_z=0.05 \mu\text{m}$).

Keywords: alloy steel spherical mirror, optical grinding, polishing.

Classification number: 2.3

Nguyên lý mài và đánh bóng mặt cầu

Bề mặt cầu của gương được gia công theo các bước sau:

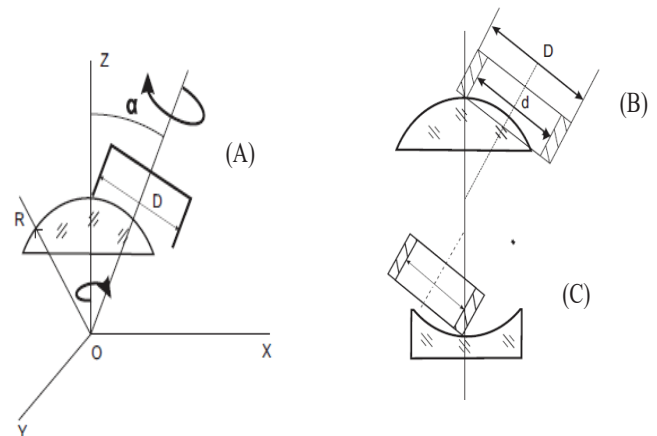
Bước 1 - Mài tinh mặt cầu (hình 2): máy phay được dùng để tạo hình bề mặt cầu của phôi. Dụng cụ mài là đá mài có gắn các hạt mài kim cương, được gắn chặt với trục chính của đầu phay, chi tiết gia công được gắn trên trục chính của máy. Trục quay của dụng cụ đi qua tâm bề mặt cầu của chi tiết và tạo với trục quay của chi tiết một góc α . Đá mài kim cương có dạng hình trụ để: phay mặt cầu lõm theo sơ đồ (2B), phay mặt cầu lồi theo sơ đồ (2C).

Bán kính cong R của mặt cầu được xác định theo góc nghiêng α của trục dao theo công thức (1) và (2):

$$+ \text{Mặt cầu lồi: } \sin \alpha = \frac{d}{2R} \quad (1)$$

$$+ \text{Mặt cầu lõm: } \sin \alpha = \frac{D}{2R} \quad (2)$$

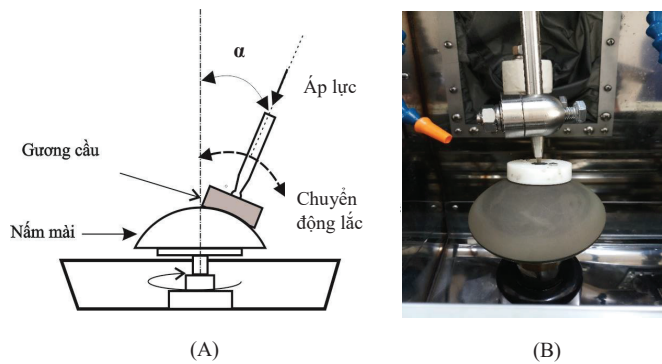
Trong đó: α là góc nghiêng giữa trục dụng cụ và trục chi tiết; D là đường kính ngoài của dụng cụ; d là đường kính trong của dụng cụ; R là bán kính của mặt cầu chi tiết.



Hình 2. Sơ đồ mài tinh mặt cầu trên máy phay. (A) Hệ tọa độ khi phay; (B) Phay mặt cầu lõm; (C) Phay mặt cầu lồi.

Bước 2 - Mài mịn quang học: mài mịn quang học là bước gia công tiếp theo của mài tinh, được thực hiện theo sơ đồ hình 3. Đá mài mịn (nấm mài) có hình nấm cầu, bán kính cầu của mặt nấm bằng bán kính của chi tiết gương cầu. Bề mặt nấm cầu được phủ vật liệu composit gồm: hạt mài kim cương được kết dính bằng vật liệu liên kết (nhựa, hoặc kim loại). Nấm mài có thân trụ để lắp lên trục chính máy mài tốc độ cao HSCPM-4. Chi tiết gương cầu được đặt áp lên mặt trên của nấm cầu, tự xoay quanh trục của nó và di chuyển qua lại nhờ cơ cấu cánh tay đề ép từ trên xuống.

Mài mịn quang học được thực hiện trên máy mài quang học tốc độ cao HSCPM-4 (hình 4), gồm 5 bước từ 1 tới 5, sử dụng 5 nấm mài kim cương (hình 5) từ N⁰¹- N⁰⁵ với kích thước hạt kim cương tương ứng (bảng 1).



Hình 3. Máy mài mịn và đánh bóng. (A) Sơ đồ nguyên lý; (B) Ảnh chụp nắm mài và gương cầu.

Thông số công nghệ của quá trình mài mịn và đánh bóng quang học gồm: tốc độ trục chính gá nắm mài, tốc độ lắc của trục dụng cụ, góc lắc của trục dụng cụ, áp lực mài, thời gian mài. Các thông số công nghệ này được thiết lập dựa vào thông số cơ bản của máy mài và điều chỉnh thực nghiệm thành bộ thông số công nghệ ghi trong bảng 1.

Bảng 1. Các bước mài mịn quang học và dụng cụ.

TT	Tên bước mài mịn	Nắm mài/Kích thước hạt [μm]	Độ nhám bề mặt đạt được [Rz]
1	Mài mịn quang học lần 1	N ⁰ 1/100	1,25
2	Mài mịn quang học lần 2	N ⁰ 2/60	0,8
3	Mài mịn quang học lần 3	N ⁰ 3/40	0,6
4	Mài mịn quang học lần 4	N ⁰ 4/20	0,25
5	Mài mịn quang học lần 5	N ⁰ 5/8	0,1

Bước 3 - Mài bóng quang học: mài bóng quang học được thực hiện trên máy mài bóng quang học tốc độ cao HSCPM-4, sử dụng nắm nhựa đánh bóng (trên bề mặt nắm cầu kim loại có phủ vật liệu nhựa đánh bóng) và bột đánh bóng kim cương không liên kết, kích thước hạt 0,5 μm. Thông số công nghệ cần thiết lập gồm: tốc độ trục chính, tốc độ lắc, góc lắc, áp lực mài, thời gian đánh bóng.

Thiết bị và dụng cụ gia công

Các bước gia công từ mài tính quang học - mài mịn quang học - mài bóng quang học được thực hiện trên 2 thiết bị máy phay mặt cầu CG-2 và máy mài đánh bóng quang học tốc độ cao HSCPM-4 (hình 4). Các thiết bị này được chế tạo bởi Công ty Sidai Precision, Hàn Quốc. Dụng cụ gia công gồm: đá mài kim cương sử dụng cho máy mài cầu CG-2; các nắm mài kim cương (hình 5) lắp trên HSCPM-4 cho các bước mài mịn quang học (bước 1 - bước 5); nắm nhựa đánh bóng cho bước đánh bóng quang học. Tất cả các dụng cụ này được chúng tôi tính toán, lựa chọn và điều chỉnh cho phù hợp với mục tiêu đặt ra.



Hình 4. Các thiết bị mài đánh bóng quang học. Máy mài cầu CG-2 (bên trái); máy mài bóng quang học tốc độ cao HSCPM-4 (bên phải).

Nắm mài mịn R70 là chi tiết hình nắm cầu với bán kính mặt cầu 70,15 mm, có thân trụ đường kính Φ18 để lắp lên máy mài tốc độ cao HSCPM-4. Trên bề mặt nắm cầu phủ lớp vật liệu composit gồm hạt mài kim cương được kết dính bằng vật liệu liên kết (nhựa, hoặc kim loại). Lớp vật liệu composit có chiều dày 2 mm. Bề mặt nắm mài được tạo các rãnh thẳng hướng tâm hoặc xoắn hướng tâm tương ứng với từng nguyên công mài mịn. Có 5 loại nắm mài khác nhau tương ứng với 5 nguyên công mài mịn từ 1 tới 5.



Hình 5. Nắm mài kim cương (5 loại nắm mài khác nhau tương ứng với 5 nguyên công mài mịn từ 1 tới 5).

Thông số công nghệ mài/dánh bóng

Trên cơ sở tham khảo tài liệu [3] về các thông số công nghệ (tốc độ quay trục chính, tốc độ lắc của trục gá chi tiết và áp lực mài) và các thử nghiệm thực tế (góc trục nắm - trục gá chi tiết, áp lực mài, thời gian mài) trên thiết bị HSCPM-4, bộ 5 thông số công nghệ cho các quá trình mài đánh bóng các mẫu gương cầu đã được thiết lập (bảng 2).

Bảng 2. Thông số công nghệ mài/dánh bóng.

Thông số	Bước 1	Bước 2	Bước 3	Bước 4	Bước 5	Bước 6
Tốc độ quay của trục nắm mài (vòng/phút)	1.400	1.400	1.400	1.400	1.400	100
Tốc độ lắc của trục gá chi tiết (lượt/phút)	35	35	35	35	35	35
Góc trục nắm - trục gá chi tiết (độ)	15	15	15	15	15	0
Áp lực mài [atm]	3	3	1,2	1,2	1,2	0,2
Thời gian mài	60 giây	60 giây	60 giây	60 giây	60 giây	20 phút

Lưu ý: thông số công nghệ áp lực mài (bảng 2) được điều chỉnh giảm từ 3 atm xuống 1,2 atm bắt đầu tại bước 2 tới bước 5 nhằm giảm tốc độ mài mòn bề mặt, đảm bảo độ chính xác hình dạng bề mặt yêu cầu tại các bước tương ứng. Cũng với lý do tương tự, tại bước 6 (mài bóng quang học), tốc độ quay trục chính giảm từ 1.400 xuống 100 vòng/phút, áp lực mài giảm xuống 0,2 atm, thời gian mài bóng tăng lên 20 phút.

Kết quả và bàn luận

Ba mẫu gương cầu đã được mài đánh bóng hoàn chỉnh theo quy trình công nghệ đã được thiết lập gồm: các bước gia công (bảng 1), bộ thông số công nghệ (bảng 2). Chất lượng bề mặt gương cầu được kiểm tra, đánh giá theo 3 chỉ tiêu: bán kính cong bề mặt cầu, độ chính xác hình dạng bề mặt cầu và độ nhám bề mặt cầu.

Bán kính cong bề mặt cầu (Surface radius) và độ chính xác hình dạng bề mặt cầu (Surface number)

Việc xác định các thông số của bán kính cong và hình dạng bề mặt được kiểm tra bằng phương pháp dưỡng kiểm quang học [1]. Dưỡng kiểm quang học là một khối thủy tinh quang học có bề mặt lõm bán kính $R=70,15$ mm, được chế tạo với độ chính xác cao của bán kính bề mặt cầu, sai lệch cho phép của bán kính dưỡng kiểm so với giá trị danh định là: $0,01 \div 0,15\%$. Bán kính cầu của dưỡng kiểm quang học được đo bằng dụng cụ cầu kế (spherometer). Trong nghiên cứu này, cầu kế được sử dụng là thiết bị SpheroCompact của Công ty TriOptics - CHLB Đức (hình 6).



Hình 6. Thiết bị đo bán kính cầu SpheroCompact.

```

*****
*                                     *
*   CERTIFICATE OF MEASUREMENT   *
*                                     *
*****

: Trioptics GmbH
: Friday, April 10, 2020 10:00:04 AM
: SST 044
: Ring D 38mm SN 2666 (38.009594)
: Super Spherotronic HR - Trioptics
AM : Lenses

N V E X ***** C O N C A V E *****

[ ]      Radius[ ] | No.   Sagitta[ ]      Radius[ ]
4830      70.14116 |
4820      70.14389 |
4820      70.14389 |
4820      70.14389 |
4810      70.14662 |
4820      70.14389 |
4820      70.14389 |
4810      70.14662 |
rements:      8 |----- Measurements:      0 -----
4819      +70.14423 | +0.00000      +0.00000
0006      0.00175 | 0.00000      0.00000

m) :      33.9714 | 0.0000
ngs: 124437.4 | 0.0
:      NO | NO

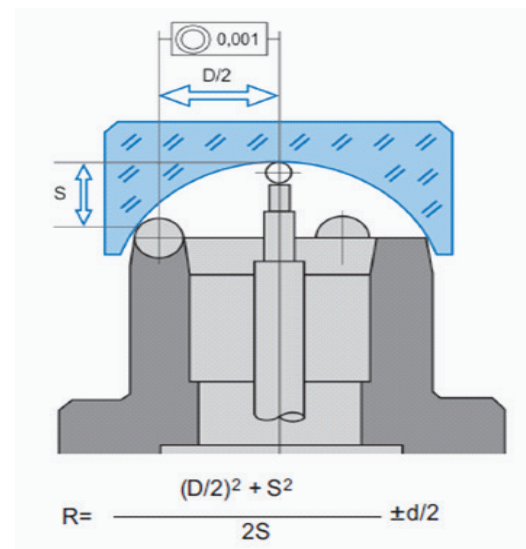
ce 0.020% according to: DIN 58161-2

```

Hình 7. Kết quả đo bán kính cầu.

Kết quả đo (hình 7) cho thấy sai số bán kính cong của bề mặt cầu đã chế tạo đạt 0,005 mm. Khi đo, bề mặt lõm của gương cầu, nếu độ chính xác bề mặt của gương cầu đủ cao, tương ứng là khe hở không khí giữa bề mặt cầu lõm và dưỡng cầu lõm đủ nhỏ, ta sẽ quan sát thấy các vân giao thoa. Trong nghiên cứu này, yêu cầu số lượng vân giao thoa (vòng quang) khi đo chỉ được phép nhỏ hơn 1: $N \leq 1$ vòng quang (1 vân giao thoa tương đương với khe hở giữa bề mặt sản phẩm và bề mặt dưỡng là $\lambda/2$, tức là $\sim 0,25 \mu\text{m}$).

Các vòng quang có thể xuất hiện dưới nhiều dạng hình khác nhau, ví dụ: vòng quang tròn thì bề mặt kiểm tra là bề mặt cầu; vòng quang có hình elíp thì bề mặt kiểm tra sẽ là phi cầu... Mức độ phi cầu được đánh giá bằng giá trị sai số hình dạng (ΔN). Giá trị ΔN là hiệu số vòng quang đọc



được trên hai phương vuông góc với nhau. Kết quả đo bằng đường kiểm quang học đạt giá trị: $N=1$; $\Delta N=1$.

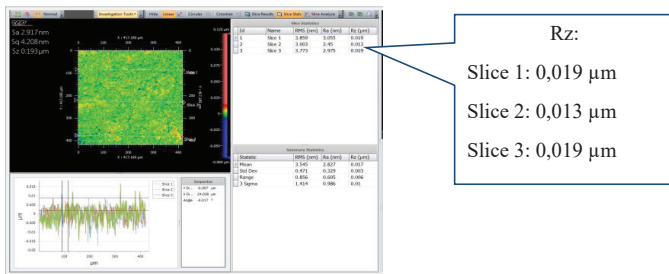
Độ nhám bề mặt (Surface roughness)

Độ nhám là thông số quan trọng, ảnh hưởng tới hệ số phản xạ của bề mặt gương. H.E. Bennett [4] đã nghiên cứu và xây dựng biểu thức liên hệ giữa độ nhám của bề mặt phẳng với hệ số phản xạ góc tại góc pháp tuyến và đã kiểm chứng bằng thực nghiệm:

$$R_s = R_0 \exp [-(4\pi\sigma)^2 \cdot \lambda^2] \quad (3)$$

Trong đó: R_s là hệ số phản xạ góc của bề mặt nhám; R_0 là hệ số phản xạ góc của bề mặt lý tưởng của cùng vật liệu; σ là độ nhám bình phương trung bình; λ là bước sóng ánh sáng chiếu tới bề mặt. Các biểu thức có nghĩa trong trường hợp khi độ nhám trung bình bình phương nhỏ hơn so với bước sóng ánh sáng.

Trong nghiên cứu này, độ nhám bề mặt được đo đặc bằng phương pháp giao thoa ánh sáng trắng [5] (White light interferometry) trên thiết bị 3D Optical Profiler-ZeGate™ Pro của Công ty Zygo (hình 8).



Hình 8. Kết quả đo độ nhám bề mặt gương cầu sau đánh bóng trên thiết bị Optical Profiler-ZeGate™ Pro.

Kết quả phép đo độ nhám trên thiết bị 3D Optical Profiler-ZeGate™ Pro cho các mẫu có giá trị Rz từ 0,013 tới 0,019, nhỏ hơn $Rz=0,05$ theo yêu cầu kỹ thuật đặt ra đối với sản phẩm mặt cầu lõm.

Kết luận

Trong bài báo này, một quy trình công nghệ mài đánh bóng gương cầu làm từ thép hợp kim đã được nhóm nghiên cứu thử nghiệm. Quy trình công nghệ gồm: các bước gia công (bảng 1) và dụng cụ gia công tương ứng (các dụng cụ đã được thiết kế chế tạo: các nắm mài, bộ đường kiểm quang học, các dụng cụ gá kẹp), cùng với bộ thông số công nghệ (bảng 2). Trên cơ sở quy trình này, 3 chi tiết gương cầu làm từ thép hợp kim đã được gia công tinh bề mặt cầu, mài mịn và đánh bóng quang học đạt thông số: độ chính xác bán kính cầu nhỏ hơn 0,05%R; độ nhám bề mặt Rz: 0,02; số vòng quang N: 0,5-1,0; sai số vòng quang ΔN : 1. Kết quả thực nghiệm và đo kiểm cho thấy, sản phẩm đáp ứng yêu cầu kỹ thuật đề ra. Bên cạnh đó, các tác giả đã nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ gia công bề mặt cầu lõm (quy trình gia công, bộ thông số công nghệ...). Đây là tài liệu tốt cho gia công các loại gương cầu kim loại có đường kính từ 10-100 mm trên máy HSCPM-4. Các bề mặt cầu trên nền thép hợp kim, ngoài ứng dụng chế tạo gương cầu quang học, còn có thể ứng dụng chế tạo khuôn ép thấu kính plastic, hoặc chế tạo van bi cầu...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Taylor and Francis Group (2017), *Handbook of Optical Engineering*.
- [2] Nguyễn Hồng Ngọc (2005), *Giáo trình công nghệ quang học*, Học viện Kỹ thuật Quân sự.
- [3] Hank H. Karow (2004), *Fabrication Methods for Precision Optics*, John Wiley & Sons, Inc.
- [4] H.E. Bennett, et al. (1961), "Relation between surface roughness and specular reflection at normal incidence", *Journal of the Optical Society of America*, **51**(2), pp.123-129.
- [5] https://en.wikipedia.org/wiki/White_light_interferometry.

Nghiên cứu công nghệ sản xuất giấy chống thấm dầu mỡ, ứng dụng làm bao gói thực phẩm dạng khô

Cao Văn Sơn*, Lê Thị Quỳnh Hoa, Đỗ Thị Thu Nguyệt, Đỗ Thanh Tú

Viện Công nghiệp Giấy và Xenlulô

Ngày nhận bài 8/9/2020; ngày chuyển phản biện 14/9/2020; ngày nhận phản biện 19/10/2020; ngày chấp nhận đăng 16/11/2020

Tóm tắt:

Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu xác lập các điều kiện công nghệ chính trong quá trình sản xuất giấy chống thấm dầu mỡ, sử dụng làm bao gói thực phẩm khô, như thành phần và độ nghiền của bột giấy, mức dùng hóa chất và phụ gia chống thấm dầu mỡ đến tính chất của giấy ở quy mô phòng thí nghiệm, đồng thời điều chỉnh các điều kiện công nghệ và sản xuất thử nghiệm trên dây chuyền công suất 3 tấn/ngày. Chất lượng giấy sản xuất tương đương với sản phẩm giấy nhập khẩu cùng loại đang tiêu thụ trên thị trường: định lượng 42,5 g/m², chiều dài đứt theo chiều dọc 7.520 m, theo chiều ngang 3.740 m; chỉ số độ bền xé theo chiều dọc 6,8 mN.m²/g, theo chiều ngang 5,4 mN.m²/g; chỉ số độ chịu lực 5,6 kPa.m²/g; độ hút nước Cobb₆₀ 17,2 g/m²; trị số KIT là 8, đáp ứng yêu cầu vệ sinh an toàn thực phẩm.

Từ khóa: bao bì thực phẩm, giấy bao gói, giấy chống thấm dầu mỡ.

Chỉ số phân loại: 2.5

Đặt vấn đề

Bao bì giấy được sử dụng nhiều và phổ biến trong bao gói thực phẩm, chiếm tới 34% thị phần vật liệu bao bì thực phẩm trên thế giới [1]. Để bao gói thực phẩm dạng khô, tiếp xúc trực tiếp thường dùng là loại giấy có độ bền cơ lý cao và có tính năng đặc biệt như: giấy chống thấm dầu mỡ, giấy tráng nhôm, trong đó giấy chống thấm dầu mỡ thường được sử dụng hơn cả. Ở Việt Nam, các sản phẩm giấy dùng để bao gói trực tiếp thực phẩm dạng khô được nhập khẩu 100% từ Indonesia, Nhật Bản, Italia, Mỹ, Trung Quốc...

Giấy bao gói thực phẩm dạng khô được dùng để bao gói các đồ ăn nhanh, đồ ăn sẵn, các loại bánh, thực phẩm có chứa bơ, thực phẩm được chiên bằng dầu... Do vậy ngoài yêu cầu về độ bền cơ lý, an toàn vệ sinh thực phẩm thì tính năng quan trọng cần có là tính chống thấm dầu mỡ.

Để sản xuất giấy bao gói thực phẩm dạng khô có thể sử dụng hoàn toàn phương pháp cơ học mà không cần phụ gia. Bột giấy được nghiền tới độ nghiền rất cao trước khi đem xeo, bằng giấy khi xeo được ép và cán láng rất chặt để tạo nên khả năng chống thấm dầu mỡ. Với phương pháp này, nhược điểm là tiêu tốn rất nhiều năng lượng cho quá trình nghiền, bột giấy khó thoát nước trên lưới xeo, tăng năng lượng sấy, làm ảnh hưởng đến tốc độ máy xeo [2].

Bên cạnh việc sử dụng phương pháp cơ học để tạo cho giấy có tính chống thấm dầu mỡ thì có thể sử dụng các phương pháp như: sử dụng tinh bột, carboxymethyl cellulose (CMC), polyvinylalcohol (PVOH), các hợp chất fluoro cho tráng phủ bề mặt hoặc cho cả quá trình gia keo nội bộ và tráng phủ bề mặt [2-4]; tráng hoặc ghép 1 lớp

màng mỏng PE hay PP lên trên bề mặt giấy tiếp xúc với thực phẩm; xử lý bằng sáp nóng hoặc tráng/ghép một lớp nhôm mỏng lên bề mặt. Tuy nhiên, ngày nay phương pháp sử dụng các chất fluoro trong sản xuất giấy bao gói thực phẩm được ưu tiên dùng hơn cả do chúng vừa có khả năng chống thấm dầu mỡ, chịu được nhiệt độ cao, không thôi nhiễm, an toàn vệ sinh thực phẩm, có thể sử dụng gia keo nội bộ hoặc tráng phủ bề mặt trực tiếp trên dây chuyền xeo giấy. Một số hóa chất thương phẩm hay được sử dụng như: AG-E060, AG-E070, AG-E080 (oil and grease resistant fluorochemical) của Công ty AGC Chemicals ASAHI GLASS Co., Ltd.

Mục tiêu của nghiên cứu này là xác lập các điều kiện công nghệ chính sản xuất giấy bao gói thực phẩm dạng khô chất lượng cao với mục đích dùng cho bao gói bánh sandwich, bánh biscuit, thực phẩm và đồ ăn nhanh có chứa bơ, dầu mỡ. Chất lượng mẫu giấy phải tương đương với sản phẩm nhập khẩu từ Indonesia, đáp ứng được một số chỉ tiêu của tiêu chuẩn Liên bang Nga GOST 1760:2014 và tiêu chuẩn Ấn Độ IS 6622:1972 Reaffirmed 1999, cụ thể: định lượng 40-50 g/m²; chiều dài đứt theo chiều dọc ≥ 7.480 m, theo chiều ngang ≥ 4.760 m; chỉ số độ bền xé theo chiều dọc $\geq 5,9$ mN.m²/g, theo chiều ngang $\geq 5,5$ mN.m²/g; chỉ số độ chịu lực $\geq 3,8$ kPa.m²/g; độ hút nước Cobb₆₀ ≤ 17 g/m²; trị số KIT ≥ 7 ; hàm lượng chì $\leq 3,0$ mg/kg; hàm lượng cadimi $\leq 0,5$ mg/kg; hàm lượng thủy ngân $\leq 0,5$ mg/kg; hàm lượng pentachlorophenol (PCP) $\leq 0,15$ mg/kg [5].

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu, hóa chất và thiết bị

Bột giấy: bột giấy hoá học tẩy trắng từ gỗ cứng (BHKP)

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

Study on technology of greaseproof paper for dry food packaging

Van Son Cao*, Thi Quynh Hoa Le, Thi Thu Nguyet Do, Thanh Tu Do

Research Institute of Pulp and Paper Industry

Received 8 September 2020; accepted 16 November 2020

Abstract:

This paper presents the research results that established the main technological conditions in the production of greaseproof paper, used as the packaging of dry food as the proportion of pulp types, the degree of the beating of pulp, the use of chemicals and oil and greaseproof resistant agent to the properties of the paper on a laboratory scale. At the same time, experimental production and technology conditions were regulated on a 3 ton/day capacity line. The paper quality produced is equivalent to the imported paper products of the same type which is consumed in the market: basis weight: 42.5 g/m²; tensile breaking length: MD (Machine Direction): 7,520 m, CD (Cross Direction): 3,740 m; tear index: MD: 6.8 mN.m²/g, CD: 5.4 mN.m²/g; burst index: 5.6 kPa. m²/g; Cobb₆₀: 17.2 g/m²; KIT rating: 8; ensuring food safety and hygiene.

Keywords: glassine, greaseproof paper, wrapping paper.

Classification number: 2.5

nhập khẩu của Indonesia, bột giấy hoá học tẩy trắng từ gỗ mềm (BSKP) nhập khẩu của Mỹ.

Hoá chất phụ gia: chất chống thấm dầu mỡ AG-E080 (oil and grease resistant fluorochemical) của Công ty AGC Chemicals ASAHI GLASS Co., Ltd; tinh bột cation, tinh bột oxy hoá, keo AKD (Alkyl Ketene Dimer) do Công ty Thuận Phát Hưng cung cấp; trợ bảo lưu Percol-182 của Hãng Ciba.

Các thiết bị được sử dụng trong nghiên cứu: máy nghiền PFI, máy xeo thí nghiệm và các thiết bị đo tính chất cơ lý của bột giấy và giấy là các thiết bị thí nghiệm tiêu chuẩn trong công nghiệp giấy của EU, Đức, Mỹ và Ấn Độ. Thiết bị thí nghiệm gia keo bề mặt giấy (Việt Nam). Sản xuất thử nghiệm trên dây chuyền máy xeo lưới dài công suất 3 tấn/ngày (Đức).

Phương pháp thực nghiệm

Tạo mẫu giấy để: bột giấy BHKP và BSKP được nghiền riêng với các chế độ và mức độ nghiền khác nhau. Các điều kiện nghiền trên máy nghiền tiêu chuẩn PFI cho hai loại bột giấy: nồng độ nghiền 10%; áp lực nghiền 3,33 N/mm; bột giấy được nghiền tới độ nghiền xác định thông qua đặt số vòng nghiền tương ứng. Các loại bột giấy sau khi nghiền sẽ được phối trộn với nhau theo tỷ lệ nhất định trước khi tiến hành gia phụ liệu và xeo mẫu giấy.

Xeo mẫu giấy: hỗn hợp bột giấy sau phối trộn được bổ sung hóa chất phụ gia với các mức dùng xác định (tuỳ theo các mẫu thí nghiệm). Huyền phù bột giấy và phụ gia sau khi được khuấy trộn đều sẽ được xeo thành mẫu giấy (mỗi mẫu giấy 15 tờ) với định lượng 50 g/m² trên máy xeo thí nghiệm. Mẫu giấy sau đó được đem xác định các tính chất cơ lý hoặc tiếp tục chuyển qua công đoạn gia keo bề mặt.

Gia keo bề mặt giấy: tinh bột oxy hoá được hồ hoá ở nhiệt độ 85÷90°C, nồng độ 10%. Dung dịch tinh bột sau đó được bổ sung hóa chất chống thấm dầu mỡ với tỷ lệ xác định, nước ấm, khuấy trộn đều và ổn nhiệt trong suốt quá trình gia keo bề mặt. Nồng độ dịch tráng 6%. Giấy để được chuẩn bị với độ khô 92±2% được đưa vào ép gia keo trên thiết bị gia keo thí nghiệm dạng 2 lô (bảng cao su, đường kính 150 mm) với nồng độ dịch gia keo là 6%, định lượng gia keo được điều chỉnh bằng áp lực của khe ép giữa 2 lô cao su.

Giấy sau gia keo bề mặt được phơi ở nhiệt độ phòng, sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 65±2°C. Mẫu giấy có độ khô 92±2% sẽ được cán láng qua hệ thống ép quang của máy xeo giấy tại xưởng thực nghiệm của đơn vị. Các mẫu giấy sau đó được xác định các tính chất cơ lý, hóa học và chỉ số chống thấm dầu mỡ.

Sản xuất thực nghiệm: trên cơ sở các thông số kỹ thuật công nghệ được xác lập từ quá trình nghiên cứu, tiến hành hiệu chỉnh công nghệ, thiết bị và tiến hành sản xuất thử nghiệm giấy bao gói thực phẩm dạng khô trên dây chuyền sản xuất giấy công suất 3 tấn/ngày.

Các phương pháp phân tích tính chất của giấy: xác định định lượng của giấy theo TCVN 1270:2008; độ bền kéo theo TCVN 1862-2:2011; độ bền xé của giấy theo TCVN 3229:2015; độ chịu bụi của giấy theo TCVN 7631:2007; độ hút nước Cobb₆₀ của giấy theo TCVN 6726:2007; khả năng thấm dầu mỡ của giấy theo TCVN 11620-2:2016; xác định hàm lượng cadimi, hàm lượng chì có trong giấy theo TCVN 10093:2013; xác định hàm lượng thủy ngân có trong giấy theo TCVN 10092:2013; xác định hàm lượng pentachlorophenol (PCP) có trong giấy theo TCVN 10096:2013; xác định độ nghiền của bột giấy theo ISO 5267-1:1999.

Kết quả và bàn luận

Nghiên cứu xác lập các điều kiện công nghệ sản xuất giấy bao gói thực phẩm dạng khô ở quy mô phòng thí nghiệm

Ảnh hưởng của tỷ lệ bột giấy BSKP tới tính chất của giấy:

Thành phần xơ sợi trong quá trình sản xuất giấy có ảnh hưởng rất lớn tới độ bền cơ lý của tờ giấy. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định tỷ lệ bột giấy BHKP và BSKP phù hợp, đảm bảo được yêu cầu về tính chất cơ lý của giấy để theo yêu cầu đặt ra.

Qua phân tích về ngoại quan, thành phần bột giấy của các mẫu giấy nhập khẩu cho thấy: giấy mỏng, chặt và trong. Thành phần bột giấy bao gồm bột BHKP là chính, tỷ lệ bột BSKP thấp và hai loại bột này được nghiền tới độ nghiền khá cao. Do vậy qua các nghiên cứu thăm dò, độ nghiền được lựa chọn để nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ bột giấy BSKP tới tính chất cơ lý của mẫu giấy đề là 50°SR. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ bột giấy BSKP tới tính chất cơ lý của mẫu giấy được đưa ra trong bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của tỷ lệ bột giấy BSKP đến tính chất cơ lý của giấy đề.

TT	Các chỉ số	Mẫu đối chứng*	Mẫu thí nghiệm			
			M1	M2	M3	M4
1	Bột giấy BHKP (%)	-	60	70	80	90
	Bột giấy BSKP (%)		40	30	20	10
2	Chiều dài đứt (m)	6.120	6.450	6.180	5.980	5.670
3	Chỉ số độ bền xé (mN.m ² /g)	5,7	8,38	7,50	7,15	6,78
4	Chỉ số độ chịu lực (kPa.m ² /g)	3,8	4,64	4,31	3,89	3,76

Ghi chú: *: các thông số kỹ thuật lấy trung bình theo chiều dọc và chiều ngang (mẫu giấy của Indonesia).

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tại độ nghiền 50°SR, khi giảm tỷ lệ bột BSKP từ 40 xuống 10%, độ bền cơ lý của mẫu giấy giảm, song giảm nhiều nhất là chiều dài đứt, mặc dù vậy hầu hết các chỉ số về độ bền cơ lý của mẫu giấy xeo thí nghiệm đều cao hơn giá trị trung bình theo hai chiều của mẫu giấy đối chứng. Tuy nhiên, khi kết hợp thêm các hóa chất phụ gia, quá trình cán láng, ép quang có thể làm giảm tính chất cơ lý của giấy, nên để đảm bảo về độ bền của giấy dùng cho sản xuất giấy bao gói thực phẩm khô, tỷ lệ bột giấy BHKP/BSKP được lựa chọn là 70/30 [6].

Ảnh hưởng của độ nghiền tới tính chất của giấy:

Trong sản xuất giấy bao gói, bột giấy thường được nghiền tới độ nghiền 25÷35°SR. Với độ nghiền này, giấy có độ bền cao, đặc biệt là độ chịu xé, độ thấm khí cao, rất thích hợp cho gia công bao bì làm túi đựng hàng. Tuy nhiên, đối với quá trình sản xuất giấy bao gói thực phẩm khô, yêu cầu sản phẩm phải hạn chế, chống dầu mỡ thấm qua. Quá trình sản xuất theo phương pháp cơ học, bột giấy thường

được nghiền tới độ nghiền rất cao, từ 50 tới 90°SR [2]. Với phương pháp này thường tiêu tốn khá nhiều năng lượng, bột giấy khó thoát nước trong quá trình xeo và ép. Song nếu sử dụng kết hợp hóa chất để tạo cho giấy khả năng chống thấm dầu mỡ thì trong sản xuất không nhất thiết phải nghiền bột tới độ nghiền quá cao. Các kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của độ nghiền bột giấy tới tính chất cơ lý của mẫu giấy được đưa ra trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của độ nghiền bột giấy tới tính chất cơ lý của giấy đề.

TT	Các chỉ số	Mẫu đối chứng	Độ nghiền, °SR					
			35	40	45	50	55	60
1	Chiều dài đứt (m)	6.120	5.420	5.810	6.020	6.280	6.350	6.050
2	Chỉ số độ bền xé (mN.m ² /g)	5,7	8,31	8,32	8,12	7,50	7,20	6,40
3	Chỉ số độ chịu lực (kPa.m ² /g)	3,8	3,94	3,98	4,14	4,31	4,52	4,36
4	Độ thấm khí của giấy (ml/phút)	320	590	461	375	300	272	250

Kết quả trong bảng 2 cho thấy, khi tăng độ nghiền từ 35 lên 50°SR tính chất cơ lý của mẫu giấy có những thay đổi rõ rệt. Chiều dài đứt của mẫu giấy tăng từ 5.420 lên 6.280 m (tăng gần 16%), điều này là do khi tăng độ nghiền xơ sợi bên cạnh được cắt ngắn thì quá trình phân to, chổi hóa được tăng cường, làm tăng liên kết giữa các xơ sợi (liên kết hóa học); trong khi chiều dài đứt của giấy phụ thuộc nhiều nhất vào liên kết giữa các xơ sợi. Ngược lại với chiều dài đứt, chỉ số độ bền xé của mẫu giấy với độ nghiền trong khoảng 35÷40°SR gần như không thay đổi, đạt 8,32 mN.m²/g, song khi tiếp tục tăng độ nghiền tới 50°SR thì chỉ số độ bền xé lại giảm, nguyên nhân là do độ bền xé của giấy phụ thuộc nhiều vào chiều dài xơ sợi (liên kết vật lý) và khả năng chịu giãn của giấy, ít phụ thuộc vào sự liên kết giữa các xơ sợi nên khi xơ sợi bị cắt ngắn nhiều sẽ làm giảm độ bền xé. Đối với chỉ số độ chịu lực, do phụ thuộc vào hai yếu tố chính là chiều dài xơ sợi (liên kết vật lý) và liên kết giữa các xơ sợi (liên kết hóa học), nên khi tăng độ nghiền sẽ làm tăng độ bền (khi tăng độ nghiền từ 35 lên 50°SR, chỉ số độ bền tăng từ 3,94 lên 4,31 kPa.m²/g - tăng gần 9,4%). Độ thấm khí của giấy giảm gần 50% khi tăng độ nghiền từ 35 lên 50°SR, điều này là do khi tăng độ nghiền, kích thước xơ sợi ngày càng ngắn, phân tơ nhỏ, mịn nên quá trình hình thành tờ giấy, ép và sấy số lượng các mao dẫn trong tờ giấy có kích thước lớn giảm dần [6].

Khi tiếp tục tăng độ nghiền lên 55÷60°SR, quá trình nghiền rất khó khăn, độ nghiền tăng chậm do nhiệt độ khối bột giấy và độ nhớt khối bột tăng. Chiều dài đứt của mẫu giấy tiếp tục tăng và đạt cao nhất tại độ nghiền 55°SR là 6.350 m và có xu hướng giảm khi tăng độ nghiền lên 60°SR, điều này cho thấy xơ sợi bột giấy trong quá trình nghiền đã bị cắt quá ngắn nên khả năng liên kết vật lý bắt đầu giảm mạnh, liên kết giữa các xơ sợi đã tới giới hạn. Chỉ số độ bền xé giảm tới giảm 14,6% so giá trị tại độ nghiền 50°SR; chỉ số độ chịu lực thay đổi không đáng kể; độ thấm khí giảm

manh, đạt giá trị 250 ml/phút tại độ nghiền 60⁰SR.

Từ các kết quả thí nghiệm trên cùng với yêu cầu đặt ra, cho phép lựa chọn độ nghiền phù hợp cho sản xuất giấy để là 50⁰SR.

Ảnh hưởng của mức dùng keo AKD tới khả năng chống thấm của giấy:

Giấy bao gói nói chung và giấy bao gói thực phẩm nói riêng yêu cầu độ chống thấm nước cao. Các hóa chất thường được sử dụng cho chống thấm trong quá trình sản xuất giấy: keo nhựa thông dùng cho gia keo trong môi trường axit; keo AKD (alkyl keten dimer), ASA (alkenil succinic acid) dùng cho gia keo trong môi trường trung tính và kiềm tính. Ngày nay đa phần các nhà máy sản xuất giấy bao bì, giấy vắn hóa chủ yếu sử dụng keo AKD để chống thấm cho giấy. Qua tổng hợp tài liệu và các thí nghiệm thăm dò để đạt được độ hút nước dưới 17 g/m² ở mẫu giấy thành phẩm thì độ hút nước Cobb₆₀ của giấy để phải dưới 25 g/m². Các kết quả thí nghiệm về ảnh hưởng của mức dùng keo AKD tới độ hút Cobb₆₀ được đưa ra trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của mức dùng AKD đến tính chống thấm của giấy để.

TT	Các chỉ số	Mức dùng AKD thương phẩm (% so với bột giấy khô tuyệt đối - KTD)			
		0,50	0,75	1,00	1,25
1	Chiều dài đứt (m)	6.270	6.250	6.180	6.220
2	Chỉ số độ bền xé (mN.m ² /g)	7,51	7,46	7,47	7,52
3	Chỉ số độ chịu lực (kPa.m ² /g)	4,28	4,33	4,12	4,23
4	Độ hút nước Cobb ₆₀ (g/m ²)	57,5	42,8	28,7	24,8
5	Độ thấm khí (ml/phút)	320	290	280	290

Từ kết quả trong bảng 3 cho thấy, khi tăng mức dùng keo AKD từ 0,50% lên 1,25% thì độ hút nước của mẫu giấy giảm từ 57,5 xuống 24,8 g/m², các tính chất cơ lý của mẫu giấy không có sự thay đổi nhiều. Như vậy, với mức dùng 1,25% keo AKD (hàm lượng chất rắn 10%) là phù hợp cho sản xuất giấy để.

Ảnh hưởng của mức dùng chất chống thấm dầu mỡ trong dung dịch gia keo bề mặt đến tính chất giấy:

Dung dịch dùng cho gia keo bề mặt tạo tính chống thấm dầu mỡ cho mẫu giấy chủ yếu gồm tinh bột oxy hóa đã được hồ hóa kết hợp với chất chống thấm dầu mỡ. Hỗn hợp này được điều chỉnh ở nồng độ phù hợp với quá trình sản xuất (tốc độ chạy máy, định lượng lớp gia keo, công nghệ tráng, công suất các tổ sấy...). Để phù hợp với dây chuyền sản xuất thử nghiệm của xưởng thực nghiệm tại Viện Công nghiệp Giấy và Xenlulô khi triển khai sản xuất thử nghiệm, nồng độ dịch gia keo dùng cho các thí nghiệm được chuẩn bị là 6%.

Mức dùng hóa chất chống thấm dầu mỡ bên cạnh quyết định tới khả năng chống thấm dầu mỡ của tờ giấy nó còn

ảnh hưởng rất lớn tới giá thành sản phẩm, do vậy cần phải lựa chọn được mức dùng phù hợp. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của mức dùng AG-E080 trong dung dịch gia keo bề mặt đến tính chất giấy được đưa ra ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của mức dùng AG-E080 trong dung dịch gia keo bề mặt đến tính chất giấy.

TT	Các chỉ số	Mức dùng AG-E080 thương phẩm (% so với tinh bột oxy hóa)			
		4	6	8	10
1	Định lượng giấy trước gia keo (g/m ²)	49,3	49,6	49,1	49,5
2	Định lượng giấy sau gia keo (g/m ²)	50,8	51,2	50,7	51,1
3	Trị số KIT	3	8	11	12
4	Độ hút nước Cobb ₆₀ (g/m ²)	22,7	16,8	16,3	15,0
5	Chiều dài đứt (m)	6.340	6.550	6.580	6.530
6	Chỉ số độ bền xé (mN.m ² /g)	7,02	5,87	5,38	5,32
7	Chỉ số độ chịu lực (kPa.m ² /g)	4,83	5,45	6,37	6,30
8	Độ thấm khí (ml/phút)	230	190	176	170

Kết quả thí nghiệm cho thấy, khi tăng mức dùng hóa chất chống thấm dầu mỡ từ 4 lên 8% thì trị số KIT (tính chống thấm dầu mỡ) tăng từ 3 lên 11, khả năng hút nước giảm từ 22,7 xuống còn 16,3 g/m². Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng mức dùng AG-E080 lên 10% thì trị số KIT tăng không nhiều, độ hút nước Cobb₆₀ giảm rất ít, điều này cho thấy dịch gia keo và AG-E080 đã bão hòa trên bề mặt giấy và các mao dẫn trong giấy.

Các tính chất cơ lý của mẫu giấy có sự thay đổi rõ rệt: chiều dài đứt và chỉ số độ chịu lực của giấy tăng hơn so với giấy để, ngược lại, chỉ số độ bền xé của giấy giảm. Điều này có thể là do tinh bột kết hợp với hóa chất tạo thành lớp màng liên kết, làm chỉ số độ chịu lực cũng như chiều dài đứt tăng và độ thấm khí giảm rõ rệt. Chỉ số độ bền xé của giấy giảm có thể do tác động của hóa chất đã làm giảm độ mềm mại cũng như độ đàn hồi của xơ sợi bột giấy.

Từ các yêu cầu về tính chất cơ lý và khả năng chống thấm dầu mỡ của giấy thì mức dùng AG-E080 6% so với tinh bột oxy hóa là lựa chọn phù hợp.

Bên cạnh mẫu giấy đảm bảo các yêu cầu về tính chất cơ lý, khả năng chống thấm dầu mỡ, các mẫu giấy cũng được đem phân tích các chỉ tiêu về an toàn thực phẩm. Kết quả phân tích cho thấy: hàm lượng chì, thủy ngân, cadimi và pentachlorophenol đều không phát hiện thấy trong mẫu giấy.

Sản xuất thử nghiệm giấy bao gói thực phẩm dạng khô trên dây chuyền sản xuất công suất 3 tấn/ngày

Các kết quả nghiên cứu là tiền đề ban đầu cho quá trình hoàn thiện công nghệ và thiết bị khi triển khai sản xuất thử nghiệm ở quy mô công nghiệp trên dây chuyền công suất 3 tấn/ngày của Viện Công nghiệp Giấy và Xenlulô.

Để sản xuất được sản phẩm giấy bao gói thực phẩm chất lượng cao, dây chuyền sản xuất giấy đã được cải tạo, sửa chữa và nâng cấp, đáp ứng yêu cầu cho sản xuất thử sản phẩm. Các điều chỉnh về công nghệ bao gồm: ổn định nồng độ bột tại tháp trước nghiền, độ nghiền giữa các mẻ, ổn định lưu lượng hóa chất, dịch tráng; tăng độ nghiền bột lên $55 \pm 2^\circ \text{SR}$, giảm mức dùng AG-E080 xuống còn 4% (so với tinh bột), giảm định lượng lớp gia keo xuống còn $1,5 \div 1,8 \text{ g/m}^2$ khi chạy giấy định lượng 40 g/m^2 . Các hiệu chỉnh về thiết bị: thiết lập khúc tuyến sấy phù hợp cho sấy giấy mỏng, thiết lập áp lực tại các cặp ép ướt, ép quang, ép gia keo cho phù hợp, đồng tốc giữa các điểm chuyển động, căn chỉnh lại độ căng của chần ép, bạt sấy cho phù hợp.

Chất lượng sản phẩm giấy bao gói thực phẩm khô với hai loại định lượng khác nhau (40 ± 2 và $50 \pm 2 \text{ g/m}^2$) thu được sau quá trình hiệu chỉnh công nghệ và thiết bị được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. Chất lượng giấy bao gói thực phẩm dạng khô sản xuất thử nghiệm.

TT	Chỉ tiêu chất lượng	Giấy nhập khẩu từ Indonesia	Giấy sản xuất tại xưởng thực nghiệm**	
1	Định lượng thực tế (g/m^2)	40,3	51,2	42,5
2	Chỉ số độ chịu bụi ($\text{kPa.m}^2/\text{g}$)	3,8	5,5	5,6
3	Chỉ số độ bền xé ($\text{mN.m}^2/\text{g}$)			
	- Chiều dọc	5,9	7,1	6,8
	- Chiều ngang	5,5	5,3	5,4
4	Chiều dài đứt (m)			
	- Chiều dọc	7.480	7.580	7.520
	- Chiều ngang	4.740	3.890	3.740
5	Độ hút nước Cobb ₆₀ (g/m^2)	14,6	16,8	17,2
6	Trị số KIT	7	8	8
7	Hàm lượng Cadimi (mg/kg)	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện
8	Hàm lượng chì (mg/kg)	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện
9	Hàm lượng thủy ngân (mg/kg)	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện
10	Hàm lượng pentachlorophenol (mg/kg)	Không phát hiện	Không phát hiện	Không phát hiện

Ghi chú: **: sản xuất thực nghiệm với hai loại giấy có định lượng khác nhau: $40 \pm 2 \text{ g/m}^2$ và $50 \pm 2 \text{ g/m}^2$.

Kết quả phân tích các chỉ tiêu chất lượng mẫu giấy sản xuất được cho thấy, về cơ bản các chỉ tiêu đều đạt so với yêu cầu đặt ra, gần tương đương với mẫu giấy nhập khẩu từ Indonesia, chỉ có 2 chỉ số độ bền xé và chiều dài đứt theo chiều ngang là thấp hơn. Tuy nhiên sản phẩm vẫn được thị trường chấp nhận và đánh giá cao.

Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu, nhóm tác giả đã hoàn thiện được dây chuyền thiết bị, quy trình sản xuất giấy bao gói thực phẩm dạng khô chất lượng cao công suất 3 tấn/ngày. Sản phẩm giấy đạt chất lượng theo yêu cầu và tương đương với giấy nhập khẩu cùng loại đang bán trên thị trường.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp quốc gia theo hợp đồng số 001.19.CNC.QG/HĐKHCN. Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Bộ Công Thương đã tạo điều kiện giúp đỡ để hoàn thành tốt kết quả nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] <http://www.cesti.vn/khong-gian-cong-nghe/thuc-nao-bao-bi-nay.html>.
- [2] Henrik Kjellgren (2005), *Barrier properties of greaseproof paper*, Karlstad University Studies, pp.20.
- [3] Patrick Morabito (2004), *Barrier coating for oil and grease resistant*, Patent US 2004/02414751 A1.
- [4] Robert L. Billmers, Victor L. Mackewicz and Ralph M. Trksak (2004), *Protein and starch surface sizings for oil and grease resistant paper*, Patent US 6790270 B1.
- [5] <https://fr.scribd.com/document/364480232/ResAP-2002-1-Appendix>.
- [6] Cao Thị Nhung (2005), *Các yếu tố công nghệ và tính chất các loại giấy*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

Xác định mức độ pha trộn đường của cây C4 trong nước hoa quả trên cơ sở thành phần đồng vị cacbon 13 ($\delta^{13}\text{C}$) trong đường

Hà Lan Anh*, Phạm Đức Khuê, Mai Đình Kiên, Nguyễn Thị Tươi, Vũ Hoài, Võ Thị Anh

Viện Khoa học và Kỹ thuật Hạt nhân

Ngày nhận bài 7/12/2020; ngày chuyển phản biện 9/12/2020; ngày nhận phản biện 5/1/2021; ngày chấp nhận đăng 7/1/2021

Tóm tắt:

Mục tiêu của nghiên cứu này là phát triển phương pháp định lượng mức độ pha trộn đường mía vào nước ép hoa quả (táo) trên cơ sở thành phần đồng vị bền cacbon-13 ($\delta^{13}\text{C}$) trong đường tách từ sản phẩm thương mại. Phương pháp nghiên cứu bao gồm xác định giá trị $\delta^{13}\text{C}$ trong đường tách từ nước ép táo tươi (đường C3), trong đường sản xuất từ cây mía quang hợp theo chu trình C4 (đường C4) và trong đường tách từ nước ép đóng chai sử dụng khối phổ kế tỷ số đồng vị kết nối với hệ phân tích nguyên tố (EA-IRMS). Kết quả cho thấy, giá trị $\delta^{13}\text{C}$ của đường tách từ nước ép táo tươi (đường C3) có giá trị trong khoảng từ -27,00 đến -24,00‰, trung bình là -25,47‰ (n=6) so với mẫu chuẩn VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite). Trong khi đó, giá trị $\delta^{13}\text{C}$ của đường mía có giá trị trong khoảng từ -13,00 đến -11,00‰, trung bình là -12,47‰ (n=6) so với mẫu chuẩn VPDB. Dựa vào dấu vân tay $\delta^{13}\text{C}$ trong hai loại đường và mô hình hòa trộn hai thành phần đã phát hiện được 1 (xuất xứ Việt Nam) trong số 9 mẫu nước ép đóng chai mua từ siêu thị trên địa bàn Hà Nội có mức pha trộn đường mía vào sản phẩm cao đến 96%, khác xa số liệu công bố trên nhãn là 5%. Kỹ thuật tỷ số đồng vị được khuyến cáo là có độ tin cậy cao nên cần được áp dụng để đánh giá chất lượng sản phẩm nước ép hoa quả lưu thông trên thị trường Việt Nam nhằm đảm bảo quyền lợi người tiêu dùng.

Từ khóa: kỹ thuật tỷ số đồng vị IRMS, nước ép hoa quả, tỷ số đồng vị cacbon-13 ($\delta^{13}\text{C}$).

Chỉ số phân loại: 2.11

Mở đầu

Thực tế cho thấy, xu hướng tiêu thụ thực phẩm hiện nay đang ngày càng có sự gia tăng. Một mặt, toàn cầu hóa thúc đẩy sự đồng nhất về thị hiếu và tiêu chuẩn hóa các mô hình tiêu thụ [1, 2]. Mặt khác, người tiêu dùng quan tâm chủ yếu đến các đặc tính như cảm quan, chất lượng, coi trọng nguồn gốc tự nhiên và lành thổ sản xuất sản phẩm [3, 4]. Người tiêu dùng luôn muốn biết thực phẩm của họ đến từ đâu và bao gồm những gì, họ sẵn sàng trả tiền cho các nhân chất lượng, nhãn có chỉ dẫn địa lý [5]. Do đó, các kỹ thuật liên quan đến việc kiểm soát chất lượng thực phẩm ngày càng phát triển và được ứng dụng rộng rãi, đặc biệt là kỹ thuật phân tích tỷ số đồng vị bền có ưu thế mạnh trong xác định sự pha trộn để đánh giá xác thực chất lượng thực phẩm [6].

Các nguyên tố hóa học chính là hydro, cacbon, oxy, nitơ, lưu huỳnh đang được sử dụng rộng rãi trong công tác xác thực nguồn gốc thực phẩm do các đồng vị bền của chúng phân bố phong phú trên trái đất. Phương pháp đo tỷ số đồng vị bền của cacbon thường được sử dụng để xác định nguồn gốc của đường trong các sản phẩm thực phẩm và nước ép hoa quả do quá trình phân tách đồng vị xảy ra một cách rõ ràng trong các quá trình sinh hóa và hóa lý có sự tham gia

của nguyên tố cacbon [7].

Phần lớn thảm thực vật trên trái đất sử dụng quy trình Calvin-Benson để cố định CO_2 từ khí quyển. Giai đoạn cố định CO_2 nhờ chất nhận (acceptor) là RiDP (ribulose 1,5 - diphosphate) chứa tác nhân xúc tác là enzyme ribulose 1,5 - diphosphate carboxylase tạo thành hợp chất gồm 6 nguyên tử cacbon (6C), nhưng hợp chất này không bền nên nhanh chóng bị gãy thành hai phân tử 3C, chứa 3 nguyên tử cacbon là APG (axit phosphoglyxeric). Vì vậy, sản phẩm đầu tiên của quá trình cố định CO_2 này là hợp chất 3C nên người ta gọi thực vật này là cây C3. Enzyme ribulose 1,5 - diphosphate carboxylase (RuBisCo) tham gia quá trình này lại ưu tiên sử dụng đồng vị nhẹ của cacbon (^{12}C) trong CO_2 ($^{12}\text{CO}_2$), tức là có sự phân biệt đối với đồng vị nặng ^{13}C (isotope fractionation). Mặt khác, một số loài thực vật như mía đường, ngô, kê và cây lúa miến ở các vùng khí hậu ẩm lại là thực vật C4 sử dụng chu trình Hatch-Slack cố định CO_2 . Thực vật C4 cách ly RuBisCo ra khỏi oxy trong không khí, cố định cacbon trong các tế bào thịt lá và sử dụng axaloacetat cùng malat để chuyển chở cacbon đã cố định tới RuBisCo và phần còn lại của chu trình Calvin-Benson được cô lập trong các tế bào bó mạch bao. Các hợp chất trung gian đều chứa 4 nguyên tử cacbon nên có tên gọi là C4.

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

Determination of the mixing extent of sugar from C4 plants in juice using the isotopic signature of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) in sugar

Lan Anh Ha*, Duc Khue Pham, Dinh Kien Mai,
Thi Tuoi Nguyen, Hoai Vu, Thi Anh Vo

Institute for Nuclear Science and Technology

Received 7 December 2020; accepted 7 January 2021

Abstract:

The objective of this study was to apply a method for estimating the mixing extent of C4 sugar in juice (apple) based on the fingerprinting of carbon stable isotope ($\delta^{13}\text{C}$). The values of $\delta^{13}\text{C}$ in sugar separated from fresh apples, pure apple juices as well as sugar produced from C4 plants (plants conduct C4 cycle photo-synthesis, in this case, it was sugar canes) were analysed on an isotope ratio mass spectrometer equipped with an elemental analyzer (EA IRMS). The results showed that the $\delta^{13}\text{C}$ in sugar separated from fresh apples was in the range of -27.00 to -24.00‰ with an average of -25.47‰ (n=6) vs. VPDB standard (Vienna Pee Dee Belemnite). Meanwhile, the $\delta^{13}\text{C}$ in sugar cane products ranged from -13.00 to -11.00‰, with an average of -12.47‰ vs. VPDB. Based on the isotope signature of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and the two end-members mixing model, the extent of mixing C4 sugar in apple juice available on the market could be estimated precisely. It was found one out of 9 apple juice samples available in the Hanoi markets to have a high content of C4 sugar mixed in the product, it was up to 96% instead of 5% as proclaimed on the label. The developed method seems to be of high accuracy so it was advisable to wider its application in the evaluation of the quality of juices available at the markets in Vietnam to ensure the right of the consumers.

Keywords: fruit juice, isotope ratio technique IRMS, stable isotope composition of carbon-13 ($\delta^{13}\text{C}$).

Classification number: 2.11

Enzym phosphoenolpyruvate carboxylase xúc tác cho quá trình chuyển hóa này có mức độ phân tách đồng vị cacbon ít hơn so với RuBisCo ở C3 nên trong thực vật C4 đồng vị ^{13}C ít bị nghèo đi. Kết quả là thực vật C4 và các chất chuyển hóa của chúng giàu đồng vị ^{13}C hơn so với các sản phẩm từ thực vật C3. Cây C4 có khoảng giá trị thành phần đồng vị ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) từ -17 đến -9‰ so với mẫu chuẩn là khoáng calcite, đây là vỏ sò đã hóa thạch ở hệ tầng Pee Dee tuổi Creta lấy từ bang Bắc Caroline (Mỹ) do Phòng Thủy văn đồng vị của Cơ quan Năng lượng nguyên tử quốc tế (IAEA) trụ sở tại Vienna (Cộng hòa Áo) chuẩn bị và có ký hiệu là VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite). Giá trị trung bình của $\delta^{13}\text{C}$ trong cây C4 là -13‰, trong khi ở cây C3 khoảng giá trị $\delta^{13}\text{C}$ dao động từ -32 đến -20‰, với giá trị trung bình là -27‰ so với VPDB [8-10].

Thành phần đồng vị ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) được xác định theo công thức:

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{{}^{13}R_s - {}^{13}R_{std}}{{}^{13}R_{std}} \cdot 1000 (\text{‰}) \quad (1)$$

Trong đó: ${}^{13}R_s$ là tỷ số Mole hàm lượng $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ trong mẫu cần đo; ${}^{13}R_{std}$ là tỷ số Mole hàm lượng $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ trong mẫu chuẩn VPDB.

Khi đường từ cây C4 (đường C4) được thêm vào sản phẩm có đường từ cây C3 (đường C3), ví dụ nước sinh tố táo, thì giá trị $\delta^{13}\text{C}$ trong đường của sản phẩm (sinh tố táo) sẽ tăng lên, vì hầu hết siro là sản phẩm từ thực vật C3, nghèo đồng vị ^{13}C . Năm 1991, Chính phủ Anh đã có cuộc khảo sát về khả năng pha trộn đường C4 vào nước cam, nước ép quả mâm xôi, táo, lê và nho được bán ở Anh và quảng cáo là nguyên chất bằng kỹ thuật phân tích $\delta^{13}\text{C}$ trong đường tách chiết từ sản phẩm [11] và đã có kết luận là có gian lận pha thêm đường C4 vào sản phẩm nước ép thương mại.

Hiện nay, phương pháp định lượng $\delta^{13}\text{C}$ trong đường tách từ nước ép hoa quả tươi (juice) có nhãn quảng cáo là sản phẩm tinh khiết đã được áp dụng rộng rãi để xác định mức độ pha trộn đường C4 vào đường C3 hoặc làm giả hàng hóa với phẩm màu trộn với đường C4. Bài báo này trình bày chi tiết phương pháp định lượng mức pha trộn đường C4 vào sản phẩm có nguồn gốc từ cây C3.

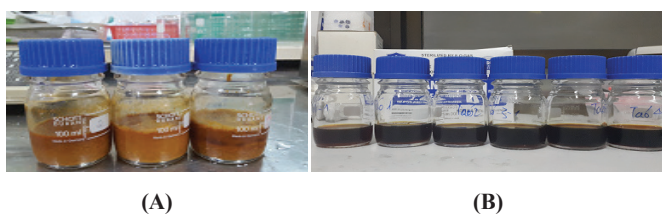
Phương pháp thực nghiệm

Đối tượng và phương pháp xử lý mẫu, tách đường từ nước ép hoa quả tươi

Đối tượng của nghiên cứu này là đường trắng Biên Hòa (đường C4) sản xuất từ cây mía đường vùng Đồng bằng sông Cửu Long; nước ép quả tươi (đường C3) là táo Kinsel - Aomori, Nhật Bản; nước ép hoa quả đóng chai có xuất xứ từ Phần Lan, Australia, Thái Lan, Nhật Bản, tất cả có 9 mẫu. Các loại mẫu nêu trên được mua từ một số siêu thị tại Hà Nội. Nội dung nghiên cứu là phân tích xác định giá trị $\delta^{13}\text{C}$

trong đường trắng, trong đường tách từ nước ép quả táo tươi và từ nước táo ép đóng chai thương mại làm cơ sở đánh giá mức pha thêm đường C4 và đường C3 trong nước táo ép đóng chai. Quy trình xử lý và phân tích mẫu tuân theo tiêu chuẩn châu Âu ENV12140:1996 về xác định tỷ số đồng vị bền ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) trong đường từ nước hoa quả sử dụng khối phổ kế tỷ số đồng vị [12].

Các mẫu sau khi mua từ siêu thị được chuyển ngay trong ngày về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, lấy khoảng 50 g nước ép cho vào ống ly tâm rồi ly tâm 5.000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ thành phần sơ lợ lửng có trong nước ép, gạn lấy phần dung dịch trong. Cho thêm 2 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dạng bột (loại PA, Merck) vào dung dịch sau ly tâm, khuấy đều rồi đưa mẫu vào bể nước đun ở nhiệt độ 90°C trong 3 phút để chuyển các hợp chất, chủ yếu là các axit hữu cơ, axit amin và các hợp chất khác có trong sản phẩm về dạng tủa. Tách phần kết tủa bằng ly tâm hỗn hợp nóng với tốc độ 4.000 vòng/phút trong 5 phút, gạn lấy phần dung dịch trên tủa. Dung dịch này chứa chủ yếu là đường, canxi sulfat (CaSO_4) và một phần nhỏ chất tạo màu [13]. Phần dung dịch thu được được axit hóa bằng axit sulfuric 0,1M đến pH=5. Khi giá trị pH đạt yêu cầu, canxi sulfat kéo theo chất tạo màu kết tủa nên có màu vàng (hình 1A). Tủa CaSO_4 và chất tạo màu được loại bỏ triệt để bằng cách bảo quản hỗn hợp trong tủ lạnh ở 4°C trong 15 h. Sau thời gian lưu giữ mẫu ở nhiệt độ thấp, phần tủa chuyển sang màu tối (hình 1B). Phần tủa được tách khỏi dung dịch bằng cách lọc qua phin Teflon (Poly-Tetra Fluoro Ethylene, PTFE) có kích thước lỗ 0,45 μm , thu phần dung dịch chỉ chứa đường. Dung dịch chứa đường được đông khô để thu đường. Hàm lượng đường trong nước ép táo tươi là khoảng 12% so với lượng nước ép. Hàm lượng đường trong nước táo ép đóng chai là khoảng 10%. Đường đông khô thu được được nghiền nhẹ thành bột mịn trong cối mã não. Mẫu được bảo quản trong lọ thủy tinh có nắp nhựa kín, chuẩn bị cho phân tích tỷ số đồng vị ^{13}C .



Hình 1. Mẫu nước ép táo sau khi axit hóa ở nhiệt độ phòng (A) và sau khi bảo quản ở điều kiện 4°C trong vòng 15 h (B).

Khảo nghiệm mô hình hòa trộn hai thành phần đường trong nước ép hoa quả

Lấy những lượng nước ép táo tươi nhất định rồi cho thêm những lượng đường trắng (đường C4) nhất định vào mẫu, khuấy cho tan hết đường và tiến hành tách đường theo các bước như trình bày ở phần trên. Bảng 1 trình bày kết quả xác định mức pha trộn đường C4 vào C3 trong mẫu giả.

Bảng 1. Phần trăm lượng đường C4 trong tổng lượng đường (TLĐ) tách từ mẫu giả trộn đường C4 vào đường C3.

TT	Lượng nước ép táo đem tách đường, g*	Lượng đường C4 thêm vào hỗn hợp nước táo ép, g	TLĐ thu được, g	% đường C4 so với TLĐ
1	50,02	0	6,11	0
2	47,50	2,5	8,31	30,08
3	45,02	5,0	10,51	47,57
4	40,08	9,98	14,88	67,07
5	35,08	14,98	19,27	77,74

*: giá trị trong bảng là trung bình cộng của 3 thí nghiệm lặp.

Phân tích mẫu

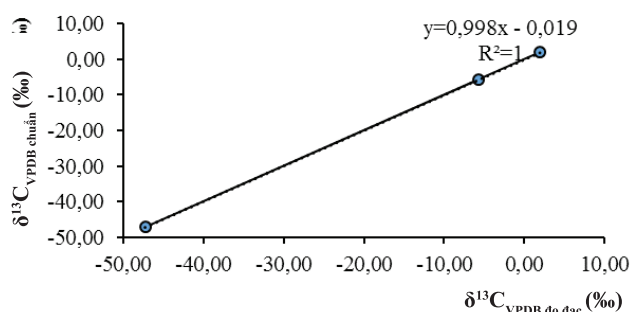
Tỷ số đồng vị ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) trong mẫu đường trắng và trong các mẫu thu được ở trên được định lượng trên thiết bị khối phổ kế tỷ số đồng vị (IRMS - IsoPrime) ghép nối với hệ phân tích nguyên tố EA (Eurovector). Mẫu bột đường được gói vào những con nhộng làm bằng kim loại thiếc. Nạp những con nhộng chứa mẫu vào hệ chuyển mẫu tự động và sau đó hệ nạp mẫu sẽ tự động đẩy mẫu vào hệ EA qua cột nhồi xúc tác gồm hỗn hợp bột crom oxit (Cr_2O_3) trộn với crom tẩm coban (cobaltous chromium: $\text{Cr} + 9\%\text{Co}$ bao trên bề mặt bột Cr) làm chất xúc tác để nhiệt phân mẫu ở nhiệt độ 1030°C và cấp thêm oxy vào cột đốt. Mẫu đường trong điều kiện này sẽ nhiệt phân tạo khí CO và hơi nước cùng các tạp chất khác. Toàn bộ hỗn hợp khí CO và các khí tạp sinh ra trong quá trình đốt mẫu được dòng khí mang heli (He) thổi liên tục qua bể hơi nước là cột nhồi $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ để loại bỏ hơi nước trong mẫu khí. Khí mang tiếp tục đưa mẫu khí khô qua cột nhồi phoi kim loại Cu siêu sạch giữ ở nhiệt độ 650°C để khử triệt để phần khí CO_2 có thể sinh ra trong quá trình nhiệt phân, chuyển sang khí CO. Khí mang đưa tiếp toàn bộ lượng khí CO và khí tạp sang cột sắc ký nhồi bằng vật liệu rây phân tử loại 5 Å để làm sạch các tạp chất. Khí CO đã được làm sạch được khí mang đưa vào buồng IRMS để ion hóa, sau đó đưa vào hệ từ trường của IRMS để phân chia số khối. Các ion có số khối 28 và 29 tương ứng với $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^+$ và $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^+$ đã được tách riêng rẽ trong bộ phân chia theo từ tính sẽ được thu và đếm bằng các cốc Faraday của máy IRMS. Dữ liệu được đưa ra là tỷ số Mole hàm lượng $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tính theo diện tích các đỉnh tương ứng với số khối 29 và 28. Các mẫu kiểm soát chất lượng (mẫu QC - là loại mẫu có giá trị $\delta^{13}\text{C}$ được chứng chỉ) được phân tích kẹp cùng mẫu đường, phần mềm máy tính (do nhà cung cấp IRMS cung cấp) sẽ tính thành phần đồng vị ^{13}C ($\delta^{13}\text{C}$) trong các mẫu theo công thức (1). Sử dụng mẫu QC có mục đích là lập đường chuẩn để xác định giá trị $\delta^{13}\text{C}$ thực, không phải giá trị đo mà máy thể hiện trong mẫu phân tích. Các mẫu QC sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: NBS-19, IAEA CO-08, Sucrose, IAEA 600 và IAEA CO-09 có giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{‰})$ chứng chỉ,

tương ứng là $(+1,95 \pm 0,03)$, $(-5,75 \pm 0,06)$; $(-10,45 \pm 0,13)$; $(-27,775 \pm 0,04)$ và $(-47,14 \pm 0,15)$. Đường chuẩn là đồ thị thể hiện mối tương quan giữa giá trị $\delta^{13}\text{C}$ do hệ EA IRMS đo được đối với từng mẫu QC và giá trị chứng chỉ đối với $\delta^{13}\text{C}$ của mẫu. Yêu cầu đối với đường chuẩn là giá trị $\delta^{13}\text{C}$ trong các mẫu QC (ít nhất là của 3 mẫu) phải bao trùm toàn bộ khoảng giá trị $\delta^{13}\text{C}$ của các mẫu thực dự kiến phân tích định lượng và đường chuẩn phải có hệ số làm khớp (R^2) đạt từ 0,99 đến 1, tức là phải tuyến tính. Trong quá trình phân tích mẫu, hai mẫu QC không được sử dụng trong đường chuẩn cũng được đặt xen kẽ với mẫu đường trong cùng một mẻ phân tích trên hệ chuyển mẫu tự động, cứ 10 mẫu đường lại kẹp thêm 2 mẫu QC không sử dụng để xây dựng đường chuẩn nhưng nằm giữa khoảng $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ của đường chuẩn và mẫu này được gọi là mẫu tham khảo. Mẫu tham khảo sử dụng trong nghiên cứu này là hai mẫu Sucrose và IAEA 600. Mục đích sử dụng mẫu tham khảo là để kiểm tra độ trôi tín hiệu của hệ EA IRMS. Dựa vào đường chuẩn để suy ra giá trị $\delta^{13}\text{C}$ trong các mẫu thực.

Kết quả và thảo luận

Đường chuẩn và độ đúng của phép phân tích

Hình 2 trình bày đường chuẩn xác định giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ trong ba mẫu QC IAEA CO-8, IAEA CO-9 và NBS-19 đủ bao trùm toàn dải $\delta^{13}\text{C}$ trong mẫu đường dự kiến phân tích. Kết quả cho thấy hệ số tương quan của đường chuẩn $R^2=1$ (tuyệt đối tuyến tính) với hệ số góc $a=0,998 \pm 0,001$ và điểm cắt trục tung $b=-0,019 \pm 0,01$ ($P=8,64 \times 10^{-10} < 0,05$) (hình 2).



Hình 2. Đường chuẩn xác định giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ trong 3 mẫu QC: IAEA CO-9, IAEA CO-8 và NBS-19.

Bảng 2 trình bày kết quả kiểm tra độ chính xác/độ lặp lại và độ đúng thông qua hai chỉ số là độ lệch chuẩn (sự sai khác giữa các giá trị đo lặp đối một mẫu nhất định) và mức bias của kết quả đo so với giá trị chứng chỉ. Kết quả cho thấy, độ lệch chuẩn của các giá trị $\delta^{13}\text{C}$ đối với 5 mẫu QC đều $< 0,05\%$, mức bias $\leq 0,6\%$. Điều này cho thấy phép phân tích có kết quả đáng tin cậy.

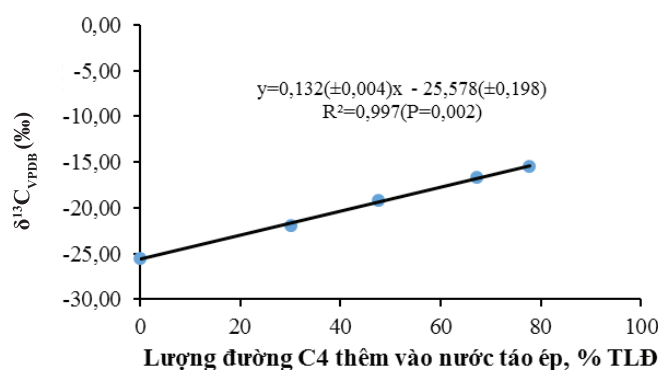
Bảng 2. Độ lặp lại và độ đúng/bias của phép phân tích định lượng $\delta^{13}\text{C}$ trong 5 mẫu chuẩn QC ($n=6$).

Tên mẫu	IAEACO-8	IAEACO-9	NBS-19	Sucrose	IAEA-600
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰)
	-5,79	-47,31	1,98	-10,40	-27,78
	-5,78	-47,19	1,95	-10,41	-27,76
	-5,78	-47,28	1,96	-10,46	-27,76
	-5,74	-47,20	1,96	-10,45	-27,77
	-5,75	-47,23	1,94	-10,43	-27,78
	-5,73	-47,21	1,98	-10,42	-27,80
Độ lệch chuẩn (%)	0,02	0,05	0,02	0,02	0,02
Giá trị trung bình (%)	-5,76	-47,24	1,96	-10,43	-27,78
Giá trị chứng chỉ (%)	-5,75	-47,14	1,95	-10,45	-27,77
Mức chênh lệch (%) so với giá trị chứng chỉ	-0,20	-0,21	-0,60	0,21	-0,02

Bảng 3 trình bày giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ của 5 mẫu giả trộn thêm đường C4 vào mẫu nước ép táo tươi với hàm lượng khác nhau và hình 3 trình bày mối tương quan giữa giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ và hàm lượng đường C4 cho thêm vào mẫu.

Bảng 3. Giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ trong hỗn hợp đường C4 và C3 với hàm lượng đường C4 khác nhau.

TT	Hàm lượng đường C4 trong TLĐ tách từ nước táo ép (%)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰)
1	0	-25,47
2	30,08	-21,93
3	47,57	-19,12
4	67,07	-16,64
5	77,74	-15,43



Hình 3. Mối tương quan giữa giá trị $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ và hàm lượng đường C4 thêm vào nước ép táo tươi.

Kết quả trình bày trên hình 3 thể hiện mô hình hòa trộn hai thành phần là đường C4 và C3. Nếu gọi phần đường C4 trộn thêm vào mẫu là x thì phần đường C3 trong mẫu sẽ là $(1-x)$ và mô hình hòa trộn hai thành phần đường trong nước ép hoa quả đóng chai tính theo $\delta^{13}\text{C}$ trong hai loại đường có dạng như sau:

$$x.\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{C4}) + (1-x).\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{C3}) = \delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{mẫu}) \quad (2)$$

Trong đó: $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{C4})$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{C3})$, $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{mẫu})$ tương ứng là thành phần đồng vị ^{13}C trong đường C4, đường C3 và trong đường tách từ nước ép hoa quả đóng chai.

Xác định mức pha trộn đường C4 vào lượng đường tách từ nước táo ép đóng chai hiện lưu hành trên thị trường Hà Nội trên cơ sở giá trị $\delta^{13}\text{C}$

Giá trị trung bình của $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{C3})$ trong nước ép táo tươi và $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{C4})$ trong đường trắng Biên Hòa được nghiên cứu này xác định, tương ứng là -12,47 và -25,47‰. Như vậy, từ biểu thức (2) ta tính được phần đóng góp của đường C4 vào TLĐ tách từ nước táo ép đóng chai lưu hành trên thị trường như sau:

$$x = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{mẫu}) + 25,47}{-12,47 + 25,47} = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}(\text{mẫu}) + 25,47}{13} \quad (3)$$

Từ (3) và trên cơ sở các giá trị $\delta^{13}\text{C}$ trong mẫu đường tách từ nước táo ép đóng chai ta xác định được mức pha trộn đường C4 vào sản phẩm nước táo ép lưu hành trên thị trường. Bảng 4 trình bày kết quả đánh giá/xác thực mức pha trộn đường C4 vào TLĐ trong sản phẩm nước táo ép đóng chai hiện đang lưu hành trên thị trường Hà Nội.

Bảng 4. Xác thực mức pha trộn đường C4 vào TLĐ trong sản phẩm nước táo ép đóng chai đang lưu hành trên thị trường Hà Nội.

STT	Tên mẫu	Xuất xứ	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (mẫu), ‰	Hàm lượng đường C4 thêm vào sản phẩm theo công bố trên nhãn, %	Xác thực
1	Mẫu 1	Phần Lan	-24,71	0	Đúng
2	Mẫu 2	Việt Nam	-26,03	0	Đúng
3	Mẫu 3	Thái Lan	-24,61	0	Đúng
4	Mẫu 4	Australian	-26,71	0	Đúng
5	Mẫu 5	Nhật Bản	-26,45	0	Đúng
6	Mẫu 6	Nhật Bản	-26,78	0	Đúng
7	Mẫu 7	Nhật Bản	-25,71	0	Đúng
8	Mẫu 8	Việt Nam	-12,98	5	Sai! 96% là đường C4
9	Mẫu 9	Australian	-25,66	0	Đúng

Kết quả trình bày trong bảng 4 cho thấy, hầu hết các sản phẩm nước táo ép đang lưu hành trên thị trường Hà Nội có hàm lượng đường C4 pha trộn vào sản phẩm là đúng với số liệu công bố trên nhãn hiệu. Tuy nhiên, có một sản phẩm nước táo ép đóng chai (mẫu số 8) số liệu công bố không phù hợp với thực tế. Mẫu nước táo ép số 8 có hàm lượng đường

C4 trong TLĐ là 96%, không phải là 5% như công bố.

Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp xác định tỷ số đồng vị bền của cacbon ($\delta^{13}\text{C}$) trong đường tách từ nước ép hoa quả đóng chai có đủ độ tin cậy để xác thực chất lượng sản phẩm theo chỉ tiêu đánh giá mức đường mía pha trộn cùng đường của hoa quả tự nhiên trên cơ sở mô hình hòa trộn hai thành phần.

Đây là hướng nghiên cứu mới trong lĩnh vực xác thực chất lượng sản phẩm nước ép hoa quả sử dụng kỹ thuật đồng vị. Hướng nghiên cứu này cần được áp dụng rộng rãi đối với nhiều loại nước ép hoa quả khác trên thị trường nhằm đảm bảo quyền lợi người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.H.N. Mak, M. Lumbers, A. Eves (2012), "Globalisation and food consumption in tourism", *Annals of Tourism Research*, **39**(1), pp.171-196.
- [2] L. Casini, C. Contini, C. Romano, G. Scozzafava (2015), "Trends in food consumptions: what is happening to Generation X?", *British Food Journal*, **117**(2), pp.705-718.
- [3] I. Siró, E. Kápolna, B. Kápolna, and A. Lugasi (2008), "Functional food, product development, marketing and consumer acceptance - a review", *Appetite*, **51**(3), pp.456-467.
- [4] T. Meas, W. Hu, M.T. Batte, T.A. Woods, S. Ernst (2014), "Substitutes or complements? Consumer preference for local and organic food attributes", *American Journal of Agricultural Economics*, **97**(4), pp.1044-1071.
- [5] M.C. Aprile, V. Caputo, J.R.M. Nayga (2012), "Consumers' valuation of food quality labels: the case of the European geographic indication and organic farming labels", *International Journal of Consumer Studies*, **36**, pp.158-165.
- [6] F.J Carter, Philip J.H. Dunn, Helen Salouros, Sean Doyle (2017), "Forensic application of stable isotope delta values: proposed minimum requirements for method validation", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **31**(17), pp.1476-1480.
- [7] S. Kelly, S. Heaton, J. Hoogewerff (2005), "Tracing the geographical origin of food: the application of multi-element and multi-isotope analysis", *Trends in Food Science & Technology*, **16**, pp.555-567.
- [8] Da-wen Sun (2008), *Modern techniques for food authentication*, Academic Press.
- [9] M.H. O'Leary (1981), "Carbon isotope fractionation in plants", *Phytochemistry*, **20**, pp.553-567.
- [10] M.H. O'Leary (1998), "Carbon isotopes in photosynthesis", *Bio. Science*, **38**, pp.328-333.
- [11] James F. Carter, Lesley A. Chesson (2017), *Food forensics: stable isotopes as a guide to authenticity and origin*, Taylor & Francis Group.
- [12] ENV12140:1996 (1996), *Fruit and vegetable juices - Determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of sugars from fruit juices - Method using isotope ratio mass spectrometry*, European Committee for Standardization.
- [13] Dana Alina Magdas, Nicoleta Simona Vedeau, Romulus Puscas (2012), "The use of stable isotopes ratios for authentication of fruit juices", *Chemical Papers*, **66**(2), pp.152-155.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI VIẾT ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài viết gửi đăng trên Tạp chí phải là bài viết nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài viết 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 viết gửi về Tòa soạn dưới dạng file mềm và bản in; có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, Cầu Giấy, Hà Nội) hoặc qua hòm thư điện tử, địa chỉ: khcnvn@most.gov.vn.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, 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.

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh. Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khoá bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet. Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

Dẫn nhập/đặt vấn đề

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.

Đối tượng và phương pháp

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...

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.

Bàn luận

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.

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.

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 1 hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập (số)**, pp<trang đầu-trang cuối>

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

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...

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).

Tập (số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này in đậm).

Trang đầu-trang cuối là số thứ tự các trang phản ánh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Chú ý: nếu có ≥ 2 tài liệu tham khảo do cùng 1 tác giả/nhóm tác giả, cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a).

Nếu có một số tài liệu tham khảo trong cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: Kitchen (1982, p 39).

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Tòa 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.

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 Y - dược học

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

Volume 63 - Number 3 - March 2021

Nghiên cứu hình thái bề mặt của màng polyaniline ảnh hưởng đến hiệu suất cảm biến khí NH_3 ở nhiệt độ phòng.

Luyện Quốc Vương, Bùi Văn Dân, Nguyễn Trọng Nghĩa, Hoàng Thị Hiền, Hồ Trường Giang, Trần Trung, Trần Thanh Bình, Chu Văn Tuấn

Nghiên cứu khả năng hấp phụ các ion kim loại Co^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} của vật liệu copolyme điều chế bằng kỹ thuật ghép bức xạ γCo^{60} .

Phạm Bảo Ngọc, Nguyễn Giảng, Lê Văn Toàn, Lê Xuân Cường, Nguyễn Minh Hiệp, Vũ Ngọc Bích Đào, Trần Thị Tâm, Lê Văn Thức, Lê Thị Thùy Linh, Lê Thị Bích Thy, Hán Huỳnh Diện, Nguyễn Trọng Hoàng Phong

Hoạt tính chống oxy hóa, đối kháng của cao chiết từ lá và thành phần tinh dầu loài Bưởi bung (*Acronychia pedunculata* (L.) Miq.).

Phùng Thị Tuyền, Ma Minh Nguyệt, Phạm Thanh Hà, Nguyễn Như Ngọc

Khảo sát điều kiện lên men của chủng vi khuẩn biển *Bacillus velezensis* AlgSm1 để thu nhận alginate lyase.

Cao Thị Thúy Hằng, Võ Mai Như Hiếu, Phạm Đức Thịnh, Nguyễn Ngọc Linh, Nguyễn Đình Thuật, Trần Thị Thanh Vân

Phân lập và đánh giá khả năng phân hủy lá mía của các dòng vi khuẩn trong đất phèn trồng mía ở Đồng bằng sông Cửu Long.

Vũ Văn Long, Trần Văn Dũng

Xác định đặc điểm vùng gen *rbcL* và *trnH-psbA* của phân loài Vân sam Phan Xi Păng (*Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Q.P. Xiang) Rurhforth) ở Việt Nam.

Nguyễn Hùng Mạnh, Lại Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Hồng Mai, Nguyễn Thị Phương Trang, Nguyễn Văn Sinh

Phát triển phương pháp xác định tổn hao ứng suất trước trong vùng neo cáp sử dụng đáp ứng trở kháng và mạng nơ-ron nhân tạo.

Lưu Trần Hữu Tín, Hồ Đức Duy

Nghiên cứu khả năng kháng uốn của bê tông siêu tính năng gia cố cốt sợi thép dưới tác dụng của tải trọng động.

Ngô Trí Thường, Hoàng Văn Hải

Chế tạo đầu đo nhấp nháy CsI(Tl) ghép nối quang điốt ghi đo bức xạ gamma.

Phạm Đình Khang, Đinh Tiến Hùng, Đinh Kim Chiến, Cao Văn Hiệp, Nguyễn Xuân Hải, Nguyễn Ngọc Anh

Nghiên cứu công nghệ mài bóng quang học gương cầu vật liệu thép hợp kim.

Phạm Hồng Tuấn, Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Thành Hợp

Nghiên cứu công nghệ sản xuất giấy chống thấm dầu mỡ, ứng dụng làm bao gói thực phẩm dạng khô.

Cao Văn Sơn, Lê Thị Quỳnh Hoa, Đỗ Thị Thu Nguyệt, Đỗ Thanh Tú

Xác định mức độ pha trộn đường của cây C4 trong nước hoa quả trên cơ sở thành phần đồng vị cacbon $\delta^{13}\text{C}$ trong đường.

Hà Lan Anh, Phạm Đức Khuê, Mai Đình Kiên, Nguyễn Thị Tươi, Vũ Hoài, Võ Thị Anh

1

Research on surface morphology of polyaniline film affecting NH_3 gas sensor efficiency at room temperature.

Quoc Vuong Luyen, Van Dan Bui, Trong Nghia Nguyen, Thi Hien Hoang, Truong Giang Ho, Trung Tran, Thanh Binh Tran, Van Tuan Chu

6

Study on the adsorption of heavy metal ions Pb^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} from the aqueous solution of the copolymer prepared by gamma induced radiation polymerization.

Bao Ngoc Pham, Giang Nguyen, Van Toan Le, Xuan Cuong Le, Minh Hiep Nguyen, Ngoc Bich Dao Vu, Thi Tam Tran, Van Thuc Le, Thi Thuy Linh Le, Thi Bich Thy Le, Huynh Dien Han, Trong Hoanh Phong Nguyen

12

Antioxidant, allelopathic activities of leaf extracts and essential oil compositions of *Acronychia pedunculata* (L.) Miq.

Thi Tuyen Phung, Minh Nguyet Ma, Thanh Ha Pham, Nhu Ngoc Nguyen

19

Study on culture conditions for extracellular alginate lyase production by *Bacillus velezensis* AlgSm1.

Thi Thuy Hang Cao, Mai Nhu Hieu Vo, Duc Thinh Pham, Ngoc Linh Nguyen, Dinh Thuat Nguyen, Thi Thanh Van Tran

24

Isolation and evaluation of the ability to decompose sugarcane leaves of bacterial strains from acid sulfate soils in the Mekong River Delta.

Van Long Vu, Van Dung Tran

28

Molecular characteristic of *rbcL* and *trnH-psbA* of *Abies delavayi* subsp. *fansipanensis* (Xiang Q.P.) Rurhforth in Vietnam.

Hung Manh Nguyen, Thi Thu Hang Lai, Thi Hong Mai Nguyen, Thi Phuong Trang Nguyen, Van Sinh Nguyen

33

Development of prestress-loss identification method in the cable-anchor age system using impedance responses and artificial neural networks.

Tran Huu Tin Luu, Duc Duy Ho

40

Flexural behaviour of ultra-high-performance fiber-reinforced concrete at high strain rates.

Tri Thuong Ngo, Van Hai Hoang

46

Designing and setting up the scintillation detector using CsI(Tl) crystals and avalanche photodiode for gamma-ray measurement.

Dinh Khang Pham, Tien Hung Dinh, Kim Chien Dinh, Van Hiep Cao, Xuan Hai Nguyen, Ngoc Anh Nguyen

50

Research on the optical grinding and polishing technology of spherical mirror based on alloy steel materials.

Hong Tuan Pham, Xuan Thanh Nguyen, Thanh Hop Nguyen

55

Study on technology of greaseproof paper for dry food packaging.

Van Son Cao, Thi Quynh Hoa Le, Thi Thu Nguyet Do, Thanh Tu Do

60

Determination of the mixing extent of sugar from C4 plants in juice using the isotopic signature of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) in sugar.

Lan Anh Ha, Duc Khue Pham, Dinh Kien Mai, Thi Tuoi Nguyen, Hoai Vu, Thi Anh Vo