



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

**Vietnam Journal of
Science and Technology - MOST**

B

Tập 63 - Số 8 - Tháng 8 năm 2021

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Nguyễn Văn Hiệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng
Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam
Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam
Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân
Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ,
Đại học Quốc gia Hà Nội
Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội
Trương Nam Hải - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Từ Quang Hiên - Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên
Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải
Phạm Gia Khánh - Chủ tịch Hội Ghép tạng Việt Nam

Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Kỹ thuật Công nghệ TP Hồ Chí Minh
Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục,
Đại học Quốc gia Hà Nội
Bành Tiến Long - Trường Đại học Bách khoa Hà Nội
Lê Quan Nghiêm - Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh

Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội
Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ
Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ,
Đại học Quốc gia Hà Nội
Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,
Đại học Quốc gia Hà Nội

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 - Vietnam Academy of Science and Technology
Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering
Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam
Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology
Tran Tho Dat - National Economics University
Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology,
Vietnam National University, Hanoi
Vu Minh Giang - Vietnam National University, Hanoi
Truong Nam Hai - Vietnam Academy of Science and Technology
Tu Quang Hien - Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry
Pham Huy Khang - University of Transport and Communications
Pham Gia Khanh - President of Vietnam Society of Organ
Transplantation
Ho Dac Loc - Ho Chi Minh City University of Technology
Nguyen Thi My Loc - University of Education,
Vietnam National University, Hanoi
Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology
Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy of
Ho Chi Minh City
Mai Trong Nuan - Vietnam National University, Hanoi
Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University
Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology,
Vietnam National University, Hanoi
Pham Hung Viet - University of Science,
Vietnam National University, Hanoi

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

Dinh Thi 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: b.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: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021

Giá: 18000^d

PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20th July 2021

Nghiên cứu ảnh hưởng của vật liệu đế α -SiO₂ đến khả năng hấp phụ khí CO của graphene bằng tính toán mô phỏng lý thuyết phiếm hàm mật độ

Phùng Thị Việt Bắc^{1*}, Phạm Bá Lịch², Đinh Văn An^{2,3*}

¹Viện Khoa học Bền vững, Trường Đại học Việt Nhật, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Chương trình Công nghệ Nano, Trường Đại học Việt Nhật, Đại học Quốc gia Hà Nội

³Trung tâm Công nghệ Phân tử và Nguyên tử, Đại học Osaka, Nhật Bản

Ngày nhận bài 12/1/2021; ngày chuyển phản biện 26/1/2021; ngày nhận phản biện 3/5/2021; ngày chấp nhận đăng 31/5/2021

Tóm tắt:

Cơ chế hấp phụ phân tử khí CO trên bề mặt của graphene tự do và graphene đặt trên vật liệu đế α -SiO₂ (G/SiO₂) được nghiên cứu bằng phương pháp mô phỏng lý thuyết hàm mật độ. Kết quả tính toán cho thấy sự hấp phụ khí CO trên bề mặt graphene là hấp phụ vật lý điển hình. Các thuộc tính hấp phụ của khí CO trên graphene tự do và trên G/ α -SiO₂ như năng lượng hấp phụ, khoảng cách hấp phụ, độ dài đáp ứng đã được tính toán chi tiết. Kết quả cũng cho thấy α -SiO₂ là vật liệu đế có thể sử dụng để làm tăng năng lượng hấp phụ của CO trên graphene. Phân tích cấu trúc vùng năng lượng và mật độ trạng thái (DOS) đã giải thích được nguyên nhân xuất hiện khe năng lượng khoảng 51 meV ở điểm Dirac trong graphene do sự tương tác giữa α -SiO₂ và graphene làm phá vỡ tính đối xứng của graphene. Sự có mặt của lớp vật liệu đế α -SiO₂ làm tăng khả năng dịch chuyển điện tích giữa khí CO và graphene.

Từ khóa: cảm biến khí độc CO, graphene, tính toán mô phỏng DFT, vật liệu đế α -SiO₂.

Chỉ số phân loại: 1.3

Mở đầu

Nhu cầu tìm vật liệu nhạy khí trong thiết kế, chế tạo linh kiện cảm biến ứng dụng trong kiểm soát ô nhiễm không khí là rất cấp thiết [1-3]. Việc xác định khả năng nhạy khí của vật liệu hấp phụ có thể tính toán được thông qua mô phỏng nghiên cứu cơ chế hấp phụ của vật liệu đối với các loại khí [4-7]. Từ mô hình tính toán lý thuyết, chúng ta xác định được bản chất của sự tương tác giữa phân tử khí hấp phụ trên vật liệu hấp phụ [8-11]. Ngoài tương tác tĩnh điện cổ điển, quá trình hấp phụ giữa phân tử bị hấp phụ và vật liệu hấp phụ ở kích thước phân tử còn bị chi phối bởi tương tác lưỡng cực, trong đó bao gồm tương tác trao đổi và tương quan. Khi tính toán năng lượng tương quan, các nghiên cứu gần đây về hấp phụ khí đã chỉ ra rằng, tương tác van der Waals (vdW) đóng vai trò chủ yếu [9, 11, 12]. Để bao hàm được các tương tác khả dĩ thì sự hấp phụ của các phân tử khí đơn lẻ trên vật liệu nhạy khí được đánh giá một cách hiệu quả bằng các phương pháp mô phỏng lượng tử dựa trên lý thuyết phiếm hàm mật độ (DFT) [13, 14], một trong những phương pháp ưu việt hiện nay trong nghiên cứu mô phỏng tính chất của vật liệu. Nghiên cứu của Tao và Rappe (2014) [15] đã chỉ ra rằng, năng lượng hấp phụ trong hấp phụ vật lý khi kết hợp mô phỏng DFT với vdW cho kết quả phù hợp với thực nghiệm. Phiếm hàm vdW-DF được đề xuất bởi Dion và cs (2004) [16] là phiếm hàm tương quan không cục bộ để mô tả tương tác phân tán. Tiếp theo đó, các phiếm hàm trao đổi được bổ sung như optPBE-vdW, optB88-vdW [17, 18] được tối ưu cho phân tương quan và vdW-DF2 sử dụng hàm trao đổi bán cục bộ để cải thiện độ chính xác trong tính vdW đối với hệ

hấp phụ vật lý yếu do Hamada và Otani (2010) phát triển [19].

Trong những năm gần đây, graphene được biết đến như một loại nền tảng cảm biến carbon mới để phát hiện khí độc trong không khí một cách hiệu quả [1, 3]. Graphene là vật liệu có tính năng ưu việt được sử dụng rộng rãi và là vật liệu nhạy khí có tính năng cao. Nhiều nghiên cứu thực nghiệm và lý thuyết cho thấy, các cảm biến cấu trúc nano dựa trên graphene có khả năng phát hiện khí độc bao gồm các oxit cacbon (CO_x) và oxit nitơ (NO_x) ở nồng độ rất nhỏ thông qua sự tương tác giữa vật liệu sử dụng làm cảm biến và phân tử khí hấp phụ [20-22]. Cảm biến làm từ graphene có khả năng phát hiện những thay đổi rất nhỏ khi mỗi phân tử khí tương tác với bề mặt graphene [21], các phân tử khí bị hấp phụ làm thay đổi cục bộ nồng độ của các hạt tải, dẫn đến sự thay đổi điện trở. Hệ ghép graphene với một loại vật liệu dùng làm đế phù hợp được kỳ vọng có tính năng hấp phụ với độ nhạy, độ chọn lọc cao hơn hệ graphene đơn lẻ thuần túy [8, 23-25]. Để tìm vật liệu đế thích hợp cho linh kiện cảm biến nhạy khí thì việc nghiên cứu cơ chế hấp phụ các phân tử khí là rất cần thiết. Tuy nhiên, việc nghiên cứu cơ chế hấp phụ trên graphene còn chưa có tính hệ thống, đặc biệt là trên các hệ graphene ghép với các vật liệu đế tiềm năng cho thiết kế linh kiện cảm biến. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát hệ vật liệu graphene và vật liệu đế α -SiO₂. Đế α -SiO₂ được lựa chọn bởi trong thực nghiệm graphene đã được chế tạo thành công trên loại vật liệu đế này [26, 27]. Thêm vào đó, α -SiO₂ là một trong những vật liệu đế tiềm năng đang được tìm hiểu về khả năng nâng cao độ nhạy của vật liệu trong hấp phụ khí [8, 28]. Chất khí dùng để khảo

*Tác giả liên hệ: Email: pty.bac@vjnu.ac.vn; dv.an@vjnu.ac.vn

Effect of α -SiO₂ substrate on the CO adsorption onto graphene using density functional theory calculations

Thi Viet Bac Phung^{1*}, Ba Lich Pham², Van An Dinh^{2,3*}

¹Institute of Sustainability Science, VNU Vietnam - Japan University

²Nanotechnology Program, VNU Vietnam - Japan University

³Center for Atomic and Molecular Technologies, Graduate School of Engineering, Osaka University, Japan

Received 12 January 2021; accepted 31 May 2021

Abstract:

The adsorption mechanism of CO gas molecule onto the surface of free-standing graphene and graphene on the α -SiO₂ substrate is studied using the density functional theory. CO molecule is found to be physically adsorbed on the graphene surface. The adsorption properties of CO gas on free-standing graphene and graphene/ α -SiO₂, such as adsorption energy, adsorption distance, and response length, are calculated in detail. α -SiO₂ has been found as a good substrate to enhance the adsorption energy of CO onto graphene. The electronic band structures and density of states (DOS) analysis results show that the interaction between α -SiO₂ and graphene breaks the symmetry of graphene and a tunnelling bandgap occurs at the Dirac point. α -SiO₂ substrate modifies the electronic band structures of free-standing graphene and opens a narrow bandgap of 51 meV. The calculated charge transfer data suggest that the presence of α -SiO₂ enhances the charge donation of CO molecule to the graphene surface.

Keywords: CO gas sensing, DFT calculations, graphene, α -SiO₂ substrate.

Classification number: 1.3

sát là CO, một khí độc trong không khí. Khi ở nồng độ nhỏ cỡ 100 ppm, CO có thể gây nguy hiểm đến sức khỏe và đe dọa tính mạng con người [29].

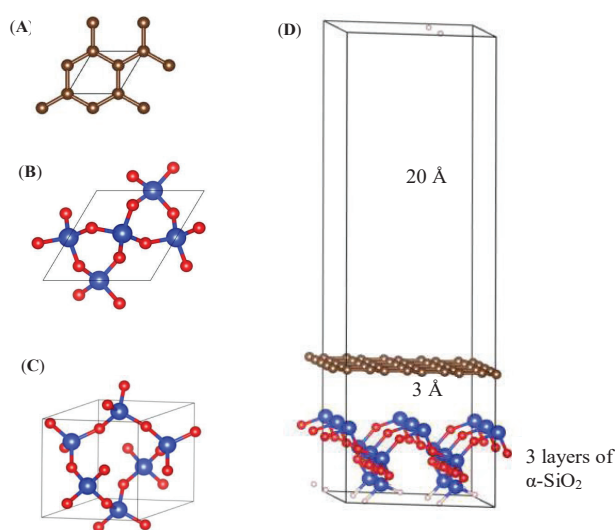
Các nghiên cứu thực nghiệm và lý thuyết trước đây đã chỉ ra rằng, sự biến đổi tính chất điện tử của graphene trên nền đế α -SiO₂ như việc mở rộng năng lượng vùng cấm và giảm tính linh động của điện tử khi đặt trên đế SiO₂ [30-34]. Mặc dù đã có nhiều tính toán lý thuyết để giải thích tính chất đặc biệt của graphene hấp phụ trên đế α -SiO₂ (G/SiO₂), nhưng cho đến nay vẫn chưa có cơ chế rõ ràng về bản chất của hệ vật liệu ghép này cũng như còn rất ít công trình công bố về cơ chế hấp phụ của khí độc như CO trong không khí trên bề mặt hệ vật liệu này. Trong

số các nghiên cứu đã công bố, đáng chú ý là nghiên cứu CO hấp phụ trên graphene tự do của O. Leenaerts và cs (2008) [5], đã chỉ ra 3 định hướng khác nhau của phân tử CO khi hấp phụ trên bề mặt graphene dẫn đến sự khác nhau về lượng điện tích dịch chuyển dựa trên mô phỏng DFT với phiếm hàm GGA-PBE. Tuy nhiên, các khả năng định hướng khác của CO cũng như khảo sát với các bộ phiếm hàm khác nhau trong mô phỏng DFT chưa được khảo sát đầy đủ để đánh giá và làm rõ cơ chế CO hấp phụ trên bề mặt graphene. Trong công trình này, cấu trúc hệ phức hợp của CO và G/SiO₂ được tối ưu thông qua các mô phỏng tính toán lượng tử, dựa trên công cụ có thể khảo sát nhiều khả năng định hướng CO trên graphene, bao gồm các vị trí và góc quay của CO định hướng trên bề mặt graphene. Sử dụng các bộ phiếm hàm DFT khác nhau, quá trình hấp phụ khí CO trên G/SiO₂ được đánh giá thông qua các đại lượng đặc trưng cho khả năng hấp phụ, như năng lượng hấp phụ, sự dịch chuyển điện tích và độ dài đáp ứng.

Phương pháp nghiên cứu

Toàn bộ tính toán dựa trên lý thuyết phiếm hàm mật độ DFT được thực hiện trên phần mềm mô phỏng VASP (Vienna Ab initio simulation package) [35-38], sử dụng phương pháp PAW (projector-augmented wave) để biểu diễn hàm sóng điện tử của hệ. Do tương tác vdW đóng vai trò đáng kể trong hệ hấp phụ và vật liệu ghép graphene trên vật liệu đế, hiệu chỉnh tương tác vdW được đưa vào tính toán thông qua phiếm hàm trao đổi - tương quan [17, 18]. Cấu trúc hình học của graphene và α -SiO₂ được xây dựng dựa trên các số liệu thực nghiệm [39, 40], minh họa trên hình 1. Graphene được đặt trên bề mặt SiO₂, tiếp xúc mặt phân cực Silic (Si) của đế α -SiO₂ với 3 lớp Si. Khoảng cách ban đầu giữa 2 lớp vật liệu này được thiết kế là 3 Å. Cấu trúc hình học của hệ khảo sát được xây dựng dựa trên một supercell có tính tuần hoàn đơn lớp với chiều z có khoảng cách đủ lớn (một lớp chân không khoảng cách là 20 Å) để loại trừ các tương tác có khả năng xảy ra giữa các lớp vật liệu. Hệ ô mạng cơ sở của G/SiO₂ được xây dựng theo mô hình slab, các nguyên tử Si ở đáy được thụ động hóa bởi các nguyên tử H. Hệ nghiên cứu hấp phụ bao gồm một siêu ô mạng 4×4 của mạng cơ sở G/SiO₂ kèm theo phân tử khí CO bị hấp phụ ở trên bề mặt. Trước khi khảo sát khả năng hấp phụ khí CO, cấu trúc điện tử của hệ G/SiO₂ được tính toán chi tiết. Năng lượng $E_{\text{cut-off}}$ và số lượng điểm K trong không gian mạng đảo được tối ưu chọn lựa phù hợp cho hệ vật liệu để đạt được độ chính xác và đảm bảo thời gian tính toán. Năng lượng cutoff 600 eV trên bộ hàm cơ sở sóng phẳng, lưới các điểm K-point 6×6×1 và 12×12×1 định tâm tại điểm Γ (gamma) được lần lượt sử dụng [41] cho các tính toán tối ưu năng lượng và tính mật độ trạng thái.

Cấu trúc tối ưu của hệ heterostructure G/SiO₂ cũng như cấu trúc hình hấp thụ ưu tiên CO/G/SiO₂ trong nghiên cứu này được khảo sát một cách có hệ thống bằng kỹ thuật scanning dựa trên công cụ phần mềm Computational DFT-based nanoscope [42-45]. Các cấu trúc cực tiểu năng lượng sẽ được xác định, cùng với đó



Hình 1. Cấu trúc ô mạng cơ sở của graphene (A); α -SiO₂ (P3₂21) hình chiếu từ trên xuống (B) và chiếu từ cạnh bên (C); cấu trúc siêu ô mạng khi đặt graphene trên α -SiO₂ (D). Si: màu xanh; O: màu đỏ; C: màu nâu.

là khoảng cách tối ưu của 2 lớp vật liệu graphene và đế α -SiO₂ cũng như khoảng cách từ phân tử khí đến bề mặt graphene. Quy trình scanning được sử dụng để tìm cấu hình tối ưu có thể mô tả như sau:

- Đối với hệ graphene trên đế α -SiO₂: đơn lớp graphene ban đầu được đặt trên đế α -SiO₂ ở khoảng cách 3 Å, sau đó thực hiện phép tịnh tiến theo hai chiều x và y của bề mặt. Sau khi tìm được cấu hình năng lượng cực tiểu theo phương xy, đơn lớp graphene được dịch chuyển theo chiều z để tìm khoảng cách giữa 2 lớp vật liệu này.

- Đối với tối ưu khí CO trên bề mặt graphene: phân tử khí CO được đặt trên bề mặt graphene ở khoảng cách 2,7 Å và thực hiện đồng thời phép tịnh tiến theo phương xy và quay quanh tâm khối của phân tử khí CO để xác định cấu hình có năng lượng cực tiểu. Từ cấu hình đó, phân tử CO được dịch chuyển theo chiều z để tìm vị trí tối ưu, đồng thời xác định được độ dài đáp ứng và năng lượng hấp phụ của CO trên bề mặt vật liệu hấp phụ.

Năng lượng hấp phụ được tính toán dựa trên việc khảo sát các tương tác có đóng góp từ tương tác vdW thông qua 3 phiên bản vdW là revPBE-vdW, optPBE-vdW và vdW-DF2 [17, 18, 46]. Về lý thuyết, năng lượng tổng của hệ vật liệu G/SiO₂ bao gồm năng lượng tương tác vdW và năng lượng đàn hồi, trong đó tương tác vdW chiếm ưu thế. Đối với hệ hấp phụ khí, bằng việc sử dụng công cụ Computational DFT-based nanoscope, năng lượng hấp phụ được tính bằng công thức như sau:

$$E_{\text{adsorption}} = E_{\text{complex}} - (E_{\text{gas}} + E_{\text{absorbent}})$$

Trong đó: E_{complex} là năng lượng tổng của hệ khí hấp phụ trên bề mặt vật liệu, E_{gas} là năng lượng của chất khí và $E_{\text{absorbent}}$ là năng lượng của vật liệu hấp phụ.

Bằng phương pháp phân tích phân bố điện tích bader được thực hiện trong thuật toán được phát triển bởi Henkelman và cs (2006) [47], sự dịch chuyển điện tích giữa khí CO và vật liệu hấp

phụ sẽ được đánh giá và phân tích chi tiết. Theo phương pháp phân tích điện tích bader, mật độ điện tích của phân tử hay chất rắn được phân chia cho từng nguyên tử riêng lẻ sử dụng bề mặt thông lượng hai chiều, trong đó mật độ điện tích vuông góc với bề mặt là cực tiểu. Do vậy, điện tích nằm trong thể tích bader là một giá trị gần đúng với tổng điện tích của nguyên tử. Sự phân bố điện tích có thể được sử dụng để xác định mômen đa cực của các nguyên tử hoặc phân tử tương tác.

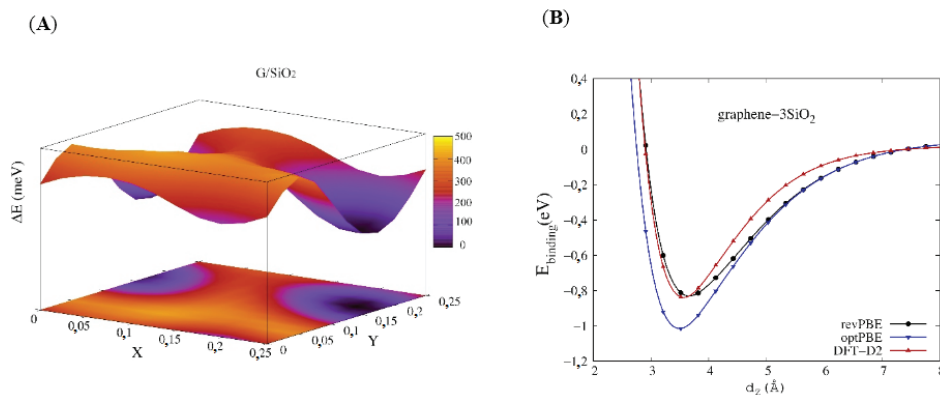
Kết quả và thảo luận

Cấu trúc hệ G/SiO₂

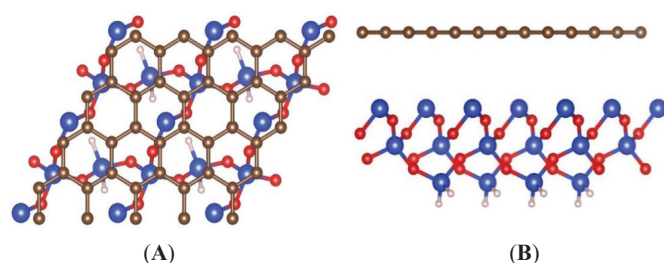
Cấu trúc hình học và tính chất điện tử của vật liệu đơn lớp graphene và vật liệu khối SiO₂ được khảo sát trước khi tính toán mô phỏng vật liệu ghép G/SiO₂. Hằng số mạng của vật liệu khối SiO₂ tính được bằng phương pháp revPBE là a=b=4,912 Å; c=5,404 Å, tương đồng với giá trị hằng số mạng thực nghiệm (4,913 Å và 5,405 Å [40]). Cấu trúc α -SiO₂ sử dụng trong nghiên cứu này thuộc pha cấu trúc P3₂21, hệ tinh thể tam phương (trigonal) (hình 1B, 1C). Hằng số mạng tính được của 1x1 graphene là 2,468 Å. Khi đặt 2x2 graphene lên trên bề mặt (0001) của α -SiO₂, độ lệch thông số mạng được tính theo công thức sau:

$$\varepsilon = \frac{2a_G - a_{\text{SiO}_2}}{a_{\text{SiO}_2}} \sim 0,48\%$$

Trong đó ε là độ lệch thông số mạng, a_G và a_{SiO_2} lần lượt là hằng số mạng của ô mạng cơ sở của graphene và α -SiO₂. Giá trị này tương đối nhỏ, dẫn đến hiệu ứng căng ảnh hưởng lên tính chất điện của graphene được loại bỏ. Kết quả khảo sát cấu hình tối ưu của đơn lớp graphene khi đặt trên bề mặt α -SiO₂ được mô tả trên hình 2A. Cấu trúc cực tiểu năng lượng được xác định thông qua việc tính toán năng lượng các cấu hình khi di chuyển graphene trên bề mặt α -SiO₂ theo các chiều X và Y, trong đó X, Y là các tọa độ tỷ lệ của vector siêu ô mạng sử dụng trong mô phỏng. ΔE là độ lệch năng lượng giữa các cấu hình ở các vị trí khác nhau (meV). Sự thay đổi màu sắc mô tả độ lệch năng lượng, vùng tối màu tương ứng vùng hệ vật liệu bền vững về năng lượng; ngược lại, vùng màu sáng tương ứng với các cấu hình ít bền hơn. Hình 2A mô tả độ lệch năng lượng khi quét các vị trí khác nhau của graphene trên bề mặt α -SiO₂ trong một ô mạng cơ sở ở khoảng cách 3 Å. Vị trí cực tiểu năng lượng cực bộ tương ứng với $\Delta E=0$ meV. Sử dụng cấu hình cực tiểu cực bộ năng lượng khi di chuyển graphene trên mặt XY của SiO₂ này, hệ vật liệu ghép G/SiO₂ tiếp tục được tối ưu hóa để tìm cấu hình bền nhất bằng việc tìm khoảng cách tối ưu giữa 2 lớp graphene và SiO₂ thông qua việc dịch chuyển lớp graphene theo chiều Z của ô mạng. Hình 3 mô tả cấu trúc hình học tối ưu của hệ G/SiO₂. Khoảng cách tối ưu giữa lớp graphene và lớp nguyên tử Si gần nhất phụ thuộc vào 3 bộ hàm khác nhau của thể tương tác vdW là revPBE-vdW, optPBE-vdW và vdW-DF2 (hình 2B). Kết quả chỉ ra, với phiên bản revPBE, optPBE, DF2, khoảng cách tối ưu thu được lần lượt là 3,672 Å, 3,446 Å, 3,525 Å. Trong đó, phiên bản DF2 cho kết quả gần nhất với thực nghiệm (3,56 Å) [26].



Hình 2. (A) Bề mặt năng lượng 3 chiều của hệ G/SiO₂ trong 1 đơn vị ô mạng cơ sở. X, Y là các tọa độ tỷ lệ của vector siêu ô mạng sử dụng trong mô phỏng. ΔE là độ lệch năng lượng giữa các cấu hình ở các vị trí khác nhau (meV). Phần đáy là giản đồ năng lượng 3 chiều được chiếu xuống mặt phẳng XY. Độ lệch năng lượng ΔE (meV) giữa các cấu hình khác nhau được mô tả qua màu sắc và độ cao theo phương vuông góc với mặt phẳng XY. **(B)** Sự phụ thuộc của năng lượng liên kết giữa graphene và α-SiO₂ vào khoảng cách giữa 2 lớp vật liệu với 3 bộ phiếm hàm vdW revPBE-vdW, optPBE-vdW và vdW-DF2. Trục hoành là khoảng cách d_z giữa bề mặt graphene và α-SiO₂ (Å), trục tung là năng lượng liên kết E_{binding} (eV).



Hình 3. Cấu trúc tối ưu của hệ vật liệu graphene trên đế α-SiO₂ với 3 lớp Silic. (A) top view; (B) side view. Si: màu xanh; O: màu đỏ; C: màu nâu.

Bên cạnh việc mô tả sự phụ thuộc năng lượng liên kết giữa graphene và α-SiO₂, E_{binding} , vào khoảng cách giữa chúng d_z , hình 2B còn chỉ ra kết quả về độ dài đáp ứng của hệ vật liệu. Khi khoảng cách giữa 2 lớp đạt tới cỡ 8 Å, giữa 2 lớp không còn tương tác, năng lượng liên kết tiệm cận giá trị 0 meV. Kết quả về khoảng cách tối ưu, độ dài đáp ứng và năng lượng liên kết giữa hai lớp vật liệu được liệt kê trong bảng 1. Năng lượng liên kết có giá trị 809 meV, 1091 meV và 818 meV tương ứng với 3 phiếm hàm vdW khác nhau revPBE-vdW, optPBE-vdW và vdW-DF2. Giá trị năng lượng này cho thấy graphene khá bền vững khi ghép trên vật liệu đế α-SiO₂ với khoảng cách ở vị trí cân bằng khoảng 3,446~3,672 Å. Cấu trúc hình học của graphene sau khi ghép trên bề mặt vật liệu đế α-SiO₂ không có sự thay đổi, graphene giữ cấu trúc phẳng, chiều dài liên kết C-C là 1,41 Å.

Bảng 1. Các thông số cấu trúc ở trạng thái cơ bản và năng lượng liên kết giữa graphene và đế α-SiO₂.

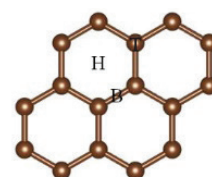
Thế vdW/tính chất	revPBE-vdW	optPBE-vdW	vdW-DF2	Thực nghiệm
Khoảng cách graphene/α-SiO ₂ d_z (Å)	3,672	3,446	3,525	3,56 [26]
Độ dài đáp ứng (Å)	8,252	8,013	8,021	NA
Năng lượng liên kết (meV)	809	1091	818	NA

NA: no available.

Hấp phụ khí CO trên graphene/α-SiO₂

Cấu trúc hình học và năng lượng hấp phụ:

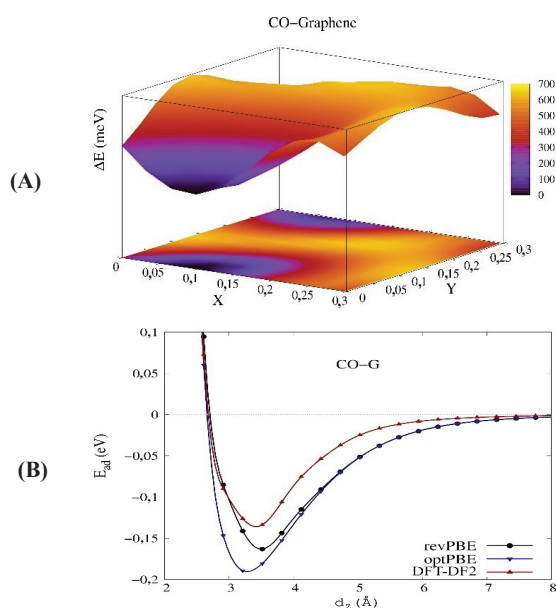
Khi khảo sát vị trí có khả năng hấp phụ, các nghiên cứu mô phỏng thường tập trung vào 3 vị trí của khí trên vật liệu hấp phụ, bao gồm trên đỉnh (T - top), cầu (B - bridge) và tâm (H - hollow), minh họa trên hình 4. Vị trí trên đỉnh T là vị trí khí hấp phụ nằm chính xác trên đỉnh một nguyên tử C của lớp graphene. Vị trí cầu B là vị trí mà phân tử khí hấp phụ nằm giữa liên kết cộng hóa trị của hai nguyên tử C của graphene, vị trí tâm H là vị trí phân tử khí nằm chính giữa tâm của cấu trúc lục giác đều của graphene.



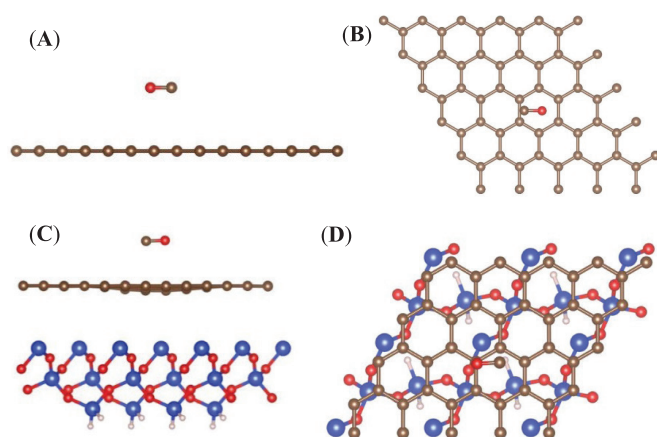
Hình 4. Ba vị trí hấp phụ khác nhau của CO trên graphene: vị trí T (top) trên đỉnh của nguyên tử C graphene, vị trí B (bridge) giữa cầu nối của 2 nguyên tử C graphene cạnh nhau và vị trí H (hollow) ở giữa tâm hình lục giác C graphene.

Trong nghiên cứu này, các vị trí hấp phụ của khí CO trên hệ G/SiO₂ được tìm một cách có hệ thống, bao gồm toàn bộ khả năng mà CO có thể định hướng vào bề mặt vật liệu bằng cách sử dụng công cụ Computational DFT-based nanoscope [42] để quét khả năng hấp phụ CO trên toàn bộ bề mặt vật liệu. Kết quả tìm cấu hình tối ưu của CO hấp phụ trên đơn lớp graphene được mô tả trong hình 5. Các số liệu về năng lượng hấp phụ, khoảng cách hấp phụ được tổng hợp trong bảng 2. Để khảo sát sự ảnh hưởng của đế α-SiO₂ lên graphene, chúng tôi so sánh khả năng hấp phụ CO trên đơn lớp graphene khi không có vật liệu đế và CO trên G/SiO₂.

Đối với vật liệu hấp phụ là đơn lớp graphene, kết quả tính toán cho thấy CO định hướng vào bề mặt graphene theo phương liên kết C-O song song với bề mặt graphene và ở vị trí hollow của lục giác C graphene (hình 6A, 6B), kết quả này trùng hợp với cấu hình tối ưu của CO trên graphene theo tính toán của Leenaerts và cs (2008) [5]. Trong khi đó, với vật liệu graphene đặt trên đế α-SiO₂, CO cũng định hướng hấp phụ theo phương liên kết C-O song song với bề mặt graphene. Tuy nhiên, phân tử khí CO hấp phụ ở vị trí mà nguyên tử O ở trên đỉnh nguyên tử C graphene. Hơn nữa, cấu trúc hình học của graphene thay đổi, các nguyên tử C graphene có tương tác với khí CO không còn nằm trên cùng mặt phẳng với các nguyên tử C graphene ở xa phân tử khí CO (hình 6C, 6D). Lớp graphene trên đế α-SiO₂ khi hấp phụ khí CO đã thay đổi cấu trúc hình học, cấu trúc đối xứng của bề mặt graphene đã bị phá vỡ, dẫn



Hình 5. (A) Bề mặt năng lượng 3 chiều của hệ hấp phụ khí CO trên graphene ở các vị trí khác nhau của bề mặt; **(B)** Năng lượng hấp phụ của CO trên graphene phụ thuộc khoảng cách của CO đến bề mặt graphene với 3 bộ hàm vdW revPBE-vdW, optPBE-vdW và vdW-DF2. Trục X là khoảng cách d_z của CO đến bề mặt graphene (Å), trục Y là năng lượng hấp phụ E_{ad} (eV).



Hình 6. Cấu trúc hình học khí CO hấp phụ trên graphene và CO trên G/SiO₂. (A) sideview và (B) topview của hệ hấp phụ CO trên graphene; (C) sideview và (D) topview của hệ hấp phụ CO trên G/SiO₂.

đến sự thay đổi cấu trúc điện tử cũng như sự phân bố điện tích trong lớp vật liệu này. Các kết quả tính toán thu được về khoảng cách hấp phụ tối ưu và năng lượng hấp phụ CO trên graphene đơn lớp và trên G/SiO₂ với 3 bộ hàm vdW revPBE-vdW, optPBE-vdW và vdW-DF2 được so sánh ở bảng 2. So với kết quả của Leenaerts và cs (2008) [5] đối với hấp phụ khí CO trên đơn lớp graphene, khoảng cách hấp phụ trong nghiên cứu này nhỏ hơn (3.435 Å), năng lượng hấp phụ tăng đáng kể (162 meV).

Cấu hình sau hấp phụ khí CO trên graphene/ α -SiO₂ cho thấy năng lượng hấp phụ đã tăng 14% so với khi CO hấp phụ trên bề

mặt graphene tự do, khoảng cách hấp phụ tối ưu đã giảm rõ rệt, ví dụ từ 3,425 Å xuống 3,154 Å đối với phương pháp revPBE như số liệu tính toán ở bảng 2. So sánh năng lượng và khoảng cách hấp phụ, rõ ràng vật liệu để α -SiO₂ đã làm tăng đáng kể khả năng hấp phụ khí CO của graphene.

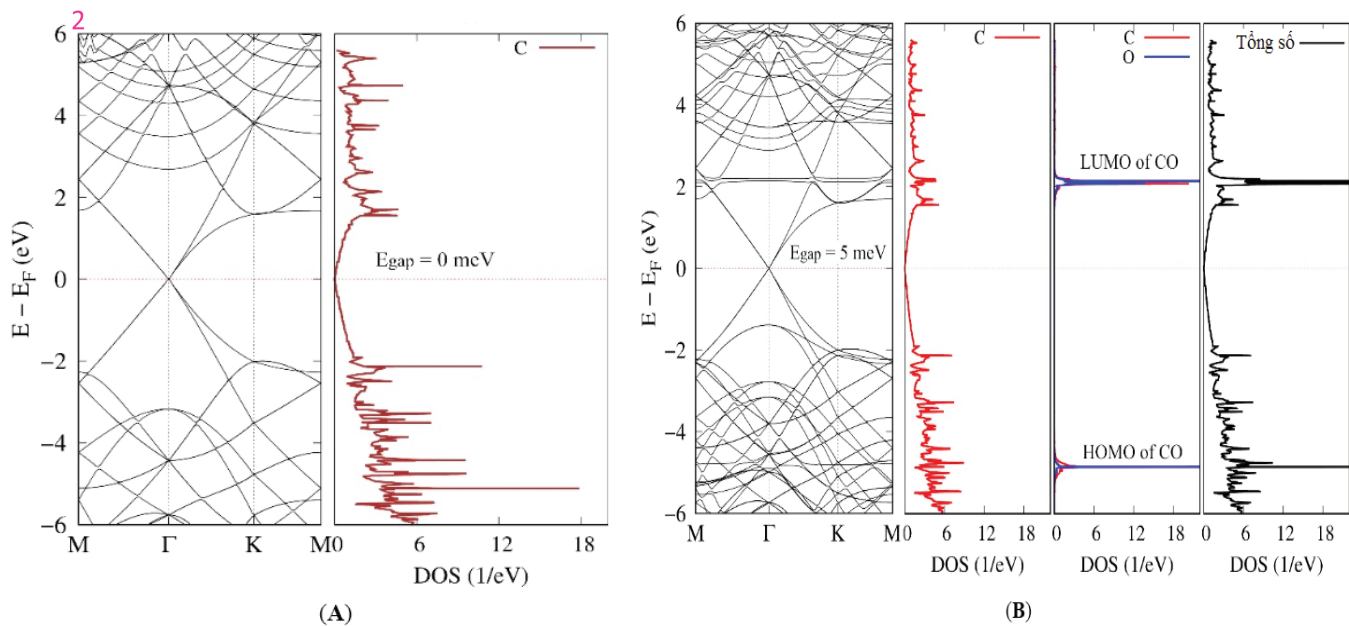
Bảng 2. So sánh năng lượng hấp phụ, khoảng cách hấp phụ tối ưu của CO trên bề mặt đơn lớp graphene và của CO trên bề mặt graphene trên để α -SiO₂ khi tính với các bộ hàm vdW khác nhau.

Thuộc tính	CO hấp phụ trên graphene			CO trên G [5]		CO hấp phụ trên G/ α -SiO ₂	
	revPBE	optPBE	DFT-DF2	revPBE	revPBE	optPBE	DFT-DF2
Khoảng cách d(gas-G) (Å)	3,435	3,234	3,418	3,73	3,154	3,126	3,131
Năng lượng hấp phụ E_{ad} (meV)	162	186	136	13	185	212	163

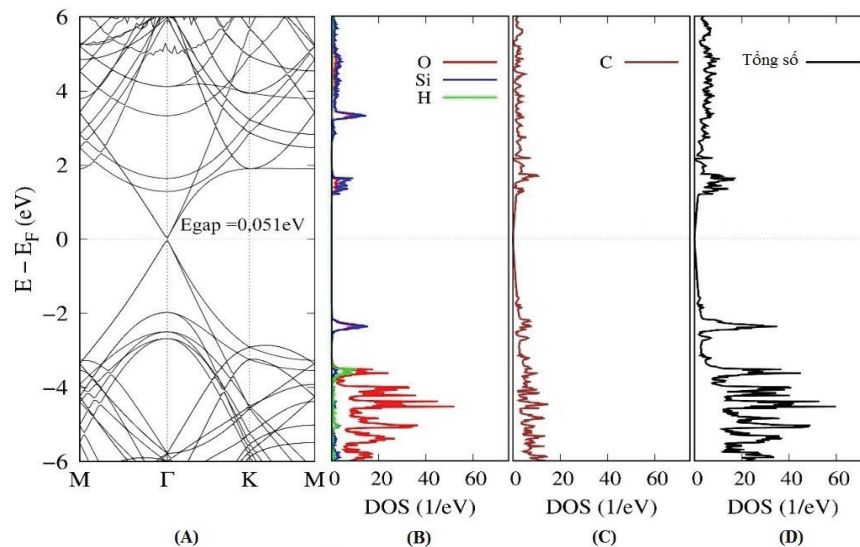
Phân tích mật độ trạng thái DOS và vùng năng lượng:

Để phân tích sự thay đổi cấu trúc điện tử của graphene khi đặt trên để α -SiO₂ tác động đến tính hấp phụ của bề mặt vật liệu đối với phân tử khí CO, sử dụng các cấu trúc hình học hấp phụ tối ưu thu được, các tính toán phân tích mật độ trạng thái được thực hiện, kết quả thể hiện ở hình 7 và 8. Đối với đơn lớp graphene, giá trị độ rộng vùng cấm bằng 0 meV như hiển thị trên cấu trúc vùng năng lượng ở điểm Γ trên hình 7A. Khi có khí CO hấp phụ trên bề mặt đơn lớp graphene (hình 7B), xuất hiện thêm đỉnh DOS của khí CO trong phân bố mật độ trạng thái xung quanh mức Fermi. Kết quả phân tích vùng năng lượng cho thấy, độ rộng vùng cấm đã tăng lên cỡ 5 meV, tuy giá trị nhỏ nhưng đã cho thấy ảnh hưởng của CO đến cấu trúc điện tử của graphene. Cùng với sự xuất hiện khe năng lượng ở đỉnh Dirac khi xảy ra hiện tượng hấp phụ, độ chênh lệch năng lượng giữa LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) (2π) và HOMO (Highest Unoccupied Molecular Orbital) (5σ) trong phân tử khí CO cũng thay đổi. Đối với khí CO tự do, $\Delta E_{LUMO-HOMO}$ là 6951 meV, sau khi CO hấp phụ trên bề mặt graphene, giá trị $\Delta E_{LUMO-HOMO}$ là 6978 meV. Bảng phân tích điện tích bader, kết quả cho thấy bề mặt graphene nhận 0,01 e^- từ phân tử khí CO, CO đóng vai trò là chất nhường điện tích. Tuy số lượng điện tích chuyển dịch nhỏ, nhưng sự thay đổi này dẫn đến sự thay đổi điện trở của graphene sử dụng để làm vật liệu nhạy khí trong thiết kế linh kiện cảm biến.

Kết quả phân tích mật độ trạng thái và cấu trúc vùng năng lượng của hệ graphene đặt trên để α -SiO₂ được mô tả trên hình 8. Cường độ của đỉnh DOS tổng (màu đen) ở vùng hóa trị trong khoảng năng lượng -6,0 eV đến -4,0 eV (ở dưới mức Fermi) do phần đóng góp chủ yếu của O (màu đỏ) trong α -SiO₂ và C graphene. Trong khi đó, cường độ của đỉnh DOS tổng ở vùng dẫn trong khoảng năng lượng từ 2,0 eV đến 6,0 eV (ở trên mức Fermi) do phần đóng góp chủ yếu của Si (màu xanh nước biển) trong α -SiO₂ và C graphene. Tương tác giữa 2 lớp vật liệu này làm thay đổi cấu trúc điện tử của graphene, phân tích cấu trúc vùng năng lượng trên hình 8A cho thấy, graphene đơn lớp từ vật liệu không có vùng cấm trở thành vật liệu có khe năng lượng tại điểm Dirac là 51 meV. Đây là nguyên nhân tác động đến khả



Hình 7. (A) Cấu trúc vùng năng lượng theo các điểm M, Γ , K, M trong không gian mạng đảo và mật độ trạng thái DOS của đơn lớp graphene. (B) Mật độ trạng thái DOS của hệ hấp phụ khí CO trên đơn lớp graphene tự do (khí không đặt trên đế α -SiO₂).



Hình 8. Cấu trúc vùng năng lượng theo các điểm M, Γ , K, M trong không gian mạng đảo và mật độ trạng thái (DOS) của graphene/ α -SiO₂. (A) Cấu trúc vùng năng lượng theo các điểm M, Γ , K, M; (B) DOS của α -SiO₂, lớp Si ở dưới được trung hòa điện tích bởi các nguyên tử H; (C) DOS của graphene; (D) DOS tổng của hệ graphene/ α -SiO₂.

năng hấp phụ khí CO của graphene bởi sự có mặt của đế α -SiO₂.

Kết quả phân tích sự chuyển dịch điện tích bader của hệ hấp phụ khí có đế α -SiO₂ cho thấy phân tử khí CO chuyển 0,012 e sang bề mặt graphene. So với hệ hấp phụ khí không đặt graphene trên đế α -SiO₂, giá trị điện tích trao đổi đã tăng 20%. Do đó, dựa trên kết quả tính toán về năng lượng hấp

phụ và sự chuyển dịch điện tích đã cho thấy vật liệu α -SiO₂ làm tăng tính chất nhạy khí CO của graphene.

Kết luận

Sử dụng các tính toán mô phỏng lượng tử dựa trên lý thuyết phiếm hàm mật độ, cấu trúc hình học và định hướng tối ưu của khí CO hấp phụ trên bề mặt graphene và graphene

đặt trên đế α -SiO₂ đã được nghiên cứu chi tiết với các phẩm hàm vdW khác nhau. CO hấp phụ trên bề mặt graphene định hướng song song với bề mặt và năng lượng hấp phụ là 162 meV khi tính với hàm revPBE, điển hình cho hiện tượng hấp phụ vật lý. Khả năng chuyển dịch điện tích từ khí CO sang graphene đã được phân tích thông qua tính toán điện tích bader. Sự có mặt của lớp vật liệu đế α -SiO₂ tác động đến sự thay đổi cấu trúc điện tử của graphene, làm tăng khả năng hấp phụ của graphene (năng lượng hấp phụ khi có α -SiO₂ là 185 meV) cũng như tăng khả năng dịch chuyển điện tích giữa khí CO và graphene. Cụ thể, khí CO chuyển 0,012 $\bar{e}$ sang bề mặt graphene khi có mặt đế α -SiO₂, trong khi đó với graphene tự do CO chuyển 0,01 $\bar{e}$ sang graphene. Nguyên nhân chính dẫn đến sự ảnh hưởng này là do tương tác giữa α -SiO₂ và graphene làm thay đổi tính đối xứng của graphene, dẫn đến thay đổi độ lớn vùng cấm cỡ 51 meV của graphene. Sử dụng đế α -SiO₂ làm tăng độ nhạy đối với CO của graphene, tuy giá trị tăng nhỏ, nhưng điều này có ý nghĩa đối với sự lựa chọn vật liệu đế cho graphene khi thiết kế các linh kiện dùng làm cảm biến khí độc CO.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia Hà Nội thông qua đề tài mã số QG.20.62. Các tác giả cũng chân thành cảm ơn Tổ chức JICA trong dự án hỗ trợ kỹ thuật và dự án đầu tư trang thiết bị của Đại học Quốc gia Hà Nội cho các phòng thí nghiệm tại Trường Đại học Việt Nhật về hệ thống máy tính hiệu năng cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F. Schedin, et al. (2007), "Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene", *Nat. Mater.*, **6**(9), pp.652-655, DOI: 10.1038/nmat1967.
- [2] C.J. Zhou, W.H. Yang (2011), "Graphene as gas sensors graphene as gas sensors", *Commun. Theor. Phys.*, **56**(56), pp.373-376.
- [3] W. Tian, X. Liu, W. Yu (2018), "Research progress of gas sensor based on graphene and its derivatives: a review", *Appl. Sci.*, **8**(7), pp.1-21, DOI: 10.3390/app8071118.
- [4] O. Leenaerts, B. Partoens, F.M. Peeters (2009), "Adsorption of small molecules on graphene", *Microelectronics J.*, **40**(4-5), pp.860-862, DOI: 10.1016/j.mejo.2008.11.022.
- [5] O. Leenaerts, B. Partoens, F.M. Peeters (2008), "Adsorption of H₂O, NH₃, CO, NO₂, and NO on graphene: a first-principles study", *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, **77**(12), pp.1-6, DOI: 10.1103/PhysRevB.77.125416.
- [6] G. Ruiz-Soria, et al. (2014), "Revealing the adsorption mechanisms of nitroxides on ultrapure, metallicity-sorted carbon nanotubes", *ACS Nano*, **8**(2), pp.1375-1383, DOI: 10.1021/nn405114z.
- [7] N. Baig, Ihsanullah, M. Sajid, T.A. Saleh (2019), "Graphene-based adsorbents for the removal of toxic organic pollutants: a review", *J. Environ. Manage.*, **244**, pp.370-382, DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.05.047.
- [8] A.K. Geim, I.V. Grigorieva (2013), "Van der Waals heterostructures", *Nature*, **499**, pp.419-425, DOI: 10.1038/nature12385.
- [9] S.D. Chakarova-Käck, E. Schröder, B.I. Lundqvist, D.C. Langreth (2006), "Application of van der Waals density functional to an extended system: adsorption of benzene and naphthalene on graphite", *Phys. Rev. Lett.*, **96**(14), pp.1-4, DOI: 10.1103/PhysRevLett.96.146107.
- [10] W. Gao, P. Xiao, G. Henkelman, K.M. Liechti, R. Huang (2014), "Interfacial adhesion between graphene and silicon dioxide by density functional theory with van der Waals corrections", *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **47**(25), pp.1-18, DOI: 10.1088/0022-3727/47/25/255301.
- [11] J.H. Lee, et al. (2015), "Van der Waals force: a dominant factor for reactivity of graphene", *Nano Lett.*, **15**(1), pp.319-325, DOI: 10.1021/nl5036012.
- [12] K. Berland, P. Hyldgaard (2013), "Analysis of van der Waals density functional components: binding and corrugation of benzene and C60 on boron nitride and graphene", *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, **87**(20), pp.1-15, DOI: 10.1103/PhysRevB.87.205421.
- [13] P. Hohenberg, W. Kohn (1964), "Inhomogeneous electron gas", *Phys. Rev.*, **136**(3B), pp.B864-B871, DOI: 10.1103/PhysRev.136.B864.
- [14] W. Kohn, L.J. Sham (1965), "Self-consistent equations including exchange and correlation effects", *Phys. Rev.*, **140**(4A), pp.A1133-A1138, DOI: 10.1046/j.1365-4362.2002.01376.x.
- [15] J. Tao, A.M. Rappe (2014), "Physical adsorption: theory of van der Waals interactions between particles and clean surfaces", *Phys. Rev. Lett.*, **112**(10), pp.1-5, DOI: 10.1103/PhysRevLett.112.106101.
- [16] M. Dion, H. Rydberg, E. Schröder, D.C. Langreth, B.I. Lundqvist (2004), "Van der Waals density functional for general geometries", *Phys. Rev. Lett.*, **92**(24), pp.22-25, DOI: 10.1103/PhysRevLett.92.246401.
- [17] J. Klimeš, D.R. Bowler, A. Michaelides (2010), "Chemical accuracy for the van der Waals density functional", *J. Phys. Condens. Matter*, **22**(2), pp.22201-22205, DOI: 10.1088/0953-8984/22/2/022201.
- [18] J. Klimeš, D.R. Bowler, A. Michaelides (2011), "Van der Waals density functionals applied to solids", *Phys. Rev. B*, **83**(19), 29pp, DOI: 10.1103/PhysRevB.83.195131.
- [19] I. Hamada, M. Otani (2010), "Comparative van der Waals density-functional study of graphene on metal surfaces", *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, **82**(15), pp.1-4, DOI: 10.1103/PhysRevB.82.153412.
- [20] T. Wang, et al. (2016), "A review on graphene-based gas/vapor sensors with unique properties and potential applications", *Nano-Micro Lett.*, **8**(2), pp.95-119, DOI: 10.1007/s40820-015-0073-1.
- [21] K.Z. Milowska, J.A. Majewski (2014), "Graphene-based sensors: theoretical study", *J. Phys. Chem. C*, **118**, pp.17395-17401.

- [22] F. Yavari, N. Koratkar (2012), “Graphene-based chemical sensors”, *J. Phys. Chem. Lett.*, **3**, pp.1746-1753.
- [23] J. Wang, F. Ma, M. Sun (2017), “Graphene, hexagonal boron nitride, and their heterostructures: properties and applications”, *RSC Adv.*, **7**(27), pp.16801-16822, DOI: 10.1039/c7ra00260b.
- [24] P. Bhauriyal, G. Bhattacharyya, K.S. Rawat, B. Pathak (2019), “Graphene/hBN heterostructures as high-capacity cathodes with high voltage for next-generation aluminum batteries”, *J. Phys. Chem. C*, **123**(7), pp.3959-3967, DOI: 10.1021/acs.jpcc.8b10550.
- [25] A.P.M. Barboza, et al. (2019), “Graphene/h-BN heterostructures under pressure: from van der Waals to covalent”, *Carbon N. Y.*, **155**, pp.108-113, DOI: 10.1016/j.carbon.2019.08.054.
- [26] M. Ishigami, J.H. Chen, W.G. Cullen, M.S. Fuhrer (2007), “Atomic structure of graphene on SiO₂”, *Nano Lett.*, **7**(6), pp.1643-1648.
- [27] Y.J. Kang, J. Kang, K.J. Chang (2008), “Electronic structure of graphene and doping effect on SiO₂”, *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, **78**(11), pp.1-5, DOI: 10.1103/PhysRevB.78.115404.
- [28] K.M. Yam, N. Guo, Z. Jiang, S. Li, C. Zhang (2020), “Graphene-based heterogeneous catalysis: role of graphene”, *Catalysts*, **10**(1), pp.1-17, DOI: 10.3390/catal10010053.
- [29] J.A. Guzman (2012), “Carbon monoxide poisoning”, *Crit. Care Clin.*, **28**(4), pp.537-548, DOI: 10.1016/j.ccc.2012.07.007.
- [30] H. Hirai, H. Tsuchiya, Y. Kamakura, N. Mori, M. Ogawa (2014), “Electron mobility calculation for graphene on substrates”, *J. Appl. Phys.*, **116**(8), pp.083703-1-6, DOI: 10.1063/1.4893650.
- [31] D. Hvazdouski, V. Stempitsky (2017), “Ab initio simulation of graphene interaction with SiO₂ substrate for nanoelectronics application”, *Mater. Phys. Mech.*, **39**, pp.27-34.
- [32] L. Zhang, et al. (2017), “Interaction between graphene and the surface of SiO₂”, *J. Phys. Condens. Matter*, **6**(30), pp.1-21, DOI: 10.1088/0953-8984/24/30/305004.
- [33] Z. Ao, M. Jiang, Z. Wen, S. Li (2012), “Density functional theory calculations on graphene/ α -SiO₂(0001) interface”, *Nanoscale Res. Lett.*, **7**, pp.1-6, DOI: 10.1186/1556-276X-7-158.
- [34] W. Gao, P. Xiao, G. Henkelman, K.M. Liechti, R. Huang (2014), “Interfacial adhesion between graphene and silicon dioxide by density functional theory with van der Waals corrections”, *J. Phys. D. Appl. Phys.*, **47**(25), DOI: 10.1088/0022-3727/47/25/255301.
- [35] G. Kresse, J. Hafner (1993), “Ab initio molecular dynamics for liquid metals”, *Phys. Rev. B*, **47**(1), pp.558-561, DOI: 10.1016/0022-3093(95)00355-X.
- [36] G. Kresse, J. Hafner (1994), “Ab initio molecular-dynamics simulation of the liquid-metalamorphous - semiconductor transition in germanium”, *Phys. Rev. B*, **49**(20), pp.14251-14269, DOI: 10.1103/PhysRevB.49.14251.
- [37] G. Kresse, J. Furthmüller (1996), “Efficiency of ab-initio total energy calculations for metals and semiconductors using a plane-wave basis set”, *Comput. Mater. Sci.*, **6**(1), pp.15-50, DOI: 10.1016/0927-0256(96)00008-0.
- [38] G. Kresse, D. Joubert (1999), “From ultrasoft pseudopotentials to the projector augmented-wave method”, *Phys. Rev. B*, **59**(3), pp.1758-1775, DOI: 10.1103/PhysRevB.59.1758.
- [39] Y. Baskin, L. Meyer (1955), “Lattice constants of graphite at low temperatures”, *Phys. Rev.*, **100**(2), p.544, DOI: 10.1103/PhysRev.100.544.
- [40] G. Will, M. Bellotto, W. Parrish, M. Hart (1988), “Crystal structures of quartz and magnesium germanate by profile analysis of synchrotron-radiation high-resolution powder data”, *J. Appl. Crystallogr.*, **21**(2), pp.182-191, DOI: 10.1107/S0021889887011567.
- [41] P. Ba Lich (2020), *Adsorption of Toxic Gases on Graphene/SiO₂ and Graphene/h-BN*, Master's thesis, Vietnam Japan University.
- [42] V.A. Dinh (2017), *Computational DFT-based Nanoscope Tool*, VNU Vietnam Japan University.
- [43] V.B.T. Phung, T.L. Pham, V.A. Dinh (2020), “Adsorption of 2- butanone on pristine graphene: a first-principles study”, *VNU J. Sci. Math. - Phys.*, **36**(1), pp.71-79, DOI: 10.25073/2588-1124/vnumap.4457.
- [44] V.O. Vo, T.L. Pham, V.A. Dinh (2020), “Adsorption of acetone and toluene on single-vacancy silicene by density functional theory calculations”, *Mater. Trans.*, **61**(8), pp.1449-1454.
- [45] T.L. Ta, T.L. Pham, V.A. Dinh (2020), “Toxic gases on β 12 borophene: the selective adsorption”, *VNU J. Sci. Math. - Phys.*, **36**(2), pp.66-73.
- [46] K. Lee, É.D. Murray, L. Kong, B.I. Lundqvist, D.C. Langreth (2010), “Higher-accuracy van der Waals density functional”, *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, **82**(8), pp.1-4, DOI: 10.1103/PhysRevB.82.081101.
- [47] G. Henkelman, A. Arnaldsson, H. Jónsson (2006), “A fast and robust algorithm for bader decomposition of charge density”, *Comput. Mater. Sci.*, **36**(3), pp.354-360, DOI: 10.1016/j.commatsci.2005.04.010.

Nghiên cứu florua hóa dysprozi oxit bằng tác nhân amoni biflorua điều chế muối dysprozi florua

Nguyễn Trọng Hùng, Lê Bá Thuận, Nguyễn Thanh Thủy*

Viện Công nghệ xạ hiếm

Ngày nhận bài 28/4/2021; ngày chuyển phản biện 3/5/2021; ngày nhận phản biện 31/5/2021; ngày chấp nhận đăng 10/6/2021

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, dysprozi florua (DyF_3) - nguyên liệu cho quá trình điều chế dysprozi (Dy) đã được điều chế từ quá trình florua hóa dysprozi oxit (Dy_2O_3) bằng muối NH_4HF_2 . Ảnh hưởng của thời gian và nhiệt độ phản ứng đến sự hình thành của muối florua đã được nghiên cứu. Thành phần pha và cấu trúc tinh thể của các sản phẩm thu được sau quá trình điều chế được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD). Phương pháp phân tích nhiệt được áp dụng để xác định dải nhiệt độ nghiên cứu. Hình thái học và thành phần các nguyên tố hóa học của các mẫu thí nghiệm được xác định bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM) và phổ nhiễu xạ năng lượng (EDS). Kết quả nghiên cứu cho thấy, muối DyF_3 với độ tinh khiết cao đã được hình thành tại nhiệt độ $>350^\circ\text{C}$, thời gian nung >1 h. Sản phẩm thu được hoàn toàn phù hợp cho quá trình điều chế Dy kim loại bằng phương pháp nhiệt kim.

Từ khóa: dysprozi florua, dysprozi kim loại, florua hóa, nhiệt kim.

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Dysprozi - một trong các nguyên tố đất hiếm (RE), là thành phần không thể thiếu trong sản xuất nam châm Nd-Fe-Dy-B, vật liệu từ giả terfenol-D, vật liệu laser, vật liệu hấp thụ neutron và nhiều ứng dụng công nghệ cao khác. Ngày nay, cùng với sự phát triển mạnh mẽ của ngành chế tạo ô tô điện - xăng (hybrid), ô tô (xe máy) điện, turbine gió... thì nhu cầu Dy nói riêng và các nguyên tố đất hiếm khác như Pr, Nd, Tb, Y... là rất lớn [1-4].

Hai phương pháp được sử dụng chủ yếu để điều chế Dy nói riêng và các kim loại đất hiếm (REM) nói chung là điện phân nóng chảy và nhiệt kim các muối halogenua đất hiếm. Các nguyên tố đất hiếm nhóm nhẹ (từ La đến Nd) có nhiệt độ nóng chảy thấp ($<1030^\circ\text{C}$) nên có thể điều chế bằng cả hai phương pháp. Trong khi đó, các nguyên tố đất hiếm nhóm trung và nhóm nặng (từ Sm đến Lu và Y) có nhiệt độ nóng chảy cao nên thường được điều chế bằng phương pháp nhiệt kim [2-10]. Các muối halogenua đất hiếm REF_3 và RECl_3 được sử dụng như là nguyên liệu cho cả hai phương pháp trên. Trong hai muối được sử dụng, muối RECl_3 có nhiệt độ nóng chảy thấp hơn REF_3 nên thuận lợi hơn cho quá trình điều chế REM. Tuy nhiên, muối RECl_3 lại có tính hút ẩm cao và rất khó khan hóa, trong khi muối REF_3 lại khắc phục được nhược điểm đó. Tùy thuộc vào kim loại đất hiếm cần điều chế và chất khử (đối với phương pháp nhiệt kim) sẽ sử dụng muối clorua hay florua cho phù hợp [2-10].

Để điều chế muối REF_3 khan, có hai phương pháp là phương pháp ướt đi từ dung dịch RECl_3 và phương pháp khô đi từ oxit RE_2O_3 [4, 11-13]. Phương pháp khô là phương pháp phổ biến hơn do quá trình thực hiện dễ dàng và không phải khan hóa muối trong quá trình điều chế. Các phản ứng florua hóa diễn ra như sau [4, 11-13]:



Tác nhân florua hóa amoni biflorua $\text{NH}_4\text{F.HF}$ được ưa chuộng hơn vì quá trình dễ dàng triển khai trên quy mô lớn và yêu cầu thiết bị đơn giản [11-13].

Trước đây, Viện Công nghệ xạ hiếm đã thực hiện các nghiên cứu chế biến quặng đất hiếm, từ giai đoạn tuyển thu nhận tinh quặng đất hiếm và thủy luyện thu nhận tổng oxit đất hiếm (TREO) đến phân chia tinh chế riêng rẽ TREO để thu nhận một số nguyên tố RE có độ sạch cao như La, Ce, Nd, Pr và một số nguyên tố RE nhóm trung, nhóm nặng như Sm, Eu, Gd [4, 14-16]. Mặt khác, Viện cũng đã thực hiện đề tài khoa học công nghệ cấp nhà nước thuộc Chương trình KH&CN trọng điểm về công nghệ khai thác và chế biến khoáng sản [4]. Nhằm nâng cao giá trị kinh tế của nguồn tài nguyên đất hiếm trong nước, việc nghiên cứu điều chế các REM cần được tiến hành. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp khô với muối NH_4HF_2 và oxit Dy_2O_3 là các tác nhân phản ứng để điều chế muối DyF_3 dùng làm nguyên liệu để điều chế kim loại Dy.

*Tác giả liên hệ: Email: ntthuy.k51a@gmail.com

Study on the fluorination of dysprosium oxide by ammonium bifluoride for the preparation of dysprosium fluoride

Trong Hung Nguyen, Ba Thuan Le, Thanh Thuy Nguyen*

Institute for Technology of Radioactive and Rare Elements

Received 28 April 2021; accepted 10 June 2021

Abstract:

In this report, dysprosium fluoride (DyF_3) - a material for the preparation of dysprosium (Dy) metal was prepared by the fluorination of dysprosium oxide (Dy_2O_3) by ammonium bifluoride (NH_4HF_2) reagent. The effect of reaction time and temperature on the formation of dysprosium fluoride salt has been studied. The phase composition and crystal structure of the obtained products were analysed by X-ray diffraction (XRD). Thermal analysis techniques were applied to determine the temperature range of the fluorination. Scanning electron microscopy with energy dispersive spectroscopy (SEM/EDS) was used for external morphology observation and chemical elemental composition analysis. The results showed that the high purity phase of DyF_3 was formed at the conditions: reaction time and temperature of >1 h and >350°C, respectively. The product is available for the preparation of Dy metal by metallothermic reduction.

Keywords: dysprosium fluoride, dysprosium metal, fluorination, metallothermic reduction.

Classification number: 1.4

Hóa chất và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất

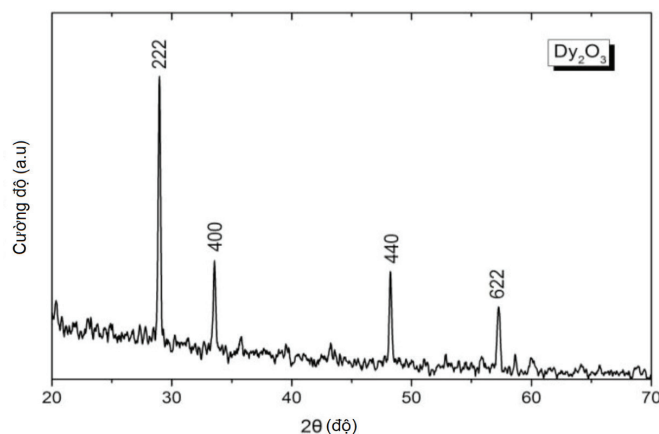
Các hóa chất được sử dụng bao gồm: Dy_2O_3 có độ tinh khiết 99,9% (xuất xứ Trung Quốc) và muối NH_4HF_2 (>98%, xuất xứ Trung Quốc). Với mỗi thí nghiệm, 5 g Dy_2O_3 được trộn đều với muối NH_4HF_2 theo tỷ lệ $\text{NH}_4^+/\text{Dy}^{3+}$ được lựa chọn là 3,9/1,0 (mol/mol), tương ứng với lượng NH_4HF_2 dư 30% so với lý thuyết. Hỗn hợp được cho vào chén nung molybden và nung trong lò ống kín khí. Khí argon được nạp vào lò trong suốt quá trình nung với tốc độ 5 lít/phút. Nhiệt độ nung được thay đổi từ 250 đến 450°C, thời gian nung dao động từ 1 đến 3 h để đánh giá sự hình thành của vật liệu.

Phương pháp nghiên cứu

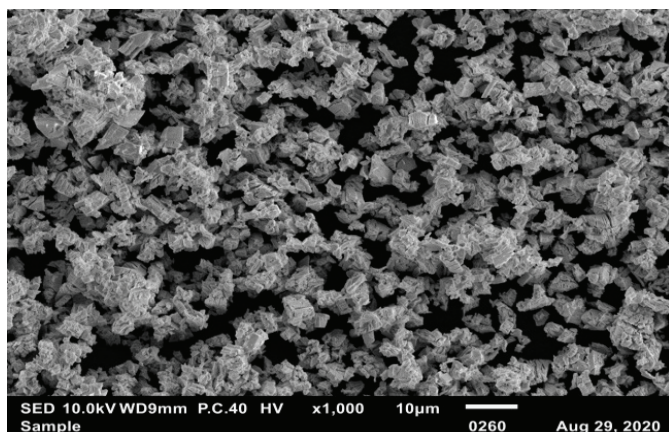
Phương pháp phân tích nhiệt (sử dụng thiết bị SETARAM Thermal Analyzer tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội) được áp dụng nhằm xác định quá trình florua hóa, từ đó xác định khoảng nhiệt độ khảo sát. Phương pháp XRD (sử dụng thiết bị SIEMENS D5005 instrument tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội) được sử dụng để xác định thành phần pha của nguyên liệu cũng như sản phẩm sau nung. Phương pháp SEM/EDS (sử dụng thiết bị JEOL JSM-IT100LV instrument tại Viện Công nghệ xạ hiếm) được sử dụng để xác định hình thái học và thành phần các nguyên tố hóa học; kích thước hạt được xác định thông qua ảnh SEM và phần mềm xử lý ảnh ImageJ. Phần mềm Origin được sử dụng để dựng lại giản đồ XRD từ file data gốc.

Kết quả và thảo luận

Nguyên liệu Dy_2O_3 đã được sơ bộ đánh giá cấu trúc tinh thể và hình thái học bằng phương pháp XRD và SEM (hình 1 và 2). Kết quả đánh giá cho thấy, nguyên liệu Dy_2O_3 được sử dụng có cấu trúc lập phương và kích thước hạt tương đối đồng đều, nằm trong khoảng 2-10 μm .



Hình 1. Giản đồ XRD của nguyên liệu Dy_2O_3 .



Hình 2. Ảnh SEM của nguyên liệu Dy_2O_3 .

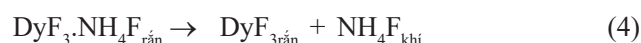
Xác định khoảng nhiệt độ florua hóa Dy_2O_3 bằng tác nhân NH_4HF_2

Quá trình florua hóa Dy_2O_3 bằng tác nhân NH_4HF_2 diễn ra ở nhiệt độ cao. Để xác định khoảng nhiệt độ phản ứng florua hóa diễn ra, phương pháp phân tích nhiệt được thực hiện: bột Dy_2O_3 được trộn với NH_4HF_2 theo tỷ lệ NH_4^+/Dy^{3+} là 3,9/1 (mol/mol), sau đó hỗn hợp được phân tích nhiệt trong môi trường khí argon; nhiệt độ khảo sát từ nhiệt độ phòng đến $800^\circ C$, tốc độ nâng nhiệt $10^\circ C/phút$. Kết quả phân tích TGA/DTA cùng với đường DrTGA được thể hiện trong hình 3.

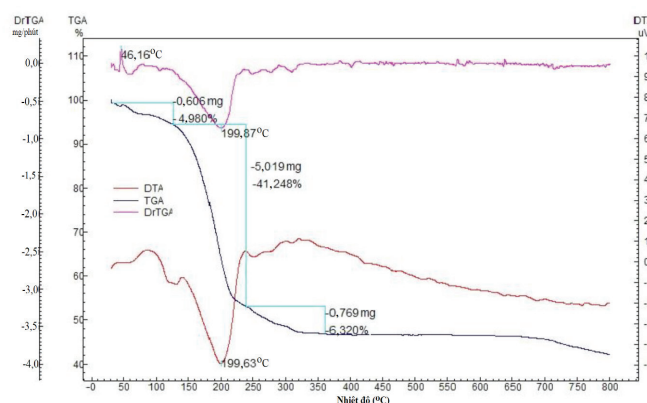
Đường nhiệt trọng lượng (TGA) cho thấy có sự sụt khối lượng từ 50 đến $350^\circ C$. Trong đó, sự mất khối lượng diễn ra mạnh mẽ trong khoảng nhiệt độ 125 đến $250^\circ C$, tương ứng với một pic lớn trên đường DrTGA với đỉnh pic tại $199,87^\circ C$. Như vậy có thể nhận thấy rằng, hiệu ứng hóa học diễn ra mạnh mẽ trong khoảng nhiệt độ này.

Đường phân tích nhiệt vi sai (DTA) cho thấy một số hiệu ứng tỏa/thu nhiệt khác nhau. Tại nhiệt độ dưới $80^\circ C$ xuất hiện một pic tỏa nhiệt, tương ứng với đó là một pic có cường độ nhỏ trên đường DrTGA. Điều này được nhận định là do sự bay hơi chậm của muối NH_4HF_2 trước khi quá trình nóng chảy của muối này xảy ra [11-13, 17-19]. Khối lượng mẫu bay hơi trong trường hợp này là không đáng kể. Pic thu nhiệt xuất hiện ngay sau đó với đỉnh pic tương đối bằng tại nhiệt độ khoảng $125^\circ C$, cùng với hiệu ứng rất nhỏ trên đường DrTGA. Điều này là do sự nóng chảy của muối NH_4HF_2 [11-13, 17-19]. Sau khi nóng chảy, quá trình bay hơi vẫn tiếp tục diễn ra với một pic tỏa nhiệt tại khoảng $150^\circ C$. Sau nhiệt độ này, quá trình sụt giảm khối lượng diễn ra rất mạnh cùng với pic thu nhiệt có đỉnh tại $199,63^\circ C$.

Điều đó cho thấy phản ứng giữa Dy_2O_3 và NH_4HF_2 diễn ra mạnh mẽ. Quá trình phản ứng giữa hai chất trên diễn ra trong thực tế tương đối phức tạp với nhiều sản phẩm trung gian được hình thành. Phương trình phản ứng được mô tả theo phương trình sau [11-13]:



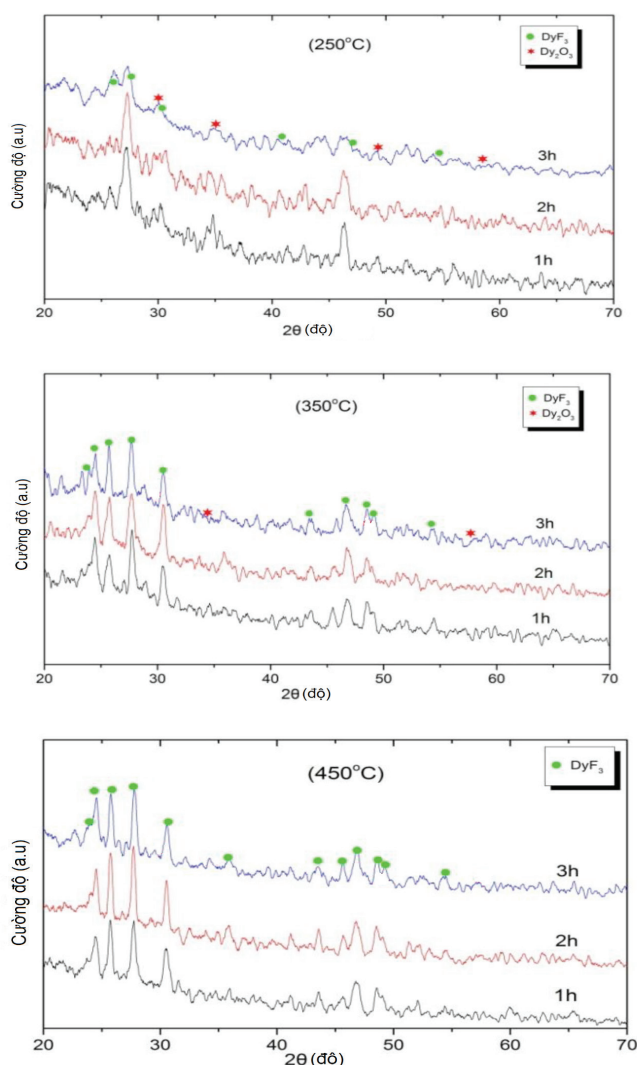
Phản ứng (3) xảy ra trước trong giai đoạn nhiệt độ từ 150 đến $250^\circ C$. Sự sụt giảm khối lượng mạnh mẽ (41%) trong giai đoạn này là do sự bay hơi của các sản phẩm khí NH_3 , H_2O và một phần nhỏ của muối NH_4HF_2 . Kết thúc giai đoạn này sản phẩm trung gian $DyF_3.NH_4F$ được hình thành và tiếp tục bị phân hủy khi nhiệt độ tăng lên. Nhiệt độ hình thành và phân hủy các hợp chất trung gian không được xác định một cách chính xác. Tuy nhiên, quá trình kết thúc phản ứng có thể đạt trước $400^\circ C$ do không có hiệu ứng nhiệt cũng như sự sụt khối lượng nào đáng kể khi nhiệt độ lớn hơn $400^\circ C$. Khi nhiệt độ lớn hơn $700^\circ C$, đường DTG cho thấy sự sụt giảm khối lượng tương đối chậm. Đường DrTGA không xuất hiện đỉnh pic, cùng với đó là không xuất hiện hiệu ứng thu/tỏa nhiệt trên đường DTA. Điều này có thể là do sự chuyển hóa từ từ của muối DyF_3 do nhiệt độ cao.



Hình 3. Biểu đồ phân tích nhiệt của hỗn hợp Dy_2O_3 và NH_4HF_2 .

Nghiên cứu quá trình florua hóa Dy_2O_3 bằng tác nhân NH_4HF_2

Dựa trên kết quả thu được từ phương pháp phân tích nhiệt, nhiệt độ khảo sát quá trình florua hóa Dy_2O_3 bằng NH_4HF_2 được lựa chọn ở các nhiệt độ 250, 350 và $450^\circ C$. Qua tham khảo các tài liệu [11-13], nhóm tác giả lựa chọn thời gian của quá trình florua hóa Dy_2O_3 từ 1 đến 3 h. Các nghiên cứu được thực hiện với các điều kiện nêu trên, kết quả phân tích XRD của các mẫu thí nghiệm được chỉ ra trong hình 4.



Hình 4. Giảm đồ XRD của các mẫu thu được ở các điều kiện nhiệt độ và thời gian khác nhau.

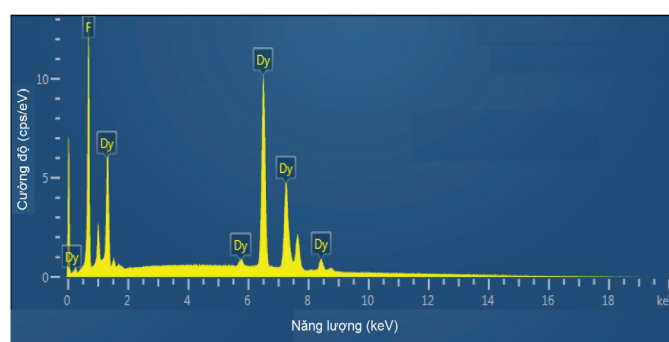
Kết quả phân tích XRD cho thấy, tại nhiệt độ 250°C hầu như chưa xuất hiện các pic đặc trưng cho DyF_3 tại tất cả các thời gian nghiên cứu. Quá trình phản ứng vẫn chưa diễn ra hoàn toàn mà mới hình thành hợp chất trung gian như $DyF_3 \cdot NH_4F$ tại nhiệt độ này. Tại nhiệt độ 350°C, các pic đặc trưng cho pha tinh thể của DyF_3 đã xuất hiện một cách rõ nét. Các pic có cường độ lớn xuất hiện trong khoảng góc $2\theta=18-30^\circ$. Giảm đồ XRD tại nhiệt độ này cũng cho thấy cường độ pic tăng lên khi thời gian nung tăng, thời gian 1-2 h là chưa đủ để phản ứng diễn ra hoàn toàn. Giảm đồ XRD của các mẫu thu được khi nung ở 450°C cho thấy DyF_3 đã xuất hiện ngay tại thời gian 1 h. Cường độ các pic của mẫu nung trong 1 h tương đương với mẫu thu được khi nung ở nhiệt độ 350°C/3 h. So sánh các pic tại thời gian nung 2 và 3 h nhận thấy, với nhiệt độ 450°C, thời gian nung 2 h là đủ để thu được được sản phẩm DyF_3 có độ tinh khiết cao.

Để đánh giá chính xác hơn độ tinh khiết của sản phẩm thu được ở các thời gian và nhiệt độ khác nhau, nhóm nghiên cứu tiến hành phân tích EDS các mẫu thu được khi nung ở 450 và 350°C/3 h. Kết quả được chỉ ra trong bảng 1 và hình 5.

Bảng 1. Kết quả phân tích EDS của các mẫu thí nghiệm và mẫu tinh khiết.

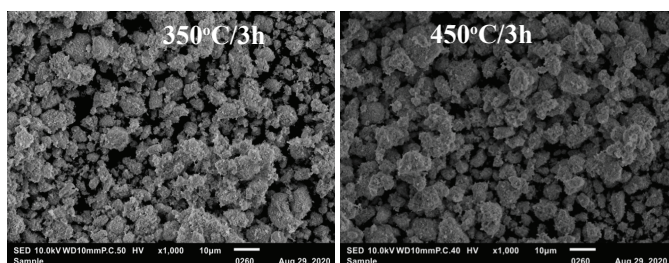
Nguyên tử	Thành phần nguyên tử trong hợp chất (%)				
	350°C/3 h	450°C/1 h	450°C/2 h	450°C/3 h	DyF_3
Dy	31	27	29	31	31
F	69	73	71	69	69
Tỷ lệ F/Dy	2,23	2,70	2,45	2,23	2,23

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, ở tất cả các mẫu thí nghiệm đều không có sự xuất hiện của nguyên tử oxy (O). Điều này cho thấy Dy_2O_3 đã được chuyển hóa hoàn toàn thành các hợp chất florua. Kết quả này cũng đã chứng minh nhận định dựa trên kết quả phân tích nhiệt là quá trình florua hóa diễn ra mạnh mẽ tại nhiệt độ khoảng 200°C. Thành phần nguyên tử Dy và F trong hợp chất DyF_3 lần lượt là 31 và 69%; tỷ lệ nguyên tử F/Dy là 2,23. Đối với các mẫu nghiên cứu, tỷ lệ F/Dy phụ thuộc rất lớn vào thời gian nung. Tại thời gian nung 1 và 2 h, tỷ lệ F/Dy lần lượt là 2,70 và 2,45. Điều này chứng tỏ còn dư một lượng ion flo trong sản phẩm cuối cùng. Tại thời gian nung 3 h (đối với cả hai nhiệt độ nung 350 và 450°C), tỷ lệ trên là 2,23. Giá trị này tương đương với giá trị của DyF_3 tinh khiết. Điều đó nói lên rằng nhiệt độ nung 350-450°C và thời gian nung 3 h là đủ để phản ứng xảy ra hoàn toàn.



Hình 5. EDS của muối DyF_3 .

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy kích thước hạt của các mẫu thu được không có sự thay đổi nhiều so với nguyên liệu Dy_2O_3 (hình 6). Bề mặt các hạt không còn nhẵn như ban đầu mà xuất hiện nhiều lỗ xốp. Điều này chứng tỏ quá trình phản ứng diễn ra trên bề mặt hạt oxit Dy_2O_3 rồi tiến dần vào bên trong hạt. Các hạt thu được sau khi phản ứng không bị co cụm mà vẫn có biên giới hạt rõ ràng.



Hình 6. Ảnh SEM của các mẫu thu được.

Kết luận

Quá trình điều chế muối DyF_3 từ Dy_2O_3 bằng phương pháp khô sử dụng muối NH_4HF_2 làm tác nhân fluorua hóa đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy hợp chất DyF_3 đã được hình thành khi nhiệt độ nung đạt $350^\circ C$. Các hạt hình thành có biên giới rõ ràng và kích thước nhỏ hơn $10\ \mu m$. Để loại bỏ tạp chất flo còn lại trong sản phẩm cuối cùng thì quá trình phản ứng phải được thực hiện ở nhiệt độ $>350^\circ C$ và thời gian phản ứng $\geq 3\ h$. Sản phẩm thu được có thể được sử dụng là nguyên liệu cho quá trình nhiệt kim điều chế Dy kim loại.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện thông qua đề tài mã số: ĐTCB.11/19/VCNXH (VINATOM). Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Qi Dezhi (2018), *Hydrometallurgy of Rare Earths: Extraction and Separation*, Elsevier.
- [2] Petra Zappa, Josefine Marx, Andrea Schreiber, Bernd Friedrich, Daniel Voßenkaul (2018), "Comparison of dysprosium production from different resources by life cycle Assessment", *Resources, Conservation & Recycling*, **130**, pp.248-259.
- [3] Sander Hoenderdaal, Luis Tercero Espinoza, Frank Marscheider-Weidemann, Wina Graus (2013), "Can a dysprosium shortage threaten green energy technologies?", *Energy*, **49**, pp.344-355.
- [4] Nguyễn Trọng Hùng (2016), *Nghiên cứu công nghệ điều chế một số sản phẩm đất hiếm có độ sạch cao từ nguồn khoáng đất hiếm Việt Nam*, Báo cáo đề tài cấp nhà nước mã số: 11.13/ĐMCNKK.
- [5] C.K. Gupta, N. Krishnamurthy (2013), "Oxide reduction processes in the preparation of rare-earth metals", *Minerals & Metallurgical Processing*, **30** (1), pp.38-44.

[6] Hang Liu, Yao Zhang, Yikun Luan, Huimin Yu and Dianzhong Li (2020), "Research progress in separation and purification of Rare Earth metals", *Metals*, **10**, pp.1376.

[7] Trevor M. Riedemann, et al. (2011), *High purity Rare Earth metals preparation*, MPC Rare Earth Materials Section, Ames Laboratory, Iowa State University (USA).

[8] L. John, J. Moriarty (1968), "The industrial preparation of the Rare Earth metals by metallothermic reduction", *The Journal of Metals*, **20**(11), pp.41-45.

[9] Oscar Norman Carlson, et al. (1960), *Reduction of fluoride to metal*, US Patent No 2,950,962.

[10] Abhishek Mukherjee, A. Awasthi & N. Krishnamurthy (2016), "Studies on calcium reduction of yttrium fluoride", *Mineral Processing and Extractive Metallurgy*, **125**(1), pp.26-31.

[11] Liu Qian, Guo Feng (1999), *Study on preparation and composition of dysprosium fluoride*, Chinese Rare Earths.

[12] Sofronov Vladimira, Ivanov Zakhar, Makaseyev Yuri, Kostareva Tamara (2016), "Research of dysprosium, Terbium and Neodymium oxides fluorination", *Key Engineering Materials*, **683**, pp.345-352.

[13] Abhishek Mukherjee, et al. (2011), "Studies on fluorination of Y_2O_3 by NH_4HF_2 ", *Thermochimica Acta*, **520**, pp.145-152.

[14] Nguyen Trong Hung, Le Ba Thuan, Nguyen Thanh Thuy, et al. (2020a), "Optimization of sulfuric acid leaching of a Vietnamese Rare Earth concentrate", *Hydrometallurgy*, **191**, pp.105195.

[15] Nguyen Trong Hung, Le Ba Thuan, Nguyen Thanh Thuy, et al. (2020b), "Separation of Thorium and Uranium from xenotime leach solutions by solvent extraction using primary and tertiary amines", *Hydrometallurgy*, **198**, pp.105506.

[16] Noboru Aoyagi, Thuy T. Nguyen, Hung T. Nguyen and Thuan Ba Le (2020), "Spectroscopic studies of mössbauer, infrared, and laser-induced luminescence for classifying Rare Earth minerals enriched in iron rich deposits", *ACS Omega*, **5**, pp.7096-7105.

[17] M. Onishi, T. Kohgo, K. Amemiya, K. Nakazato, H. Kanamori and H. Yokota (1993), "Thermal and mass analyses of fluorination process with ammonium bifluoride", *Journal of Non-Crystalline Solids*, **161**, pp.10-13.

[18] E.G. Rakov and E.I. Mel'nichenko (1984), "The properties and reactions of ammonium fluorides", *Russian Chemical Reviews*, **53**, pp.9.

[19] J.E. House and Carol S. Rippon (1981), "ATG study of the decomposition of ammonium fluoride and ammonium bifluoride", *Thermochimica Acta*, **47**, pp.213-216.

Nghiên cứu thành phần đồng vị của nước mưa khu vực thành phố Long Khánh, miền Đông Nam Bộ

Bùi Quang Trí^{1*}, Huỳnh Thị Thu Hương¹, Phạm Uyên Thi¹, Dương Thị Bích Chi¹, Phan Thị Luân¹, Lê Thị Thanh Tâm¹, Trần Trí Hải¹, Lê Văn Sơn¹, Nguyễn Văn Mười², Đặng Đức Nhận³

¹Trung tâm Ứng dụng kỹ thuật hạt nhân trong công nghiệp

²Trung tâm Quy hoạch và Điều tra tài nguyên nước quốc gia

³Hội Địa chất Thủy văn Việt Nam

Ngày nhận bài 5/5/2021; ngày chuyển phản biện 13/5/2021; ngày nhận phản biện 14/6/2021; ngày chấp nhận đăng 21/6/2021

Tóm tắt:

Tỷ số đồng vị $^2\text{H}/^1\text{H}$ và $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ trong nước mưa mang nhiều thông tin về sự phân tách của phân tử nước trong chu trình thủy quyển. Mối liên hệ giữa các tỷ số đồng vị của nước mưa trong một khu vực đặc trưng bởi đường nước khí tượng địa phương, được biết đến như giá trị tham khảo tin cậy cho các nghiên cứu liên quan đến phân định nguồn gốc của nước bổ cập nước dưới đất và điều tra biến đổi khí hậu. Nghiên cứu này trình bày việc xây dựng đường nước khí tượng địa phương Long Khánh (LK LMWL) trong giai đoạn 2020-2021 làm cơ sở cho việc nghiên cứu về nguồn gốc nước dưới đất trên địa bàn thành phố Long Khánh và các nghiên cứu tiếp theo về nguồn gốc nước dưới đất của miền Đông Nam Bộ, lưu vực sông Đồng Nai. Kết quả cho thấy giá trị $\delta^2\text{H}$ của nước mưa dao động từ -73,64 đến 0,36‰ với giá trị trung bình là -49,74‰ và $\delta^{18}\text{O}$ dao động từ -10,91 đến -1,59‰ với giá trị trung bình là -7,68‰, khi so với mẫu chuẩn VSMOW. Nước mưa ở Long Khánh về mùa khô có thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ giàu hơn so với nước mưa trong mùa mưa do hiệu ứng lượng mưa và đặc điểm khí tượng của khu vực. LK LMWL tuân theo phương trình $\delta^2\text{H} = (7,89 \pm 0,38) \times \delta^{18}\text{O} + (10,28 \pm 2,93)$ ($R^2=0,96$, $n=19$) cho thấy, thành phần đồng vị của $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa được làm giàu hơn thành phần đồng vị của $\delta^2\text{H}$. Mức dư đơteri (d-excess) của nước mưa trong khu vực là $10,28 \pm 2,93$ ‰, tương đương với quy mô toàn cầu là 10‰.

Từ khóa: d-excess, đường nước khí tượng Long Khánh, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$.

Chỉ số phân loại: 1.5

Đặt vấn đề

Long Khánh - thành phố trực thuộc tỉnh Đồng Nai, là một trong những địa phương phát triển nhanh nhất trong nhóm đô thị địa phương khu vực miền Đông Nam Bộ. Quá trình đô thị hóa ngày càng tăng kèm theo sự gia tăng dân số cơ học đang gây áp lực lên nguồn cung cấp nước sạch cho dân cư địa phương. Ngoài ra, nhu cầu sử dụng nước cho các hoạt động phát triển công nghiệp, nông nghiệp tương đối lớn, trong khi nguồn nước mặt rất hạn chế cũng là một trong những khó khăn cho Đồng Nai khi phát triển kinh tế - xã hội.

Trong kỹ thuật “Thủy văn đồng vị”, đồng vị của hydro và oxy được sử dụng phổ biến nhất vì các đồng vị này là thành phần của phân tử nước. Phân tử nước được cấu tạo bởi các đồng vị nhẹ và nặng của oxy và hydro. Do đó, đơteri và oxy-18 là hai đồng vị nặng được coi là lý tưởng để sử dụng làm chất đánh dấu trong các nghiên cứu thủy văn. Đơteri và oxy-18 thường được sử dụng để đánh giá “nguồn gốc” của nước, đặc biệt là trong các hệ thống nước dưới đất; các quá trình liên quan đến việc bổ cập (theo dõi quá trình); để ước tính tỷ lệ hòa trộn của các nguồn hoặc thành phần khác nhau (truy tìm thành phần); và nghiên cứu mối quan hệ thủy lực giữa nước dưới đất và nước mặt hoặc giữa các tầng chứa nước khác nhau trong một hệ thống nước dưới đất nhất định.

Để có thể nhận biết nguồn bổ cập cũng như lượng bổ cập nước ngầm trên khu vực bằng kỹ thuật thủy văn đồng vị cần phải có dữ liệu về thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ [1].

Thành phần đồng vị của đơteri và oxy-18 trong nước được ký hiệu là delta (δ) và được định nghĩa như sau:

$$\delta^2\text{H}(\text{‰}) = \left(\frac{\delta^2 R_{\text{sample}}}{\delta^2 R_{\text{std}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (1)$$

$$\delta^2\text{H}(\text{‰}) = \left(\frac{\delta^2 R_{\text{sample}}}{\delta^2 R_{\text{std}}} - 1 \right) \times 1000 \quad (2)$$

Trong đó: $^2R_{\text{sample}}$, $^2R_{\text{std}}$, $^{18}R_{\text{sample}}$, $^{18}R_{\text{std}}$ tương ứng là tỷ số mức phổ biến (abundance) của đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong mẫu nước nghiên cứu (sample) và trong mẫu chuẩn (std).

Mẫu chuẩn được sử dụng trong các nghiên cứu về thành phần đồng vị trong nước là mẫu VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water). VSMOW là mẫu nước biển do Bộ phận Thủy văn đồng vị của Cơ quan Năng lượng nguyên tử quốc tế (IAEA) chuẩn bị và bán cho các cơ sở trên phạm vi toàn cầu sử dụng cho các mục đích nghiên cứu của mình.

Mối quan hệ giữa thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa trên phạm vi toàn cầu là mối quan hệ tuyến tính, lần đầu tiên

* Tác giả liên hệ: Email: tribq@canti.vn; Tel: 0913188582

Study on the isotopic composition of rainwater in Long Khanh city, Southeast of the Mekong Delta region

Quang Tri Bui^{1*}, Thi Thu Huong Huynh¹,
Uyen Thi Pham¹, Thi Bich Chi Duong¹,
Thi Luan Phan¹, Thi Thanh Tam Le¹, Tri Hai Tran¹,
Van Son Le¹, Van Muoi Nguyen², Duc Nhan Dang³

¹Centre for Applications of Nuclear Technique in Industry

²Centre for Water Resources Technical and Consultant

³Vietnam Association of Hydrogeology

Received 5 May 2021; accepted 21 June 2021

Abstract:

The $^2\text{H}/^1\text{H}$ and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ isotope ratios in rainwater bring a lot of information about the fractionation of water molecules in the hydrosphere. The relationship between the isotope ratios of rainwater in an area characterised by the local meteoric water line, which is known as a reliable reference value for studies related to the identification of the recharge source of groundwater and climate change investigations. This study aims to establish a local meteoric water line in Long Khanh city (LK LMWL) in the period of 2020-2021, which is considered as a basis for research on the origin of groundwater in the area of Long Khanh city and subsequent studies on the origin of groundwater in the Southeast of the Mekong Delta region and the Dong Nai river basin. Results show that $\delta^2\text{H}$ in rainwater ranges from -73.64 to 0.36 (‰ VSMOW) with an average value of -49.74‰ (n=19) and that figure of $\delta^{18}\text{O}$ ranges from -10.91 to -1.59 (‰ VSMOW) with a mean of -7.68‰ (n=19). Due to the amount and specific meteorological conditions of the region, $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ in rainwater are enriched in the dry season but deplete in the rainy season. The LK LMWL follows a model of $\delta^2\text{H} = (7.89 \pm 0.38) \delta^{18}\text{O} + (10.28 \pm 2.93)$ ($R^2 = 0.96$, n=19), which shows that the isotopic composition of $\delta^{18}\text{O}$ in rainwater is more enriched than the isotopic composition of $\delta^2\text{H}$. The deuterium excess (d-excess) of rainwater in the region is found to be 10.28 ± 2.93 ‰, which is comparable to those for the global scale of 10‰.

Keywords: d-excess, Long Khanh meteoric water line, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$.

Classification number: 1.5

được Craig (1961) [1] phát hiện khi xử lý số liệu thành phần đồng vị của hai đồng vị nặng trong nước mưa, thu thập từ hơn 100 trạm quan trắc khí tượng toàn cầu lắp đặt cả trên các đại dương và bao phủ hầu như đều khắp lục địa. Mỗi quan hệ này được gọi là "đường nước khí tượng toàn cầu" (Global Meteoric Water Line, GMWL) và phương trình của GMWL có dạng (3):

$$\delta^2\text{H} = 8.8\delta^{18}\text{O} + 10 \quad (3)$$

Trên phạm vi khu vực, giá trị hệ số góc và mức dư deuteri (d-excess) của đường nước khí tượng khu vực sẽ khác 8 và 10 do có các hiệu ứng vĩ độ, độ cao, nhiệt độ khí quyển và độ ẩm không khí khí quyển như trình bày ở trên. Giá trị hệ số góc của đường nước khí tượng được quyết định không những bởi các yếu tố nhiệt động học của quá trình chuyển pha mà còn bởi các hiệu ứng liên quan đến động học của quá trình ngưng tụ - rơi lắng ướt, đó là nhiệt độ và độ ẩm khí quyển [2]. d-excess được tính theo công thức (4) [3]:

$$\text{d-excess} = \delta^2\text{H}_{\text{sample}} - 8.8\delta^{18}\text{O}_{\text{sample}} \quad (4)$$

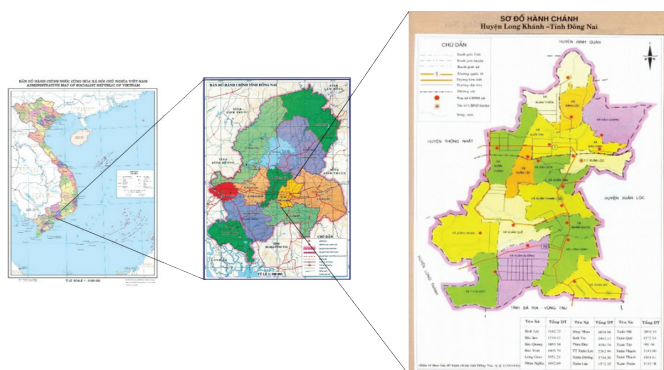
Trong đó, $\delta^2\text{H}_{\text{sample}}$ và $\delta^{18}\text{O}_{\text{sample}}$ là giá trị thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong các mẫu nước nghiên cứu. d-excess phụ thuộc vào nguồn phát sinh độ ẩm gây mưa trên khu vực [2, 4].

Trong những năm qua, các nhà khoa học trong nước sử dụng kỹ thuật thủy văn đồng vị, chủ yếu để nghiên cứu nước ngầm tại hai hệ thống sông Hồng và sông Mê Kông. Trong khi đó, hệ thống sông Đồng Nai có tới 99% lưu vực nằm hoàn toàn trên đất nước ta [5], là điều kiện thuận lợi để nghiên cứu thủy văn đồng vị (vì không phải ra nước ngoài thu thập mẫu), nhưng lại chưa được quan tâm. Hiện nay trong khu vực miền Đông Nam Bộ, đại diện là Long Khánh lại chưa có dữ liệu mang tính hệ thống về thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ của nước mưa, trong khi đó việc nghiên cứu bổ cập nước dưới đất (nguồn bổ cập và lượng bổ cập) ở khu vực này là cần thiết đối với công tác quản lý tài nguyên nước. Vì vậy, mục đích của công trình này là phân tích thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa thu thập ở khu vực Long Khánh để thiết lập đường nước khí tượng địa phương, làm cơ sở cho việc nghiên cứu về nguồn tài nguyên nước dưới đất khu vực Long Khánh và các nghiên cứu trong tương lai về nguồn gốc nước dưới đất khu vực miền Đông Nam Bộ, lưu vực sông Đồng Nai.

Nội dung và phương pháp nghiên cứu

Khu vực nghiên cứu

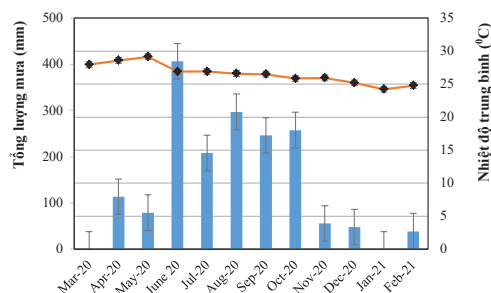
Long Khánh nằm ở phía đông tỉnh Đồng Nai, cách thành phố Biên Hòa 47 km, cách thành phố Hồ Chí Minh 72 km. Diện tích của thành phố là 194,09 km², chiếm 3,3% diện tích tự nhiên toàn tỉnh Đồng Nai. Thành phố Long Khánh giáp huyện Xuân Lộc về phía đông - đông bắc, giáp huyện Thống Nhất về phía tây - tây bắc, giáp huyện Cẩm Mỹ về phía nam - tây nam và giáp huyện Định Quán về phía bắc (hình 1) [6].



Hình 1. Bản đồ khu vực nghiên cứu - thành phố Long Khánh, tỉnh Đồng Nai.

Số liệu khí tượng trong thời gian nghiên cứu

Trong thời gian nghiên cứu, từ tháng 3/2020 đến tháng 2/2021, nhiệt độ trung bình tháng tại thành phố Long Khánh dao động từ 24 đến 29°C với giá trị trung bình là 26°C. Nhiệt độ trung bình tháng lớn nhất là 29°C (tháng 5/2020) và trung bình tháng thấp nhất là 24°C (tháng 1/2021) [7]. Lượng mưa cả năm là 1.751 mm, thấp hơn lượng mưa trung bình 10 năm trước (2.158 mm). Tháng 5/2020 có lượng mưa lớn nhất là 410 mm và tháng 2/2021 có lượng mưa nhỏ nhất là 38 mm, hai tháng 3/2020 và tháng 1/2021 không có mưa [7]. Độ ẩm trung bình tháng trong thời gian nghiên cứu dao động từ 78 đến 90% vào mùa mưa và từ 68 đến 80% vào mùa khô [7]. Hình 2 trình bày sự thay đổi nhiệt độ và lượng mưa trung bình tháng tại thành phố Long Khánh.



Hình 2. Nhiệt độ và lượng mưa trung bình tháng trong giai đoạn nghiên cứu.

Lượng bốc hơi trong mùa khô cao, chiếm khoảng 64% tổng lượng bốc hơi cả năm. Ngược lại lượng bốc hơi vào mùa mưa thấp hơn, chiếm khoảng 34-36% tổng lượng bốc hơi cả năm. Lượng bốc hơi tháng cao nhất là 200 mm (tháng 3) và thấp nhất là 42 mm (tháng 10) [7].

Thời gian nắng hàng ngày trung bình trong tháng dao động trong khoảng từ 5÷9 h/ngày. Trong giai đoạn nghiên cứu, thời gian nắng trung bình là 6 h/ngày [7].

Theo tiêu chí S-S xác định lượng mưa [8] thì mùa mưa ở khu vực Long Khánh trong thời gian nghiên cứu bắt đầu từ tháng 6 đến giữa tháng 10/2020, thời gian còn lại là mùa khô.

Thu thập mẫu nước mưa

19 mẫu nước mưa (SR01 đến SR19) đã được thu thập từ tháng

4/2020 đến tháng 2/2021 tại Trạm Khí tượng Long Khánh. Bộ dụng cụ thu mẫu nước mưa là loại nhúng được mô tả trong hướng dẫn về Quy trình kỹ thuật IAEA lấy mẫu nước mưa [9]. Dụng cụ này bao gồm một bình/can nhựa polyetylen tỷ trọng cao (HDPE) dung tích 20 lít được lắp một phễu hứng thẳng đứng có đường kính 14 cm xuyên qua nắp cao su đậy kín miệng can và nối với ống dẫn chạm gần đến đáy bình chứa mẫu. Khoảng không trong can được cân bằng áp suất khí quyển bằng một ống nhựa đường kính trong 2 mm và dài 15 m cuộn tròn. Can nhựa thu mẫu được ổn nhiệt, tránh nắng mặt trời và lắp đặt tại Trạm Khí tượng Long Khánh ở vị trí xung quanh không có nhà cao tầng cản trở nước mưa rơi theo chiều thẳng đứng. Thiết kế của bộ dụng cụ này đảm bảo không cho mẫu nước thu được trong tháng bị bốc hơi làm thay đổi thành phần đồng vị. Mẫu được lấy vào ngày 15 và 30 hàng tháng. Trước khi lấy mẫu tiến hành đo thể tích nước trong can để tính độ sâu mực nước mưa ($H=4.V/3,14xd^2$), trong đó $d=140$ mm là đường kính phễu hứng và V là thể tích nước trong can (tính bằng ml) của mỗi nửa tháng, sau đó mẫu được san vào chai dung tích 500 ml có nắp hai lớp đậy kín miệng chai. Mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm để xử lý và phân tích thành phần đồng vị. Trước khi phân tích, mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C.

Phân tích thành phần đồng vị trong phòng thí nghiệm

Thành phần đồng vị δ^2H và $\delta^{18}O$ của các mẫu nước mưa được định lượng bằng thiết bị quang phổ laser IWA-35EP (hãng Los Gatos Research - LGR) tại Phòng thí nghiệm thủy văn đồng vị và môi trường của Trung tâm Ứng dụng kỹ thuật hạt nhân trong công nghiệp. Chi tiết về nguyên lý cũng như thiết bị phân tích thành phần đồng vị của nước bằng thiết bị IWA của hãng Los Gatos.

Thiết bị được tự động điều khiển thông qua phần mềm LWIA Post Analysis Software. Khi phân tích, kỹ thuật viên đặt chương trình phân tích tương ứng cho thành phần đồng vị δ^2H hoặc $\delta^{18}O$ và lập danh sách ký hiệu mẫu, phần mềm sẽ chọn bước sóng chùm laser phù hợp cho từng đồng vị. Cứ 8 mẫu phân tích thì đặt một mẫu chuẩn để hiệu chỉnh mức trôi của tín hiệu. Hệ thống thiết bị sẽ tự động lấy và bơm mẫu qua bộ phận bơm mẫu tự động (Autosampler). Sau mỗi phép phân tích, phần mềm sẽ tính giá trị R_{sample} và R_{std} , rồi tính độ tương ứng đối với 2H và ^{18}O . Kết quả thành phần đồng vị δ^2H và $\delta^{18}O$ trong mẫu được thông báo bằng ‰ so với mẫu chuẩn VSMOW. Quy trình phân tích được thiết lập theo hướng dẫn của hãng cung cấp máy (LGR). Mỗi mẫu được phân tích lặp sáu lần, kết quả của hai lần đo đầu tiên được phần mềm tự động loại bỏ để tránh hiệu ứng “nhớ” của máy, đảm bảo cho kết quả ghi nhận được là chính xác. Kết quả nghiên cứu của đề tài cấp cơ sở năm 2018 đã xác định độ lặp lại của các kết quả đo là từ $\pm 0,02$ đến $\pm 0,79\%$ đối với δ^2H và từ $\pm 0,02$ đến $\pm 0,11\%$ đối với $\delta^{18}O$ [10].

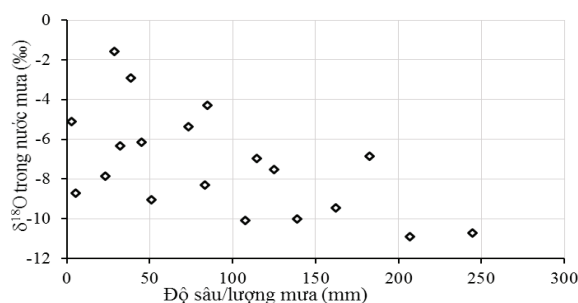
Kết quả và thảo luận

Kết quả theo dõi lượng mưa theo thời gian thu mẫu (nửa tháng một lần), thành phần đồng vị δ^2H và $\delta^{18}O$ trong nước mưa và kết quả tính d-excess của 19 mẫu nước mưa thu được trong hai năm 2020-2021 tại khu vực Long Khánh được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Lượng mưa, thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa và mức d-excess của 19 mẫu nước mưa thu được tại Long Khánh trong năm 2020-2021.

TT	Tên mẫu	Ngày, tháng lấy mẫu	Tổng lượng mưa (mm)	Kết quả					
				$\delta^2\text{H}$ (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ (‰)		d-excess (‰)	
1	SR 01	15/04/2020	28,7	0,36	$\pm 0,71$	-1,59	$\pm 0,09$	13,06	$\pm 1,01$
2	SR 02	30/04/2020	84,7	-22,36	$\pm 0,51$	-4,28	$\pm 0,11$	11,91	$\pm 1,02$
3	SR 03	15/05/2020	5,6	-54,27	$\pm 0,02$	-8,72	$\pm 0,02$	15,50	$\pm 0,16$
4	SR 04	31/05/2020	73,5	-29,87	$\pm 0,74$	-5,38	$\pm 0,12$	13,17	$\pm 1,21$
5	SR 05	15/06/2020	162,2	-57,27	$\pm 0,28$	-9,44	$\pm 0,08$	18,23	$\pm 0,70$
6	SR 06	30/06/2020	244,7	-71,98	$\pm 0,48$	-10,7	$\pm 0,06$	13,30	$\pm 0,68$
7	SR 07	15/07/2020	83,3	-48,51	$\pm 0,18$	-8,31	$\pm 0,05$	17,94	$\pm 0,44$
8	SR 08	31/07/2020	124,8	-49,17	$\pm 0,16$	-7,51	$\pm 0,04$	10,91	$\pm 0,36$
9	SR 09	15/08/2020	182,7	-50,08	$\pm 0,23$	-6,86	$\pm 0,06$	4,76	$\pm 0,53$
10	SR 10	31/08/2020	114,5	-49,95	$\pm 0,15$	-6,96	$\pm 0,06$	5,75	$\pm 0,50$
11	SR 11	15/09/2020	107,4	-73,21	$\pm 0,79$	-10,1	$\pm 0,11$	7,43	$\pm 1,18$
12	SR 12	30/09/2020	138,8	-73,04	$\pm 0,34$	-10,2	$\pm 0,06$	8,27	$\pm 0,59$
13	SR 13	15/10/2020	206,8	-73,64	$\pm 0,35$	-10,91	$\pm 0,04$	13,66	$\pm 0,47$
14	SR 14	31/10/2020	50,9	-59,92	$\pm 0,41$	-9,06	$\pm 0,04$	12,54	$\pm 0,52$
15	SR 15	15/11/2020	32,4	-43,67	$\pm 0,25$	-6,35	$\pm 0,05$	7,11	$\pm 0,47$
16	SR 16	31/11/2020	23,2	-55,03	$\pm 0,34$	-7,85	$\pm 0,06$	7,78	$\pm 0,59$
17	SR 17	15/12/2020	45,1	-41,90	$\pm 0,33$	-6,14	$\pm 0,07$	7,22	$\pm 0,65$
18	SR 18	31/12/2020	3,1	-33,14	$\pm 0,27$	-5,12	$\pm 0,04$	7,79	$\pm 0,42$
19	SR 19	15/2/2021	38,8	-8,59	$\pm 0,12$	-2,91	$\pm 0,03$	14,69	$\pm 0,27$
Tổng lượng mưa			1.751,2						
Trung bình				-47,12		-7,28		11,107	

Kết quả trong bảng 1 cho thấy các mẫu với ký hiệu từ SR05 đến SR13 được thu gom trong khoảng thời gian từ ngày 15/6 đến 15/10/2020 có lượng mưa cao nhất, đây là mùa mưa. Các mẫu nước mưa thu gom vào mùa mưa có thành phần đồng vị nặng nghèo hơn (so với mẫu nước thu vào mùa khô), giá trị $\delta^2\text{H}$ dao động từ -73,64 đến -48,51‰ và $\delta^{18}\text{O}$ dao động từ -10,91 đến -6,86‰ (bảng 1). Các mẫu từ SR01 đến SR04 và từ SR14 đến SR19 được thu gom vào mùa khô, lượng mưa thấp, thành phần đồng vị trong mẫu giàu lên, giá trị $\delta^2\text{H}$ dao động từ -59,92 đến 0,36‰ và $\delta^{18}\text{O}$ dao động từ -9,06 đến -1,59‰. Mức độ thay đổi thành phần đồng vị nặng trong nước mưa theo mùa được biết đến như là hiệu ứng “lượng, amount effect” [2, 11]. Hình 3 trình bày mối tương quan giữa lượng mưa (P) và $\delta^{18}\text{O}$ minh họa cho hiệu ứng này.



Hình 3. Mối tương quan giữa độ sâu (lượng) mưa và $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa.

Mối tương quan giữa “lượng mưa” và $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa (hình 3) được mô tả bằng công thức:

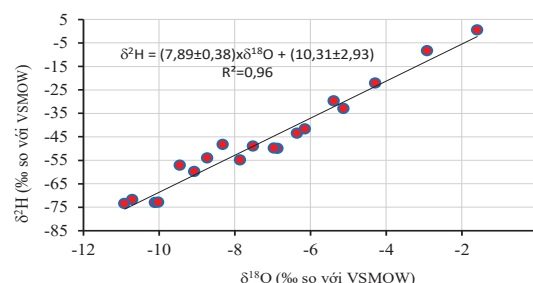
$$\delta^{18}\text{O}(\text{‰}) = -0,02 \times P(\text{mm}) - 5,27; (R^2=0,34) \quad (5)$$

Tương tự, mối tương quan giữa $\delta^2\text{H}$ và P được mô tả bằng công thức:

$$\delta^2\text{H}(\text{‰}) = -0,17 \times P(\text{mm}) - 31,37; (R^2=0,32) \quad (6)$$

Tuy các phương trình (5) và (6) có hệ số tương quan thấp ($<0,5$), tức là thành phần đồng vị và P có tương quan không chặt chẽ, nhưng chiều hướng chung là thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ đều nghèo đi khi độ sâu (lượng mưa) của nước mưa tăng lên (hệ số góc của mối tương quan <0). Có hai lý do giải thích vì sao mối tương quan giữa δ và P trong trường hợp này không được chặt chẽ. Thứ nhất là do số lượng mẫu (19 mẫu thu thập trong năm 2020 và đầu năm 2021) còn hạn chế, bởi vậy số liệu thống kê là chưa đủ để có mối tương quan tốt hơn. Ở Hà Nội, quan trắc thành phần đồng vị $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong nước mưa và lượng mưa tháng trong khoảng thời gian 10 năm (từ 2001 đến 2011) cho thấy, mối tương quan giữa δ và P có hệ số tương quan $R^2=0,54$ [12], tốt hơn so với kết quả của nghiên cứu này. Tuy nhiên, với hệ số $R^2=0,34$ thì mối tương quan giữa δ và P vẫn chưa thể coi là chặt chẽ, có nghĩa là hiệu ứng “lượng” chưa đủ để giải thích mối tương quan nghịch biến giữa δ và P. Lý do thứ hai có lẽ là do đặc thù của điều kiện khí tượng ở khu vực Nam Á. Aggarwal và cs cho biết về mùa hè, mưa ở các nước Nam Á từ 100 đến 170° kinh độ Đông, trong đó có Việt Nam, chịu sự chi phối bởi hai khối không khí, đó là khối đối lưu gió mùa đại dương (ocean monsoon trough) và khối gió mậu dịch (trade wind trough) mang theo hơi ẩm từ miền tây Thái Bình Dương, nơi nước biển bề mặt có nhiệt độ cao. Con đường vận chuyển hơi ẩm của hai khối không khí này đến Việt Nam là khá dài và trên đường đi hơi ẩm sẽ ngưng tụ và rơi lắng dần, khi đến Việt Nam thành phần đồng vị trong nước mưa sẽ nghèo đi do hiệu ứng phân tách đồng vị [13].

Kết quả trình bày trong bảng 1 cho phép thiết lập đường nước khí tượng khu vực Long Khánh (LK LMWL), tức là sự phụ thuộc giữa $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ được trình bày ở hình 4.



Hình 4. Đường nước khí tượng khu vực Long Khánh (LK LMWL), được thiết lập từ tháng 4/2020 đến tháng 2/2021.

Đường nước khí tượng khu vực LK LMWL tuân theo phương trình:

$$\delta^2\text{H} = (7,89 \pm 0,38) \times \delta^{18}\text{O} + (10,31 \pm 2,93); (R^2=0,96) \quad (7)$$

Đường nước khí tượng khu vực có hệ số tương quan $R^2=0,96$ là khá chặt chẽ.

Nghiên cứu của Đoàn Văn Cảnh và cs (2018) [14] quan trắc thành phần đồng vị trong nước mưa ở thành phố Hồ Chí Minh từ 2013 đến nay cho thấy, đường nước khí tượng khu vực (HCM LMWL) tuân theo phương trình:

$$\delta^2\text{H} = 7,37x \delta^{18}\text{O} + 5,15; (R^2=0,97) \quad (8)$$

Đường nước khí tượng khu vực Đà Lạt, Lâm Đồng (DL LMWL) tuân theo phương trình sau [15]:

$$\delta^2\text{H} = 7,78x\delta^{18}\text{O} + 14,03; (R^2=0,98) \quad (9)$$

Đường nước khí tượng khu vực Long An (LA LMWL) tuân theo phương trình sau [16]:

$$\delta^2\text{H} = (7,56\pm 0,11)x\delta^{18}\text{O} + (7,26\pm 0,67); (R^2=0,99) \quad (10)$$

Đường nước khí tượng ở BangKok, Thái Lan, (BK LMWL) không khác biệt nhiều so với đường nước khí tượng ở thành phố Hồ Chí Minh và tuân theo phương trình sau [17]:

$$\delta^2\text{H} = 7,33x\delta^{18}\text{O} + 5,17; (R^2=0,95) \quad (11)$$

Đường nước khí tượng ở thành phố Hà Nội tuân theo phương trình sau [12]:

$$\delta^2\text{H} = (8,04\pm 0,13)x\delta^{18}\text{O} + (12,96\pm 0,86); (R^2=0,98) \quad (12)$$

Từ các phương trình (7), (8), (10) và (11) nhận thấy hệ số góc của đường nước khí tượng bốn khu vực Long Khánh (LK), thành phố Hồ Chí Minh (HCM), Long An (LA) và BangKok (BK) có giá trị tương đương nhau (trong giới hạn sai số thống kê), trung bình là 7,54 thấp hơn giá trị hệ số góc của đường nước khí tượng toàn cầu là 8. Điều này là do nhiệt độ không khí ở bốn địa điểm quan trắc là khá tương đồng và cao hơn so với nhiệt độ ở các vùng ôn đới. Nhiệt độ không khí cao nên khi mưa, các giọt nước trước khi tiếp cận bề mặt đất sẽ bị bốc hơi, làm cho thành phần đồng vị ^{18}O trong nước mưa thu ở bề mặt đất giàu lên. Hiệu ứng bốc hơi của các giọt nước mưa trên đường rơi xuống mặt đất được biết đến như là hiệu ứng mất cân bằng động học của nước mưa ở những vùng có khí hậu nhiệt đới. Ở Hà Nội, nhiệt độ không khí nói chung là thấp hơn so với ở Long Khánh, thành phố Hồ Chí Minh, Long An hoặc BangKok, do vậy hiệu ứng mất cân bằng động học của nước mưa gần như không đáng kể và vì thế hệ số góc của đường nước khí tượng địa phương Hà Nội rất gần với 8. Đường nước khí tượng khu vực Đà Lạt có hệ số góc tương đương với hệ số góc của bốn khu vực LK, HCM, LA, BK nhưng giá trị d-excess lại >10. Điều này có thể là do hiệu ứng mất cân bằng động học nhưng không phải do nhiệt độ không khí cao mà do độ ẩm không khí ở Đà Lạt thấp hơn so với ở các khu vực khác nên cũng gây hiệu ứng bốc hơi trên đường mưa rơi xuống mặt đất.

Kết quả trình bày trong bảng 1 cho thấy giá trị d-excess thay đổi theo từng thời điểm thu góp mẫu, dao động từ 4,76 đến 18,23‰. Vào những thời điểm có nhiệt độ không khí cao, như từ tháng 2 đến tháng 8 giá trị d-excess thường cao hơn 10, nhưng vào những thời điểm nhiệt độ không khí mát mẻ (tháng 9 đến tháng giêng năm sau) thì d-excess thấp hơn 10. Giá trị d-excess >10 là do trong ẩm không khí gây mưa có thêm thành phần hơi nước bốc hơi từ các nguồn nước địa phương như từ sông, hồ hoặc thảm thực vật, trong khi đó d-excess <10 cho biết thành phần ẩm từ địa phương là không đáng kể. Các giá trị hệ số góc và d-excess nhận được trên cơ sở kết quả quan trắc thực tế (phương trình 7) cho thấy nguồn ẩm gây mưa tại khu vực Long Khánh, thuộc miền Đông Nam Bộ có nguồn gốc từ nước đại dương là chủ yếu.

Kết luận

Thành phần đồng vị bền $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ của nước mưa trên khu vực Long Khánh, đại diện cho miền Đông Nam Bộ đã được đánh giá định lượng trong khoảng thời gian từ tháng 4/2020 đến hết tháng 2/2021. Kết quả cho thấy sự biến đổi $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ là rất rộng, dao động từ -10,91 đến -1,59‰ đối với $\delta^{18}\text{O}$ và từ -73,64 đến 0,36‰ đối với $\delta^2\text{H}$, phụ thuộc vào mùa. Đường nước khí tượng tại khu vực Long Khánh (LK LMWL) tuân theo phương trình $\delta^2\text{H} = (7,89\pm 0,38)x\delta^{18}\text{O} + (10,31\pm 2,93)$, với hệ số tương quan $R^2=0,96$. Các giá trị hệ số góc và d-excess của LK LMWL là tương đương với các giá trị tương ứng của đường nước khí tượng địa phương tại khu vực thành phố Hồ Chí Minh, Long An, và BangKok do điều kiện khí hậu trên toàn khu vực là khá tương đồng. Nguồn ẩm gây mưa trên khu vực chủ yếu là từ đại dương chịu ảnh hưởng của các yếu tố gió mùa. Để có cơ sở xác định miền bổ cập nước dưới đất khu vực Đông Nam Bộ bằng kỹ thuật thủy văn đồng vị, cần có bộ số liệu về đường nước khí tượng theo độ cao. Do vậy, hướng nghiên cứu tiếp theo là phải xây dựng được mạng quan trắc thành phần đồng vị trong nước mưa theo độ cao từ Long Khánh lên đến Đà Lạt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Craig (1961), "Standards for reporting concentrations of deuterium and oxygen 18 in natural waters", *Science*, **133**, pp.1833-1834.
- [2] W. Dansgaard (1964), "Stable isotopes in precipitation", *Tellus*, **16**(4), pp.436-468, DOI:10.1111/j.2153-3490.1964.tb00181.x.
- [3] J.R. Gat (1980), "The isotopes of hydrogen and oxygen in precipitation", *Handbook of Environmental Isotope Geochemistry*, **1**, pp.22-48.
- [4] W.G. Mook, et al. (2001), *Environmental isotopes in the hydrological cycle*, Principles and Applications, IAEA, Austria.
- [5] Đào Xuân Học (2006), "Tài nguyên nước và vấn đề phát triển bền vững lưu vực sông Đồng Nai", *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thủy lợi và Môi trường*, **13**, tr.3-11.
- [6] http://longkhanh.dongnai.gov.vn/Pages/Gioithieu_chitiet.aspx?CatID=2.
- [7] Trạm Khí tượng Long Khánh (2020), *Báo cáo khí hậu khu vực Long Khánh*.
- [8] R.D. Stern, M.D. Dennett, D.J. Garbutt (1981), "The start of the rains in West Africa", *Journal of Climatology*, **1**, pp.59-68.
- [9] http://www.naweb.iaea.org/naweb/ih/documents/other/gnip_manual_v2.02_en_hq.pdf.
- [10] Huỳnh Thị Thu Hương (2018), *Xây dựng và phân tích thử nghiệm tỷ số đồng vị bền $\delta^2\text{H}$ và $\delta^{18}\text{O}$ trong mẫu nước trên thiết bị IWA-35EP kết hợp với phân tích thành phần hóa học để khảo sát nước rò rỉ qua đập Đơn Dương*, Báo cáo tổng kết đề tài cấp cơ sở.
- [11] M.J. Wirmvem, T. Ohba, B.T. Kamtchueng, E.T. Taylor, W.Y. Fantong and A.K. Aka (2017), "Variation in stable isotope ratios of monthly rainfall in the Douala and Yaounde cities", *Water Sci.*, **7**(5), pp.2343-2356.
- [12] D.D. Nhan, D.B. Lieu, D.A. Minh, V.T. Anh (2013), *Isotopic compositions of precipitation over Red River's Delta Region (Vietnam)*, Data of the GNIP Hanoi.
- [13] P.K. Aggarwal, K. Frohlich, K.M. Kulkarni and I.L. Gourcy (2014), "Stable isotope evidence for moisture sources in the Asian summer monsoon under present and past climate regimes", *Geophys. Res. Letters*, **32**, p.08203.
- [14] Doan Van Canh, Dang Duc Nhan, Nguyen Kien Chinh (2018), "Formation of groundwater resources in the Me Kong River Delta, south Vietnam", *Vietnam J. Sci. Technol. Eng.*, **60**, pp.59-67.
- [15] Bùi Quang Trí và cs (2021), *Báo cáo nhiệm vụ cấp bộ Ứng dụng kỹ thuật đồng vị bền Deuterium và Oxygen-18 để khảo sát đặc trưng bổ cập nước ngầm tại một số khu vực của thành phố Long Khánh*, Trung tâm Ứng dụng kỹ thuật hạt nhân trong công nghiệp.
- [16] Nguyen Le Duy, et al. (2018), "What controls the stable isotope composition of precipitation in the Mekong Delta? A model-based statistical approach", *Hydrology and Earth System Sciences*, **22**(2), pp.1239-1262, DOI:10.5194/hess-22-1239-2018;
- [17] Wanlapa Wisittamasri, et al. (2016), "Isotope evidence of rainfall and groundwater for tracing recharge areas in Kaeng Khoi district, Saraburi province, Thailand", *App. Envi. Res.*, **38**(3), pp.49-58.

Nghiên cứu hình thái hạt phấn của họ Nhài (Oleaceae Hoffmanns. & Link) ở Việt Nam

Bùi Hồng Quang*

*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam
Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam*

Ngày nhận bài 3/5/2021; ngày chuyển phản biện 10/5/2021; ngày nhận phản biện 10/6/2021; ngày chấp nhận đăng 18/6/2021

Tóm tắt:

Bài báo này sử dụng kính hiển vi điện tử quét và kính hiển vi quang học để nghiên cứu hạt phấn các loài thuộc họ Nhài (Oleaceae) phân bố ở Việt Nam, bao gồm 23 loài thuộc 6 chi. Hạt phấn các loài thuộc họ Nhài ở Việt Nam thuộc loại đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh, kích thước nhỏ, với 2 loại hình dạng là dạng hơi dài (*Jasminum* và *Olea*) và dạng hình cầu dài (*Jasminum*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Osmanthus* và *Chengiodendron*). Bề mặt hạt phấn của đa số các loài là dạng mạng lưới. Đây là các đặc điểm hình thái quan trọng để phân loại họ Nhài qua hình thái hạt phấn.

Từ khóa: hạt phấn, hình thái, kính hiển vi điện tử quét, kính hiển vi quang học, nghiên cứu, Oleaceae, Việt Nam.

Chỉ số phân loại: 1.6

A study on pollen morphology of the family Oleaceae Hoffmanns. & Link in Vietnam

Hong Quang Bui*

*Institute of Ecology and Biological Resources, VAST
Graduate University of Science and Technology, VAST*

Received 3 May 2021; accepted 18 June 2021

Abstract:

This paper uses scanning electron microscopy (SEM) analyses and light microscopy (LM) to study pollen grains of species of the family Oleaceae Hoffmanns. & Link distributed in Vietnam, including 23 species belonging to 6 genera of the family (Oleaceae). Pollen grains of all species (Oleaceae) in Vietnam are isopolar, radial, 3- prolate pollen grains small size, with two types: subprolate type (*Jasminum* and *Olea*) and prolate spheroidal type (*Jasminum*, *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Osmanthus*, and *Chengiodendron*). The surface of the pollen grains in most species is reticulate. These are important morphological features to classify the Nhai family through pollen morphology.

Keywords: LM, morphology, Oleaceae, pollen, SEM, study, Vietnam.

Classification number: 1.6

Đặt vấn đề

Họ Nhài (Oleaceae Hoffmanns. & Link) có khoảng 25 chi với hơn 600 loài, phân bố ở hầu hết các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới [1-4]. Các đặc điểm hình thái hạt phấn liên quan đến độ mở, hình dạng lỗ thoát, tầng ngoài hạt phấn, kích thước hạt phấn và hình dạng hạt phấn đã được sử dụng làm “dấu hiệu cổ sinh” trong nghiên cứu các mối quan hệ hệ thống và phát sinh loài thực vật hạt kín ở tất cả các cấp độ phân loại. Hạt phấn của họ Nhài Oleaceae nói chung là hạt phấn có dạng hình cầu hơi dài ở vị trí xích đạo với một lớp ngoài dạng lưới [5, 6].

Ở Việt Nam, họ nhài hiện có 78 loài, 8 phân loài và 1 thứ, nhiều loài có giá trị kinh tế và khoa học [7, 8]. Những năm gần đây còn có một số ghi nhận mới về họ Nhài, đưa tổng số loài lên tới 80 [9-11]. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu chủ yếu chuyên sâu về hình thái học, hệ thống học và bảo tồn, chưa có các nghiên cứu về hạt phấn. Do đó, nghiên cứu này sử dụng kính hiển vi điện tử quét và kính hiển vi quang học để nghiên cứu hình thái hạt phấn các loài thuộc họ Nhài (Oleaceae) ở Việt Nam.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu hạt phấn được lấy từ hoa các mẫu vật thu thập trên thực địa, hiện lưu giữ tại Bảo tàng thực vật của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Hạt phấn của 23 loài thuộc họ Nhài (Oleaceae) đã được phân tích (bảng 1), trong đó 16 loài thuộc chi *Jasminum* L., 2 loài thuộc chi *Fraxinus*, 2 loài thuộc chi *Ligustrum*, 1 loài thuộc chi *Olea*, 1 loài thuộc chi *Osmanthus* và 1 loài thuộc chi *Chengiodendron*.

Hạt phấn được chuẩn bị bằng phương pháp phân ly acetolysis tiêu chuẩn [12], để quét phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) và kính hiển vi quang học (LM), qua

*Email: bhquang78@gmail.com

Bảng 1. Các chi và loài thuộc họ Nhài (Oleaceae) được phân tích hình thái hạt phần sử dụng kính SEM và LM.

Chi	Loài	Nơi thu	Số hiệu mẫu	Bảo tàng
JASMINUM	<i>J. breviloebum</i>	Mang Yang (Gia Lai)	PTV 1018	HN
	<i>J. anodontum</i>	Vĩnh Cửu (Đồng Nai)	VK 4608	HN
	<i>J. longipetalum</i>	KBang (Gia Lai)	LX-VN 676	HN
	<i>J. microcalyx</i>	Trà Lĩnh (Cao Bằng)	B.H. Quang 115	HN
	<i>J. laurifolium</i>	KBang (Gia Lai)	VK 4485	HN
	<i>J. duclouxii</i>	Bát Xát (Lào Cai)	Phuong 7442	HN
	<i>J. scandens</i>	Vĩnh Cửu (Đồng Nai)	B.H. Quang 54	HN
	<i>J. multiflorum</i>	KBang (Gia Lai)	PTV 1025	HN
	<i>J. rufohirtum</i>	Mường Ma (Điện Biên)	B.H. Quang 107	HN
	<i>J. elongatum</i>	Sa Pa (Lào Cai)	B.H. Quang 74	HN
	<i>J. pedunculatum</i>	Thất Khê (Cao Bằng)	B.H. Quang 110	HN
	<i>J. annamense</i>	Bì Đúp (Lâm Đồng)	B.H. Quang 48	HN
	<i>J. harmandianum</i>	Chư Mom Ray (Kon Tum)	B.H. Quang 79	HN
	<i>J. attenuatum</i>	Kon Ka Kinh (Gia Lai)	B.H. Quang 30	HN
	<i>J. pierreanum</i>	Kon Chư Răng (Gia Lai)	VK 4743	HN
FRAXINUS	<i>F. stylosa</i>	Bát Đại Sơn (Hà Giang)	DKH 5161	HN
	<i>F. chinensis</i>	Trạm Tàu (Yên Bái)	Hiên, Franck 495	HN
LIGUSTRUM	<i>L. sinense</i>	Sa Pa (Lào Cai)	B.H. Quang 77	HN
	<i>L. confusum</i>	Nguyễn Bình (Cao Bằng)	VN 823	HN
OLEA	<i>O. dioica</i>	Chư Mom Ray (Kon Tum)	B.H. Quang 82	HN
OSMANTHUS	<i>O. suavis</i>	Sa Pa (Lào Cai)	HAL 2575	HN
CHENIODENDRON	<i>C. matsumuranum</i>	Bát Xát (Lào Cai)	B.H. Quang 88	HN

đó các phép đo khác nhau được thực hiện về đường kính trung bình (μm), đường kính cực (P), đường kính xích đạo (E) và tỷ lệ giữa phép đo cực và xích đạo (P/E). Đối với hạt phần không cực, chỉ đo được đường kính. Đối với các phân tích SEM, các hạt phần hoa trước đó đã được acetone phân hủy trong cồn tăng dần (50%, 70%, 80%, 90% và 100% etanol). Chế phẩm có chứa các hạt phần được nhỏ trực tiếp lên các lam kính, sau khi khô hoàn toàn sẽ được phủ một lớp vàng trong điều kiện chân không cao, để phân tích sau đó.

Kết quả

Gen.1. JASMINUM L. - NHÀI

Mô tả: hạt phần gần như hình cầu dài và dạng hơi dài, đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh, có ba thùy khi nhìn từ cực, một số ít có hình tròn bốn thùy. Có ba rãnh, một số ít có bốn rãnh. Hai lớp ở mặt ngoài, dạng lưới thô, độ dày bề mặt 2,4-4,85 μm .

Trên thế giới có khoảng 200 loài, phân bố ở châu Phi, châu Á, châu Úc, một loài ở vùng Địa Trung Hải. Ở Việt Nam có 38 loài, 6 phân loài và 1 thứ.

1) *Jasminum breviloebum* DC. - Nhài thủy ngắn

Mô tả: hạt phần có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: P=33,8 μm , E=31,7 μm , P/E=1,06, bề mặt ngoài hạt phần dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 2,7 μm (ảnh 1. A, B, C).

Phân bố: Đà Nẵng, Gia Lai, Ninh Thuận.

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 6-7, có quả tháng 9-10.

Mọc ven rừng, độ cao 200-800 m.

Mẫu nghiên cứu: GIA LAI, PTV 1018 (HN).

2) *Jasminum anodontum* Gagnep. - Nhài không răng

Mô tả: hạt phần có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: P=49,4 μm , E=42,8 μm , P/E=1,15, bề mặt ngoài hạt phần dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 3,4 μm (ảnh 1. D, E, F).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 1-2, có quả tháng 3-4. Mộc nơi sáng, ven rừng, độ cao 100-200 m.

Phân bố: Đắk Lắk, Ninh Thuận, Bình Thuận, Đồng Nai.

Mẫu nghiên cứu: ĐỒNG NAI, VK 4608 (HN).

3) *Jasminum longipetalum* King & Gamble - Nhài cánh hoa dài

Mô tả: hạt phần có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: P=34,3 μm , E=30,9 μm , P/E=1,11, bề mặt ngoài hạt phần dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 2,9 μm . (ảnh 1. G, H, I).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 7-8, có quả tháng 9-10. Mộc ở ven rừng, độ cao 1000-1400 m.

Phân bố: Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên - Huế, Đà Nẵng, Gia Lai, Lâm Đồng, Đồng Nai.

Mẫu nghiên cứu: GIA LAI, LX-VN 676 (HN).

4) *Jasminum microcalyx* Hance. - Nhài đài nhỏ

Mô tả: hạt phần có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: P=42,1 μm , E=40,4 μm , P/E=1,04, bề mặt ngoài hạt phần dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 3,6 μm (ảnh 1. J, K, L).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 5-10, có quả tháng 12-2 (năm sau). Mộc trong thung lũng, rừng thưa.

Phân bố: Cao Bằng, Hà Nam, Ninh Bình.

Mẫu nghiên cứu: CAO BẰNG, B.H. Quang 115 (HN).

5) *Jasminum laurifolium* Roxb. - Nhài lá quế

Mô tả: hạt phần có dạng hình cầu dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: P=38,8 μm , E=35,4 μm , P/E=1,09, bề mặt ngoài hạt phần dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 3,4 μm (ảnh 1. M, N, O).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 5-6, có quả tháng 8-12. Mộc rải rác ven rừng.

Phân bố: Gia Lai.

Mẫu nghiên cứu: GIA LAI, VK 4485 (HN).

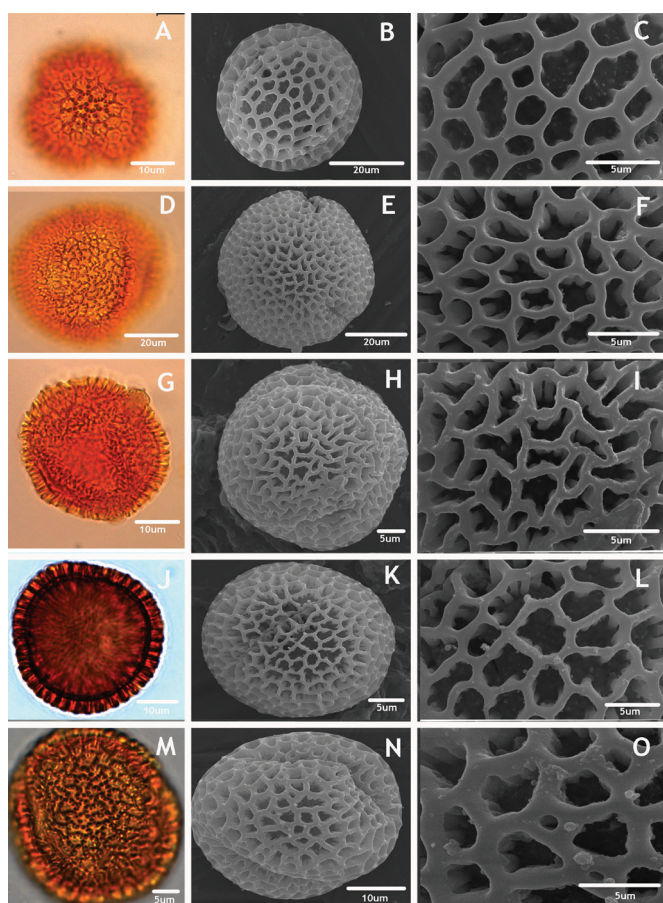
6) *Jasminum duclouxii* (Lévl.) Rehd. - Lài ducloux

Mô tả: hạt phần có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ, P=41,0 μm , E=38,6 μm , P/E=1,06, bề mặt ngoài hạt phần dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 2,4 μm (ảnh 2. A, B, C).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 2-3, có quả tháng 4-5. Mộc ven rừng thưa, trồng cây bụi, ưa sáng, ở độ cao tới 2270 m.

Phân bố: Lào Cai, Hà Giang.

Mẫu nghiên cứu: LÀO CAI, Phuong 7442 (HN).



Ảnh 1. *J. brevilibum*. Chụp kính LM: góc nhìn cận xích đạo (A), góc nhìn tổng quát (B). Chụp kính SEM: chi tiết bề mặt (C); *J. anodontum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (D). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (E), chi tiết bề mặt (F); *J. longipetalum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (G). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (H), chi tiết bề mặt (I); *J. microcalyx*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (J). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (K), chi tiết bề mặt (L); *J. laurifolium*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (M). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (N), chi tiết bề mặt (O).

7) *Jasminum scandens* (Retz.) Vahl - Nhài leo

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=38,4 \mu\text{m}$, $E=33,0 \mu\text{m}$, $P/E=1,16$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $2,4 \mu\text{m}$ (ảnh 2. D, E, F).

Sinh học và sinh thái: mùa ra hoa tháng 5-6, quả chín tháng 7-8. Mọc ven rừng nơi sáng, ở độ cao khoảng 1050 m.

Phân bố: Sơn La, Tuyên Quang, Hà Nội, Lâm Đồng, Đồng Nai và Nam Bộ.

Mẫu nghiên cứu: ĐỒNG NAI, B.H. Quang 54 (HN).

8) *Jasminum multiflorum* (Burm. f.) Andr. - Nhài nhiều hoa

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=44,3 \mu\text{m}$, $E=37,3 \mu\text{m}$, $P/E=1,18$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $3,1 \mu\text{m}$ (ảnh 2. G, H, I).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 10-12, có quả chín tháng

2-4 (năm sau). Mọc ở bìa rừng hay trắng cây bụi.

Phân bố: Bắc Giang, Hà Nội, Ninh Bình, Thừa Thiên - Huế, Đà Nẵng, Gia Lai, Đắk Lắk, Lâm Đồng.

Mẫu nghiên cứu: GIA LAI, PTV 1025 (HN).

9) *Jasminum rufohirtum* Gagnep. - Nhài lông hung.

Mô tả: hạt phấn có dạng hình cầu hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=50,4 \mu\text{m}$, $E=48,1 \mu\text{m}$, $P/E=1,047$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $3,9 \mu\text{m}$ (ảnh 2. J. K. L).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 4-5, có quả tháng 5-6. Mọc ven suối hay rạch nước, trong thung lũng.

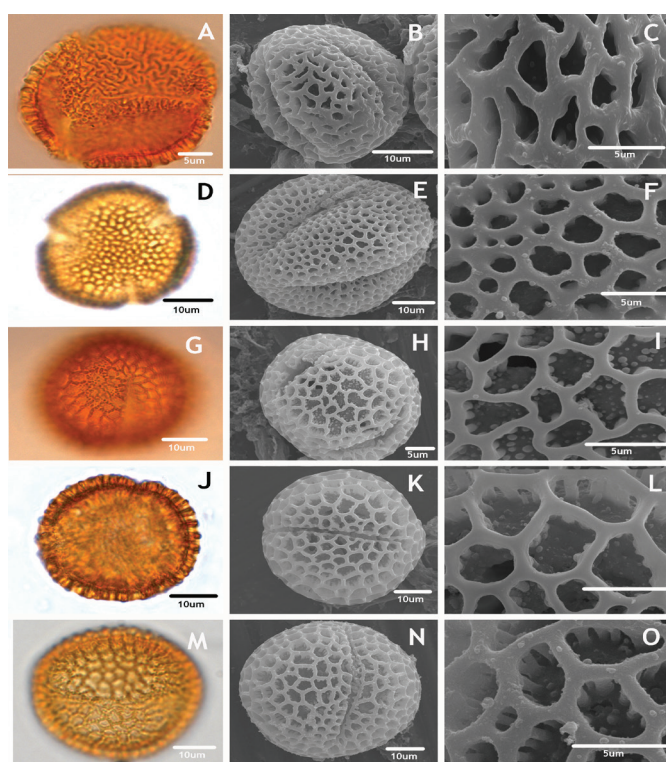
Phân bố: Sơn La, Điện Biên.

Mẫu nghiên cứu: ĐIỆN BIÊN, B.H. Quang 107 (HN).

10) *Jasminum elongatum* (Bergius) Willd. - Nhài bắc bộ

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=37,6 \mu\text{m}$, $E=32,1 \mu\text{m}$, $P/E=1,17$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $2,4 \mu\text{m}$ (ảnh 2. M. N. O).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 4-12, có quả chín tháng



Ảnh 2. *J. duclouxii*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (A). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (C), chi tiết bề mặt (D); *J. scandens*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát, cận xích đạo (D). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (E), chi tiết bề mặt (F); *J. multiflorum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (G). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (H), chi tiết bề mặt (I); *J. rufohirtum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (J). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (K), chi tiết bề mặt (L); *J. elongatum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (M). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (N), chi tiết bề mặt (O).

8-3 (năm sau). Mọc trong rừng ở độ cao đến 900 m.

Phân bố: Lào Cai, Yên Bái, Sơn La, Tuyên Quang, Cao Bằng, Thái Nguyên, Phú Thọ, Vĩnh Phúc, Hà Nội, Đồng Nai.

Mẫu nghiên cứu: LÀO CAI, B.H. Quang 74 (HN).

11) *Jasminum pedunculatum* Gagnep. - Nhài cọng

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=48,0\text{ }\mu\text{m}$, $E=46,0\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,04$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $3,5\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 3. A, B, C).

Sinh học và sinh thái: mùa ra hoa tháng 11, có quả tháng 2-3 năm sau. Mọc ven rừng thưa ở độ cao 300-400 m.

Phân bố: Hà Giang, Cao Bằng, Phú Thọ.

Mẫu nghiên cứu: CAO BẰNG, B.H. Quang 110 (HN).

12) *Jasminum annamense* Wernham - Lài trung bộ

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=32,4\text{ }\mu\text{m}$, $E=30,6\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,05$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $2,4\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 3. D, E, F).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 3-4, có quả tháng 5-6. Mọc ven rừng, trắng cây bụi, ưa sáng.

Phân bố: Thừa Thiên - Huế, Kon Tum, Đắk Lắk, Lâm Đồng, Bình Dương, Bà Rịa - Vũng Tàu.

Mẫu nghiên cứu: LÂM ĐỒNG, B.H. Quang 48 (HN).

13) *Jasminum harmandianum* Gagnep. - Nhài harmand

Mô tả: hạt phấn có dạng hình cầu dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=36,8\text{ }\mu\text{m}$, $E=34,7\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,06$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $3,1\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 3. G, H, I).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 6-7, có quả tháng 8-9, mọc ven rừng.

Phân bố: Đắk Lắk, Kon Tum, Nam Bộ (An Giang).

Mẫu nghiên cứu: KON TUM, B.H. Quang 79 (HN).

14) *Jasminum attenuatum* Roxb. ex DC. - Nhài lá rộng

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=43,9\text{ }\mu\text{m}$, $E=36,28\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,21$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $4,85\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 3. J, K, L).

Sinh học và sinh thái: mùa ra hoa tháng 7, có quả tháng 9. Mọc ven suối ở độ cao 235-300 m.

Phân bố: Gia Lai.

Mẫu nghiên cứu: GIA LAI, B.H. Quang 30 (HN).

15) *Jasminum pierreanum* Gagnep. - Nhài pierre

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=50,9\text{ }\mu\text{m}$, $E=48,4\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,05$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $4,8\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 3. M, N, O).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 8-9, có quả tháng 12-2 (năm sau). Mọc trong rừng thưa, trên cát ở nơi thấp.

Phân bố: Hòa Bình, Thừa Thiên - Huế, Đồng Nai, Gia Lai, Đắk Lắk.

Mẫu nghiên cứu: GIA LAI, VK 4743 (HN).

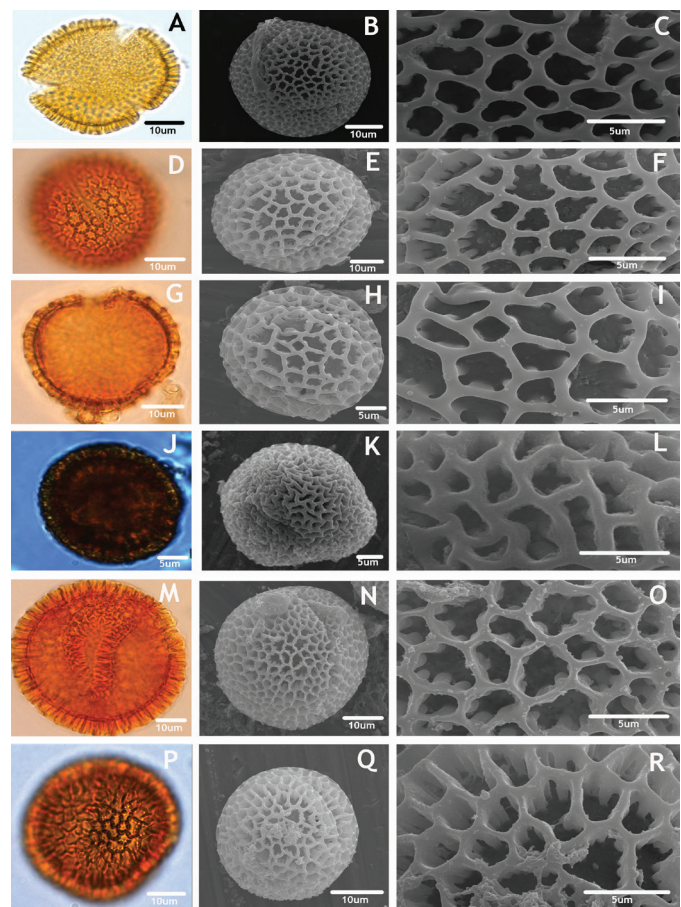
16) *Jasminum vietnamense* B.H. Quang & Joongku Lee - Nhài Việt Nam

Mô tả: hạt phấn có dạng hình cầu hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=42,4\text{ }\mu\text{m}$, $E=39,1\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,07$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài $4,3\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 3. P, Q, R).

Sinh học và sinh thái: mùa ra hoa tháng 2-3, có quả tháng 4-5. Mọc trong rừng thưa, ven suối, nơi sáng, thường gặp ở độ cao 300-400 m.

Phân bố: mới gặp ở Quảng Nam.

Mẫu nghiên cứu: QUẢNG NAM, B.H. Quang 76 (HN).



Ảnh 3. *J. pedunculatum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát, cận xích đạo (A). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (B), chi tiết bề mặt (C); *J. annamense*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (D). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (E), chi tiết bề mặt (F); *J. harmandianum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (G). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (H), chi tiết bề mặt (I); *J. attenuatum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (J). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (K), chi tiết bề mặt (L); *J. pierreanum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (M). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (N), chi tiết bề mặt (O); *J. vietnamense*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (P). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (Q), chi tiết bề mặt (R).

GEN.2. FRAXINUS L. - TRẦN TÀU

Mô tả: hạt phấn là hình hơi dài đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh hình tròn ba thùy khi nhìn từ cực. Kích thước nhỏ, với ba lỗ và rãnh, các lỗ không rõ ràng. Vách ngoài có hai lớp, có hoa văn dạng lưới mịn. độ dày bề mặt ngoài 1,3-1,4 μm .

Trên thế giới có khoảng 60 loài: chủ yếu ở vùng ôn đới và cận nhiệt đới của bắc bán cầu. Ở Việt Nam có 4 loài và 1 phân loài.

17) *Fraxinus stylosa* Lingels. - Tần

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo: $P=19,7 \mu\text{m}$, $E=18,4 \mu\text{m}$, $P/E=1,07$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới mịn, độ dày bề mặt ngoài 1,4 μm (ảnh 4. A, B, C).

Sinh học và sinh thái: mùa hoa quả tháng 4-7. Gặp ở đường đỉnh núi, rừng hỗn giao cây lá kim, nơi ẩm, ở độ cao 1100-1200 m.

Phân bố: Hà Giang.

Mẫu nghiên cứu: HÀ GIANG, DKH 5161 (HN).

18) *Fraxinus chinensis* Roxb. - Tần bì lá mũi

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo, $P=19,2 \mu\text{m}$, $E=18,2 \mu\text{m}$, $P/E=1,05$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới mịn, độ dày bề mặt ngoài 1,3 μm (ảnh 4. D, E, F).

Sinh học và sinh thái: mùa hoa tháng 3-5, có quả tháng 9-10. Mọc ở ven rừng, gần sông, suối - nơi ẩm, ở độ cao 300-1000 m.

Phân bố: Yên Bái.

Mẫu nghiên cứu: YÊN BÁI, N.H.Hiến, M Franck 495 (HN).

GEN.3. LIGUSTRUM L. - RÂM

Mô tả: hạt phấn có hình dạng hơi dài, đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh nhìn từ cực hình tròn ba thùy. Ba lỗ và 3 rãnh, lỗ bên trong không rõ ràng, mặt cắt của lỗ có thể nhìn thấy trên mặt phẳng xích đạo. Hai lớp mặt ngoài, độ dày 2,2 μm , có dạng giống lưới thô, kích thước và hình dạng của mắt lưới khác nhau ở mỗi loài.

Trên thế giới có khoảng 50 loài: chủ yếu ở vùng nhiệt đới. Ở Việt Nam có 5 loài.

19) *Ligustrum sinense* Lour. - Râm Trung Quốc

Mô tả: hạt phấn có dạng hơi dài ở vị trí xích đạo: $P=32,4 \mu\text{m}$, $E=26,7 \mu\text{m}$, $P/E=1,21$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 2,2 μm (ảnh 4. G, H, I).

Sinh học và sinh thái: mọc rải rác trong rừng, ở độ cao dưới 1500 m. Ra hoa tháng 3-6, có quả chín tháng 9-12.

Phân bố: Lào Cai, Hà Giang, Phú Thọ, Hòa Bình, Ninh Bình, Kon Tum, Lâm Đồng.

Mẫu nghiên cứu: LAO CAI, B.H. Quang 77 (HN).

20) *Ligustrum confusum* Decne. - Râm lỗ bì

Mô tả: hạt phấn có dạng hình hơi dài ở vị trí xích đạo: $P=26,3 \mu\text{m}$, $E=24,6 \mu\text{m}$, $P/E=1,06$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới thô, độ dày bề mặt ngoài 2,2 μm (ảnh 4. J, K, L).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 3-4, có quả tháng 6-7. Mọc ở vùng núi đá vôi, độ cao dưới 1500 m.

Phân bố: Cao Bằng, Lào Cai, Bắc Kạn, Thái Nguyên, Phú Thọ, Hòa Bình, Hà Nội, Hà Nam, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Quảng Trị, Thừa Thiên - Huế, Kon Tum, Lâm Đồng.

Mẫu nghiên cứu: CAO BẰNG, VN 823 (HN)

GEN.4. OLEA L. - CHI ÔLIU

Mô tả: hạt phấn có hình cầu hơi dài, đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh hình tròn ba thùy khi nhìn từ cực. Kích thước nhỏ, với ba lỗ, 3 rãnh mảnh, đầu nhọn, lỗ bên trong không rõ ràng. Bề mặt ngoài dạng lưới mịn.

Trên thế giới có khoảng 40 loài, phân bố ở châu Phi, châu Á, châu Âu. Việt Nam có 10 loài.

21) *Olea dioica* Roxb. - Lọ nghé

Mô tả: hạt phấn có dạng hình cầu hơi dài ở vị trí xích đạo, kích thước nhỏ: $P=49,2 \mu\text{m}$, $E=45,8 \mu\text{m}$, $P/E=1,07$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới mịn, độ dày bề mặt ngoài 4,8 μm (ảnh 4. M, N, O).

Sinh học và sinh thái: ra hoa tháng 3-5, có quả tháng 6-12. Mọc ở độ cao 200-2100 m.

Phân bố: Hà Giang, Hà Nội, Hà Nam, Thanh Hóa, Quảng Bình, Quảng Trị, Thừa Thiên - Huế, Đắk Nông, Gia Lai, Kon Tum, Lâm Đồng, Bình Định, Đồng Nai.

Mẫu nghiên cứu: KON TUM, B.H. Quang 82 (HN).

GEN.5. OSMANTHUS LOUR - HOA MỘC

Mô tả: hạt phấn có hình cầu hơi dài, đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh, có ba thùy khi nhìn từ cực, kích thước nhỏ. Có ba lỗ và 3 rãnh mảnh, đầu nhọn và lỗ bên trong kín. Bề mặt có hai lớp, lớp trong và lớp ngoài có độ dày gần như bằng nhau, bề mặt có các vân lưới mịn.

Chi có khoảng 35 loài, phân bố ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới châu Á và Mỹ. Việt Nam có 3 loài phân bố ở phía bắc, miền trung và Tây Nguyên.

22) *Osmanthus suavis* King ex C.B. Clarke - Mộc hoa thơm

Mô tả: hạt phấn có dạng hình cầu hơi dài ở vị trí xích đạo: $P=17,9 \mu\text{m}$, $E=17,3 \mu\text{m}$, $P/E=1,03$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới mịn, độ dày bề mặt ngoài 1,3 μm (ảnh 4. P, Q, R).

Sinh học và sinh thái: mùa hoa tháng 3-4, có quả tháng 10-11. Gặp trong rừng thường xanh cây lá rộng hoặc trảng cây bụi trên sườn núi, độ cao 1400-2650 m.

Phân bố: Lào Cai, Thanh Hóa.

Mẫu nghiên cứu: LAO CAI, HAL 2575(HN).

GEN.6. CHENGIODENDRON C.B. Shang, X.R. Wang, Yí F. Duan & Yong F. Li - MỘC CỌNG

Mô tả: hạt phấn có hình cầu hơi dài, đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh, hình tròn ba thùy khi nhìn từ cực. Kích thước nhỏ. Có ba lỗ và 3 rãnh mảnh, đầu nhọn và lỗ bên trong kín. Bề mặt có các

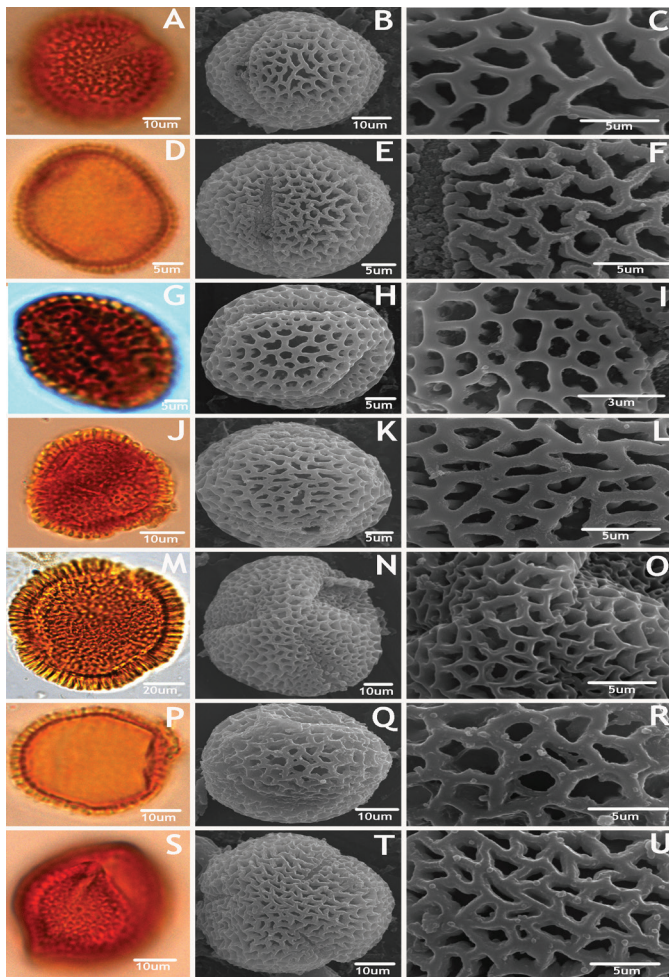
vân lưới mịn.

Thế giới có tất cả 3 loài, đều phân bố ở các khu vực cận nhiệt đới hoặc nhiệt đới của châu Á. Ở Việt Nam có 1 loài.

23) *Chengiodendron matsumuranum* (Hayata) C.B. Shang, X.R. Wang, Yi F. Duan & Yong F. Li- Mộc cọng

Mô tả: hạt phấn có dạng hình cầu hơi dài ở vị trí xích đạo: $P=22,1\text{ }\mu\text{m}$, $E=19,4\text{ }\mu\text{m}$, $P/E=1,13$, bề mặt ngoài hạt phấn dạng lưới mịn, độ dày bề mặt ngoài $1,3\text{ }\mu\text{m}$ (ảnh 4. S, T, U).

Sinh học và sinh thái: cây ra hoa tháng 5-6, có quả tháng 11-12. Mộc rải rác trong rừng nguyên sinh, vùng núi đất, ở độ cao 200-1000 m.



Ảnh 4. *Fraxinus stylosa*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (A). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (B), chi tiết bề mặt (C); *F. chinensis*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (D). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (E), chi tiết bề mặt (F); *Ligustrum sinense*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (G). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (H), chi tiết bề mặt (I); *L. confusum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (J). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (K), chi tiết bề mặt (L); *Olea dioica* Roxb. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (M). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (N), chi tiết bề mặt (O); *Osmanthus suavis*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (P). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (Q), chi tiết bề mặt (R); *Chengiodendron matsumuranum*. Chụp kính LM: góc nhìn tổng quát (S). Chụp kính SEM: góc nhìn tổng quát (T), chi tiết bề mặt (U).

Phân bố: Sơn La, Hà Giang, Thái Nguyên, Lạng Sơn, Lào Cai, Vĩnh Phúc, Bắc Giang, Quảng Ninh, Tuyên Quang, Hòa Bình, Hải Dương, Thanh Hóa, Nghệ An, Quảng Bình, Quảng Trị, Gia Lai, Lâm Đồng.

Mẫu nghiên cứu: LÀO CAI, B.H. Quang 88 (HN).

Kết luận

1) Đã mô tả chi tiết các đặc điểm hình thái hạt phấn của 23 loài thuộc 6 chi của họ Nhài (Oleaceae) được thu thập từ các vùng khác nhau của Việt Nam..

2) Hạt phấn các loài Nhài ở Việt Nam có kích thước nhỏ, loại đẳng cực, đối xứng tia, 3 rãnh, có 2 dạng là dạng hơi dài (13 loài) và dạng hình cầu dài (10 loài).

3) Đa số các loài có bề mặt hạt phấn dạng mạng lưới (reticulate). Lưới bề mặt có 2 dạng lưới thô (*Jasminum*, *Ligustrum*) và lưới mịn (*Fraxinus*, *Olea*, *Osmanthus*, *Chengiodendron*).

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển KH&CN quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 106.03-2017.300. Tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Raman, A. Khan & A. Shanmugan (1972), "Palynological aspects of some species and varieties of *Jasminum*", *J. Palynol.*, **6**, pp.73-77.
- [2] Z. Tan (1982), "Study on the pollen morphology of the chinese family Oleaceae", *Acta Botanica Sinica*, **24**(6), pp.499-505.
- [3] W. Zhong, Z. Zhekun & B. Peiyu (1988), "Studies on the pollen morphology of the genus *Jasminum*", *Acta Botanica Yunnanica*, **10**(3), pp.1-3.
- [4] R. Kiew (1984), "Priliminary pollen study of the Oleaceae in Malesia", *Gard. Bull. Singapore*, **37**(2), pp.225-230.
- [5] G. Erdtman (1971), *Pollen morphology and plant taxonomy*, Hafner Pub. New York.
- [6] S. Nilsson (1988), "A survey of the pollen morphology of *Olea* with particular reference to *O. europea* sensu lat", *Kew Bull*, **43**, pp.309-315.
- [7] F. Gagnepain (1933), "Oleacées", *Flore Générale de L'Indochine*, **3**, pp.1034-1059, Masson et Cie, Paris.
- [8] Trần Đình Lý (2003), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, tập 2, tr.1162-1166.
- [9] Bùi Hồng Quang (2016), "Chi *Osmanthus* Lour. (Oleaceae) và ghi nhận mới *Osmanthus suavis* King ex C. B. Clarke cho hệ thực Việt Nam", *Tạp chí Sinh học*, **38**(3), tr.401-407.
- [10] Bui Hong Quang, Ritesh Kumar Choudhary, Vu Tien Chinh, Tran The Bach, Nguyen Van Du and Joongku Lee (2016), "*Jasminum vietnamense* (Oleaceae), a new species from Vietnam", *Ann. Bot. Fennici*, **5-6**(5), pp.410-414.
- [11] Q. Bui, K. Choudhary, D. Jia, F. Long, M. Nuraliev (2019), "*Jasminum pedunculatum* (Oleaceae) revisited: lectotypification, new synonym and new data on distribution", *Annales Botanici Fennici*, **56**(1-3), pp.181-189.
- [12] G. Erdtman (1960), "The acetolysis method. A revised description", *Sven. Bot. Tidskr*, **54**, pp.561-564.

Đánh giá khả năng phân loại của hai chỉ thị *rbcL* và *trnL* với một số mẫu Bách bộ (*Stemonaceae*) thu tại phía Bắc Việt Nam

Huỳnh Thị Thu Huệ^{1,2}, Đào Quang Hà¹, Lê Hồng Điệp³, Nguyễn Đăng Tôn^{1,2*}

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam (VAST)

²Học viện KH&CN, VAST

³Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 2/3/2021; ngày chuyển phản biện 5/3/2021; ngày nhận phản biện 20/4/2021; ngày chấp nhận đăng 4/5/2021

Tóm tắt:

Bách bộ là cây thuốc quý thuộc họ Bách bộ (*Stemonaceae*), có tính ứng dụng cao trong đời sống. Các chiết xuất từ lá hay rễ của loài cây này chứa nhiều hoạt chất sinh học, có nhiều giá trị về mặt dược lý nên có giá trị kinh tế. Tuy nhiên, việc nghiên cứu, đánh giá và phân loại dựa trên chỉ thị DNA cho Bách bộ ở Việt Nam vẫn chưa được tiến hành nhiều. Ở nghiên cứu này, các tác giả thực hiện phân tích hai chỉ thị mã vạch DNA (DNA barcode) gồm *rbcL* và *trnL* để có những đánh giá ở mức độ phân tử cho 4 mẫu Bách bộ thu được từ vùng núi miền Bắc Việt Nam, đồng thời so sánh với các trình tự tương đồng trong họ Bách bộ đã được công bố trên Ngân hàng gen quốc tế (GenBank). Bước đầu, các kết quả nghiên cứu khoảng cách di truyền và cây phát sinh chủng loại cho thấy mối quan hệ gần gũi giữa các mẫu Bách bộ nghiên cứu với trình tự của loài *Stemona tuberosa* Lour. Vùng gen *trnL* (1100 bp) cho thấy khả năng phân biệt các loài Bách bộ tốt hơn so với vùng gen *rbcL* (600 bp). Những kết quả này là tiền đề cho những nghiên cứu tiếp theo về loài Bách bộ và những loài cây thuốc quý khác, phục vụ cho nghiên cứu khoa học và thực tiễn như phân loại đánh giá đa dạng và bảo tồn.

Từ khóa: Bách bộ, mã vạch DNA, *rbcL*, *Stemona*, *trnL*.

Chỉ số phân loại: 1.6

Mở đầu

Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.), hay dây ba mươi, là một loài thảo mộc có hoa thuộc chi Bách bộ (*Stemona*), có giá trị kinh tế cũng như giá trị dược liệu cao. Cây được phân bố ở nhiều vùng trên thế giới như Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản hay Đông Nam Á. Ở nước ta, loài cây này mọc hoang ở nhiều nơi, đặc biệt là vùng đồi núi, ở nhiều tỉnh như Hà Giang, Hòa Bình, Bắc Kạn... Vị thuốc này cũng dễ bị nhầm lẫn với một số loại dược liệu quý hiếm như Đảng sâm, Nhân sâm... Đây là một cây thuốc quý, thành phần giàu alkaloid, trong đó có những loại quan trọng như: croomine, stemonimine, tuberostemonine, neotuberostemonine và 2 dẫn xuất của 3,4-dehydrotocopherol [1], cùng với nhiều hoạt chất khác. Nhờ vào những đặc tính đó, Bách bộ đã được sử dụng rộng rãi, có nhiều công dụng trong chữa các bệnh liên quan tới hệ hô hấp như làm thuốc ho, chữa các chứng rối loạn hô hấp như viêm phế quản, ho gà hay lao phổi [2]. Hơn nữa, cây còn có thể được sử dụng như thuốc giun cho người hoặc vật nuôi; chống lại nhiều loại vi khuẩn, nấm [3] hay côn trùng có hại [4]. Do sự phong phú trong công dụng, Bách bộ đang chịu sự khai thác cao, dẫn tới tình trạng hiếm gặp ngoài tự nhiên, có nguy cơ đe dọa sự tồn tại [5]. Do đó, cần có những giải pháp cho công tác bảo tồn và

phát triển đối với cây thuốc quý này. Bên cạnh đó, việc sử dụng các loài trong chi Bách bộ chưa được xác định chính xác nguồn gốc do hình thái tương tự có thể dẫn tới việc hạ thấp giá trị dược liệu của chúng. Vì vậy, việc sưu tầm và định danh chính xác cho loài cây này là cần thiết.

Thông thường, việc phân loại sẽ dựa trên các đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa... Điều này có thể dẫn tới sai sót trong phân loại, khi những quan sát hình thái, các giai đoạn sinh trưởng, phát triển chưa đủ để định danh hoặc phân biệt loài. Hiện nay, phương pháp hiện đại để giải quyết khó khăn này là ứng dụng những hiểu biết trong sinh học phân tử để so sánh sự tiến hóa hay khác biệt giữa các loài bởi các đoạn DNA đặc trưng, được gọi là DNA barcoding. Đây là phương pháp đã và đang được sử dụng phổ biến trên thế giới để định danh hay nghiên cứu di truyền với ưu điểm nhanh chóng và độ chính xác cao, có ứng dụng lớn trong công tác đánh giá, phân loại mức độ đa dạng sinh học và bảo tồn nguồn gen của nhiều loài thực vật [6]. Phương pháp này đã được áp dụng cho nhiều đối tượng khác nhau, từ động, thực vật cho tới các loài vi sinh vật, dựa trên nguyên tắc so sánh một số trình tự DNA ở trong nhân, ty thể hay lục lạp, có tốc độ tiến hóa đủ lớn để phân loại ở quy mô các loài trong một chi hoặc giữa các chi. Một số mã vạch thường

*Tác giả liên hệ: Email: dtnguyen@igr.ac.vn

Assessment of classification ability for *rbcL* and *trnL* barcode in some *Stemonaceae* samples collected from northern Vietnam

Thi Thu Hue Huynh^{1,2}, Quang Ha Dao¹, Hong Diep Le³, Dang Ton Nguyen^{1,2*}

¹Institute of Genome Research,

Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

²Graduate University of Science and Technology, VAST

³University of Science, Vietnam National University, Hanoi

Received 2 March 2021; accepted 4 May 2021

Abstract:

Stemona tuberosa Lour. a precious medicinal plant that belongs to the *Stemonaceae* family, has high applicability to human life. Extracts from leaves or roots of this herb contain many bioactive compounds with great value for both medical application and economy. However, there is not enough data related to evaluation and classification for *Stemona* species in Vietnam. Therefore, in this study, the authors used the DNA barcoding method to evaluate at the molecular level for four samples of *Stemona tuberosa* Lour. in northern Vietnam compared with other reference sequences from other species in the *Stemonaceae* family from GenBank based on two chloroplast barcodes *rbcL* and *trnL*. The primary results of genetics distance analysis and phylogenetic trees showed the close relationship between the four studied samples with *Stemona tuberosa* Lour. (sequenced from GenBank). The *trnL* with 1100 bp in length also proves the better classification ability of *Stemona* than the *rbcL* region with 600 bp in length. These outcomes would be the first promising step for further studies about *Stemona* and other herbs, thus contributing to both scientific research and practical applicability demands as classification and conservation.

Keywords: DNA barcoding, *rbcL*, *Stemona*, *Stemona tuberosa* Lour., *trnL*.

Classification number: 1.6

được sử dụng ở thực vật được biết đến là *matK*, *rbcL* [6], *rpoC1*, *rpoB* [7], *trnH-psbA* [8] thuộc vùng gen lục lạp, hay *ITS* (internal transcribed spacer) ở vùng gen nhân. Trên thế giới, đã có những nghiên cứu về chỉ thị phân tử cho Bách bộ như nghiên cứu về mã vạch phân tử của loài *Stemona tuberosa* ở những vùng chỉ thị *trnH-psbA* [9] hay *trnL* [10]. Ở Việt Nam, cũng đã có những tìm hiểu về loài cây quý này, ví dụ như công bố của Đậu Xuân Đức và Võ Công Dũng (2017) [11] về tổng hợp alkaloid từ cây Bách bộ. Tuy nhiên, việc nghiên cứu phân tích các chỉ thị phân tử ở cây Bách bộ vẫn ở mức độ khá hạn chế.

Với sự phát triển mạnh mẽ của sinh học phân tử hiện nay, việc khai thác thông tin loài thông qua mã vạch phân tử là rất cần thiết phục vụ cho nghiên cứu cơ bản cũng như các ứng dụng trong đời sống. Từ thực tiễn nêu trên, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Đánh giá khả năng phân loại của hai chỉ thị *rbcL* và *trnL* với một số mẫu Bách bộ (*Stemonaceae*) thu tại phía Bắc Việt Nam” để đánh giá mối quan hệ di truyền giữa Bách bộ với những loài cùng chi đã được định danh trên GenBank, qua đó góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu về phân tử, đồng thời làm cơ sở cho việc phân tích di truyền và ứng dụng vào thực tiễn, như nhận diện và bảo tồn sự phát triển các loài Bách bộ của Việt Nam.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Mẫu Bách bộ sử dụng trong nghiên cứu là 4 mẫu lá phơi khô được thu thập từ các vườn dược liệu khác nhau ở Bắc Bộ, được ký hiệu lần lượt là A, B, C và D. Mẫu lá được lưu trữ và bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ -80°C để đảm bảo chất lượng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Tách chiết DNA tổng số, khuếch đại gen và giải trình tự

DNA tổng số được tách chiết bằng cách nghiền các mẫu lá trong N₂ lỏng, sau đó thực hiện chiết DNA bằng phenol : chloroform theo phương pháp CTAB của Doyle và cs [12] với một số cải tiến để phù hợp hơn với các mẫu. Các đoạn môi đặc hiệu cho phản ứng PCR khuếch đại gen *rbcL* dài khoảng 600 nucleotide và gen *trnL* dài khoảng 1100 nucleotide, được thiết kế dựa trên thông tin về trình tự gen từ GenBank (*trnL-trnF*: F: 5' TGGCGAAATTGGTAGACGC 3'; R: 5' AACCATCTCGTCTCCTGA 3' và *rbcL*: F: 5' ATTTGAAGTGGTGACACGAG 3'; R: 5' CGAAATCGGTAGACGCTACG 3'). Phản ứng khuếch đại được tối ưu ở các điều kiện bao gồm 25 µl tổng thể tích, chứa 50 ng DNA tổng số, 2,5 µM mỗi primer, 1 unit Taq DNA Polymerase, 1 mM dNTPs và đệm tương ứng. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR bao gồm 1 chu kỳ biến tính 95°C/3 phút, 35 chu kỳ (95°C/30 giây, 52°C/30 giây, 72°C/ phút) và bước tổng hợp cuối cùng 72°C/5 phút. Sản phẩm

PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8%, tinh sạch bằng bộ hóa chất GeneJETTM PCR Purification Kit (Thermo Scientific, Mỹ), sau đó trình tự được xác định bằng hệ thống ABI 3500 Genetic Analyzer theo nguyên lý của Sanger, với bộ kit BigDye[®] Terminator v 3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, Mỹ).

Phân tích so sánh kết quả trình tự nucleotide

Các trình tự DNA thu được sau khi giải trình tự được xử lý và phân tích bằng phần mềm BioEdit [13], trong đó so sánh với các trình tự tương đồng trong chi Bách bộ (*Stemona*), trình tự loài *Croomia heterosepala* (mã số MH191379.1) thuộc một chi khác trong họ Bách bộ được sử dụng làm loài ngoài (bảng 1). Khoảng cách di truyền theo từng cặp mẫu và cây phát sinh chủng loại được xây dựng bởi phương pháp Maximum likelihood bằng phần mềm MEGA-X [14] với giá trị bootstrap 1000.

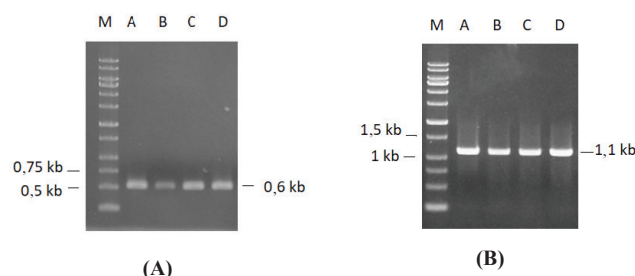
Bảng 1. Thông tin về các trình tự được sử dụng để so sánh trong họ Bách bộ.

TT	Tên loài	Vùng DNA barcode	Mã số Genbank (NCBI)
1	<i>Stemona tuberosa</i>	<i>rbcL</i>	MW246829.1
		<i>trnL</i>	MW246829.1
2	<i>Stemona sessilifolia</i>	<i>rbcL</i>	MW023922.2
		<i>trnL</i>	MW023922.2
3	<i>Stemona kerrii</i>	<i>rbcL</i>	MN853949.1
		<i>trnL</i>	FJ194466.1
4	<i>Stemona parviflora</i>	<i>rbcL</i>	MN853948.1
		<i>trnL</i>	AB490133.1
5	<i>Stemona japonica</i>	<i>rbcL</i>	MH191381.1
		<i>trnL</i>	MH191381.1
6	<i>Stemona mairei</i>	<i>rbcL</i>	MH191382.1
		<i>trnL</i>	MH191382.1
7	<i>Stemona javanica</i>	<i>rbcL</i>	MN853938.1
		<i>trnL</i>	FJ194465.1
8	<i>Croomia heterosepala</i>	<i>rbcL</i>	MH191379.1
		<i>trnL</i>	MH191379.1

Kết quả và thảo luận

Kết quả tách chiết DNA tổng số và khuếch đại PCR

Trong nghiên cứu này, DNA tổng số của 4 mẫu Bách bộ được tách chiết và tinh sạch có chất lượng đảm bảo cho các bước khuếch đại PCR. Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 0,8% cho thấy, các cặp mẫu *rbcL* và *trnL* đều được khuếch đại thành công, các băng sáng rõ, chỉ xuất hiện một băng vạch duy nhất với kích thước như dự đoán khoảng 0,6 và 1,1 kb lần lượt với hai vùng gen *rbcL* và *trnL* (hình 1), sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch và sử dụng cho bước phân tích xác định trình tự gen tiếp theo.



Hình 1. Kết quả sản phẩm PCR khuếch đại gen *rbcL* (A) và *trnL* (B). M: thang DNA chuẩn (marker 1 kb plus); A, B, C, D: sản phẩm PCR tương ứng của các mẫu nghiên cứu.

Kết quả phân tích trình tự, tính toán khoảng cách tiến hóa và cây phát sinh chủng loại

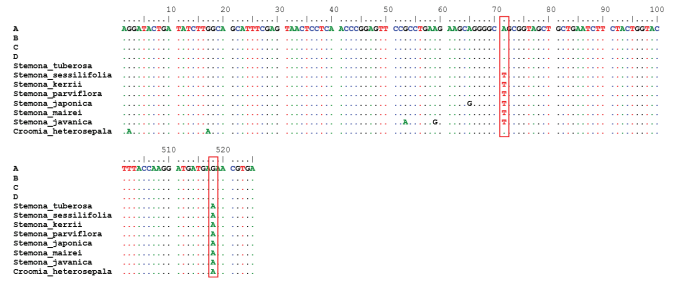
Các trình tự gen sau khi khuếch đại và giải trình tự cho kết quả đúng kích thước tính toán, vùng nhiễu ở hai đầu của các đoạn trình tự sau đó được tiến hành loại bỏ chỉ giữ lại vùng trình tự có tín hiệu tốt, do vậy độ dài đoạn *rbcL* được sử dụng phân tích là khoảng 545 bp và độ dài đoạn *trnL* khoảng 941 bp, được so sánh với các trình tự tương ứng của các loài trong chi Bách bộ đã được công bố trên GenBank bằng công cụ BLAST.

Các loài được so sánh bao gồm 7 loài thuộc chi *Stemona* và 1 loài ngoài nhóm là *Croomia heterosepala* (bảng 1). Qua phân tích cho thấy, cả 2 chi thị trên đều chứa một số nucleotide khác biệt giữa các mẫu nghiên cứu với các loài tham chiếu, đặc biệt là ở mã vạch *trnL*. Những sai khác này đều là các thay đổi nằm trên vùng không mã hóa cho tRNA là vùng intron và vùng xen kẽ (intergenic spacer). Trên vùng mã hóa tRNA của mã vạch này không có sự khác biệt nào giữa các mẫu cũng như các trình tự cùng chi *Stemona* (bảng 2).

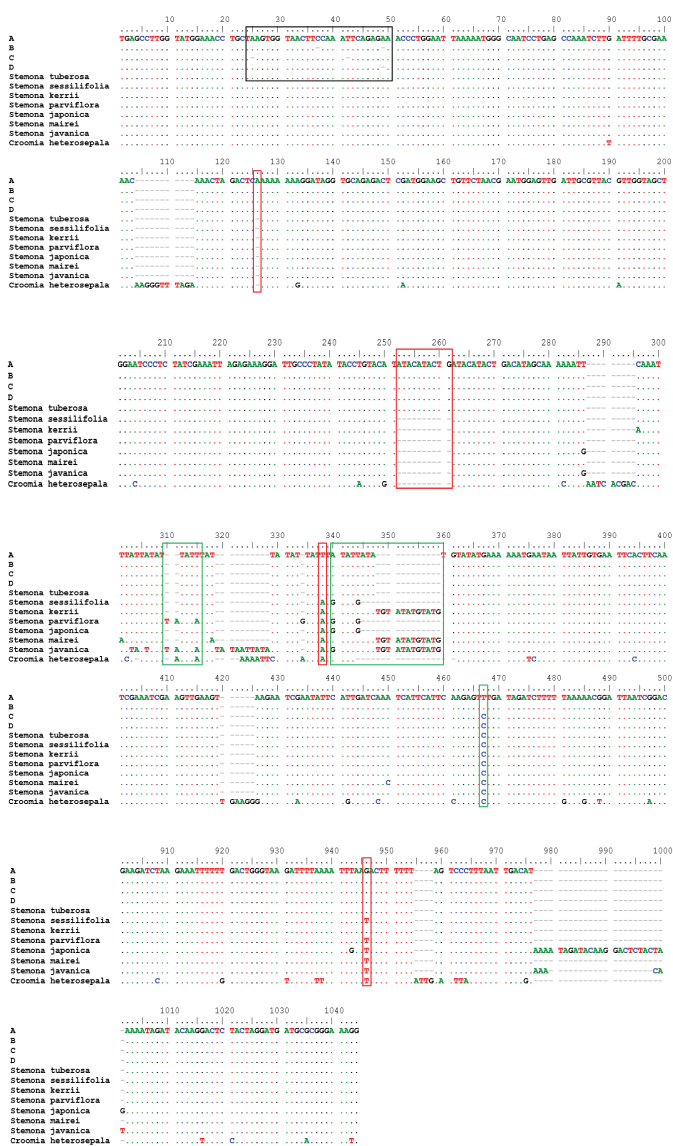
Kết quả so sánh trình tự các chi thị cho thấy, gen *rbcL* có độ bảo thủ khá lớn khi không có nhiều sự thay đổi giữa các mẫu thu thập với các loài khác nhau trong chi Bách bộ, tuy nhiên có hai sự khác biệt đặc trưng cho các mẫu Bách bộ Việt Nam ở vị trí nucleotide thứ 518 (G>A) và một sự khác biệt cho loài *S. tuberosa* ở vị trí 71 (A>T). Ở vùng *trnL*, xuất hiện nhiều hơn những điểm đa hình, trong đó vị trí 126 (insert A), 252-261 (insert ATACATACTG), 338 (T>A) hay 348-359 (indel TGTATATGTATG) là những thay đổi về nucleotide đặc trưng cho các mẫu thuộc loài *S. tuberosa* và có sự khác biệt với các trình tự thuộc các loài khác trong chi này. Ngoài ra, còn tồn tại một số sai khác đơn lẻ giữa các mẫu so sánh (vị trí 25-49, 466) hay sai khác không đặc trưng hoàn toàn (vị trí 340-359). Sự đa hình nucleotide của các trình tự được biểu diễn đầy đủ lần lượt cho hai chi thị ở hình 2. Qua phân tích, hai chi thị đều tồn tại những vị trí đa hình để phân biệt với các loài khác trong chi *Stemona* và bước đầu cho thấy có hiệu quả trong phân tích đánh giá mối

quan hệ phát sinh loài ở cây Bách bộ, tuy vậy vùng gen *trnL* (1100 bp) cho thấy phát hiện được nhiều vị trí nucleotide sai khác hơn so với vùng gen *rbcL* (600 bp).

a) *rbcL*



b) *trnL*



Hình 2. So sánh các nucleotide sai khác giữa các mẫu nghiên cứu và các trình tự tham chiếu.

Bảng 2. Khoảng cách di truyền theo cặp mẫu (genetic distance pairwise) giữa các mẫu Bách bộ dựa trên trình tự chỉ thị a. *rbcL*, b. *trnL* và c. *rbcL* + *trnL*.

a. *rbcL*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. A		0.000000	0.000000	0.000000	0.001904	0.002613	0.002613	0.002613	0.003294	0.003737	0.005368	0.006827
2. B			0.000000	0.000000	0.001904	0.002613	0.002613	0.002613	0.003294	0.003737	0.005368	0.006827
3. C				0.000000	0.001904	0.002613	0.002613	0.002613	0.003294	0.003737	0.005368	0.006827
4. D					0.001904	0.002613	0.002613	0.002613	0.003294	0.003737	0.005368	0.006827
5. Stemonon tuberosa						0.001797	0.001797	0.001797	0.002672	0.003198	0.005028	0.006607
6. Stemonon sessilifolia							0.000000	0.000000	0.001958	0.002613	0.004639	0.006847
7. Stemonon kerrii								0.000000	0.001958	0.002613	0.004639	0.006847
8. Stemonon parviflora									0.001958	0.002613	0.004639	0.006847
9. Stemonon japonica										0.003304	0.005092	0.007207
10. Stemonon mairei											0.004712	0.006844
11. Stemonon javanica												0.007240
12. Crocodylia heterosepala												

b. *trnL*

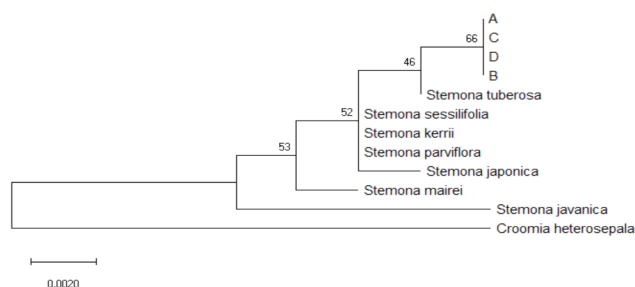
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. A		0.000000	0.001090	0.001089	0.001089	0.002549	0.001855	0.002840	0.002953	0.002661	0.003354	0.008100
2. B			0.001091	0.001089	0.001091	0.002552	0.001859	0.002846	0.002957	0.002667	0.003358	0.008116
3. C				0.000000	0.000000	0.001534	0.002593	0.002785	0.002437	0.003161	0.001800	
4. D					0.000000	0.002341	0.001523	0.002591	0.002782	0.002434	0.003160	0.008087
5. Stemonon tuberosa							0.002341	0.002598	0.002782	0.002431	0.003159	0.008080
6. Stemonon sessilifolia								0.002359	0.001512	0.002586	0.003076	0.008258
7. Stemonon kerrii									0.002665	0.002797	0.003195	0.008053
8. Stemonon parviflora										0.002396	0.003049	0.008182
9. Stemonon japonica											0.003881	0.008328
10. Stemonon mairei												0.008085
11. Stemonon javanica												
12. Crocodylia heterosepala												

c. *rbcL* + *trnL*

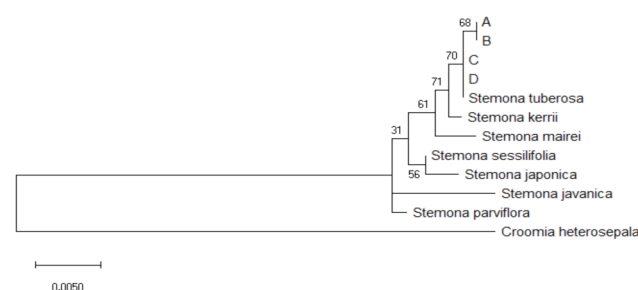
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. A		0.000000	0.000712	0.000712	0.000971	0.001978	0.001604	0.002141	0.002333	0.002233	0.002991	0.005756
2. B			0.000713	0.000712	0.000973	0.001979	0.001606	0.002144	0.002334	0.002236	0.002995	0.005765
3. C				0.000000	0.000679	0.001832	0.001423	0.002006	0.002207	0.002121	0.002882	0.005706
4. D					0.000678	0.001831	0.001422	0.002005	0.002205	0.002119	0.002881	0.005705
5. Stemonon tuberosa						0.001680	0.001234	0.001868	0.002073	0.001971	0.002769	0.005688
6. Stemonon sessilifolia							0.001508	0.001155	0.001198	0.001896	0.002354	0.005688
7. Stemonon kerrii								0.001669	0.001928	0.001797	0.002672	0.005648
8. Stemonon parviflora									0.001641	0.002086	0.002461	0.005651
9. Stemonon japonica										0.002221	0.002801	0.005889
10. Stemonon mairei											0.002805	0.005847
11. Stemonon javanica												0.006121
12. Crocodylia heterosepala												

Dựa trên sự so sánh trình tự ở mẫu nghiên cứu với những trình tự trong cùng chi khai thác từ GenBank, chúng tôi đã tính toán khoảng cách di truyền và xây dựng cây phả hệ. Việc kết hợp các chỉ thị để tăng hiệu quả phân loại đã được thực hiện ở một số nghiên cứu về thực vật trước đây [15]. Khoảng cách tiến hóa giữa các đơn vị phân loại (taxon) được tính toán dựa trên mô hình p-distance và giả sử tỷ lệ thay đổi là đồng nhất giữa các vị trí. Chỉ số biến thiên trung bình của khoảng cách di truyền trong chi *Stemonon* ở các chỉ thị dao động trong khoảng 0,0018-0,0149, 0,0005-0,0103 và 0,0013-0,0123, lần lượt cho *rbcL*, *trnL* và khi kết hợp cả hai vùng ở các loài thuộc chi *Stemonon*. Kết quả từ số liệu khoảng cách di truyền ở bảng 2 cũng một lần nữa khẳng định các mẫu quan tâm có quan hệ gần gũi nhất với loài *S. tuberosa* khi khoảng cách giữa các mẫu luôn gần nhất với loài này. Ngoài ra, kết quả cây phả hệ của cả ba trường hợp cũng đều chỉ ra mối quan hệ gần gũi giữa các mẫu với trình tự của loài *S. tuberosa* so với một số loài khác trong cùng chi. Đáng lưu ý, chỉ số bootstrap cao hơn khi kết hợp các mã vạch cho thấy kết quả đáng tin cậy hơn so với kết quả đơn lẻ từ mỗi trình tự, phù hợp với một số nghiên cứu trước đây cũng sử dụng phương pháp kết hợp này [15]. Chỉ số bootstrap không quá cao (hình 3) có thể lý giải do số lượng mẫu còn ít, khiến kết quả phân tích phát sinh loài còn tồn tại những hạn chế. Tuy nhiên, việc kết hợp cả hai chỉ thị để phân tích cũng giúp cho độ tin cậy của cây phân loại được cải thiện.

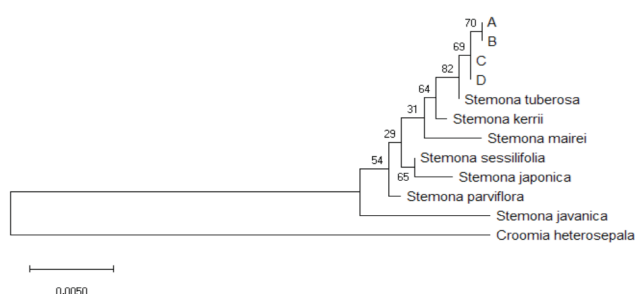
a. *rbcL*



b. *trnL*



c. *rbcL + trnL*



Hình 3. Biểu đồ hình cây về mối quan hệ phát sinh loài dựa trên các trình tự nucleotide các vùng gen nghiên cứu được xây dựng bằng phương pháp Maximum likelihood ở chỉ thị a. *rbcL*, b. *trnL* và c. *rbcL+trnL*.

Việc nghiên cứu Bách bộ bằng phương pháp chỉ thị mã vạch DNA là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về nghiên cứu phân tử của loài này cũng như ứng dụng cho những hệ gen được liệu quý khác, khi hiện tại chưa có nhiều công bố theo hướng này cho cây Bách bộ ở nước ta. Tuy nhiên trên thế giới, vào năm 2006, Jiang và cs [10] sau khi phân loại một số hợp chất alkaloid của *S. tuberosa* đã phân tích trình tự *trnL* để khẳng định quan hệ gần gũi giữa *Stemona* và *Croomia*, vốn là hai nhánh của họ *Stemonaceae*. Sau đó, theo nghiên cứu của Vongsak và cs (2008) [9], vùng gen *trnH-psbA* của Bách bộ (*S. tuberosa*) Thái Lan được sử dụng cho phân biệt loài ở mức độ phân tử để ứng dụng cho mục đích nghiên cứu và phân loại. Trong một công bố khác, nhóm các nhà khoa học Trung Quốc đã phân tích 4 vùng DNA lục lạp một số loài thuộc lớp *Stemona* này, bao gồm *trnL-trnF*, *petB-petD*, *trnH-psbA* và *trnK-rps16* [16]. Như

vậy, các kết quả nghiên cứu trên các mẫu Bách bộ thu thập từ một số địa điểm thuộc vùng núi phía Bắc Việt Nam đã bổ sung thông tin ở mức độ phân tử và ứng dụng mã vạch *rbcL* và *trnL* phục vụ định danh cho nhóm loài này, hỗ trợ cho công tác sử dụng, bảo tồn và khai thác bền vững loài được liệu quý này của Việt Nam.

Kết luận

Qua kết quả phân tích hai vùng chỉ thị mã vạch DNA là *rbcL* và *trnL*, quan hệ của các mẫu Bách bộ thu thập ở phía Bắc Việt Nam với một số loài thuộc chi *Stemona* đã được xác định. Các mẫu Bách bộ nghiên cứu có quan hệ gần và tương đồng cao với loài *S. tuberosa* Lour. khi dựa trên sự kết hợp hai chỉ thị *rbcL* và *trnL*. Trình tự nucleotide kết hợp hai vùng chỉ thị mã vạch trên có thể là ứng viên mã vạch DNA cho định danh loài *S. tuberosa* Lour.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Chen, et al. (2017), "Morphological and chemical variation of *Stemona tuberosa* from southern China - Evidence for heterogeneity of this medicinal plant species", *Plant Biol. (Stuttg)*, **19**, pp.835-842.
- [2] Y.T. Xu, et al. (2006), "Antitussive effects of *Stemona tuberosa* with different chemical profiles", *Journal of Ethnopharmacology*, **108**, pp.46-53.
- [3] L.G. Lin, et al. (2008), "Antibacterial stilbenoids from the roots of *Stemona tuberosa*", *Phytochemistry*, **69**, pp.457-463.
- [4] H. Greger (2006), "Structural relationships, distribution and biological activities of stemona alkaloids", *Planta Med.*, **72**, pp.99-113.
- [5] G. Chen, et al. (2018), "Conserving threatened widespread species: a case study using a traditional medicinal plant in Asia", *Biodiversity and Conservation*, **28**, pp.213-227.
- [6] CBOL Plant Working Group (2009), "A DNA barcode for land plants", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, pp.12794-12797.
- [7] M.W. Chase, et al. (2007), "A proposal for a standardized protocol to barcode all land plants", *Taxon*, **56**, pp.295-299.
- [8] W.J. Kress, et al. (2005), "Use of DNA barcodes to identify flowering plants", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, pp.8369-8374.
- [9] B. Vongsak, et al. (2008), "Sequencing analysis of the medicinal plant *Stemona tuberosa* and five related species existing in Thailand based on *trnH-psbA* chloroplast DNA", *Planta Med.*, **74**, pp.1764-1766.
- [10] R.W. Jiang, et al. (2006), "Isolation and chemotaxonomic significance of tuberostemospirone-type alkaloids from *Stemona tuberosa*", *Phytochemistry*, **67**, pp.52-57.
- [11] D.X. Duc, V.C. Dung (2017), "Synthesis of (5R*, 6R*)-6-(3-(tert-butylidimethylsilyloxy) prop-1-ynyl)-5-hydroxypiperidin-2-one", *Journal of Science and Technology*, **55**, pp.202-208.
- [12] J.J. Doyle, et al. (1990), "Isolation of plant DNA from fresh tissue", *Focus*, **12**, pp.13-15.
- [13] T.A. Hall (1999), "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT", *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**, pp.95-98.
- [14] S. Kumar, et al. (2018), "MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms", *Molecular Biology and Evolution*, **35**, pp.1547-1549.
- [15] E. Pennisi (2007), "Wanted: a barcode for plants", *Science*, **318**, pp.190-191.
- [16] L.L. Fan, et al. (2009), "Molecular analysis of *Stemona* plants in China based on sequences of four chloroplast DNA regions", *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, pp.1439-1446.

Đánh giá độc tính và khả năng tăng tín hiệu tương phản ảnh MRI của vật liệu nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLA-PEG}$ trên mô hình in vitro

Nguyễn Đắc Tú^{1,2*}, Hà Phương Thu³, Bùi Thị Vân Khánh¹, Phạm Hồng Nam³,
Nguyễn Xuân Phúc³, Lâm Khánh⁴, Hoàng Thị Mỹ Nhung¹

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Trung tâm Công nghệ cao Vinmec

³Viện Khoa học Vật liệu, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Ngày nhận bài 12/4/2021; ngày chuyển phản biện 16/4/2021; ngày nhận phản biện 28/5/2021; ngày chấp nhận đăng 4/6/2021

Tóm tắt:

Hạt nano lõi sắt từ (superparamagnetic iron oxide nanoparticles - SPIONs) được cấu tạo từ lõi Fe_3O_4 hoặc gamma Fe_2O_3 và vỏ bọc tương hợp sinh học như Dextran, Poly Lactic Acid (PLA), Poly Ethylene Glycol (PEG), Chitosan hay Poly Vinyl Alcohol (PVA). SPIONs có nhiều ứng dụng quan trọng trong y sinh học như phân tách tế bào, mang thuốc, nhiệt từ trị, làm tác nhân tương phản cho cộng hưởng từ hạt nhân. Hệ nano lõi sắt từ Fe_3O_4 được bọc bởi copolyme PLA-PEG ($\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLA-PEG}$) cho thấy không có độc tính trên hai dòng tế bào BT-474 và Sarcoma 180. Đánh giá trên chế độ chụp T2 cho thấy hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLA-PEG}$ có khả năng làm tăng tương phản ảnh chụp MRI trong nhiều điều kiện khác nhau, bao gồm môi trường nước, môi trường chứa dung dịch ly giải tế bào và cả khi bị thực bào. Kết quả nghiên cứu thể hiện tiềm năng ứng dụng của hệ nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLA-PEG}$ trong tăng tương phản hình ảnh MRI phục vụ cho các chẩn đoán lâm sàng.

Từ khóa: ảnh cộng hưởng từ, độc tính tế bào, hạt nano thuần từ, PLA-PEG.

Chỉ số phân loại: 1.7

Đặt vấn đề

Hạt nano (nanoparticles) được định nghĩa là vật liệu với cả ba chiều đều có kích thước nanomet (1-100 nm). Trong đó, hạt nano lõi sắt từ hay lõi oxit sắt siêu thuận từ superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) là loại hạt nano thuần từ duy nhất đã được chấp thuận sử dụng trong lâm sàng [1, 2]. SPIONs được cấu tạo từ lõi (Fe_3O_4 hoặc gamma Fe_2O_3) và vỏ bọc tương hợp sinh học có bản chất vô cơ hoặc hữu cơ, độc tính thấp và được động học đã được nghiên cứu rõ ràng [3, 4]. Vỏ bọc đóng vai trò quan trọng trong khả năng duy trì từ tính, sự ổn định, phân tán của hạt nano, tính tương hợp sinh học cũng như được động học của toàn hệ trong cơ thể. Chiến lược hiện đang được quan tâm trong việc bọc các hạt nano sắt từ là sử dụng các polymer, đáng chú ý nhất là Dextran, PLA, PEG, Chitosan, PVA [4, 5].

SPIONs được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trong các lĩnh vực của y học lâm sàng, sinh học như phân tách tế bào, mang thuốc hướng đích, tăng tương phản trong chụp ảnh cộng hưởng từ (Magnetic resonance imaging - MRI), nhiệt trị liệu (Hyperthermia) [3-8]. Trong những ứng dụng nêu trên, tăng tương phản ảnh chụp cộng hưởng từ là hướng đi rất đáng quan tâm trong chẩn đoán ung thư. Dựa trên đặc tính hướng ứng với từ trường của SPIONs, phương pháp chụp cộng

hưởng sử dụng hạt nano từ làm tăng tín hiệu hình ảnh, từ đó giúp đánh giá chính xác vị trí, tình trạng của mô bệnh lý, bao gồm cả khối u [9-12]. Hiện nay, Nhiều SPIONs đã được phê duyệt để thương mại hóa, ứng dụng trong chẩn đoán lâm sàng, trong đó đáng chú ý có thể kể đến Ferumoxides (Feridex® IV, Berlex Laboratories), Ferucarbotran (Resovist®, Bayer Healthcare), Ferumoxtran-10 (AMI-227, Code-7227) [13, 14].

Những nghiên cứu ngày càng nhiều về độc tính trong ứng dụng của SPIONs cũng làm gia tăng những lo ngại về độc tính, ảnh hưởng lâu dài của loại vật liệu này với cơ thể con người. Từ kích thước nanomet và các đặc tính riêng, SPIONs có thể gây ra nhiều ảnh hưởng đến sức khỏe con người [15-17]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung đánh giá độc tính in vitro của SPIONs được nghiên cứu chế tạo trong nước cũng như nghiên cứu thử nghiệm của loại vật liệu này với vai trò làm tác nhân tăng tín hiệu hiện ảnh cộng hưởng từ hạt nhân.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu

Vật liệu nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLA-PEG}$ nồng độ lõi sắt từ 5 mg/ml. Phương pháp chế tạo và các đặc tính của hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{PLA-PEG}$ được báo cáo chi tiết tại [18]. Các đặc

*Tác giả liên hệ: Email: v.tund5@vinmec.com

Evaluation of cytotoxicity and MRI contrast enhancement ability of Fe_3O_4 @PLA-PEG iron oxide nanoparticles in vitro model

Dac Tu Nguyen^{1,2*}, Phuong Thu Ha³,
Thi Van Khanh Bui¹, Hong Nam Pham³,
Xuan Phuc Nguyen³, Khanh Lam⁴,
Thi My Nhung Hoang¹

¹Department of Biology, University of Science,
Vietnam National University, Hanoi

²Vinmec Hi-Tech Center

³Institute of Materials Science,
Vietnam Academy of Science and Technology

⁴108 Military Central Hospital

Received 12 April 2021; accepted 4 June 2021

Abstract:

SPIONs are composed of Fe_3O_4 or gamma Fe_2O_3 cores and a biocompatible shell from Dextran, PLA, PEG, Chitosan, or PVA. SPIONs have many important applications in medicine and biology such as cell sorting, drug carrier, magnetic hyperthermia, and magnetic resonance imaging (MRI). This study aims to check the ability of copolymer PLA-PEG coated Fe_3O_4 ferromagnetic nanosystems (Fe_3O_4 @PLA-PEG) produced for MRI application. The results showed that these nanoparticles had non-toxicity on BT-474 and Sarcoma 180 cell lines. Evaluation on T2 imaging mode revealed that Fe_3O_4 @PLA-PEG nanoparticles were capable of enhancing the MRI image contrast in different conditions, including water, cell lysates solution, and even inside the cells. The report demonstrates that Fe_3O_4 @PLA-PEG nanoparticles have a high potential application in MRI for clinical diagnosis.

Keywords: cytotoxicity, MRI, PLA-PEG, SPIONs.

Classification number: 1.7

tính cơ bản của hệ nano Fe_3O_4 @PLA-PEG: hình dạng cầu với một lõi duy nhất, đường kính trung bình 20 nm (trong đó lõi Fe_3O_4 là 15 nm), tỷ lệ PLA-PEG: Fe_3O_4 là 0,3:3 mg/ml. Vật liệu Fe_3O_4 @PLA-PEG có khả năng duy trì ổn định trong dung dịch tối thiểu 90 ngày.

Nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào ung thư biểu mô tuyến vú người BT-474 và ung thư mô liên kết chuột Sarcoma 180 (American Type

Culture Collection) được nuôi cấy lần lượt trong môi trường DMEM và RPMI 1640 (Gibco), 10% FBS (Gibco), 1% kháng sinh (Invitrogen), 5% CO_2 .

Thử nghiệm độc tính in vitro (MTT assay)

Bộ kit MTT assay (PROMEGA) được sử dụng để đánh giá độc tính của hệ nano Fe_3O_4 @PLA-PEG lên dòng tế bào BT-474 và Sarcoma 180. Tế bào được nuôi cấy ổn định trên đĩa 96 giếng với mật độ 2000 tế bào/giếng trong 24h trước khi bổ sung các chất thử nghiệm theo dải nồng độ của Fe_3O_4 là 500 - 50 - 5 - 0,5 - 0,05 $\mu\text{g/ml}$. Sau 48h, đĩa thử nghiệm sẽ được đo bằng máy đo quang phổ huỳnh quang Laminator. Giá trị IC_{50} được tính theo hướng dẫn của bộ kit.

Phân lập đại thực bào

Chuột nhắt trắng Swiss trọng lượng 35-40 g cung cấp bởi Trung tâm Giống động vật chuẩn thức, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương được sử dụng để phân lập đại thực bào. Tế bào sau khi phân lập được nuôi cấy ổn định trong môi trường DMEM 10% FBS, 1% kháng sinh 24h trước khi thực hiện các thử nghiệm. Tế bào đại thực bào được nhuộm kiểm tra bằng kháng thể kháng CD11b chuột gắn huỳnh quang FITC (Abcam). Nhân tế bào được nhuộm bằng Hoechst 33342 (Invitrogen). Mẫu sau xử lý được phân tích bằng hệ thống kính hiển vi đồng tụ laser quét LSM 510 (Carl zeiss) và hệ thống đếm tế bào dòng chảy FASC Canto II (Beckman Dicktons).

Chụp ảnh cộng hưởng từ hạt nhân (MRI)

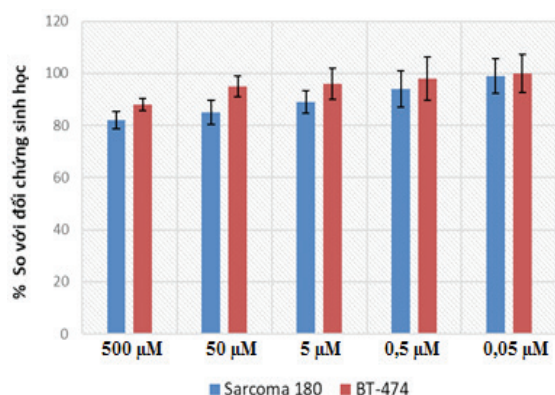
Khả năng tăng tương phản ảnh MRI của hệ nano Fe_3O_4 @PLA-PEG được kiểm tra ở ba trạng thái: (1) trong môi trường nước, (2) trong môi trường ly giải tế bào Sarcoma 80, và (3) khi bị thực bào. Kỹ thuật chụp ảnh MRI được tiến hành trên máy chụp cộng hưởng từ 3T (Phillips). Các mẫu được phân tích trên chế độ chụp T2, TE 80 ms, TR 3,0 s.

Cường độ tín hiệu ảnh MRI sau chụp được chuyển đổi sang giá trị pixel bằng phần mềm Image J. Dữ liệu được phân tích bằng t-test Student trên phần mềm Graph Prism 9.1.0 (221). Ý nghĩa thống kê được xác định với $p < 0,05$.

Kết quả

Độc tính in vitro của hệ nano từ

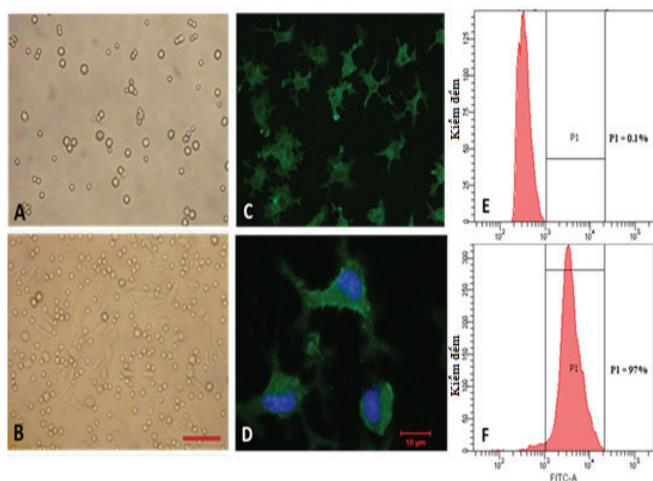
Khả năng tăng sinh của hai dòng tế bào BT-474 và Sarcoma 180 ở nồng độ thử nghiệm cao nhất của Fe_3O_4 @PLA-PEG đều đạt trên 80%, ở 3 nồng độ trung gian đạt 90-95% và ở nồng độ thấp nhất không có sự khác biệt so với đối chứng sinh học (hình 1) ($p > 0,05$). Kết quả thử nghiệm cho thấy hệ nano Fe_3O_4 @PLA-PEG ở dải nồng độ thử nghiệm không gây độc cho tế bào. Giá trị IC_{50} thu được lớn hơn 500 μM .



Hình 1. Tỷ lệ tăng sinh của tế bào Sarcoma 180 và BT-474 so với đối chứng sinh học khi được thử nghiệm độc tính với hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG theo dải nồng độ 0,05-500 μM .

Phân lập và định danh đại thực bào

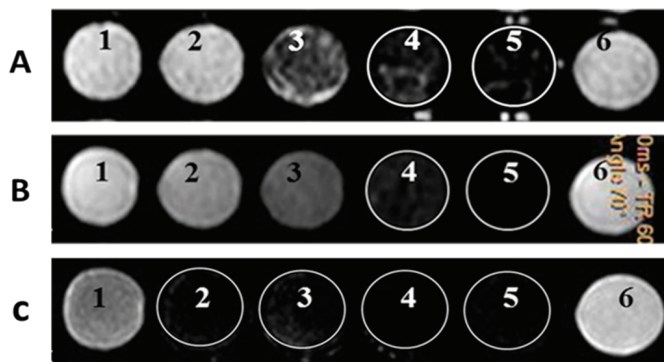
Quần thể tế bào thu từ xoang bụng chuột được quan sát dưới kính hiển vi quang học ngay sau khi phân lập gồm các tế bào dạng cầu, trôi nổi, kích thước không đồng nhất (hình 2A). Sau 24h nuôi cấy, đa số các tế bào bám dính, một số hình thành các chân giả đặc trưng cho kiểu hình của tế bào thực bào với kích thước khoảng 10-15 μm (hình 2B). Kết quả phân tích trên kính hiển vi đồng tụ laser quét LSM 510 (Carl Zeiss) cho thấy hầu hết các tế bào đều biểu hiện dương tính với chỉ thị sinh học CD11b gắn FITC có màu xanh lá (hình 2C) và có nhân dạng hạt đậu đặc trưng cho các tế bào đại thực bào (hình 2D). Thống kê trên phần mềm FACS DIVA của hệ thống FACS Canto II thể hiện 97% tế bào bám dính sau 24h nuôi cấy dương tính với CD11b, tương đương với tỷ lệ đại thực bào thu được (hình 2F).



Hình 2. Tế bào đại thực bào tách từ xoang bụng chuột nhắt trắng Swiss. Tế bào ngay sau khi phân lập (A) và bám dính sau 24h nuôi cấy (B). (A, B) = 20 μm . Các tế bào dương tính với chỉ thị đặc hiệu của đại thực bào CD11b gắn huỳnh quang FITC màu xanh lá (C) và có nhân hình hạt đậu màu xanh lam (D). (D) = 10 μm . Tỷ lệ đại thực bào có trong quần thể sau nuôi cấy chiếm 97% (F). Đối chứng không nhuộm huỳnh quang (E).

Khả năng tăng tín hiệu hình ảnh chụp MRI của vật liệu nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG

Tín hiệu chụp MRI của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG trong môi trường ly giải tế bào Sarcoma 180: môi trường bên trong cơ thể có thể ảnh hưởng đến tín hiệu MRI của các vật liệu. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện kiểm tra mức độ ảnh hưởng của các phân tử trong môi trường dịch cơ thể lên khả năng tăng tương phản trong chụp MRI của hệ $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG. Kết quả cho thấy, môi trường có chứa dung dịch ly giải tế bào không làm ảnh hưởng đến tính chất tương phản ảnh của hệ nano. Chế độ chụp T2 vẫn cho sự khác biệt mạnh về tín hiệu giữa đối chứng không có nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG (giếng 6) và các giếng có chứa nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG (hình 3B). Ngay ở nồng độ 250 μM (giếng 2), sự khác biệt về tín hiệu tối trên màn hình đã rất rõ ràng so với đối chứng (giếng 6) ($p < 0,05$). Từ nồng độ 1000 μM (giếng 4), tín hiệu tối màu gần như chiếm toàn bộ diện tích ảnh. Nếu so sánh các giếng có cùng nồng độ vật liệu, có thể nhận thấy tín hiệu tối màu trên các giếng tương ứng trộn lẫn dung dịch ly giải tế bào (hình 3B) mạnh hơn so với trong môi trường chỉ có nước (hình 3A) ($p < 0,05$). Kết quả thu được tương ứng với giá trị đo được trên Image J (bảng 1).



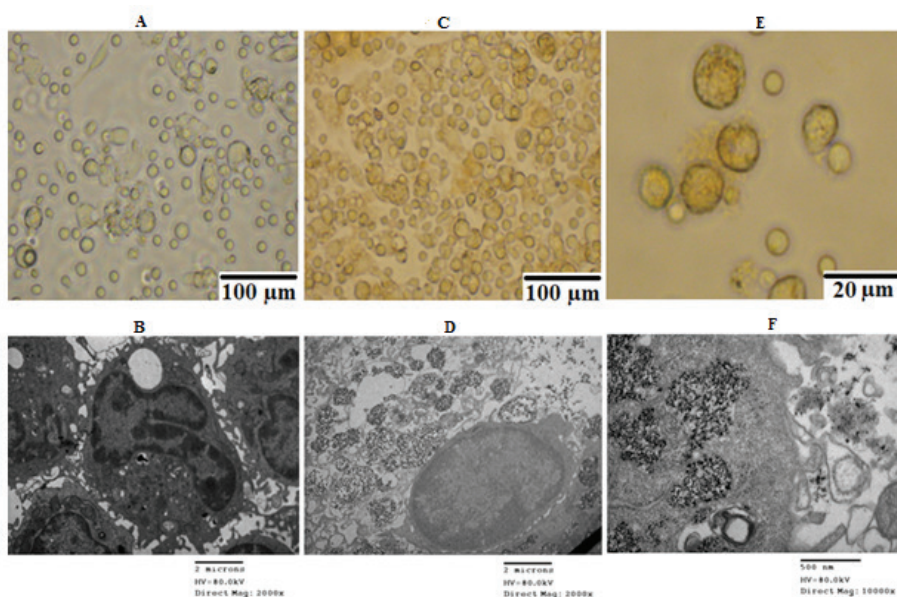
Hình 3. Kết quả chụp MRI. Kết quả chụp trên chế độ T2 của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG trong (A) môi trường nước, (B) môi trường dung dịch ly giải tế bào Sarcoma 180 và (C) trong điều kiện bị thực bào với các nồng độ vật liệu như sau: (1) 50 μM , (2) 250 μM , (3) 500 μM , (4) 1000 μM , (5) 2500 μM , (6) Đối chứng không có vật liệu.

Bảng 1. Kết quả đo tín hiệu sáng màu (pixel) trên ảnh MRI của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG bằng phần mềm Image J.

Nồng độ vật liệu (μM)	Giá trị cường độ sáng (pixel)		
	Môi trường nước	Môi trường ly giải tế bào	Khi bị thực bào
50	171,3 $\pm$ 8,5	169,5 $\pm$ 9,6	109,5 $\pm$ 7,7*
250	168,5 $\pm$ 9,2	121,8 $\pm$ 9,4*	14,3 $\pm$ 0,6*
500	76,3 $\pm$ 6,7*	66,1 $\pm$ 5,3*	11,5 $\pm$ 0,5*
1000	35,5 $\pm$ 2,3*	22,9 $\pm$ 1,5*	8,3 $\pm$ 0,3*
2500	18,7 $\pm$ 1,1*	10,2 $\pm$ 0,3*	9,5 $\pm$ 0,2*
Đối chứng	179,6 $\pm$ 11,8	175,8 $\pm$ 10,5	183,1 $\pm$ 10,9

* $p < 0,05$

Tín hiệu chụp MRI của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ sau khi bị thực bào: sau 24 giờ bổ sung vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ vào môi trường nuôi cấy, có thể quan sát thấy những biến đổi rõ rệt của đại thực bào. Tế bào có màu nâu đỏ do đã thực bào vật liệu nano vào trong tế bào chất, kích thước tế bào tăng lên, hình thành nhiều không bào, số lượng chân giả giảm, tế bào có xu hướng co tròn (hình 4).



Hình 4. Hình ảnh trường sáng và hiển vi điện tử (TEM) của đại thực bào trước và sau khi thực bào vật liệu nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$. Tế bào đại thực bào trước khi ủ với hạt nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ ở chế độ chụp trường sáng (A) và TEM (B). Tế bào đại thực bào sau khi ủ với hạt nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ ở chế độ chụp trường sáng (C) và TEM (D). Tế bào đại thực bào sau khi ủ với hạt nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ ở chế độ chụp trường sáng (E) và TEM (F) với độ phóng đại lớn.

Kết quả thử nghiệm cũng cho thấy hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ sau khi bị thực bào vẫn có khả năng tăng cường tín hiệu chụp MRI. Ngay tại nồng độ vật liệu ủ với đại thực bào thấp nhất 50 μM (giếng 1), tín hiệu MRI đã mạnh hơn so với đối chứng (hình 3C) ($p < 0,05$). Tín hiệu MRI gần như đạt tối đa tại nồng độ 250 μM (giếng 2) (hình 3C). Như vậy, trong điều kiện bị thực bào, khả năng tăng tương phản hình ảnh MRI trên chế độ chụp T2 của vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ mạnh hơn so với ở trạng thái trong nước và trong môi trường ly giải tế bào. Kết quả thu được tương ứng với giá trị đo được trên Image J (bảng 1).

Bàn luận

Độc tính in vitro của hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ sử dụng trong nghiên cứu có giá trị IC_{50} lớn hơn nhiều lần so với liều thử nghiệm cao nhất 500 μM . Theo Boyd, một chất được coi là có độc tính nếu giá trị IC_{50} nhỏ hơn 100 μM [19]. Như vậy có thể nói hệ vật liệu nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ trong nghiên cứu không có hoạt tính gây độc tế bào. Kết quả này tương đồng với công bố của Domaca và cộng sự trên vật

liệu nano từ bọc PLA-PEG với IC_{50} là 37, 26, và 23 nM khi tiếp xúc 24, 48 và 72h trên dòng tế bào A549 [20] và có độc tính thấp hơn nhiều so với công bố của Kazem và cộng sự là 27,5 và 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (tương đương 137,5 và 5 μM) trên dòng tế bào NIH3T3 và A549 [21].

Vật liệu nano với lõi sắt từ Fe_3O_4 là các chất siêu thuận từ. Chúng sẽ tác động trực tiếp làm giảm thời gian hồi phục T2 [22], từ đó tăng độ tương phản của hình ảnh trong chế độ chụp T2. Kết quả thu được khi tiến hành chụp MRI với hệ nano từ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ hoàn toàn tuân theo lý thuyết trên. Hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PLA-PEG}$ gây ra sự nhiễu loạn từ trường địa phương tại vị trí mà nó tập trung do sự tương tác giữa momen từ của các proton trong nguyên tử hydro của nước và momen từ của lõi Fe_3O_4 trong quá trình hồi phục. Sự nhiễu loạn từ trường nêu trên làm tín hiệu trên hình ảnh có màu tối hơn các vùng xung quanh [23-25]. Nguyên nhân của hiện tượng tín hiệu MRI trong môi trường ly giải tế bào mạnh hơn môi trường nước liên quan đến sự có mặt của protein và lipid. Những phân tử này thường có nhiều điểm tích điện trên bề mặt và có khuynh hướng hút các proton mang điện tích dương. Chúng tạo thành các cầu nối lỏng lẻo làm giảm bớt khả năng chuyển động tự do của các phân tử nước. Phần nước bị hạn chế chuyển động như vậy được gọi là nước tù. Các phân tử trong nước tù chuyển động chậm nên các proton của chúng dễ bị tác động bởi tình trạng không đồng nhất của từ trường cục bộ xung quanh, thời gian hồi giãn T2 ngắn, hiển thị trên hình ảnh màu tối hơn.

Bạch cầu đơn nhân sau khi được hình thành ở tủy xương sẽ theo dòng máu di cư vào trong mô để biệt hóa tạo thành đại thực bào. Trong quần thể đại thực bào, nhóm M2 là các đại thực bào liên kết ung thư đóng vai trò quan trọng trong việc làm dịu phản ứng viêm, loại bỏ sản phẩm thải của tế bào, kích thích sự tạo mạch và tái tổ chức mô, từ đó kích thích khối u phát triển. Bằng nhiều cách khác nhau, khối u có xu hướng lôi kéo các đại thực bào này về phía nó [26, 27]. Đặc điểm này gợi ý phương thức hướng đích trong đó các đại thực bào được sử dụng như phương tiện để vận chuyển hạt nano tập trung vào vị trí khối u, phục vụ cho các mục đích dẫn thuốc hay chụp MRI. Tính chất tăng tương phản hình ảnh MRI của vật liệu nano khi bị thực bào mạnh hơn so với ở trạng thái thường là kết quả phù hợp do vật liệu nano từ khi bị thực bào sẽ được chứa trong không bào hoặc lysosome. Trong môi trường này, lượng nước tự do rất

ít, trong khi nồng độ hạt nano từ lại cao nên cả thời gian hồi giãn T2 được rút ngắn và làm tăng tín hiệu màu tối.

Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy hệ nano $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PLA-PEG không có độc tính với hai dòng tế bào BT-474 và Sarcoma 180. Đồng thời, hệ vật liệu sử dụng trong nghiên cứu có tín hiệu tốt trên chế độ chụp T2 trong môi trường nước, môi trường lẫn tế bào và khi bị thực bào nên có tiềm năng ứng dụng cao trong hỗ trợ tăng tính tương phản hình ảnh chụp MRI. Ngoài ra, các đại thực bào có thể được sử dụng như một tác nhân vận chuyển tiềm năng để đưa vật liệu nano đến vị trí khối u, từ đó phục vụ cho các ứng dụng chẩn đoán bằng chụp cộng hưởng từ hay mang thuốc hướng đích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Peter Reimer, Thomas Balzer (2003), "Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RES-specific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications", *European Radiology*, **13**, pp.1266-1276.
- [2] Yi Xiang, J. Wang (2015), "Current status of superparamagnetic iron oxide contrast agents for liver magnetic resonance imaging", *World Journal of Gastroenterology*, **21**(47), pp.13400-13402.
- [3] Burghard Thiesen, Andreas Jordan (2007), "Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia", *International Journal of Hyperthermia*, **12**, pp.467-474.
- [4] Joanna Dulin'ska-Litewka, Agnieszka Łazarczyk, Przemysław Hałubiec, Oskar Szafran'ski, Karolina Karnas and Anna Karewicz (2019), "Superparamagnetic iron oxide nanoparticles - current and prospective medical applications", *Journal of Materials*, **12**(4), pp.617.
- [5] P. Sangaiya & R. Jayaprakash (2018), "A review on iron oxide nanoparticles and their biomedical applications", *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, **31**, pp.3397-3413.
- [6] G.F. Goya, V. Grazú, M.R. Ibarra (2008), "Magnetic nanoparticles for cancer therapy", *Current Nanoscience*, **4**, pp.1-16.
- [7] W.C. Zamboni (2008), "Concept and clinical evaluation of carrier-mediated anticancer agents", *The Oncologist*, **13**, pp.248-260.
- [8] D.B. Fenske (2008), "Liposomal nanomedicines: an emerging field", *Toxicologic Pathology*, **36**(1), pp.21-29.
- [9] R. Jurgons, C. Seliger, A. Hilpert, L. Trahms, S. Odenbach and C. Alexiou (2006), "Drug loaded magnetic nanoparticles for cancer therapy", *Condensed Matter*, **18**, pp.2893-2902.
- [10] Burghard Thiesen & Andreas Jordan (2008), "Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia", *International Journal of Hyperthermia*, **24**(6), pp.467-474.
- [11] P.W. Goodwill, E.U. Saritas, L.R. Croft, T.N. Kim, K.M. Krishnan, D.V. Schaffer (2012), "Magnetic nanoparticles for safe medical imaging", *X-Space MPI*, **24**, pp.3870-3877.
- [12] P. Fortina, L.J. Kricka, D.J. Graves, J. Park, T. Hyslop, F. Tam, N. Halas, S. Surrey, S.A. Waldman (2007), "Applications of nanoparticles to diagnostics and therapeutics in colorectal cancer", *Trends Biotechnol.*, **25**, pp.145-152.
- [13] I. Hilger, W.A. Kaiser (2012), "Iron-oxide based nanostructures for MRI and magnetic hyperthermia", *Nanomedicine*, **7**(9), pp.1443-1451.
- [14] Koichiro Hayashi, Michihiro Nakamura, Wataru Sakamoto, Toshinobu Yogo, Hirokazu Miki, Shuji Ozaki, Masahiro Abe, Toshio Matsumoto, and Kazunori Ishimura (2013), "Superparamagnetic nanoparticle clusters for cancer theranostics combining magnetic resonance imaging and hyperthermia treatment", *The Theranostics*, **3**(6), pp.366-376.
- [15] G. Oberdörster, V. Stone, K. Donaldson (2007), "Toxicology of nanoparticles: a historical perspective", *Journal of Nanotoxicology*, **1**(1), pp.2-25.
- [16] Nemi Malhotra, Jiann-Shing Lee, D. Rhenz Alfred Liman, S. Johnsy Margotte Ruallo, B. Oliver Villaflores, Tzong Rong Ger, and Chung Der Hsiao (2020), "Potential toxicity of iron oxide magnetic nanoparticles: a review", *Journal of Molecules*, **25**(14), pp.3159.
- [17] H. Markides, Rotherham, A.J. El Haj (2012), "Biocompatibility and toxicity of magnetic nanoparticles in regenerative medicine", *Journal of Nanomaterials*, **13**, pp.1-13.
- [18] Q.T. Phan, P.T. Ha, T.T.H. Le, H.N. Luu, X.P. Nguyen (2016), "Structure and properties of Fe_3O_4 nanoparticles coated by PLA-PEG copolymer with and without loading of curcumin", *Journal of Science and Technology*, **54**, pp.268-276.
- [19] Micheal Boyd (2004), "The NCI human tumor cell line (60-Cell) screen", *Anticancer Drug Development Guide*, **6**, pp.41-61.
- [20] B.H. Domaca, S. Alkhatibb, O. Zirhliac, N.G. Akdogand, S.C. Ocal Diricane, G. Bulutf, O. Akdogan (2020), "Effects of pegylated Fe_3O_4 core-shell nanoparticles on NIH3T3 and A549 cell lines", *Journal of Heliyon*, **6**(1), DOI: 10.1061/j.heliyon.2019.e03124.
- [21] Kazem Nejati-Koshki, Mehran Mesgari, Eommolbanin Ebrahimi, Farhad Abbasalizadeh, Sedigeh Fekri Aval, Amir Ahmad Khandaghi, Mozghan Abasi, Abolfazl Akbarzadeh (2014), "Synthesis and in vitro study of cisplatin-loaded Fe_3O_4 nanoparticles modified with PLGA-PEG₆₀₀₀ copolymers in treatment of lung cancer", *Journal of Microencapsul*, **31**(8), pp.815-823.
- [22] A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fahling, F. Roland (1999), "Magnetic fluid hyperthermia (MFH): cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, **201**(3), pp.413-419.
- [23] Hou Dong Zuo, Wei Wu Yao, Tian Wu Chen, Jiang Zhu, Juan Juan Zhang, Yu Pu, Gang Liu, and Xiao Ming Zhang (2014), "The effect of superparamagnetic iron oxide with iRGD peptide on the labeling of pancreatic cancer cells in vitro: a preliminary study", *Biomed Research International*, DOI: 10.1155/2014/852352.
- [24] P. Reimer, T. Balzer (2002), "Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RES-specific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications", *European Radiology*, **13**(6), pp.1266-1276.
- [25] Somayeh Sadighian, Maryam Khalkhali, Kobra Rostamizadeh, Farhad Khoeini, Mehran Naghibi and Mehrdad Hamidi (2015), "The impact of polymer coatings on magnetite nanoparticles performance as MRI contrast agents: a comparative study", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **45**, DOI: 10.1186/s40199-015-0124-7.
- [26] Hrystella Lamagna, Michel Aurrand - Lions, Beat A. Imhof (2006), "Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis", *Journal of Leukocyte Biology*, DOI: 10.1189/jlb.1105656.
- [27] Kindt, Goldsby, Osborne (2004), "Mononuclear phagocytes", *Kuby Immunology*, **6**, pp.36-37.

Ứng dụng thuật toán Rao tối ưu khung thép sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi

Hà Mạnh Hùng^{1*}, Trương Việt Hùng², Nguyễn Minh Phương²

¹Khoa Xây dựng dân dụng và công nghiệp, Trường Đại học Xây dựng

²Khoa Công trình, Trường Đại học Thủy lợi

Ngày nhận bài 16/4/2021; ngày chuyển phản biện 22/4/2021; ngày nhận phản biện 24/5/2021; ngày chấp nhận đăng 28/5/2021

Tóm tắt:

Các thuật toán tối ưu metaheuristic ngày càng được sử dụng rộng rãi trong thiết kế công trình nhờ khả năng vượt trội của chúng trong việc tìm kiếm các thiết kế tối ưu toàn cục. Về mặt lý thuyết, các thuật toán này rất mạnh và mang tính tổng quát cao, có thể áp dụng trong mọi dạng bài toán tối ưu. Tuy nhiên, trên thực tế, hiệu suất của các thuật toán này phụ thuộc vào đặc điểm của từng lớp bài toán. Thêm vào đó, tính phức tạp của thuật toán cũng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng áp dụng chúng trong các bài toán thiết kế cụ thể. Trong bài báo này, thuật toán tối ưu Rao, một trong những thuật toán metaheuristic mới nhất, được trình bày cho bài toán tối ưu kết cấu khung thép. Ưu điểm của thuật toán Rao là khá đơn giản (với rất ít tham số) nên các kỹ sư có thể dễ dàng ứng dụng trong công việc thiết kế hàng ngày. Phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi được sử dụng để xét đến các ứng xử phi tuyến của kết cấu thép. Khung thép không gian 2 tầng được sử dụng để minh họa cho nghiên cứu. Kết quả thu được cho thấy Rao-1 có tính ổn định tốt hơn, hội tụ nhanh hơn nhưng dễ mắc vào cực bộ địa phương hơn so với Rao-2 và Rao-4. Rao-4 cho khả năng tìm kiếm tối ưu toàn cục tốt hơn nhưng tính ổn định lại kém nhất.

Từ khóa: khung thép, phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi, thuật toán Rao, tối ưu.

Chỉ số phân loại: 2.1

Đặt vấn đề

Kết cấu thép được sử dụng rộng rãi cho các công trình dân dụng và công nghiệp hiện nay nhờ khả năng chịu lực tốt, đa dạng về hình dáng, kích thước, trong đó, khung thép là một trong những kết cấu điển hình, thường được sử dụng trong xây dựng. Bên cạnh đó, trong những năm gần đây, nhờ sự phát triển nhanh chóng của công nghệ tính toán, việc ứng dụng các thuật toán tối ưu vào thiết kế công trình ngày càng nhận được sự quan tâm lớn của các nhà khoa học trên thế giới và Việt Nam. Thiết kế tối ưu kết cấu công trình giúp tối đa hóa lợi ích về vật liệu và giá thành, mà vẫn đảm bảo an toàn cho công trình xây dựng. Tổng giá thành hoặc khối lượng của công trình thường được lựa chọn là hàm mục tiêu để tối thiểu hóa trong quá trình tối ưu với nhiều điều kiện ràng buộc kèm theo về cường độ và về sử dụng đối với các bài toán tối ưu kết cấu khung thép. Tiết diện của các cấu kiện dầm và cột thường được chọn là các biến thiết kế trong các bài toán tối ưu này.

Tuy nhiên độ phức tạp của các bài toán tối ưu hóa ngày càng cao, khiến các thuật toán tối ưu hóa thông thường không còn phù hợp. Đa số các bài toán tối ưu các kết cấu trong xây dựng đều khá phức tạp, do có tính phi tuyến cao, đa điểm cực trị và đa chiều. Vì vậy, thuật toán metaheuristic đã được chứng minh là cách tiếp cận tốt nhất để giải các bài

toán tối ưu hóa phức tạp trong mọi lĩnh vực. Ưu điểm nổi bật của các thuật toán này là khả năng kết hợp hài hòa giữa việc tìm kiếm cục bộ và tìm kiếm toàn cục để tìm nghiệm tối ưu tốt nhất. Một số thuật toán metaheuristic quen thuộc có thể kể đến như: tìm kiếm hài hòa (Harmony Search) (HS) [1], tiến hóa vi phân (Differential Evolution) (DE) [2], thuật toán di truyền (Genetic Algorithm) (GA) [3]... Tuy nhiên, đối với một hoặc một nhóm vấn đề tối ưu cụ thể, hiệu quả của một thuật toán metaheuristic là khác nhau. Do đó, việc đánh giá tính hiệu quả của một thuật toán metaheuristic với một loại bài toán tối ưu hóa cụ thể là điều cần thiết để cung cấp thông tin quan trọng cho người dùng phục vụ cho công việc của họ. Các thuật toán metaheuristic thường cần điều chỉnh các tham số điều khiển để đạt được hiệu quả, do đó việc ứng dụng trong tối ưu kết cấu thực tế đang còn hạn chế.

Thuật toán Rao là một trong những thuật toán metaheuristic khá mới, được giới thiệu vào năm 2020 và đặt tên theo giáo sư Rao (người Ấn Độ) [4]. Ưu điểm của thuật toán Rao là rất đơn giản vì yêu cầu rất ít tham số, bao gồm các cá thể kém nhất, tốt nhất và ngẫu nhiên trong quần thể. Mặc dù đơn giản nhưng thuật toán Rao khá hiệu quả trong nhiều dạng bài toán tối ưu hóa khác nhau [5-7]. Trong nghiên cứu của mình, Rao đã đề xuất 4 kỹ thuật đột biến khác nhau, dẫn đến có 4 thuật toán tối ưu Rao khác nhau.

*Tác giả liên hệ: Email: hungmh@nuce.edu.vn

Rao algorithm-based method for optimisation of steel frames using nonlinear inelastic analysis

Manh Hung Ha^{1*}, Viet Hung Truong²,
Minh Phuong Nguyen²

¹Faculty of Building and Industrial Construction,
National University of Civil Engineering

²Faculty of Civil Engineering, Thuyloi University

Received 16 April 2021; accepted 28 May 2021

Abstract:

Metaheuristic optimisation algorithms have been increasingly used because of their superior ability to find globally optimal solutions. Theoretically, these algorithms are very powerful and can be applied in all types of optimisation problems. However, in reality, their performance depends on the characteristics of each optimisation problem class. In addition, the complexity of an algorithm is an important factor affecting its application in specific design problems. In this paper, the Rao optimisation algorithm, one of the newest metaheuristic algorithms, is presented for the optimisation algorithm of steel frame structures. The advantage of the Rao algorithm is that it is quite simple with few parameters, so engineers can easily apply it in daily design tasks. A nonlinear inelastic analysis is used to consider the nonlinear behaviors of the steel structure. A two-story space steel frame is studied. The results show that Rao-1 is more stable and converged more quickly but easily trapped in local solutions than Rao-2 and Rao-4. Rao-4 is more efficient in global search but its stability is less than other algorithms.

Keywords: nonlinear inelastic analysis, optimisation, Rao algorithm, steel frame.

Classification number: 2.1

Tùy vào bài toán tối ưu cụ thể, người sử dụng có thể tự lựa chọn thuật toán hiệu quả nhất. Bên cạnh đó, trong nghiên cứu của mình, Rao mới giới hạn việc đánh giá hiệu quả của thuật toán Rao trong các hàm toán học.

Hiện nay, ứng dụng của thuật toán Rao trong tối ưu hóa kết cấu công trình chưa được nghiên cứu đầy đủ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sẽ giới thiệu và áp dụng thuật toán Rao để tối ưu hóa kết cấu khung thép phi tuyến, vốn được coi là một bài toán tối ưu mang tính thực tế và phi tuyến cao, do các ứng xử phi tuyến hình học và vật liệu của kết cấu, tính không liên tục của biến thiết kế. Để chứng minh hiệu quả của phương pháp đề xuất, một khung thép không gian hai tầng được nghiên cứu.

Thiết lập bài toán tối ưu khung thép sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi

Ứng xử thực tế của kết cấu thép dưới tác dụng của tải trọng là phi tuyến, do các ứng xử phi tuyến hình học của kết cấu và phi đàn hồi của vật liệu thép. Vì vậy, để phản ánh chính xác hơn ứng xử của kết cấu thép, một số công trình tối ưu hóa kết cấu thép sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi đã được công bố trong những năm gần đây [8-10]. Tối ưu hóa khung thép bằng cách sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi được miêu tả như sau [1]:

Tối thiểu hóa hàm:

$$W(X) = \sum_{i=1}^N \rho_i A_i L_i \quad (1)$$

Chịu điều kiện ràng buộc:

$$\begin{cases} 1 - constr_m \leq 0 & m = 1, \dots, N_{constr} \\ 1 - LF_j \leq 0 & j = 1, \dots, N_{strength} \\ \left| \frac{h_{k,l}}{h_{k,l}^u} \right| - 1 \leq 0 & k = 1, \dots, N_{service}; l = 1, \dots, N_{story} \\ A_i \in [A]_i \end{cases} \quad (2)$$

Trong đó i , j và k lần lượt là số thứ tự của các phần tử kết cấu và tổ hợp tải trọng theo giới hạn cường độ và sử dụng; ρ là khối lượng riêng của vật liệu; L và A là chiều dài và diện tích tiết diện của phần tử kết cấu; $constr_m$ là giá trị tương ứng với điều kiện ràng buộc về cấu tạo thứ m ; $[A]$ là tập hợp các tiết diện được sử dụng của biến thiết kế (là tiết diện của phần tử kết cấu); $\mathbf{X} = (x_1, x_2, \dots, x_m)$ là vec-tơ biến thiết kế với x_i là số thứ tự của loại tiết diện được sử dụng trong tập hợp tiết diện đã cho; h_j và h_i^u là chuyển vị lệch tầng và giá trị

giới hạn của nó; $LF = R/S$ - hệ số chịu tải tối đa của kết cấu, là tỷ lệ giữa khả năng chịu tải của công trình (R) và hiệu ứng do tải trọng gây ra (S).

Các ràng buộc về cấu tạo hình học thường là các yêu cầu về kích thước chiều rộng của cột và dầm, chiều rộng của cột bên dưới và cột bên trên [1].

Để có thể áp dụng các thuật toán metaheuristic, bài toán tối ưu có điều kiện ràng buộc được trình bày trong công thức (1) phải được chuyển đổi thành bài toán tối ưu không có điều kiện ràng buộc. Để thực hiện vấn đề này, một cách đơn giản nhất là sử dụng phương pháp hàm phạt được trình bày trong công thức (3):

$$W_{un}(X) = \left(1 + \sum_{m=1}^{N_{constr}} \alpha_{constr,m} \beta_{1,m} + \sum_{j=1}^{N_{width}} \alpha_{str,j} \beta_{2,j} + \sum_{k=1}^{N_{displacement}} \alpha_{disp,k} \beta_{3,k} \right) \times W(X) \quad (3)$$

$$\beta_{1,m} = \max(1 - constr_m, 0); \beta_{2,j} = \max(1 - LF_j, 0); \beta_{3,k} = \sum_{l=1}^m \max\left(\frac{|h_{k,l}|}{h_{k,l}^u} - 1, 0\right)$$

Trong đó, $\alpha_{constr,m}$, $\alpha_{str,j}$ và $\alpha_{disp,k}$ là các hệ số phạt. Các hệ số này được lựa chọn với giá trị đủ lớn nhằm đảm bảo rằng, các cá thể vi phạm điều kiện ràng buộc sẽ tự động bị loại bỏ dần trong quá trình tối ưu. Trong nghiên cứu này, các hệ số phạt được lấy bằng 10,000.

Ứng dụng thuật toán Rao trong bài toán tối ưu khung thép phi tuyến

Thuật toán tối ưu Rao

Thuật toán tối ưu Rao được đề xuất vào năm 2020 và đặt tên theo giáo sư Rao (người Ấn Độ) với 4 kỹ thuật đột biến cơ bản như sau [5]:

$$Rao-1: \mathbf{x}_i' = \mathbf{x}_i + \mathbf{r}_1 \cdot (\mathbf{x}_{best} - \mathbf{x}_{worst}) \quad (4)$$

$$Rao-2: \mathbf{x}_i' = \mathbf{x}_i + \mathbf{r}_1 \cdot (\mathbf{x}_{best} - \mathbf{x}_{worst}) + \mathbf{r}_2 \cdot d \cdot (|\mathbf{x}_i| - |\mathbf{x}_j|) \quad (5)$$

$$Rao-3: \mathbf{x}_i' = \mathbf{x}_i + \mathbf{r}_1 \cdot (\mathbf{x}_{best} - |\mathbf{x}_{worst}|) + \mathbf{r}_2 \cdot d \cdot (|\mathbf{x}_i| - \mathbf{x}_j) \quad (6)$$

$$Rao-4: \mathbf{x}_i' = \mathbf{x}_i + \mathbf{r}_1 \cdot (\mathbf{x}_{best} - \mathbf{x}_{worst}) + 0.5 \cdot \left(\mathbf{r}_2 \cdot (\mathbf{x}_{best} - \mathbf{x}_j) + \mathbf{r}_3 \cdot (\mathbf{x}_{best} - \mathbf{x}_j) \right) - \mathbf{r}_4 \cdot (\mathbf{x}_{worst} - \mathbf{x}_j) \quad (7)$$

Trong đó $\mathbf{x}_i$ là cá thể thứ i trong quần thể hiện tại; $\mathbf{x}_{best}$ và $\mathbf{x}_{worst}$ tương ứng là cá thể tốt nhất và kém nhất trong quần thể hiện tại; $\mathbf{x}_j$ là một cá thể ngẫu nhiên của quần thể; $\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3$ và $\mathbf{r}_4$ là các véc-tơ số thực ngẫu nhiên trong khoảng $[0, 1]$ của vòng tiến hóa hiện tại; $d=1$ nếu hàm mục tiêu của $\mathbf{x}_i$ là tốt hơn so với của $\mathbf{x}_j$, ngược lại thì $d=-1$. Nếu hàm mục tiêu của $\mathbf{x}_i$ tốt hơn của $\mathbf{x}_j$, nó sẽ được lựa chọn thay thế cho vị trí của $\mathbf{x}_i$ trong quần thể mới.

Tối ưu khung thép phi tuyến sử dụng thuật toán tối ưu Rao

Dựa trên thuật toán Rao, bài toán tối ưu khung thép sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi trình bày trong

công thức (3) được xây dựng với các bước chính như sau:

Bước 1: thiết lập bài toán tối ưu. Trong bước này, điều quan trọng nhất là thiết lập được công thức tối ưu không có điều kiện ràng buộc được trình bày trong công thức (3). Các thông số về biến thiết kế, tập thiết kế tương ứng, thông số của thuật toán Rao cũng được xác định. Lưu ý rằng, đối với thuật toán Rao, chỉ có 2 thông số cơ bản cần xác định là: số lượng cá thể trong quần thể (NP) và số vòng tiến hóa tối đa cho chương trình tối ưu (MaxIter).

Bước 2: thiết lập quần thể ban đầu một cách ngẫu nhiên bao gồm NP cá thể. Các cá thể này được xác định giá trị hàm mục tiêu bằng cách sử dụng công thức (3), trong đó, phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi được sử dụng để xác định ứng xử của kết cấu.

Bước 3: xây dựng quần thể mới dựa trên kỹ thuật đột biến. Quần thể mới được xây dựng dựa trên kỹ thuật đột biến. Lần lượt, từng cá thể trong quần thể hiện tại được chọn là cá thể mục tiêu để xây dựng nên một cá thể mới tương ứng. Nếu cá thể mới này có giá trị hàm mục tiêu tốt hơn so với cá thể mục tiêu, thì nó được lựa chọn thay thế cho cá thể mục tiêu trong quần thể mới. Trong trường hợp ngược lại, cá thể mục tiêu vẫn tiếp tục được giữ lại.

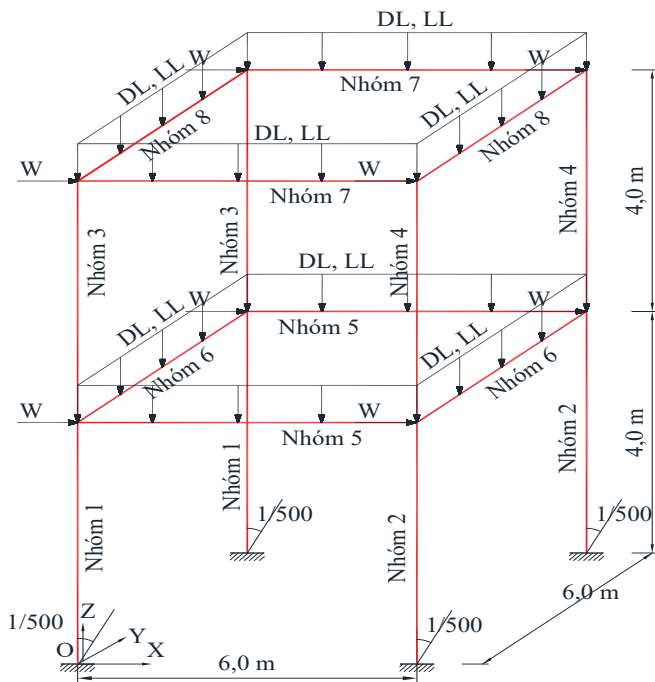
Bước 4: kết thúc quá trình tối ưu. Bước 3 được thực hiện cho đến khi số vòng tiến hóa đạt đến giá trị tối đa MaxIter. Lúc này, kết quả tối ưu thu được là cá thể tốt nhất trong quần thể cuối cùng.

Ví dụ minh họa

Trong phần ví dụ minh họa cho phương pháp này, một kết cấu khung không gian 2 tầng bằng thép được nghiên cứu nhằm đánh giá hiệu quả của các thuật toán Rao đối với bài toán tối ưu khung thép sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi. Kích thước của khung thép: nhịp là 6 m và chiều cao các tầng là 4 m, được thể hiện trong hình 1. Độ lệch cột ban đầu được lấy bằng 1/500 theo cả 2 phương X và Y nhằm xét đến sự không hoàn hảo ban đầu của kết cấu. Bài toán tối ưu được nghiên cứu trong ví dụ này gồm 8 biến thiết kế (nhóm 1 đến nhóm 8), là tiết diện của các phần tử khung. Các cột được thiết kế, chọn lựa từ các tiết diện W10, W12, W14 và W16. Các dầm được thiết kế từ tiết diện W10 đến W44. Vật liệu thép sử dụng cho kết cấu là A992, với mô đun đàn hồi $E=200$ (GPa) và cường độ chảy $f_y=345$ (MPa). Tải trọng gồm tĩnh tải DL và hoạt tải LL là các tải trọng phân bố đều tác dụng lên các dầm. Giá trị của tĩnh tải là 40 (kN/m) và của hoạt tải là 30 (kN/m). Tải trọng gió tác dụng lên các nút khung theo chiều trục X và có giá trị bằng 100 kN. Các tổ hợp tải trọng được xét đến trong bài toán dựa theo tiêu chuẩn AISC-LRFD của Mỹ [11], trong đó, hai tổ hợp

cường độ được xem xét ($1,2DL + 1,6LL$) và ($1,2DL + 1,6W + 0,5LL$) là 2 điều kiện ràng buộc về cường độ, còn lại một tổ hợp ($1,0DL + 0,7W + 0,5LL$) là điều kiện ràng buộc về chuyển vị (đảm bảo điều kiện tương ứng là chuyển vị lệch tầng của khung không vượt quá $h/400$, với h là chiều cao tầng). Phần mềm phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi PAAP [12] được sử dụng để phân tích kết cấu khung thép.

Trong nghiên cứu này, các tác giả tiến hành so sánh hiệu suất của 3 thuật toán Rao-1, Rao-2 và Rao-4. Thuật toán Rao-3 không được xem xét vì khi các biến thiết kế trong bài toán này đều nhận giá trị dương cho nên Rao-3 với Rao-2 là như nhau. Các thông số được sử dụng là: tổng số vòng tiến hóa tối đa = 4000 và số cá thể trong quần thể = 25.



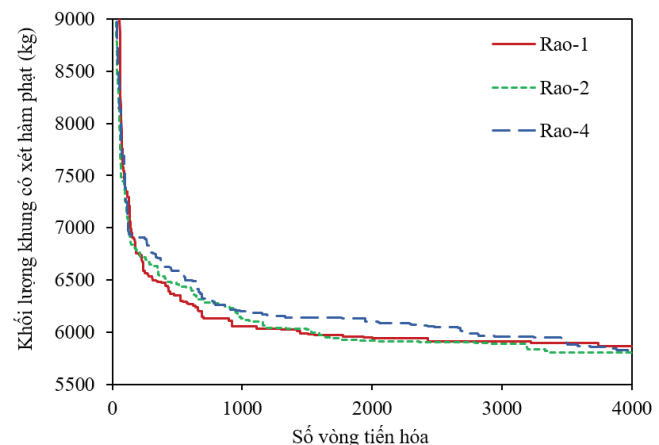
Hình 1. Khung thép 2 tầng.

Kết quả tối ưu hóa được trình bày trong bảng 1, trong đó, mỗi thuật toán tối ưu được chạy 10 lần nhằm giảm bớt ảnh hưởng của tính ngẫu nhiên trong thuật toán metaheuristic. Chúng ta có thể thấy rằng, kết quả tối ưu tốt nhất tìm được của thuật toán Rao-1 bằng 5741,30 (kg) là kém hơn so với Rao-2 (5641,10 kg) và Rao-4 (5606,30 kg). Tuy nhiên, khối lượng tối ưu kém nhất tìm được của thuật toán Rao-1 (6006,20 kg) lại tốt hơn so với của Rao-2 (6015,70 kg) và Rao-4 (6176,40 kg). Điều này cho thấy, kết quả của Rao-1 có tính ổn định tốt hơn so với Rao-2 và Rao-4. Điều này cũng được thể hiện qua độ lệch chuẩn của kết quả tối ưu tìm được của Rao-1 là tốt nhất trong 3 thuật toán.

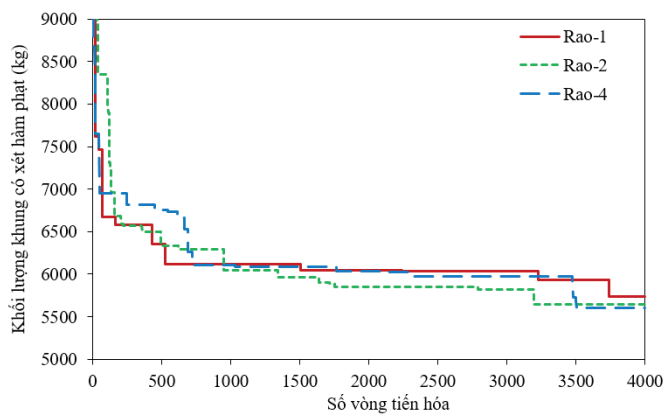
Bảng 1. Kết quả tính toán tối ưu kết cấu khung thép 2 tầng.

	Rao-1	Rao-2	Rao-4
Khối lượng thiết kế tối ưu tốt nhất tìm được (kg)	5741,30	5641,10	5606,30
Khối lượng thiết kế tối ưu kém nhất tìm được (kg)	6006,20	6015,70	6176,40
Khối lượng thiết kế tối ưu trung bình tìm được (kg)	5861,63	5804,17	5824,11
Độ lệch chuẩn khối lượng tối ưu tìm được (kg)	129,66	175,42	198,48
Thiết kế tối ưu tìm được	16x50,16x57,12x40,16x77,24x62,14x38,18x35,16x36	16x45,16x67,14x30,16x67,21x57,18x35,18x40,14x43	16x45,16x67,12x35,16x77,21x57,16x31,18x35,16x40

Hình 2 thể hiện đường cong hội tụ trung bình của các thuật toán tối ưu. Có thể thấy rằng, khi số vòng tiến hóa lớn (4000 vòng) kết quả thu được của 2 thuật toán Rao-2 và Rao-4 là tốt hơn so với Rao-1. Điều này phù hợp với phân tích kết quả tối ưu đã được trình bày. Tuy nhiên, một kết quả khá thú vị ở đây là khi số vòng tiến hóa là nhỏ (dưới 1500) thì kết quả trung bình thu được của Rao-1 lại tốt hơn đáng kể so với Rao-2 và Rao-4. Điều này cho thấy rằng, tốc độ hội tụ của thuật toán Rao-1 là tốt hơn so với Rao-2 và Rao-4. Hay nói cách khác, Rao-1 được ưu tiên sử dụng nếu như chúng ta sử dụng số vòng tiến hóa là nhỏ. Tuy nhiên, khi số vòng tiến hóa là lớn thì Rao-1 dễ bị mắc vào hội tụ cục bộ hơn Rao-2 và Rao-4, vậy nên, kết quả tối ưu tìm được của nó là kém hơn. Để minh họa thêm cho tính hội tụ của các thuật toán, hình 3 trình bày đường cong hội tụ tương ứng với các trường hợp các tối ưu tốt nhất tìm được. Ta cũng có thể nhận ra, trong trường hợp cụ thể này, tốc độ hội tụ của Rao-1 tốt hơn so với Rao-2 và Rao-4, nhưng bị hội tụ vào cực trị địa phương khi mà kết quả tối ưu tốt nhất không thay đổi ở một giai đoạn khá dài từ vòng tiến hóa 1500 đến 3300.



Hình 2. Đường cong hội tụ trung bình.



Hình 3. Đường cong hội tụ của thiết kế tối ưu tốt nhất tìm được.

Kết luận

Trong bài báo này, ứng dụng thuật toán Rao vào giải quyết bài toán tối ưu khung thép phi tuyến đã được trình bày. Bài toán tối ưu khung thép phi tuyến được thành lập dựa trên sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi, bao gồm hàm tối ưu là tổng khối lượng kết cấu, biến thiết kế là loại tiết diện của dầm cột và điều kiện ràng buộc gồm điều kiện ràng buộc về cấu tạo và điều kiện ràng buộc theo các tổ hợp tải trọng cường độ và sử dụng. Hiệu quả của ba kỹ thuật đột biến cơ bản của thuật toán Rao gồm Rao-1, Rao-2 và Rao-4 được phân tích đánh giá thông qua bài toán tối ưu khung thép không gian 2 tầng với 8 biến thiết kế. Kết quả thu được cho thấy, Rao-1 có tính ổn định tốt hơn, hội tụ nhanh hơn nhưng dễ mắc vào cực bộ địa phương hơn so với Rao-2 và Rao-4. Rao-4 cho khả năng tìm kiếm tối ưu toàn cục tốt hơn nhưng tính ổn định lại kém nhất. Do vậy, Rao-1 sẽ được ưu tiên sử dụng trong trường hợp các bài toán tối ưu có số vòng tiến hóa là nhỏ, còn Rao-2 và Rao-4 thì ưu tiên trong trường hợp số vòng tiến hóa là lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] V.H. Truong, S.E. Kim (2018a), "A robust method for optimization of semi-rigid steel frames subject to seismic loading", *Journal of Constructional Steel Research*, **145**, pp.184-195.

[2] H.M. Ha, Q.V. Vu, V.H. Truong (2020), "Optimization of nonlinear inelastic steel frames considering panel zones", *Advances in Engineering Software*, **142**, DOI: 10.1016/j.advengsoft.2020.102771.

[3] H.M. Ha, Q.A. Vu, V.H. Truong (2018), "Optimum design of stay cables of steel cable-stayed bridges using nonlinear inelastic analysis and genetic algorithm", *Structures*, **16**, pp.288-302.

[4] R.V. Rao (2020), "Rao algorithms: three metaphor-less simple algorithms for solving optimization problems", *International Journal of Industrial Engineering Computations*, **11**, pp.107-130.

[5] R.V. Rao, H.S. Keesari (2020), "Rao algorithms for multi-objective optimization of selected thermodynamic cycles", *Engineering with Computers*, DOI: 10.1007/s00366-020-01008-9.

[6] R.V. Rao, R.B. Pawar (2020a), "Self-adaptive multi-population Rao algorithms for engineering design optimization", *Applied Artificial Intelligence*, **34**(3), pp.197-250.

[7] R.V. Rao, R.B. Pawar (2020b), "Constrained design optimization of selected mechanical system components using Rao algorithms", *Applied Soft Computing*, **89**, DOI: 10.1016/j.asoc.2020.106141.

[8] V.H. Truong, S.E. Kim (2017), "An efficient method for reliability-based design optimization of nonlinear inelastic steel space frames", *Struct. Multidisc. Optim.*, **56**(2), pp.331-351.

[9] V.H. Truong, H.M. Hung, P.H. Anh, T.D. Hoc (2020), "Optimization of steel moment frames with panel-zone design using an adaptive differential evolution", *Journal of Science and Technology in Civil Engineering*, **14**(2), pp.65-75.

[10] V.H. Truong, S.E. Kim (2018b), "Reliability-based design optimization of nonlinear inelastic trusses using improved differential evolution algorithm", *Advances in Engineering Software*, **121**, pp.59-74.

[11] AISC-LRFD (1999), "Manual of steel construction - load and resistance factor design", *Chicago (IL): American Institute of Steel Construction*.

[12] H.T. Thai, S.E. Kim (2009), "Practical advanced analysis software for nonlinear inelastic analysis of space steel structures", *Advances in Engineering Software*, **40**(9), pp.786-797.

Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng và xác định giá trị mô đun đàn hồi (E_{ac}), hệ số lớp (a_i) của một số loại BTN chặt nóng ở Việt Nam

Nguyễn Quang Phúc¹, Vũ Văn Thắng^{2*}

¹Trường Đại học Giao thông Vận tải

²Viện Khoa học và Công nghệ Giao thông Vận tải

Ngày nhận bài 2/4/2021; ngày chuyển phản biện 8/4/2021; ngày nhận phản biện 7/5/2021; ngày chấp nhận đăng 12/5/2021

Tóm tắt:

Phương pháp thiết kế kết cấu áo đường mềm theo AASHTO 1993 đã được nhiều bang ở Mỹ và Canada sử dụng và đang được nhiều nước khác tại châu Âu, châu Á nghiên cứu áp dụng. Hệ số lớp (a_i) trong phương trình thiết kế AASHTO biểu thị một quan hệ thực nghiệm giữa chỉ số kết cấu mặt đường mềm và chiều dày. Giá trị của các hệ số lớp a_i được quy định cho mỗi lớp vật liệu tùy thuộc chất lượng thể hiện chủ yếu qua mô đun đàn hồi. Bài báo này trình bày các kết quả nghiên cứu bước đầu một số yếu tố ảnh hưởng và xác định giá trị mô đun đàn hồi (E_{ac}), hệ số lớp a_i của một số loại bê tông nhựa (BTN) chặt nóng ở Việt Nam.

Từ khóa: bê tông nhựa (BTN), hệ số lớp a_i , mô đun đàn hồi (E_{ac}), nhựa đường.

Chỉ số phân loại: 2.1

Đặt vấn đề

Phương pháp thiết kế kết cấu mặt đường mềm theo AASHTO 1993 đã được biên soạn thành 22 TCN 274-01 (Tiêu chuẩn thiết kế mặt đường mềm) từ những năm 2000 thông qua Dự án tài trợ của Ngân hàng thế giới. Bộ Giao thông Vận tải đã định hướng xây dựng lộ trình chuyển đổi sang áp dụng phương pháp thiết kế kết cấu mặt đường mềm theo AASHTO 1993, tuy nhiên việc áp dụng phương pháp thiết kế này trong thực tế còn ít do khó khăn khi lựa chọn một số thông số phục vụ công tác thiết kế, trong đó có thể kể đến là hệ số lớp kết cấu a_i của BTN [1-3]. Mô đun đàn hồi (E_{ac}) của BTN là thông số quan trọng nhất khi thiết kế kết cấu mặt đường theo AASHTO 1993. Bài báo trình bày các kết quả nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến E_{ac} và a_i của 3 loại BTN sử dụng phổ biến làm lớp mặt đường ở Việt Nam.

Thiết kế nghiên cứu thực nghiệm

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến E_{ac} của BTN, trong đó có thể kể đến là yếu tố vật liệu, bao gồm đường kính lớn nhất danh định của cốt liệu, đặc trưng thô - mịn của cấp phối hỗn hợp cốt liệu, đặc tính của nhựa đường, độ chặt - độ rỗng của hỗn hợp BTN...

Nghiên cứu được thực hiện với 3 loại BTN chặt (BTNC) đang được sử dụng phổ biến tại nước ta là BTNC12,5, BTNC19 và BTNC25 (ATB25). Sử dụng 3 loại nhựa đường 60/70, 40/50 và nhựa đường polymer. Cốt liệu sử dụng 3 loại đá dăm phổ biến là đá vôi, đá granite và bazan. Tổng số

thí nghiệm là $3 \times 3 \times 3 \times 3$ mẫu/tổ mẫu = 81 mẫu.

Phương pháp thí nghiệm theo mô hình kéo gián tiếp tải trọng lặp xác định E_{ac} của BTN, tiêu chuẩn thí nghiệm ASTM D4123 và ASTM D7369 [4, 5], nhiệt độ thí nghiệm là 20°C. Kết quả thí nghiệm E_{ac} ở nhiệt độ 20°C là cơ sở để xác định hệ số lớp a_i cho các loại BTN theo AASHTO 1993.

Kết quả thí nghiệm được đánh giá thống kê theo trình tự:

- Đánh giá số mẫu trong tổ mẫu: thí nghiệm với 3 mẫu/tổ mẫu.
- Phân tích độ chụm của các kết quả thí nghiệm.
- Phân tích phương sai (analysis of variance - ANOVA) đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến E_{ac} .
- Tính toán các giá trị đặc trưng.

Sử dụng phần mềm Minitab 19 để phân tích thống kê ở độ tin cậy 95%.

Mô đun đàn hồi đặc trưng (E_{dt}) của các kết quả thí nghiệm được tính theo (1):

$$E_{dt} = \bar{E} - \frac{t_{\alpha} \cdot S}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

Trong đó: E_{dt} là mô đun đàn hồi đặc trưng, là khoảng tin cậy 1 phía (phía phải) (right sided confidence interval) trong phân phối student; $\bar{E}$ là mô đun đàn hồi trung bình của các kết quả thí nghiệm được tính theo công thức (2):

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

Researching on influence factors and value confirmation of elastic modulus (E_{ac}), layer coefficient (a_i) of some types of hot dense asphalt concrete in Vietnam

Quang Phuc Nguyen¹, Van Thang Vu^{2*}

¹University of Transport and Communications

²Institute of Transportation Science and Technology

Received 2 April 2021; accepted 12 May 2021

Abstract:

The method of designing flexible road structures under the guidance of AASHTO 1993 was used in many states in the US and Canada and is being applied by many other countries in Europe and Asia. The layer coefficient a_i in the AASHTO design equation represents an empirical relationship between the structural index SN and thickness. The value of the layer coefficients (a_i) is specified for each material layer depending on the quality shown mainly through resilient modulus. This paper presents the initial research results of influencing factors and value confirmation of resilient modulus (E_{ac}) and layer coefficients (a_i) of some types of hot dense asphalt concrete in Vietnam.

Keywords: asphalt, asphalt concrete, layer coefficient (a_i), resilient modulus (E_{ac}).

Classification number: 2.1

$$\bar{E} = \frac{\sum_{i=1}^n E_i}{n} \quad (2)$$

n là số kết quả thí nghiệm (3 kết quả/chỉ tiêu trong nghiên cứu).

S là độ lệch tiêu chuẩn của các trị số mô đun đàn hồi được xác định theo (3):

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (E_i - \bar{E})^2}{n-1}} \quad (3)$$

t_α là hệ số được xác định tùy theo suất đảm bảo và số liệu kiểm tra n nhiều hay ít; t_α được xác định bằng sử dụng hàm trong EXCEL: $t_\alpha = T.INV(R/100, (n-1))$, với suất đảm bảo $R=95\%$ thì $t_\alpha = T.INV(0.95, (3-1)) = 2,92$.

Thí nghiệm mô đun đàn hồi (E_{ac}) và phân tích kết quả

Thiết kế các loại hỗn hợp BTNC theo phương pháp Marshall, xác định được thành phần cấp phối cốt liệu, hàm lượng nhựa tối ưu.

Mẫu thí nghiệm E_{ac} được chế tạo theo phương pháp Marshall (theo TCVN 8860-1:2011) có đường kính 101,6 mm và chiều cao theo quy định với số chày đầm 2x75 chày/mặt. Mẫu sau khi bảo dưỡng ít nhất 3 ngày trong điều kiện phòng thí nghiệm được đem ra thí nghiệm.

Để có cơ sở xác định độ lớn của tải trọng lặp tác dụng, trước khi thí nghiệm xác định E_{ac} ở 20°C, tiến hành thí nghiệm xác định cường độ chịu kéo gián tiếp (S_t) ở nhiệt độ 20°C theo ASTM D4867 (mẫu thí nghiệm ở trạng thái “khô”, mỗi hỗn hợp thí nghiệm 1 tổ mẫu gồm 3 mẫu).

Sau khi xác định được các giá trị S_t , tiến hành thí nghiệm E_{ac} theo tiêu chuẩn ASTM D4123. Các thông số thí nghiệm được lựa chọn như sau:

- Nhiệt độ thí nghiệm: 20°C.

- Thí nghiệm xác định E_{ac} được thực hiện với độ lớn của tải trọng lặp được lựa chọn sao cho giá trị đạt vào khoảng từ 10 đến 50% độ lớn của S_t ở nhiệt độ tương ứng, tần số tác dụng tải là 1 Hz.

- Khi tính toán E_{ac} sử dụng hệ số poisson của các loại BTN $\mu=0,35$.

Thí nghiệm được thực hiện trên thiết bị thỏa mãn yêu cầu theo tiêu chuẩn ASTM D4123, các thông số kỹ thuật của thiết bị như sau [4]:

- Lực tác dụng đầu gia tải: 20 kN.

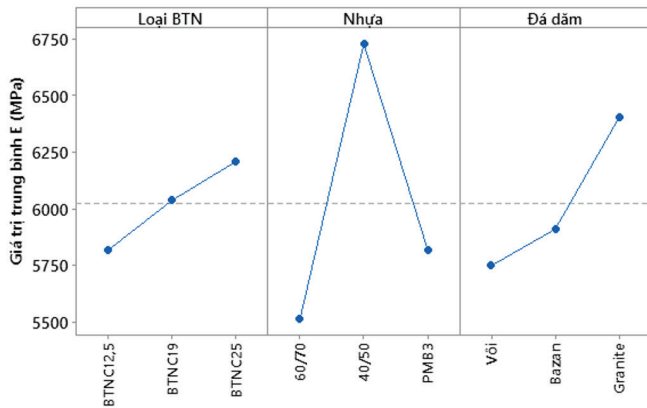
- Hành trình: 30 mm.

- Tần số: 0-30 Hz.

- Đầu cảm biến đo biến dạng ngang: $\pm 0,25$ mm.

- Nguồn điện: 220-240 V, 50 Hz.
- Nguồn cấp khí nén: áp lực 7-10 bar.
- Tủ điều khiển nhiệt độ: -10-60°C.

Công tác điều khiển thiết bị và xử lý số liệu được thực hiện trên máy tính với phần mềm chuyên dụng kèm theo.



Hình 1. Biểu đồ ảnh hưởng các yếu tố đến E_{ac} .

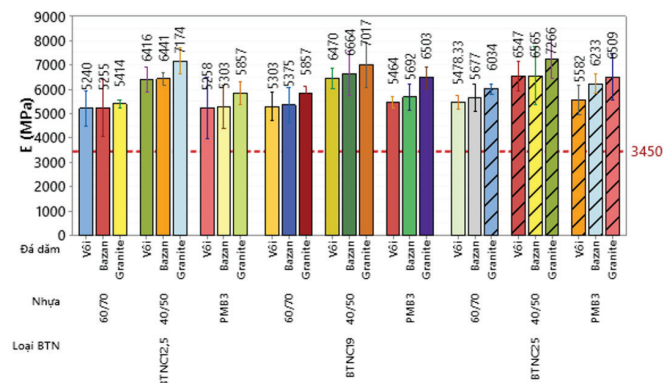
Kết quả phân tích phương sai các yếu tố chính đều ảnh hưởng đến E_{ac} có ý nghĩa thống kê, hệ số p-value của các yếu tố chính đều nhỏ hơn mức ý nghĩa $p=0,05$. Hệ số xác định điều chỉnh $R^2_{dc}=81,83\%$. Từ biểu đồ hình 1 nhận thấy:

- Loại nhựa có ảnh hưởng lớn nhất đến E_{ac} thể hiện bằng độ dốc của đường thẳng biểu diễn giá trị trung bình. Nhựa 60/70 cho giá trị E_{ac} thấp nhất, nhựa 40/50 cho giá trị E_{ac} cao nhất, nhựa polymer PMB3 cho giá trị E_{ac} ở giữa. Kết quả nhựa 40/50 cho giá trị E_{ac} cao nhất cũng phù hợp với một số nghiên cứu trên thế giới, đây là gợi ý tốt cho việc lựa chọn nhựa phù hợp với các điều kiện khai thác ở nước ta.

- Loại đá ảnh hưởng đến E_{ac} : đá vôi cho giá trị E_{ac} thấp nhất, đá granite cho giá trị E_{ac} cao nhất và đá bazan cho giá trị ở khoảng giữa. Tuy nhiên, chênh lệch E_{ac} giữa sử dụng đá bazan và đá vôi là không nhiều so với đá granite.

- Loại BTNC có ảnh hưởng đến E_{ac} thể hiện bằng độ dốc khá thoải của đường biểu diễn giá trị trung bình. Mô đun đàn hồi tăng dần từ BTNC12,5; BTNC19 và BTNC25. Kết quả này cũng tương đồng với một số nghiên cứu trên thế giới, cỡ hạt danh định lớn thì E_{ac} tăng lên.

Biểu đồ hình 2 thể hiện E_{ac} của BTN phụ thuộc vào loại BTNC, loại nhựa và loại đá dăm. Nhận thấy các biểu đồ đều thể hiện quy luật như nhau, BTNC có cỡ hạt danh định càng lớn thì E_{ac} càng lớn; nhựa 40/50 cho E_{ac} lớn nhất, nhựa 60/70 cho E_{ac} nhỏ nhất; đá granite cho E_{ac} lớn nhất; đá vôi cho E_{ac} nhỏ nhất.



Hình 2. Biểu đồ mô đun đàn hồi E_{ac} .

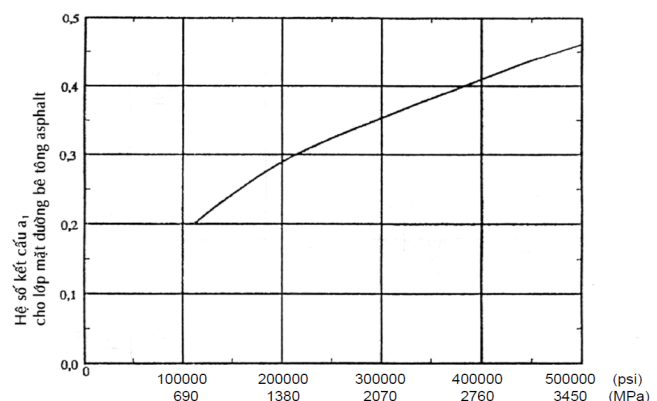
Từ phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến E_{ac} của BTNC, tổng hợp kết quả E_{ac} được làm tròn như trong bảng 1.

Bảng 1. Tổng hợp kết quả E_{ac} .

Loại BTN	Giá trị E_{ac} (MPa)	Nhựa 60/70			Nhựa 40/50			Nhựa PMB3		
		Loại đá			Loại đá			Loại đá		
		Vôi	Bazan	Granite	Vôi	Bazan	Granite	Vôi	Bazan	Granite
12,5	Min	4990	4770	5360	6200	6320	6950	4680	4910	5710
	Max	5560	5700	5480	6610	6510	7400	5590	5590	6060
	Đặc trưng	4750	4470	5310	6060	6260	6800	4400	4710	5550
19	Min	5060	5040	5730	6340	6240	6610	5380	5490	6330
	Max	5520	5570	5960	6660	6940	7360	5560	5910	6690
	Đặc trưng	4910	4890	5660	6180	6040	6380	5310	5340	6200
25	Min	5350	5420	5940	6290	6030	6920	5360	6070	6070
	Max	5570	5840	6100	6770	6980	7560	5850	6380	6800
	Đặc trưng	5290	5290	5890	6140	5750	6730	5170	5970	5860

Kết quả xác định hệ số lớp a_1 của các loại BTNC và thảo luận

Để xác định trị số a_1 của các lớp BTNC dùng cho các lớp ở tầng mặt (lớp trên và lớp dưới) sử dụng biểu đồ hình 3 khi biết mô đun đàn hồi E_{ac} của BTNC ở nhiệt độ tính toán 68°F (20°C) của mặt đường.



Hình 3. Biểu đồ xác định hệ số lớp a_1 của lớp mặt làm bằng BTNC (cho cả lớp trên và lớp dưới của lớp mặt), theo E_{ac} ở nhiệt độ tính toán (68°F=20°C).

Từ kết quả thí nghiệm ở hình 2 và bảng 1 nhận thấy, tất cả các giá trị E_{ac} đều lớn hơn giá trị tối đa 3450 MPa trong biểu đồ hình 3. Ứng với giá trị lớn nhất này hệ số lớp $a_1=0,44$. Như vậy, từ kết quả nghiên cứu thực nghiệm kiến nghị hệ số lớp của các loại BTN bằng 0,44.

Thử nghiệm AASHTO được thực hiện từ những năm 1960 và biểu đồ hình 3 xác định hệ số lớp được thiết lập từ năm 1960, sau đó năm 1972 được chính thức hóa. Hạn chế của biểu đồ này là chỉ thiết lập với những vật liệu cụ thể, với những điều kiện tại nơi thử nghiệm. Nhiều bang của Mỹ quy định cụ thể giá trị hệ số lớp mà không cần tra toán đồ theo mô đun đàn hồi, như hướng dẫn thiết kế mặt đường mềm của bang Alabama, hệ số lớp cho các loại BTNC bằng 0,54; bang Washington bằng 0,50 [6]; tiêu chuẩn thiết kế mặt đường bang Florida quy định hệ số lớp của các loại BTN bằng 0,44 như bảng 2 [7]. Thiết kế hỗn hợp BTNC, chọn loại nhựa sẽ được quy định chặt chẽ theo điều kiện khí hậu và tải trọng, điều này quyết định đến chất lượng mặt đường. Khi thi công phải đảm bảo các chỉ tiêu kỹ thuật của BTN.

Bảng 2. Hệ số lớp của các loại BTN theo hướng dẫn thiết kế Florida [7].

Loại vật liệu	Hệ số lớp a_1	Tiêu chuẩn tham chiếu
FC-5	0,00	337
FC-12.5, FC-9.5	0,44	337
Superpave SP (SP-9.5, SP-12.5, SP-19)	0,44	334

Hệ số lớp của các bang nước Mỹ nêu trên đều được xác định thông qua thí nghiệm trong phòng, tra toán đồ hình 3, sau đó xây dựng các đoạn đường thử nghiệm để kiểm chứng lại. Kết quả giá trị mô đun đàn hồi trong phòng đều vượt quá so với biểu đồ, không ngoại suy được nên việc xác định a_1 phải thông qua phân tích hiện trường. Hệ số lớp này được điều chỉnh qua kinh nghiệm khai thác đường. Đây cũng là một hạn chế của phương pháp AASHTO 1993, nhất là đối với các nước chưa có nhiều điều kiện kiểm chứng hiện trường.

Từ kết quả nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, từ các phân tích như trên, bước đầu kiến nghị hệ số lớp của các loại BTNC bằng 0,44. Như vậy khi thiết kế kết cấu mặt đường, sau khi đã thiết kế cấu tạo theo các nguyên lý sẽ kiểm toán kết cấu theo AASHTO 1993 để xác định chiều dày các lớp vật liệu. Từ đó tiến hành thiết kế hỗn hợp BTN, chọn loại đá, loại nhựa, thành phần cấp phối... để thỏa mãn các yêu cầu của thiết kế hỗn hợp theo các quy định hiện hành tùy thuộc cấp hạng đường, điều kiện khí hậu, tải trọng.

Như đã phân tích, biểu đồ quan hệ giữa E_{ac} và a_1 của BTN được lập từ những năm 1960-1972 với các điều kiện vật liệu, tải trọng, khí hậu, nền đất, công nghệ thi công địa phương nên hiện nay các nghiên cứu không đi vào hướng

kéo dài biểu đồ mà xác định từ thực nghiệm hiện trường. Định hướng nghiên cứu tiếp theo sẽ tiến hành các thực nghiệm hiện trường trên các đoạn sử dụng lớp BTN với các loại cốt liệu, loại nhựa khác nhau, thiết bị đo động (FWD) để xác định hệ số lớp và dần từng bước điều chỉnh từ kinh nghiệm khai thác.

Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu và phân tích, trong phạm vi nghiên cứu thực nghiệm, các yếu tố ảnh hưởng đến mô đun đàn hồi của BTNC là:

- Loại nhựa có ảnh hưởng lớn nhất đến E_{ac} : nhựa 60/70 cho giá trị E_{ac} thấp nhất, nhựa 40/50 cho giá trị E_{ac} cao nhất, nhựa polymer PMB3 cho giá trị E_{ac} ở khoảng giữa.

- Loại đá ảnh hưởng đến E_{ac} : đá vôi cho giá trị E_{ac} thấp nhất, đá granite cho giá trị E_{ac} cao nhất và đá bazan cho giá trị ở khoảng giữa. Tuy nhiên chênh lệch E_{ac} giữa sử dụng đá bazan và đá vôi là không nhiều so với đá granite.

- Loại BTNC có ảnh hưởng tới E_{ac} : cỡ hạt lớn nhất danh định càng lớn thì E_{ac} càng cao và E_{ac} tăng dần từ BTNC12,5; BTNC19 đến BTNC25.

Nghiên cứu đã đề xuất bảng giá trị E_{ac} của BTNC phụ thuộc vào loại BTNC (cỡ hạt lớn nhất danh định), loại đá và loại nhựa sử dụng. Đã đề xuất giá trị hệ số lớp a_1 của các loại BTNC để thiết kế kết cấu mặt đường theo hướng dẫn AASHTO 1993 bằng 0,44. Khi thiết kế hỗn hợp BTNC, chọn loại nhựa sẽ được quy định chặt chẽ theo điều kiện khí hậu và tải trọng, điều này quyết định đến chất lượng mặt đường. Khi thi công phải đảm bảo các chỉ tiêu kỹ thuật của BTNC như thiết kế hỗn hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Thị Kim Đăng (2004), *Nghiên cứu về mô đun đàn hồi của bê tông asphalt làm mặt đường ô tô có xét đến đặc điểm tác dụng của tải trọng thực tế*, Luận án tiến sỹ kỹ thuật, Trường Đại học Giao thông Vận tải.
- [2] 22TCN-274-01, Tiêu chuẩn thiết kế mặt đường mềm.
- [3] AASHTO, Guide for Design Pavement Structures 1993.
- [4] ASTM D4123, Standard Test Method for Indirect Tension Test for Resilient Modulus of Bituminous Mixtures.
- [5] ASTM D7369, Standard Test Method for Determining the Resilient Modulus of Bituminous Mixtures by Indirect Tension Test.
- [6] David H. Timm, et al. (2014), *Recalibration procedures for the structural asphalt layer coefficient in the 1993 AASHTO pavement design guide*, NCAT Report 14-08, Alabama, USA.
- [7] Fdot (2021), *Flexible Pavement Design Manual*, Florida, USA.

Ứng dụng phương pháp vi sóng tổng hợp nhanh lớp hạt và màng lọc ZIF-8 để phân tách hỗn hợp khí propylene/propane

Nguyễn Kim Minh¹, Trần Nguyên Tiên^{2*}

¹Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật, Đại học Đà Nẵng

²Viện Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Trường Đại học Duy Tân

Ngày nhận bài 19/3/2021; ngày chuyển phản biện 25/3/2021; ngày nhận phản biện 20/5/2021; ngày chấp nhận đăng 24/5/2021

Tóm tắt:

Với nhiều ưu điểm như trạng thái và tính chất lỗ xốp ổn định, đa dạng về cấu trúc cũng như biến đổi linh hoạt, vật liệu zeolitic imidazolate framework (ZIF) sở hữu tiềm năng to lớn trong lĩnh vực phân tách các hỗn hợp khí hydrocarbon. Trong nghiên cứu này, các tác giả sử dụng phương pháp vi sóng để tổng hợp một cách nhanh chóng lớp hạt và tiếp sau đó là màng lọc ZIF-8. Kết quả cho thấy, màng lọc thu được có chất lượng và thể hiện độ phân tách cao đối với hỗn hợp propylene/propane. Lượng truyền qua của propylene đạt $105 \times 10^{-10} \text{ mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$, và hệ số phân tách propylene/propane đạt được là 70. Màng lọc còn cho thấy độ bền, độ lặp lại cũng như độ ổn định cao khi thực hiện phân tách propylene/propane gián đoạn cũng như liên tục.

Từ khóa: màng lọc, phân tách khí, propylene/propane, vật liệu khung cơ kim, ZIF-8.

Chỉ số phân loại: 2.5

Đặt vấn đề

Do các đặc điểm vật lý tương tự nhau, việc phân tách hỗn hợp khí propylene/propane là một thách thức, nhưng rất quan trọng trong công nghiệp lọc dầu về mặt thương mại, vì propylene có độ tinh khiết cao là nguyên liệu để sản xuất rất nhiều sản phẩm có giá trị như acrylonitrile, propylene oxide, cumene/phenol, oxo alcohols, acrylic acid, isopropyl alcohol, oligomers và đặc biệt là polypropylene [1-3]. Hiện nay, việc phân tách các hỗn hợp như propylene/propane được thực hiện bằng phương pháp chưng cất ở nhiệt độ thấp, rất tốn kém và tiêu tốn nhiều năng lượng do nhiệt độ bay hơi tương đối thấp và tương đương nhau của propylene và propane (b.p. của propylene là -47°C và propane là $-42,1^\circ\text{C}$). Các tháp chưng cất cần thiết thường cao khoảng 100 m, chứa hơn 200 đĩa và năng lượng khoảng $1,2 \times 10^{14}$ BTU/năm, được sử dụng để tách propylene/propane [4, 5]. Vì vậy, các nhà khoa học trên thế giới đã nghiên cứu đưa ra nhiều phương pháp thay thế hiệu quả hơn về kinh tế như hấp phụ, hấp thụ, màng lọc [6-9]. Trong số đó, công nghệ màng lọc là một phương pháp thay thế tiềm năng với nhiều ưu điểm như chi phí thấp, đơn giản và dễ vận hành [10].

ZIF là một bộ phận của vật liệu khung cơ kim (metal organic framework, MOF) đang thu hút được nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học trên thế giới [11, 12]. ZIF, giống như MOF, được đặc trưng bởi cấu trúc vi xốp, có độ tinh thể cao, được xây dựng từ các mảng lặp lại ba chiều của các

ion kim loại phối trí tứ diện và kết nối bởi các phối tử hữu cơ (ligand). Đặc điểm phân biệt của ZIF là việc sử dụng các cầu nối imidazole để tạo ra các góc liên kết khi phối hợp với các thành phần vô cơ, tương tự các liên kết được tạo ra giữa các nguyên tử silic và oxy trong quá trình hình thành của zeolite. Góc liên kết M-mIm-M ($\text{M}=\text{Zn}, \text{Co}$) trong ZIF là 145° , gần với góc T-O-T ($\text{T}=\text{Al}, \text{Si}, \text{P}$) trong zeolite [13, 14]. ZIF cho thấy sự kết hợp hoàn hảo các đặc tính cũng như các tính năng ưu việt của cả MOF và zeolite, như có thể điều chỉnh kích thước lỗ xốp và các đặc điểm hóa học, diện tích bề mặt riêng lớn và khả năng ổn định nhiệt và hóa học cao. Các đặc tính này làm cho ZIF trở thành ứng viên nổi bật cho việc chế tạo màng rây phân tử để phân tách khí.

Trong số các vật liệu ZIF được tìm thấy cho đến nay, ZIF-8, được tổng hợp từ muối Zn và cầu nối 2-methylimidazole, là một lựa chọn lý tưởng để tổng hợp màng lọc phân tách hỗn hợp khí propylene/propane. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, kích thước lỗ xốp thực của ZIF-8 là 4 Å, vừa nằm giữa đường kính phân tử của propylene là 4 Å và propane là 4,3 Å [15]. Chính vì vậy, tổng hợp màng lọc ZIF-8 để phân tách hỗn hợp khí propylene/propane là một hướng đi đầy tiềm năng và ngày càng giành được nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học. Cho đến nay, phương pháp chủ yếu được các nhà khoa học trên thế giới sử dụng để tổng hợp màng lọc ZIF-8 phân tách propylene/propane là phương pháp hai giai đoạn với lớp hạt được tạo thành bằng phương pháp phủ nhúng hoặc phủ trượt. Tuy nhiên, lớp hạt được tạo thành

*Tác giả liên hệ: Email: trannguyentien@duytan.edu.vn

Rapid microwave-assisted seeding and secondary growth synthesis of ZIF-8 membrane for propylene/propane separation

Kim Minh Nguyen¹, Nguyen Tien Tran^{2*}

¹University of Technology and Education, The University of Danang

²Institute of Research and Development, Duy Tan University

Received 19 March 2021; accepted 24 May 2021

Abstract:

Owing to their permanent porosity, diverse topology structures, and coordination factors combined with chemical tunability, the zeolitic imidazolate framework (ZIF) has shown great potential for the effective separation of hydrocarbon mixtures. In this work, the authors presented a simple microwave-assisted seeding strategy to rapidly prepare a seed layer for the synthesis of high-quality ZIF-8 membranes for propylene/propane separation. The resulted membranes grown on planar alumina support displayed excellent separation performances for a wide range of propylene/propane mixtures. The membrane displayed a propylene/propane separation factor of 70 and propylene permeance of $105 \times 10^{-10} \text{ mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}\text{Pa}^{-1}$. Long-term stability test also showed stable gas permeance and separation performance of the ZIF-8 membranes in both atmospheric conditions and propylene/propane mixture stream.

Keywords: gas separation, membrane, metal organic framework, propylene/propane, ZIF-8.

Classification number: 2.5

theo các phương pháp này mất nhiều thời gian và không đem lại hiệu quả cao do sự gắn kết yếu cũng như sự phân bố không đồng đều của các tinh thể hạt, dẫn đến hiệu suất phân tách thấp của lớp màng [16, 17].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp vi sóng để tổng hợp một cách nhanh chóng lớp hạt và sau đó phát triển thứ cấp hình thành màng lọc ZIF-8. Bằng cách sử dụng kỹ thuật tạo lớp hạt này, chúng tôi có thể rút ngắn đáng kể thời gian tổng hợp, cho năng suất cao đồng thời lớp hạt tạo thành có mật độ cao và liên kết chặt chẽ với tấm nền. Cấu trúc cũng như bề mặt của lớp màng ZIF-8 sau khi tổng hợp sẽ được quan sát bởi SEM, thành phần pha tinh thể của màng sẽ được khảo sát bởi phương pháp nhiễu xạ tia X. Cuối cùng, khả năng phân tách khí của màng ZIF-8 sẽ được

khảo sát bằng kỹ thuật Wicke-Kallenbach.

Thực nghiệm

Tổng hợp tấm nền $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$

Tấm nền $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ có dạng đĩa, được chuẩn bị bởi bột alumina (Baikowski, CR-6) có độ tinh khiết cao. Hỗn hợp gồm bột alumina và polyvinyl alcohol, sau khi trộn sẽ được đưa vào khuôn và tạo hình bằng máy ép tạo mẫu trong phòng thí nghiệm. Sau khi nung ở nhiệt độ 1100°C trong 2 h, tấm nền thu được có đường kính 22 mm, độ dày 2 mm với độ xốp khoảng 45%. Một mặt của tấm nền sẽ được mài nhẵn bằng thiết bị mài chuyên dụng và được dùng để tổng hợp màng ZIF-8. Cuối cùng, tấm nền được rửa sạch và sấy ở 70°C trong 6 h.

Tổng hợp lớp hạt và màng lọc ZIF-8

Màng lọc ZIF-8 được tổng hợp trên tấm nền alumina theo phương pháp 2 giai đoạn. Đầu tiên, lớp hạt sẽ được chuẩn bị bên trên bề mặt tấm nền bằng phương pháp vi sóng. Hai dung dịch tổng hợp được chuẩn bị riêng biệt. Dung dịch A với 5 mmol $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ hòa tan trong 40 ml methanol. Dung dịch B gồm 32 mmol 2-methylimidazole và 2 mmol sodium formate hòa tan trong 40 ml methanol. Cả hai hỗn hợp được khuấy trộn hoàn toàn trong 15 phút. Sau khi ngâm trong dung dịch A trong 1 h, tấm nền $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ được bão hòa ion kẽm sẽ được đưa vào đặt thẳng đứng trong ống thủy tinh có chứa sẵn dung dịch B. Ngay sau đó, lớp hạt sẽ được tổng hợp dưới bức xạ vi sóng của lò vi sóng chuyên dụng ở công suất 100 W trong 90 s. Tấm nền được phủ lớp hạt sau khi tổng hợp sẽ được lấy ra rửa kỹ nhiều lần trong methanol và sấy ở 60°C trong 2 h.

Tiếp theo, trong giai đoạn phát triển thứ hai, tấm nền với lớp hạt được đặt thẳng đứng trong dung dịch tổng hợp gồm 0,11 g $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ và 2,27 g 2-methylimidazole hòa tan trong 40 ml nước cất. Phản ứng được thực hiện ở điều kiện phòng trong 2, 6 và 10 h. Sau khi tổng hợp, màng lọc ZIF-8 được lấy ra một cách cẩn thận rồi rửa với nước cất và methanol để loại bỏ các hạt ZIF-8 gắn kết lỏng lẻo trên bề mặt màng. Sau đó, màng lọc ZIF-8 sẽ được ngâm trong methanol 2 ngày để trao đổi dung môi. Cuối cùng, màng lọc sẽ được phơi khô cẩn thận ở nhiệt độ phòng.

Đặc trưng vật liệu và thực nghiệm phân tách khí

Đặc trưng hình thái học của các hạt tinh thể, màng ZIF-8 được xác định bằng phương pháp hiển vi điện tử quét (SEM) trên máy Leo-Supra 55 tại điện thế gia tốc 15 kV. Cấu trúc tinh thể của lớp màng được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) trên máy Rigaku MAC-18XHF (Nhật Bản) với đầu dò (Detector) D/teX Ultra 250, dùng bức xạ của Cu-K α , tại điện thế gia tốc 40 kV, cường độ dòng 30 mA, khoảng quét 2θ từ 3° đến 60° với tốc độ quét $3^\circ/\text{phút}$.

Lượng truyền qua của hỗn hợp khí propylene/propane được đo tại điều kiện phòng bởi kỹ thuật Wicke-Kallenbach

[16]. Hỗn hợp khí propylene/propane (tỷ lệ 1:1) được cấp vào modul tách khí chứa màng lọc ZIF-8 với tốc độ 112 ml/phút sử dụng bộ điều khiển dòng. Đồng thời, Argon được sử dụng làm khí mang đưa lượng khí truyền qua màng lọc vào máy GC (YL-6500, Young-Lin) để phân tích thành phần.

Độ phân tách là thông số được dùng để đánh giá khả năng vận chuyển và tách khí của màng lọc ZIF-8. Độ phân tách có thể xác định bằng tỷ lệ giữa lượng truyền qua của các khí trong hỗn hợp. Lượng truyền qua của khí i (propylene), K_i^{mix} , được tính bởi công thức sau [9]:

$$K_i^{mix} = \frac{J_i^{mix}}{\Delta p_{ln,i}}$$

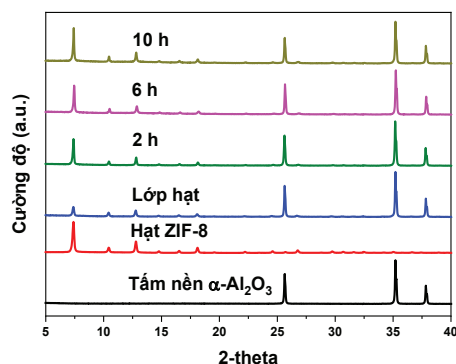
Trong đó, J_i^{mix} là thể tích dòng của khí i (propylene) trong hỗn hợp khí truyền qua màng lọc ZIF-8, $\Delta p_{ln,i}$ là sự khác biệt áp suất của dòng vào và dòng ra khỏi màng lọc.

Độ phân tách, $\alpha_{i/j}^{sep}$, được tính bằng cách lập tỷ số giữa lượng khí truyền qua của khí i (propylene), K_i^{mix} , với khí j (propane), K_j^{mix} , $\alpha_{i/j}^{sep} = \frac{K_i^{mix}}{K_j^{mix}}$ [9].

Thực nghiệm phân tách khí propylene/propane được thực hiện 3 lần cho mỗi mẫu và thực hiện trên 3 mẫu khác nhau được tổng hợp trong cùng điều kiện để đảm bảo độ lặp lại và chất lượng của màng.

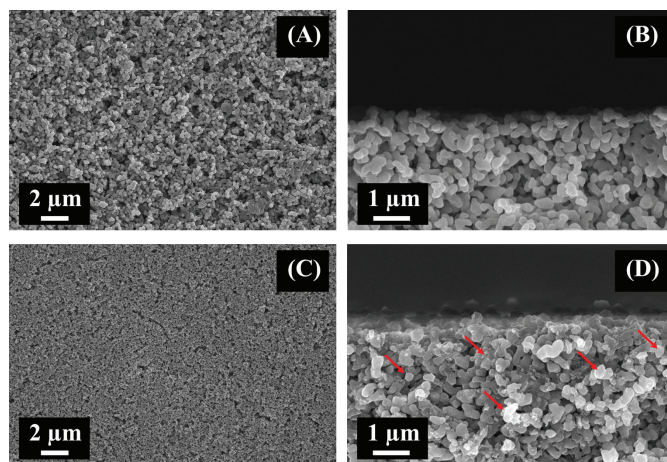
Kết quả và thảo luận

Để tổng hợp màng lọc ZIF bằng phương pháp hai giai đoạn, lớp hạt đóng vai trò quan trọng cho giai đoạn phát triển thứ cấp tiếp theo. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tổng hợp một lớp hạt đồng đều và có mật độ cao bằng phương pháp vi sóng, quá trình có thể diễn lược như sau: (1) bão hòa tấm nền với dung dịch chứa muối Zn, (2) di chuyển tấm nền vào trong dung dịch cầu nối, (3) nhanh chóng hình thành lớp hạt dưới bức xạ vi sóng. Phương pháp này giúp duy trì nồng độ cao của cả ion kim loại và phân tử cầu nối (ligand) trong vùng lân cận của bề mặt tấm nền (vùng phản ứng) làm cho các hạt tinh thể ZIF hình thành một cách nhanh chóng và đồng đều khi chiếu xạ vi sóng.



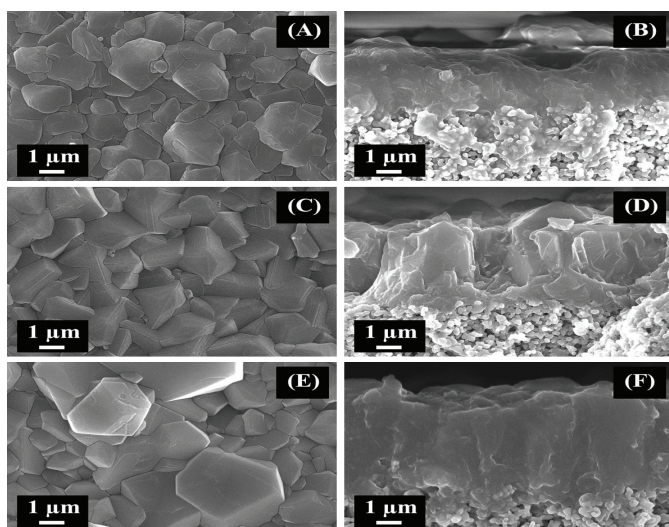
Hình 1. Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD) của tấm nền, lớp hạt và màng ZIF-8 tổng hợp ở các thời gian khác nhau.

Cấu trúc tinh thể của tấm nền, lớp hạt và màng ZIF-8 sau khi tổng hợp được xác định bằng phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD) và trình bày trong hình 1. Kết quả cho thấy các phổ XRD đều có các đỉnh sắc nét, rõ ràng, chứng tỏ rằng các mẫu đều có độ tinh khiết và độ kết tinh cao. Phổ XRD của lớp hạt cho thấy các peak có cường độ nhỏ là do kích thước nhỏ của các hạt tinh thể ZIF-8 và độ dày nhỏ của lớp hạt. Ngoài ra còn có một sự khác biệt nhỏ về cường độ của các lớp màng tổng hợp ở các thời gian khác nhau là do sự khác biệt của độ dày lớp màng. Các peak chính đặc trưng cho tinh thể ZIF-8 nằm tại $2\theta=7,5; 10,3; 12,4; 14,7; 16,3$ và $18,0^\circ$ (JCPDS: 00-062-1030). Kết quả này phù hợp với các kết quả nghiên cứu trước đây về pha tinh thể của ZIF-8 [18]. Peak tại $2\theta=26; 35,5; 38^\circ$ là pha α của tấm nền alumina (JCPDS: 01-082-1468).



Hình 2. Ảnh SEM của bề mặt và mặt cắt ngang của (A, B) tấm nền α -alumina, (C, D) lớp hạt.

Hình 2 trình bày ảnh SEM của tấm nền trước và sau khi xử lý vi sóng tạo lớp hạt. Hình 2A, 2B là bề mặt và mặt cắt ngang của tấm nền trước khi tiến hành tổng hợp lớp hạt, có thể thấy rõ các lỗ hổng kích thước macro bên trên tấm nền. Sự hiện diện của các tinh thể ZIF-8 có kích thước nano được chứng thực thêm bởi hình 2C và 2D. Có thể thấy, bề mặt tấm nền được bao phủ đồng nhất và dày đặc với các tinh thể nano ZIF-8. Bên cạnh đó, có thể quan sát thấy các tinh thể nano ZIF-8 cũng được hình thành bên trong tấm nền, điều này được kỳ vọng sẽ làm tăng độ ổn định cơ học của lớp hạt và lớp màng ZIF-8 (mũi tên màu đỏ trên hình 2D). Để tổng hợp màng lọc bằng phương pháp hai giai đoạn, lớp hạt đóng một vai trò quan trọng. Các hạt của lớp hạt đóng vai trò là các hạt nhân để phát triển trong giai đoạn thứ cấp hình thành nên các hạt ZIF lớn hơn và đan xen vào nhau để tạo lớp màng. Sự đồng đều và bao phủ tốt của các tinh thể ZIF-8 sẽ thúc đẩy quá trình tạo mầm và phát triển của các hạt tinh thể ZIF trên bề mặt tấm nền, giúp che lấp các khiếm khuyết của màng lọc. Nếu không có lớp hạt, lớp màng ZIF khó có thể hình thành ngay cả khi thời gian phát triển thứ cấp (giai đoạn 2) được kéo dài hơn 24 h [16].



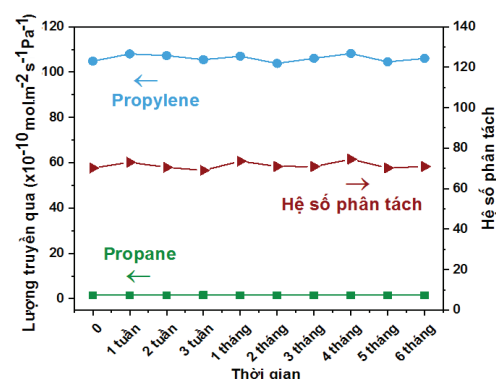
Hình 3. Ảnh SEM của bề mặt và mặt cắt ngang của lớp màng ZIF-8 sau 2 h (A, B), 6 h (C, D), 10 h (E, F) tổng hợp.

Ảnh SEM của bề mặt và mặt cắt ngang của màng lọc ZIF-8 ở các thời gian tổng hợp khác nhau được trình bày trong hình 3. Sau khi tiến hành tổng hợp, một lớp ZIF-8 đặc, chắc hình thành bên trên bề mặt tấm nền alumina. Một lượng lớn tinh thể với nhiều kích thước khác nhau mọc xen kẽ được quan sát thấy sau 2 h tiến hành phản ứng ở nhiệt độ phòng (hình 3A). Các lỗ kích thước macro của bề mặt tấm nền quan sát được trước đây gần như đã được lấp đầy bởi lớp màng tinh thể ZIF-8. Tuy nhiên, một số lỗ hổng kích thước nano vẫn còn quan sát thấy và các đường biên giữa các tinh thể dường như vẫn chưa liên kết chặt khít vào nhau. Khi tăng thời gian phản ứng lên 6 h, một lớp tinh thể ZIF-8 hoàn thiện phát triển đan xen với hình thái khối đa diện hình thoi đã bao phủ hoàn toàn bề mặt tấm nền mà không có bất kỳ “khuyết tật” nào có thể nhìn thấy như lỗ kim hoặc vết nứt (hình 3C). Sau đó, khi thời gian tổng hợp được kéo dài đến 10 h, bề mặt lớp màng trở nên thô hơn, một vài tinh thể ZIF-8 phát triển lớn hơn, đồng thời xuất hiện nhiều hạt đơn lẻ trên bề mặt (hình 3E). Khi thời gian phản ứng tăng, độ dày của lớp màng tăng từ khoảng 2,5 μm tại 2 h, 4,2 μm tại 6 h đến 5 μm tại 10 h (hình 3B, 3D, 3F). Trong 6 h đầu tiên, tốc độ phát triển của lớp màng xảy ra nhanh, sau đó chậm lại, giúp hạn chế sự hình thành quá dày của lớp màng. Xu hướng này là cần thiết vì một khi lớp màng phát triển quá dày sẽ có xu hướng tạo ra nhiều lực cản cho khí đi qua, làm giảm hiệu quả phân tách khí của màng [19].

Bảng 1. Kết quả phân tách hỗn hợp propylene/propane của màng lọc ZIF-8 tổng hợp ở các thời gian khác nhau.

Thời gian tổng hợp	Lượng truyền qua ($\times 10^{-10} \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$)		Hệ số phân tách
	Propylene	Propane	
2 h	135,6 $\pm$ 15,3	5,3 $\pm$ 0,6	26,3 $\pm$ 2,8
6 h	104,6 $\pm$ 8,8	1,5 $\pm$ 0,3	70,2 $\pm$ 3,9
10 h	96,6 $\pm$ 6,9	1,5 $\pm$ 0,2	65,0 $\pm$ 3,3

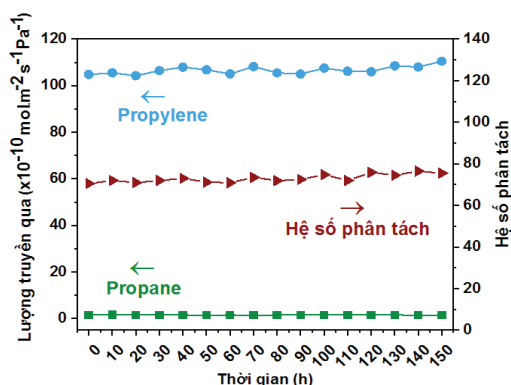
Để khảo sát kỹ càng hơn chất lượng của màng ZIF-8 sau khi tổng hợp, các tác giả tiến hành thực nghiệm phân tách hỗn hợp khí propylene/propane ở điều kiện phòng sử dụng kỹ thuật Wicke-Kallenbach. Kết quả được trình bày trong bảng 1. Có thể thấy, lượng khí truyền qua cũng như độ phân tách khí của các màng lọc rất phù hợp với kết quả từ SEM. Tất cả các mẫu đều cho hệ số phân tách lớn hơn 1, cho thấy chất lượng cao của lớp hạt tổng hợp bằng phương pháp vi sóng. Sự đồng đều cũng như mật độ cao của lớp hạt đã giúp lớp màng phát triển một cách liên tục và đồng đều bên trên tấm nền alumina. Lượng truyền qua của khí propylene và propane giảm khi tăng thời gian tổng hợp từ 2 lên 10 h. Sự giảm này là do khi thời gian tổng hợp ngắn, không đủ để cung cấp cho cơ chế tái kết tinh các hạt ZIF-8 để đóng các khe hở cũng như lỗ hổng trên màng, làm cho lượng truyền qua của các khí propylene và propane cao hơn. Màng lọc sau 6 h tổng hợp đạt được hệ số phân tách propylene/propane cao nhất (70) với lượng truyền qua của propylene là $105 \times 10^{-10} \text{ mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$. Hệ số phân tách đạt được trong nghiên cứu này cao gấp đôi kết quả đạt được của Y. Pan và cộng sự [16]. Khi tăng thời gian phản ứng lên 10 h, hệ số phân tách và lượng truyền qua của các khí giảm nhẹ, kết quả này là do độ dày lớp màng tăng lên khi các tinh thể tiếp tục phát triển về kích thước. Màng dày hơn thường tạo ra nhiều lực cản hơn cho khí đi qua, do đó làm giảm lượng truyền qua và hệ số phân tách khí.



Hình 4. Lượng truyền qua và hệ số phân tách propylene/propane của lớp màng ZIF-8 khi thực hiện phân tách gián đoạn trong 6 tháng.

Các tác giả tiếp tục thực hiện phân tách hỗn hợp propylene/propane một cách liên tục và gián đoạn để đánh giá một cách toàn diện hơn chất lượng và độ ổn định của lớp màng sau khi tổng hợp. Kết quả phân tách khí liên tục trong 150 h và gián đoạn trong 6 tháng của màng lọc ZIF-8 sau 6 h tổng hợp được trình bày trong hình 4, 5 và tổng hợp trong bảng 2. Kết quả cho thấy, gần như không có sự thay đổi hệ số phân tách cũng như lượng truyền qua của các khí propylene và propane khi tiến hành phân tách gián đoạn (hình 4). Đối với quá trình phân tách liên tục, lượng truyền qua của propylene và propane tăng nhẹ (hình 5). Độ tăng lượng truyền qua của propylene nhanh hơn so với propane, làm cho độ phân tách của hỗn hợp tăng nhẹ trong quá trình thực nghiệm. Có sự thay đổi này là do cấu

trúc lỗ xốp của lớp màng đã ít nhiều bị ảnh hưởng bởi lượng khí propylene và propane liên tục thổi qua lớp màng, dẫn đến sự thay đổi của lượng truyền qua cũng như hệ số phân tách của các khí propylene và propane. Các kết quả phân tích đã cho thấy độ ổn định cũng như chất lượng rất cao của màng lọc ZIF-8 tổng hợp được trong nghiên cứu này. Sự duy trì khả năng phân tách trong một thời gian dài mở ra một hướng đi đầy triển vọng và là tiền đề để phát triển hơn nữa cũng như ứng dụng trực tiếp màng lọc ZIF-8 vào thực tế phân tách khí trong công nghiệp.



Hình 5. Lượng truyền qua và hệ số phân tách propylene/propane của lớp màng ZIF-8 khi thực hiện phân tách liên tục trong 150 h.

Bảng 2. Kết quả phân tách hỗn hợp propylene/propane ở các điều kiện khác nhau của màng lọc ZIF-8 (6 h).

Điều kiện	Lượng truyền qua ($\times 10^{-10}$ mol.m ⁻² .s ⁻¹ .Pa ⁻¹)		Hệ số phân tách
	Propylene	Propane	
Liên tục (150 h)	110,6 $\pm$ 8,0	1,5 $\pm$ 0,2	73,5 $\pm$ 4,2
Gián đoạn (6 tháng)	105,2 $\pm$ 6,5	1,5 $\pm$ 0,3	70 $\pm$ 3,8

Kết luận

Màng lọc ZIF-8 có chất lượng cao đã được các tác giả tổng hợp thành công sử dụng phương pháp hai giai đoạn với lớp hạt được chuẩn bị bằng kỹ thuật vi sóng. Phương pháp tạo lớp hạt này cho phép hình thành nhanh chóng các tinh thể hạt nano ZIF trên bề mặt tấm nền với độ che phủ bề mặt cao và đồng đều. Sự phát triển thứ cấp sau đó của lớp hạt ZIF-8 giúp hình thành lớp màng ZIF-8 có chất lượng cao, phát triển liên tục và đồng thời cho thấy hiệu suất tách propylene/propane cao. Lớp màng sau 6 h tổng hợp ở điều kiện phòng có độ dày khoảng 4,2 μ m và đạt được hệ số phân tách là 70 với lượng truyền qua của propylene là 105×10^{-10} mol.m⁻².s⁻¹.Pa⁻¹. Ngoài ra, màng ZIF-8 còn cho thấy tính ổn định, khả năng lặp lại và hiệu quả cao khi phân tách hỗn hợp propylene/propane một cách liên tục cũng như gián đoạn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R.B. Eldridge (1993), "Olefin/paraffin separation technology: a review", *Ind. Eng. Chem. Res.*, **32**(10), pp.2208-2212.
- [2] L.S. Cheng and S.T. Wilson (2001), *Process for separating*

propylene from propane, <https://patents.google.com/patent/US6293999B1/en>.

- [3] R.L. Burns, W.J. Koros (2003), "Defining the challenges for C₃H₆/C₃H₈ separation using polymeric membranes", *J. Membr. Sci.*, **211**(2), pp.299-309.
- [4] M. Das, W.J. Koros (2010), "Performance of 6FDA-6FpDA polyimide for propylene/propane separations", *J. Membr. Sci.*, **365**, pp.399-408.
- [5] R.W. Baker (2006), *Membrane technology in the chemical industry: future directions*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, DOI: 10.1002/3527608788.ch14.
- [6] Francisco A. da Silva, Alirio E. Rodrigues (2004), "Propylene/propane separation by vacuum swing adsorption using 13X zeolite", *AIChE Journal*, **47**(2), pp.341-357.
- [7] Wee Chong Kuah, Surya Effendy, and Shamsuzzaman (2018), "Industrial scale propylene/propane separation using pressure vacuum swing adsorption", *Ind. Eng. Chem. Res.*, **57**(18), pp.6451-6463.
- [8] H. Roentan, S. Azizi, Gh. Bakari, S.M. Peyghambarzadeh (2017), "Experimental measurement of propane and propylene absorption in NMP/AgNO₃ solvent", *Chem. Eng. Res. Des.*, **117**, pp.240-249.
- [9] N.T. Tran, T. Yu, J. Kim, M.R. Othman (2020), "ZIF-8 tubular membrane for propylene purification: effect of surface curvature and zinc salts on separation performance", *Sep. Puri. Tech.*, **251**, DOI: 10.1016/j.seppur.2020.117354.
- [10] Xiaoli Ma and Defei Liu (2019), "Zeolitic imidazolate framework membranes for light olefin/paraffin separation", *Crystals*, **9**(1), DOI: 10.3390/cryst9010014.
- [11] Binling Chen, Zhuxian Yang, Yanqiu Zhua and Yongde Xia (2014), "Zeolitic imidazolate framework materials: recent progress in synthesis and applications", *J. Mater. Chem. A*, **2**, pp.16811-16831.
- [12] Hideki Hayashi, Adrien P. Côté, Hiroyasu Furukawa, Michael O'Keeffe & Omar M. Yaghi (2007), "Zeolite A imidazolate frameworks", *Nature Materials*, **6**, pp.501-506.
- [13] A. Phan, C.J. Doonan, F.J. Uribe-Romo, C.B. Knobler, M. O'Keeffe, O.M. Yaghi (2009), "Synthesis, structure, and carbon dioxide capture properties of zeolitic imidazolate frameworks", *Acc. Chem. Res.*, **43**, pp.58-67.
- [14] K.S. Park, et al. (2006), "Exceptional chemical and thermal stability of zeolitic imidazolate frameworks", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**(27), pp.10186-10191.
- [15] C. Zhang, et al. (2012), "Unexpected molecular sieving properties of zeolitic imidazolate framework-8", *J. Phys. Chem. Lett.*, **3**(16), pp.2130-2134.
- [16] Y. Pan, et al. (2012), "Effective separation of propylene/propane binary mixtures by ZIF-8 membranes", *J. Membr. Sci.*, **390**, pp.93-98.
- [17] D. Liu, X. Ma, H. Xi, Y.S. Lin (2014), "Gas transport properties and propylene/propane separation characteristics of ZIF-8 membranes", *J. Membr. Sci.*, **451**, pp.85-93.
- [18] K. Kida, et al. (2013), "Formation of high crystalline ZIF-8 in an aqueous solution", *Cryst. Eng. Comm.*, **15**(9), pp.1794-1801.
- [19] A.D. Wiheeb, M.A. Ahmad, M.N. Murat, J. Kim, M.R. Othman (2014), "Identification of molecular transport mechanisms in microporous hydrotalcite-silica membrane", *Trans. Por. Med.*, **104**(1), pp.133-144.

Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Bacillus* sp. có khả năng sinh tổng hợp protease từ các sản phẩm đậu nành lên men

Lê Thị Ngọc Hân^{1,*}, Võ Thị Ngọc Diệp¹, Trịnh Thị Tuyết Hoa¹, Nguyễn Văn Thành¹

¹Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Cần Thơ

Ngày nhận bài 26/3/2021; ngày chuyển phản biện 30/3/2021; ngày nhận phản biện 7/5/2021; ngày chấp nhận đăng 17/5/2021

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích phân lập và tuyển chọn các dòng vi khuẩn *Bacillus* sp. có khả năng sinh protease từ sản phẩm đậu nành lên men. Sử dụng phương pháp đo đường kính vòng thủy phân (halo) trên môi trường Skim milk agar (SMA) và lên men trong môi trường lỏng để đánh giá khả năng sinh protease. Từ các sản phẩm đậu nành lên men thu tại 2 địa phương là An Giang và Cần Thơ, đã phân lập được 29 dòng vi khuẩn. Qua kết quả khảo sát về đặc điểm hình thái và sinh hóa cho thấy 29 dòng vi khuẩn trên thuộc chi *Bacillus*. Kết quả kiểm tra khả năng sinh protease trên đĩa SMA đã tuyển chọn được 8 dòng có đường kính vòng halo lớn. Trong môi trường lên men lỏng với mật số 10^6 tế bào/ml, pH 7,2 ở 37°C trong 48 giờ, chọn được dòng ML01 cho hoạt tính protease đặc hiệu cao nhất 185,92 U/mg. Kết quả phân tích trình tự vùng gen 16S rRNA của dòng ML01 cho thấy có mối quan hệ cao với trình tự của *Bacillus subtilis*.

Từ khóa: *Bacillus*, lên men, protease, vi khuẩn.

Chỉ số phân loại: 2.8

Đặt vấn đề

Protease là một trong những enzyme có nhiều ứng dụng trong các ngành công nghiệp: thực phẩm, dược phẩm, xử lý chất thải... [1]. Protease chủ yếu tham gia vào việc phân cắt các chuỗi peptide dài thành các đoạn ngắn và được sản xuất bởi nhiều nguồn khác nhau như thực vật, động vật và vi sinh vật. Trong đó, vi sinh vật là đối tượng chính sản xuất enzyme nói chung và protease nói riêng, vì có thể sinh trưởng và phát triển trong thời gian ngắn, tạo ra một loại enzyme chuyên biệt, giá thành rẻ và đáng tin cậy [2]. Một số loài vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp protease như *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*... [3]. Trong môi trường nuôi cấy, một lượng lớn protease ngoại bào được tạo ra bởi các vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* [2].

Vi khuẩn *B. subtilis* có khả năng thích nghi cao và sinh tổng hợp được nhiều loại enzyme cần thiết trong quá trình sinh trưởng để thích nghi với điều kiện môi trường. Hàm lượng protein và hoạt tính protease tổng hợp từ *B. subtilis* phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: dòng vi khuẩn, điều kiện nuôi cấy, phương pháp thu nhận... [3]. Vì vậy, để thu nhận protease có hoạt tính cao cần lựa chọn nguồn phân lập phù hợp và tối ưu về phương pháp, các điều kiện nuôi cấy... Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn dòng vi khuẩn *Bacillus* spp. có khả năng sinh tổng hợp protease với hoạt tính đặc hiệu cao, đây là tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng sau này.

Vật liệu và phương pháp

Vật liệu

Mẫu tương hột, chao thành phẩm thu tại Cơ sở sản xuất nước tương Hương Sen (phường Mỹ Hòa, TP Long Xuyên, tỉnh An Giang) và Cơ sở chao Hương Việt (số 118/5 Trưng Nữ Vương, quận Ô Môn, TP Cần Thơ).

Mẫu nước mắm chay và nước tương thu tại hộ kinh doanh Tư Hoa (khóm Trung Hưng, phường Mỹ Thới, TP Long Xuyên, tỉnh An Giang) và Cơ sở nước mắm chay Liên Hương (số 28/5, khu vực 10, phường Châu Văn Liêm, quận Ô Môn, TP Cần Thơ).

Phương pháp nghiên cứu

Phân lập và định danh sơ bộ các dòng vi khuẩn Bacillus spp. từ sản phẩm đậu nành lên men:

Tăng sinh mẫu: cho 1 g mẫu vào 99 ml môi trường minimal Davis (không chứa agar) (pH 7,0±0,2 ở 25°C) có chứa các thành phần như bảng 1, trong điều kiện vô trùng,

Bảng 1. Môi trường minimal Davis nuôi cấy *Bacillus subtilis*.

Hóa chất	Nồng độ (g/l)
K ₂ HPO ₄	7,0
KH ₂ PO ₄	2,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
Glucose	1,0
Sodium Citrate	0,5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,1
Agar	15,0

*Tác giả liên hệ: Email: ltnhan@ctec.edu.vn; Tel: 0907299908

Isolation and selection of *Bacillus* sp. with the potential biosynthesis of protease from fermented soybean products

Thi Ngoc Han Le^{1,2*}, Thi Ngoc Diep Vo¹,
Thi Tuyet Hoa Trinh¹, Van Thanh Nguyen¹

¹Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University

²Can Tho Technical Economic College

Received 26 March 2021; accepted 17 May 2021

Abstract:

This study aims to isolate and select strains of *Bacillus* for protease production from fermented soybean products. To evaluate the ability of protease production, the authors applied the hydrolysis diameter measurement method on Skim milk agar (SMA) and submerged fermentation (SmF). The results showed that 29 bacterial strains were isolated from fermented soybean products in An Giang and Can Tho provinces. Based on the morphological and biochemical characteristics of bacteria, these are defined belong to the *Bacillus* genus. The results of the protease generation test on SMA helped to select eight strains with a high halo diameter. In SmF with 10^6 cells/ml, pH 7.2, at 37°C for 48 hours, the ML01 strain gave the highest specific protease activity of 185.92 U/mg. Sequence analysis results of the 16S rRNA gene region of ML01 exhibited a high relationship with the sequence of *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Bacillus*, bacteria, protease, submerged fermentation.

Classification number: 2.8

lắc ủ ở 37°C trong 48 giờ. Sau đó đun cách thủy ở 80°C trong 20 phút để loại bỏ tế bào sinh dưỡng.

Phân lập vi khuẩn: mẫu sau tăng sinh được pha loãng từ nồng độ 10^{-1} đến 10^{-5} và trải mẫu ở mỗi nồng độ ra đĩa môi trường minimal agar. Ủ ở 37°C trong 48 giờ, quan sát sự xuất hiện của khuẩn lạc. Tuyển chọn các khuẩn lạc có đặc điểm khác nhau và cấy phân lập nhiều lần để tạo dòng thuần. Dòng vi khuẩn sau khi làm thuần được trữ giống trong môi trường thạch nghiêng ở 4°C.

Phương pháp định danh vi khuẩn *Bacillus*: sử dụng các phương pháp sinh hóa để bước đầu sàng lọc các dòng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus*. Các dòng vi khuẩn phân lập được mô tả đặc điểm khuẩn lạc, xác định hình thái bằng phương pháp nhuộm gram, nhuộm bào tử, quan sát hình

dạng, kiểm tra một số đặc tính sinh hóa như thử nghiệm catalase, oxidase, methyl red để xác định vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* [4].

Khảo sát khả năng sinh protease của các dòng vi khuẩn *Bacillus* spp. đã phân lập trên môi trường SMA:

Môi trường thạch Skim milk (SMA) được phân phối vào đĩa petri, dùng dụng cụ khoan lỗ có kích thước nhỏ (0,5 cm) vào giữa đĩa thạch. Với mỗi dòng vi khuẩn hút 5 µl dịch nuôi sau khi tăng sinh 24 giờ nhỏ vào đĩa môi trường SMA và ủ ở 37°C trong 48 giờ. Hoạt tính protease của các dòng vi khuẩn được đánh giá dựa vào khả năng tạo vòng thủy phân (vòng halo) trên môi trường SMA [5], đường kính thủy phân được tính theo công thức:

Đường kính thủy phân = Đường kính vòng halo - đường kính lỗ khoan.

Tuyển chọn dòng vi khuẩn *Bacillus* spp. có khả năng sinh protease trong môi trường lỏng:

Cho 100 ml môi trường lên men lỏng (pH 7,2) có các thành phần như bảng 2 [6] vào bình tam giác 250 ml, dùng nút gòn không thấm nước đậy kín miệng bình tam giác, phía trên đậy nắp giấy. Khử trùng ở 121°C trong 20 phút. Sau khi để nguội hoàn toàn, chủng 1 ml dịch tăng sinh vi khuẩn với mật số 10^6 tế bào/ml vào môi trường. Tất cả các mẫu được ủ lắc liên tục với tốc độ 150 vòng/phút ở 37°C. Sau 48 giờ lên men, các mẫu được ly tâm 10.000 vòng/phút ở 4°C trong 10 phút, thu lấy phần dịch lỏng đem phân tích hoạt tính enzyme.

Bảng 2. Môi trường lên men lỏng.

Hóa chất	Nồng độ (g/l)
Soya Peptone	10
K ₂ HPO ₄	2,0
MgSO ₄	1,0
Glucose	2,0
Maltose	20
Yeast extract	10
Nước cất	Vừa đủ 1.000 ml

Chỉ tiêu phân tích: xác định hoạt tính protease (phương pháp Kunitz cải tiến) [7] và hàm lượng protein (phương pháp Bradford) [8].

Định nghĩa về đơn vị hoạt tính enzyme: 1 đơn vị hoạt tính enzyme (U (Unit)) là lượng enzyme cần thiết để thủy phân casein, tương đương với 1 µM tyrosine sinh ra trong thời gian 1 phút ở nhiệt độ 37°C, pH 7,5.

Hoạt tính đặc hiệu (hoạt tính riêng) là số đơn vị hoạt tính enzyme có trong 1 mg protein (U/mg) [9].

Định danh dòng vi khuẩn có khả năng sinh protease cao nhất bằng phương pháp giải trình tự 16S rRNA:

Phương pháp tách chiết DNA và giải trình tự: sử dụng bộ hóa chất QIAamp DNA Mini Kit để tách chiết DNA và giải trình tự bằng phương pháp Sanger.

Phương pháp định danh: sử dụng phần mềm BLAST để so sánh trình tự gen của dòng vi khuẩn phân lập với trình tự tham chiếu từ cơ sở dữ liệu 16S ribosomal RNA (Bacteria and Archaea type strains). Mẫu được phân tích tại Trung tâm Xét nghiệm kỹ thuật cao Ktest, TP Hồ Chí Minh.

Xử lý số liệu:

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI.

Kết quả và thảo luận

Phân lập và định danh sơ bộ các dòng vi khuẩn Bacillus spp. từ sản phẩm đậu nành lên men ở tỉnh An Giang và TP Cần Thơ

Kết quả phân lập vi khuẩn:

Tổng cộng có 29 dòng vi khuẩn được phân lập trên môi trường minimal agar từ các sản phẩm đậu nành lên men thu tại An Giang (12 dòng) và Cần Thơ (17 dòng). Ký hiệu các dòng vi khuẩn và địa điểm thu mẫu được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Các dòng vi khuẩn phân lập từ các sản phẩm đậu nành lên men.

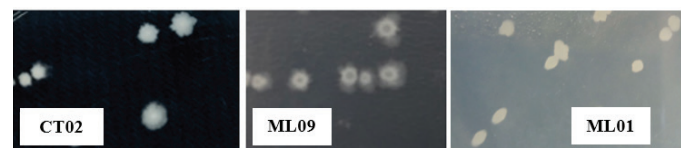
Dòng vi khuẩn	Mẫu	Địa điểm thu mẫu
CTX1, CTX2, CTX3	Chao thành phẩm	Cơ sở Hương Sen (An Giang)
HUX1, HUX2	Đậu nành ủ mốc làm tương hột	
MCX1, MCX2, MCX3	Đậu nành giai đoạn ủ lên men nước mắm chay	Hộ kinh doanh Tư Hoa (An Giang)
TMX1, TMX2, TUX1, TUX2	Đậu nành ủ (2 tuần) làm nước tương	
CM01, CM02, CM03	Chao giai đoạn ủ mốc	Cơ sở chao Hương Việt (Cần Thơ)
CT01, CT02, CT03	Chao thành phẩm	
HL01, HL03, HL05, HL06, HL07, HL08	Đậu nành giai đoạn ủ lên men nước mắm chay	Cơ sở nước mắm chay Liên Hương (Cần Thơ)
ML01, ML09, ML12	Nước mắm chay trước thanh trùng	
T03, T04	Nước tương trước thanh trùng	

Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập được trên môi trường minimal agar sau 48 giờ nuôi cấy thể hiện ở bảng 4 và hình 1.

Bảng 4. Đặc điểm khuẩn lạc và tế bào của 29 dòng phân lập sau 48 giờ nuôi cấy.

Dòng	Đặc điểm khuẩn lạc				Đặc điểm tế bào			
	Hình dạng	Màu sắc	Dạng bề mặt	Độ nổi	Kích thước (mm)	Chuyển động	Hình dạng	Chiều dài (μm)
CTX1	Không đều	Trắng đục	Chia thùy	Phẳng	2-2,5	+	Que ngắn	1,35
CTX2	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Lài	2-2,5	+	Que ngắn	1,5
CTX3	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Phẳng	3-3,5	+	Que ngắn	1,6
HUX1	Tròn	Trắng đục	Nguyên	Mô	1,5-3	+	Que ngắn	1,3
HUX2	Tròn	Trắng đục	Nguyên	Mô	2-3	+	Que ngắn	1,6
MCX1	Không đều	Trắng đục	Chia thùy	Mô	3,5-4	+	Que ngắn	1,44
MCX2	Không đều	Trắng trong	Nguyên	Lài	3-4	+	Que ngắn	1,5
MCX3	Không đều	Trắng đục	Chia thùy	Mô	3-3,5	+	Que ngắn	1,7
TMX1	Không đều	Trắng đục	Chia thùy	Lài	2-2,5	+	Que ngắn	1,46
TMX2	Không đều	Trắng trong	Răng cưa	Lài	1,5-2	+	Que ngắn	1,5
TUX1	Tròn	Trắng đục	Nguyên	Mô	0,5	+	Que dài	2,0
TUX2	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Mô	1,5-3	+	Que ngắn	1,5
CM01	Tròn	Trắng đục	Răng cưa	Lài	4,2-4,4	+	Que ngắn	1,5
CM02	Tròn	Trắng đục	Răng cưa	Lài	1,8-2	+	Que ngắn	1,2
CM03	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Mô	2,2-2,4	+	Que ngắn	1,6
CT01	Tròn	Trắng trong	Nguyên	Mô	3,8-4	+	Que ngắn	1,1
CT02	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Mô	2,2-3	+	Que ngắn	1,3
CT03	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Lài	3-3,4	+	Que ngắn	1,2
HL01	Tròn	Trắng đục	Nguyên	Lài	2,1-2,3	+	Que ngắn	1,7
HL03	Tròn	Trắng đục	Nguyên	Mô	3,5-3,7	+	Que ngắn	1,4
HL05	Tròn	Trắng đục	Răng cưa	Lài	2,5-2,7	+	Que dài	2,4
HL06	Không đều	Trắng đục	Răng cưa	Lài	2,6-2,8	+	Que ngắn	1,2
HL07	Không đều	Trắng đục	Chia thùy	Mô	4,2-5	+	Que ngắn	1,6
HL08	Tròn	Trắng đục	Răng cưa	Lài	1,5-1,7	+	Que ngắn	1,2
ML01	Không đều	Trắng ngà	Chia thùy	Lài	2,5-3,0	+	Que dài	2,0
ML09	Không đều	Trắng đục	Chia thùy	Lài	2,9-4	+	Que ngắn	1,5
ML12	Không đều	Trắng đục	Nguyên	Lài	2,2-2,5	+	Que dài	2,2
T03	Không đều	Trắng trong	Răng cưa	Lài	4-6	+	Que ngắn	1,5
T04	Tròn	Trắng ngà	Nguyên	Lài	3,3-3,7	+	Que ngắn	1,3

(+): có chuyển động.



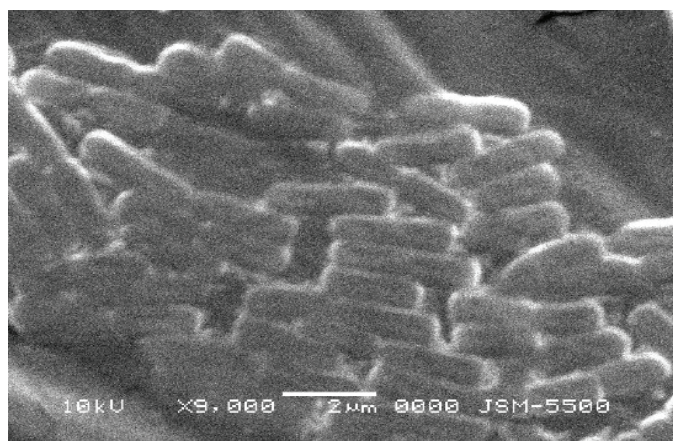
Hình 1. Hình dạng khuẩn lạc của một số dòng vi khuẩn phân lập. CT02: khuẩn lạc trắng đục, tròn không đều, bề mặt răng cưa, mô; ML09: khuẩn lạc trắng đục, tròn không đều, bề mặt chia thùy, lồi; ML01: khuẩn lạc trắng ngà, tròn không đều, bề mặt chia thùy, lồi.

Định danh vi khuẩn Bacillus:

Tất cả 29 dòng vi khuẩn phân lập đều có khả năng chuyển động khi quan sát bằng phương pháp giọt ép dưới

kính hiển vi ở vật kính 100X [10].

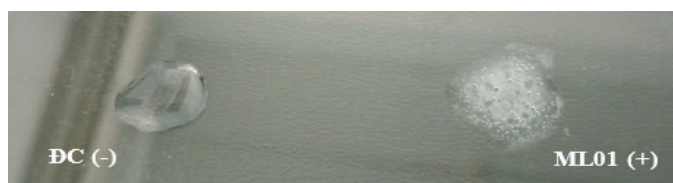
Tế bào vi khuẩn của tất cả các dòng phân lập đều có dạng hình que ngắn hoặc dài (hình 2) [10], kích thước dao động từ 0,5 μm đến 2,4 μm và có nội bào tử. Nội bào tử hình bầu dục, nằm giữa hay trong khoảng từ trung tâm đến gần cuối tế bào, mỗi tế bào chỉ tạo một bào tử. Bào tử chiếm 70%, bắt màu xanh của dung dịch malachite green [11, 12].



Hình 2. Tế bào hình que của dòng vi khuẩn ML01 được chụp dưới kính hiển vi điện tử quét.

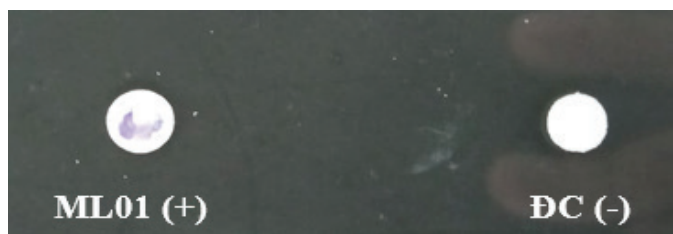
Kết quả nhuộm Gram cho thấy, 29 dòng vi khuẩn phân lập bắt màu tím xanh của dung dịch violet, chứng tỏ các dòng vi khuẩn này thuộc nhóm vi khuẩn Gram dương (+) [11].

Thử nghiệm catalase: 29 dòng vi khuẩn có hiện tượng hình thành bọt khí (hình 3), chứng tỏ các dòng này đều có enzyme catalase phân giải H_2O_2 thành H_2O và O_2 [13, 14].



Hình 3. Thử nghiệm catalase (ĐC: Âm tính, ML01: Dương tính).

Thử nghiệm oxidase: được thực hiện trên đĩa giấy có tẩm N-dimethyl-para phenylenediamine. Kết quả 29 dòng vi khuẩn phân lập đều có hiện tượng xuất hiện phức hợp màu tím/xanh đậm sau 10-30 giây (dương tính) (hình 4), chứng tỏ các dòng này đều có enzyme oxidase [15].



Hình 4. Thử nghiệm oxidase (ĐC: Âm tính, ML01: Dương tính).

Thử nghiệm methyl red: kết quả tất cả các dòng vi khuẩn phân lập được đều làm môi trường thử chuyển sang màu cam hoặc màu đỏ, hay nói cách khác là dương tính với thuốc thử methyl red. Vì một số loài vi khuẩn điển hình là chi *Bacillus* có khả năng lên men đường sinh acid nên khi cho 1-5 giọt methyl red vào sẽ làm đổi màu môi trường thành màu cam, đỏ, hay đỏ nhạt tùy theo mức độ nhiều hay ít của lượng acid tạo thành, nếu không tạo acid môi trường sẽ có màu vàng [13, 16].

Dựa theo khóa phân loại Bergey cho thấy, 29 dòng vi khuẩn phân lập từ các mẫu đậu nành lên men trên môi trường phân lập chọn lọc có các đặc điểm khuẩn lạc, hình dạng tế bào (bảng 4), khả năng di động, Gram dương, có nội bào tử, catalase dương tính, oxidase dương tính và có khả năng lên men đường. Như vậy các dòng vi khuẩn này được xác định thuộc chi *Bacillus* [17].

Khả năng sinh tổng hợp protease trên môi trường SMA

Hoạt tính protease của các dòng vi khuẩn được đánh giá dựa vào khả năng tạo vòng thủy phân trên môi trường SMA (bảng 5 và hình 5).

Bảng 5. Khả năng sinh tổng hợp protease của các dòng vi khuẩn.

STT	Dòng	Sinh protease	Đường kính thủy phân (cm)	STT	Dòng	Sinh protease	Đường kính thủy phân (cm)
1	CTX1	+	1,5 ^{hijk}	16	CT01	+	2,33 ^{ab}
2	CTX2	+	2,07 ^{bcd}	17	CT02	+	1,3 ^{kl}
3	CTX3	+	2,2 ^{abcd}	18	CT03	+	2,26 ^{abc}
4	HUX1	+	1,87 ^{efg}	19	HL01	+	1,53 ^{hij}
5	HUX2	+	1,23 ^{kl}	20	HL03	+	1,23 ^{kl}
6	MCX1	+	1,7 ^{ghi}	21	HL05	+	1,53 ^{hij}
7	MCX2	+	2,23 ^{abc}	22	HL06	+	2,1 ^{bcde}
8	MCX3	+	2,0 ^{cdef}	23	HL07	+	1,46 ^{hijk}
9	TMX1	+	1,5 ^{hijk}	24	HL08	+	1,73 ^{fgh}
10	TMX2	+	2,2 ^{abcd}	25	ML01	+	2,4 ^a
11	TUX1	+	2,17 ^{abcd}	26	ML09	+	1,17 ^l
12	TUX2	+	1,43 ^{ijkl}	27	ML12	+	1,43 ^{ijkl}
13	CM01	+	2,43 ^a	28	T03	+	1,53 ^{hij}
14	CM02	+	1,93 ^{defg}	29	T04	+	1,33 ^{kl}
15	CM03	+	1,53 ^{hij}				

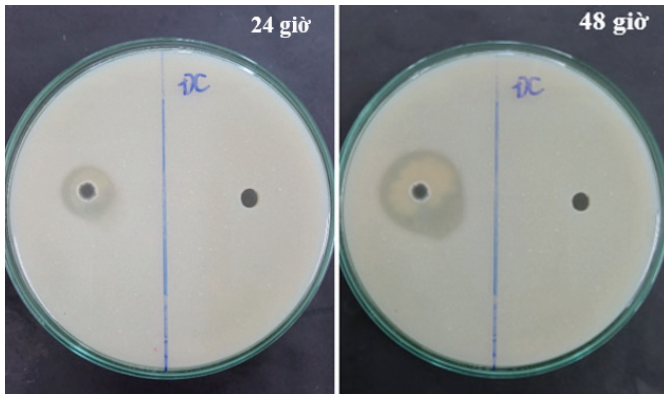
Số liệu ở cột trong bảng là trung bình ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số mang số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan ($p < 0,05$) và ngược lại. (+): có sinh tổng hợp protease.

Kết quả từ bảng 5 cho thấy sau 48 giờ, 29 dòng vi khuẩn đều có khả năng sinh protease thể hiện qua vòng thủy phân trên môi trường sữa (đạt 100%), thấp nhất là ML09 (1,17 cm) và cao nhất là CM01 (2,43 cm); trong đó 8 dòng có khả năng tạo vòng thủy phân với đường kính lớn hơn so với các dòng còn lại: CTX3 (2,2 cm), MCX2 (2,23 cm), TMX2 (2,2

cm), TUX1 (2,17 cm), CM01 (2,43 cm), CT01 (2,33 cm), CT03 (2,26 cm) và ML01 (2,4 cm).

So sánh khả năng sinh protease với nghiên cứu khác thì các dòng vi khuẩn phân lập có khả năng tạo vòng halo thấp hơn dòng *Bacillus subtilis* C10 (3,8 cm) của N.T.A. Thu và cs (2020) [18]. Das và Prasad (2010) [5] cũng ghi nhận enzyme protease sau khi tinh sạch của các dòng vi khuẩn *Bacillus* phân lập từ vùng Bangalore đều tạo vòng thủy phân trên đĩa SMA.

Đường kính vòng halo tạo ra giữa các dòng vi khuẩn khác nhau là do khả năng sinh protease của các dòng vi khuẩn khác nhau. Đường kính càng lớn nghĩa là vi khuẩn có khả năng tiết ra protease càng nhiều. Như vậy có thể kết luận sơ bộ 8 dòng vi khuẩn trên có khả năng sinh protease hoạt tính cao hơn các dòng khác trong 29 dòng vi khuẩn phân lập, do đó 8 dòng này được chọn cho khảo sát tiếp theo.



Hình 5. Vòng halo do protease tạo thành trên môi trường SMA của dòng vi khuẩn ML01 sau 24 và 48 giờ.

Khả năng sinh tổng hợp protease trên môi trường lỏng

Từ kết quả kiểm tra khả năng sinh protease trên môi trường SMA, 8 dòng vi khuẩn là CTX3, MCX2, TMX2, TUX1, CM01, CT01, CT03, ML01 được chọn lên men trong môi trường lỏng để xác định hoạt tính đặc hiệu protease từ hàm lượng protein và hoạt tính protease.

Hoạt tính đặc hiệu của chế phẩm enzyme đặc trưng cho độ tinh sạch của chế phẩm enzyme đó. Hoạt tính đặc hiệu được biểu thị bằng số đơn vị hoạt tính enzyme có trong 1 mg protein (U/mg) [9]. Vì thế hoạt tính đặc hiệu là chỉ tiêu được chọn để xác định dòng vi khuẩn có khả năng sinh tổng hợp protease ở môi trường lỏng, dòng vi khuẩn có hoạt tính đặc hiệu cao thì khả năng sinh tổng hợp protease mạnh.

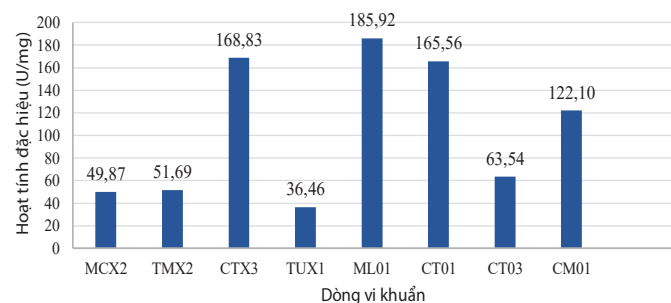
Kết quả trình bày ở bảng 6 cho thấy 8 dòng vi khuẩn đều có khả năng sinh tổng hợp protease trong môi trường lỏng, hoạt tính đặc hiệu protease là khá cao và có sự chênh lệch giữa 8 dòng phân lập.

Bảng 6. Hàm lượng protein, hoạt tính và hoạt tính đặc hiệu protease của 8 dòng vi khuẩn.

Dòng vi khuẩn	Hàm lượng protein (mg/ml)	Hoạt tính protease (U/ml)	Hoạt tính đặc hiệu (U/mg)
MCX2	0,189 ^b	9,43 ^{de}	49,87 ^c
TMX2	0,199 ^b	10,15 ^{de}	51,69 ^c
CTX3	0,203 ^b	31,01 ^b	168,83 ^{ab}
TUX1	0,109 ^c	3,98 ^e	36,46 ^c
ML01	0,086 ^{cd}	15,96 ^{cd}	185,92 ^a
CT01	0,052 ^d	25,95 ^{bc}	165,56 ^{ab}
CT03	0,093 ^{cd}	17,73 ^{cd}	63,54 ^c
CM01	0,359 ^a	43,79 ^a	122,10 ^b

Số liệu ở cột trong bảng là trung bình ba lần lặp lại. Trong cùng một cột, các số mang số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% theo phép thử Duncan ($p < 0,05$) và ngược lại.

Hoạt tính protease đặc hiệu dao động từ 36,46-185,92 U/mg, trong đó, dòng TUX1 có hoạt tính protease đặc hiệu thấp nhất là 36,46 U/mg, dòng ML01 có hoạt tính protease đặc hiệu cao nhất là 185,92 U/mg (hình 6), khác biệt có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với các dòng vi khuẩn còn lại. Như vậy, ML01 là dòng vi khuẩn có hoạt tính đặc hiệu protease cao nhất, kết quả này cao hơn kết quả của một số nghiên cứu trước đó: dòng *Bacillus* sp. CK 11-4 được Kim và cs [19] phân lập từ một loại sốt đậu nành lên men truyền thống của Hàn Quốc cho hoạt tính đặc hiệu protease là 19,2 U/mg; hoạt tính đặc hiệu protease của dòng BL2 do Aderibge và cs (1990) [20] phân lập và tuyển chọn từ đậu lên men ở châu Phi là 19,06 U/mg.



Hình 6. Hoạt tính đặc hiệu của 8 dòng vi khuẩn.

Kết quả định danh dòng vi khuẩn ML01

- Phương pháp sinh hóa: ML01 có các đặc điểm khuẩn lạc (hình dạng không đều, màu trắng ngà, bìa chia thùy, lồi), tế bào hình que dài, có khả năng di động, Gram dương, có nội bào tử, catalase dương tính, oxidase dương tính và có khả năng lên men đường. Như vậy dòng vi khuẩn này được xác định thuộc chi *Bacillus* [17].

- Phương pháp giải trình tự cho thấy ML01 có độ tương đồng 99,86% so với trình tự gen 16S rRNA của *Bacillus subtilis* (số đăng ký trên genbank là NR_112686.1).

Bacillus subtilis là loài vi khuẩn quan trọng để sản xuất protease ứng dụng trong công nghiệp và y học [21], do đó tiềm năng sản xuất protease của dòng ML01 là rất lớn.

Kết luận

Từ các sản phẩm đầu nành lên men thu tại các sở sản xuất ở Cần Thơ và An Giang đã phân lập được 29 dòng vi khuẩn. Dựa vào các đặc điểm khuẩn lạc, hình thái tế bào và sinh hóa đã xác định các dòng phân lập thuộc chi *Bacillus*. Trong đó đã tuyển chọn được 8 dòng vi khuẩn có khả năng sinh protease cao: CTX3, MCX2, TMX2, TUX1, CM01, CT01, CT03 và ML01 với đường kính vòng halo từ 1,17 cm đến 2,43 cm. Trong môi trường lên men lỏng, chọn được dòng ML01 có khả năng sinh protease cao nhất là 185,92 U/mg, dòng vi khuẩn này có trình tự 16S rRNA tương đồng cao với trình tự của *Bacillus subtilis*. Nghiên cứu đã góp phần làm tăng nguồn giống vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp protease với hoạt lực cao ứng dụng trong các ngành công nghiệp tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đỗ Thị Bích Thủy, Phan Thị Bé, Đoàn Thị Thanh Thảo (2015), “Định danh và nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng lên khả năng sinh tổng hợp protease ngoại bào của *Bacillus subtilis* DC5”, *Tạp chí Sinh học*, **37(1)**, tr.177-183.
- [2] M. Prasanth, N. Marathe, S. Jadhav, S. Slathia, A. Ramankannan, T. Shanthini, N. Ramesh (2016), “Potential of *Bacillus subtilis* to produce acidic protease under mutagenic condition”, *International Journal of Pure Applied Bioscience*, **4(1)**, pp.126-132.
- [3] Nguyễn Hữu Tuyển, Phạm Tiến Dũng, Phan Thị Kim Ngân, Ngô Võ Kế Thành (2019), “Tối ưu điều kiện sinh tổng hợp protease từ vi khuẩn *Bacillus subtilis* Bs04 và xác định đặc tính của enzyme”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **61(8)**, tr.12-17.
- [4] F. Sharmin, M. Rahman (2007), “Isolation and characterization of protease producing *Bacillus* strain FS-1”, *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*, **IX**, pp.1-10.
- [5] G. Das, M.P. Prasad (2010), “Isolation, purification and mass production of protease enzyme from *Bacillus subtilis*”, *International Research Journals of Microbiology*, **1(2)**, pp.26-31.
- [6] K.I. Eldeen, H.M. Ibrahim, E.E. Elkhidir, H.B. Elamin (2015), “Optimization of culture conditions to enhance nattokinase production using RSM”, *American Journal of Microbiological Research*, **3(5)**, pp.165-170.
- [7] M. Kunitz (1947), “Crystalline soyabean trypsin inhibitor. II. General properties”, *The Journal of General Physiology*, **30(4)**, pp.291-310.
- [8] M.M. Bradford (1976), “A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding”, *Analytical Biochemistry*, **72**, pp.248-254.
- [9] Nguyễn Châu Sang, Nguyễn Thị Hà (2014), “Tinh sạch và khảo sát một số đặc điểm của protease chịu kiềm từ *Bacillus* sp. SV1”, *Tạp chí*

Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học, **35**, tr.48-55.

- [10] Nguyễn Lân Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Lê Đình Lương, Đoàn Xuân Mượu, Phạm Văn Ty (1978), *Các phương pháp nghiên cứu vi sinh vật*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [11] A.R. Perez, A. Abanes, K. Poliano (2000), “SpoIIB localizes to active sites of septal biogenesis and spatially regulates septal thinning during engulfment in *Bacillus subtilis*”, *Journal of Bacteriology*, **182(4)**, pp.1096-1108.
- [12] P. Chantawannakula, A. Oncharoena, K. Klanbuta, E. Chukeatiroteb, S. Lumyonga (2002), “Characterization of proteases of *Bacillus subtilis* strain 38 isolated from traditionally fermented soybean in Northern Thailand”, *Science Asia*, **28**, pp.241-245.
- [13] S.M. Cutting, P.B. Vander Horn (1990), *Molecular biological methods for Bacillus*, John Wiley & Sons, Ltd., pp.27-74.
- [14] M. Nagel, J.R. Andreessen (1991), “*Bacillus niacini* sp. nov., a nicotinate-metabolizing mesophile isolated from soil”, *International Journal of Systematic Bacteriology*, **41(1)**, pp.5-26.
- [15] Nguyễn Văn Phúc, Phan Thị Phương Trang (2014), “Phân lập, định danh và xác định các đặc tính có lợi của chủng *Bacillus* spp. từ ao nuôi tôm ở tỉnh Bến Tre”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*, **64**, tr.94-102.
- [16] C. Ash, J.A.E. Farrow, S. Wallbanks, M.D. Collins (1991), “Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small - subunit - ribosomal RNA sequences”, *Letters in Applied Microbiology*, **13(4)**, pp.202-206.
- [17] D.H. Bergey, R.S. Breed (1957), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- [18] N.T.A. Thu, N.T.M. Khue, N.D. Huy, N.Q.D. Tien, D.T.B. Thuy, N.H. Loc (2020), “Characterizations and fibrinolytic activity of serine protease from *Bacillus subtilis* C10”, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **21**, pp.1-7.
- [19] W. Kim, K. Choi, Y. Kim, H. Park, J. Choi, Y. Lee, H. Oh, I. Kwon, S. Lee (1996), “Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. strain CK 11-4 screened from Chungkook-Jang”, *Application and Environment Microbiology*, **62(7)**, pp.1488-2482.
- [20] E.Y. Aderibgebe, B. Schinkt, S.A. Odunfa (1990), “Extracellular proteinase of *Bacillus* spp. isolated from fermented African locust bean, Iru”, *Food Microbiology*, **7(4)**, pp.281-293.
- [21] J.G.D.S. Aguilar, H.H. Satto (2018), “Microbial proteases: production and application in obtaining protein hydrolysates”, *Food Research International*, **103**, pp.253-262.

Thực trạng và đặc điểm kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại TP Hồ Chí Minh

Trương Huỳnh Anh Vũ^{1,2*}, Nguyễn Hoàng Khuê Tú³, Chu Văn Hải¹, Huỳnh Yên Hà¹

¹Phòng Vi sinh, Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí nghiệm TP Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh

³Bộ môn Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 26/3/2021; ngày chuyển phản biện 30/3/2021; ngày nhận phản biện 26/4/2021; ngày chấp nhận đăng 29/4/2021

Tóm tắt:

Kết quả nghiên cứu trên tổng số 380 mẫu thịt (lợn, bò, gà) tươi sống được lấy ngẫu nhiên tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh cho thấy, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 42,37%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm ở từng nhóm mẫu lần lượt là 50,00% đối với thịt lợn, 49,62% đối với thịt gà và 26,83% đối với thịt bò. Tỷ lệ đề kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh ở các chủng *Salmonella* phân lập được là 37,89%, từ 2 đến 5 loại kháng sinh là 22,98% và từ 6 đến 11 loại kháng sinh là 8,70%, chủ yếu đối với các kháng sinh nhóm β -lactams, Tetracyclin, Chloramphenicol, Streptomycin, và Sulfamethoxazol/Trimethoprim. Đặc biệt, có 83,72% chủng *Salmonella* mang gen kháng kháng sinh, chủ yếu có nguồn gốc phân lập từ thịt lợn. Ở các chủng *Salmonella* đề kháng kháng sinh, các gen *sul1*, *cmlA*, *tetA*, *sul2* và *cmlB* được phát hiện với tỷ lệ lần lượt là 27,90, 23,26, 21,74, 9,30 và 5,59%. Ngoài ra, có 58,14% các chủng *Salmonella* được phát hiện mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm TEM và 9,30% chủng mang gen thuộc nhóm CTX. Dữ liệu này chỉ ra rằng, sản phẩm thịt tươi sống là nguồn chứa *Salmonella* đa kháng rất cao. Kết quả của nghiên cứu này cung cấp thêm bằng chứng trực tiếp về tình trạng nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm và sự lưu hành các chủng kháng kháng sinh ở TP Hồ Chí Minh. Do vậy, cần thiết lập các chương trình giám sát, kiểm soát *Salmonella* và tình hình sử dụng kháng sinh ở Việt Nam để bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

Từ khóa: kháng kháng sinh, kháng sinh, *Salmonella*, thịt tươi sống.

Chỉ số phân loại: 2.10

Đặt vấn đề

An toàn thực phẩm là một trong những vấn đề mà từ lâu chúng ta đặc biệt quan tâm, coi đây là yếu tố có ý nghĩa lớn về kinh tế - xã hội, sức khỏe cộng đồng, ảnh hưởng trực tiếp đến mục tiêu phát triển bền vững của quốc gia. Đặc biệt là tình trạng nhiễm khuẩn kháng kháng sinh trong các sản phẩm thịt tươi sống, trong đó có vi khuẩn *Salmonella* spp. Nguyên nhân của hiện trạng này là do việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi và điều trị bệnh chưa được kiểm soát hiệu quả. *Salmonella* là một trong những tác nhân gây ngộ độc thực phẩm phổ biến nhất trên thế giới, với hàng triệu ca nhiễm hàng năm, trong đó có hàng trăm nghìn người đã chết. *Salmonella* có mặt ở khắp mọi nơi, phân bố rất khác nhau tùy theo vị trí địa lý và đều có khả năng gây bệnh cho người và vật nuôi [1]. Nguồn lây nhiễm *Salmonella* chủ yếu thông qua thực phẩm và nguồn nước bị ô nhiễm. Thịt gia cầm, trứng, thịt bò, thịt lợn là những nguồn lây nhiễm phổ biến của loài vi khuẩn này [2]. Hiện nay, *Salmonella* đã và đang trở nên kháng với nhiều loại kháng sinh, bao gồm cả những loại kháng sinh quan trọng được sử dụng trên lâm sàng như ceftriaxone và ciprofloxacin [3, 4]. Việc sử dụng kháng sinh không đúng cách và lạm dụng với nhiều mục đích như kích thích sự tăng trưởng, phòng và điều trị bệnh trong chăn nuôi dẫn đến vi khuẩn *Salmonella* đã phát triển nhiều cơ chế đề kháng

khác nhau, làm xuất hiện và lan truyền rộng rãi các chủng vi khuẩn kháng đa kháng sinh [3, 4]. Để kiểm soát thực trạng này, các cơ quan chức năng, quản lý nhà nước đã và đang thực hiện nhiều giải pháp khác nhau, nhiều văn bản quy phạm pháp luật đã được ban hành, cập nhật để quản lý việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi tốt hơn. Các chương trình theo dõi giám sát mức độ đề kháng kháng sinh của vi khuẩn trong thực phẩm cũng được thực hiện thường xuyên.

Nghiên cứu này đặt vấn đề đánh giá: (i) mức độ vấy nhiễm và (ii) thực trạng đề kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần hoàn thiện các dữ liệu khoa học về tình hình vấy nhiễm và đặc điểm kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống, bổ sung bằng chứng khoa học cho các quyết định cấp nhà nước về quản lý và nâng cao ý thức sử dụng kháng sinh có hiệu quả tại Việt Nam nói chung và TP Hồ Chí Minh nói riêng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Các chủng *Salmonella* spp. phân lập từ thịt tươi sống tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh.

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

Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from raw meats at traditional markets in Ho Chi Minh city

Huynh Anh Vu Truong^{1,2*}, Hoang Khue Tu Nguyen³,
Van Hai Chu¹, Yen Ha Huynh¹

¹Microbiology Laboratory, Center of Analytical Services
and Experimentation HCMC (CASE)

²Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University HCMC

³School of Biotechnology, International University,
Vietnam National University HCMC

Received 26 March 2021; accepted 29 April 2021

Abstract:

The study's results on a total of 380 fresh samples of raw meat (pork, beef, chicken) randomly collected at conventional markets of districts in Ho Chi Minh city showed that the prevalence of *Salmonella* spp. is 42.37%. The prevalence of *Salmonella* in pork, chicken, and beef were 50.00%, 49.62%, and 26.83%, respectively. The proportion of *Salmonella* strains that resisted at least 1 antibiotic was 37.89%, from 2 to 5 antibiotics was 22.98%, and from 6 to 11 antibiotics occupied 8.70%, mainly for β -lactams, Tetracyclin, Chloramphenicol, Streptomycin, and Sulfamethoxazole/Trimethoprim antibiotics. In particular, up to 83.72% of the *Salmonella* strains carry antibiotic resistance genes (mainly isolated from pork). In antibiotic-resistant *Salmonella* strains, the *sul1*, *cmlA*, *tetA*, *sul2*, *cmlB* genes were detected with the rates of 27.90, 23.26, 21.74, 9.30, and 5.59%, respectively. *Salmonella* strains carrying genes encoding ESBL in the TEM group were 58.14% and 9.30% in the CTX group. This data provided more direct evidence of *Salmonella* contamination in food and the prevalence of antibiotic-resistant strains in Ho Chi Minh city. Therefore, there is an urgent need to establish programs to monitor and control *Salmonella* and the use of antibiotics in Vietnam to protect the health of consumers.

Keywords: antibiotic, multi-drug resistance, retail meat, *Salmonella*.

Classification number: 2.10

Phương pháp

Cỡ mẫu nghiên cứu: nghiên cứu sử dụng công thức tính cỡ mẫu sau:

$$n = \frac{z^2(p.q)}{e^2}$$

Trong đó: z là giá trị phân phối tương ứng với độ tin cậy 95%, z=1,96; p là tỷ lệ % ước tính của thực phẩm không đạt chỉ tiêu vi sinh của một

nghiên cứu trước đó, p=0,4 (với tỷ lệ thực phẩm không đạt chỉ tiêu vi sinh là 43,75%) [5]; e là mức chính xác mong muốn, e=0,05; q là ước tính tỷ lệ % của tổng thể, q=1-p. Theo công thức trên, cỡ mẫu cần cho nghiên cứu phải lớn hơn hoặc bằng 376 mẫu.

Phương pháp lấy và bảo quản mẫu: tổng số 380 mẫu thịt (lợn: 126, bò: 123, gà: 131) tươi sống đã được lấy ngẫu nhiên tại các chợ truyền thống thuộc các quận trên địa bàn TP Hồ Chí Minh vào khoảng thời gian 8-9 giờ sáng trong suốt 12 tháng (9/2019-9/2020). Lượng mẫu được lấy phục vụ nghiên cứu khoảng 150-1.500 g/mẫu [6]. Mẫu được chuyển đến phòng thí nghiệm không quá 12 giờ sau khi lấy và được tiến hành phân tích ngay.

Phân lập và xác định *Salmonella* spp.: phương pháp phân lập *Salmonella* spp. được thực hiện theo tiêu chuẩn ISO 6579-1:2017 [7], bao gồm các bước: (i) chuẩn bị mẫu thử và tăng sinh sơ bộ: đồng nhất khoảng 25 g mẫu thử với 225 ml Buffer Pepton Water-BPW (Merck/1.07228) ở 37°C trong 18±2 giờ; (ii) tăng sinh chọn lọc: cấy dịch tăng sinh sang canh thang Rappaport Vassiliadis medium with soya-RV (Merck/1.07700) ở 41,5°C trong 24±3 giờ và canh thang Kauffmann tetrathionate novobiocin-MKTTn (Merck/1.05878) ở 37°C trong 24±3 giờ; (iii) phân lập: cấy dịch tăng sinh chọn lọc lên môi trường thạch chọn lọc Xylose Lysine Deoxycholate agar-XLD (Merck/1.05287) và Mannitol Lysine Crystal Violet Brilliant Green agar-MLCB (Oxoid/CM0783) ở 37°C trong 24±3 giờ; (iv) khẳng định: các khuẩn lạc nghi ngờ *Salmonella* spp. được khẳng định bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi *invA*.

Đánh giá khả năng kháng kháng sinh của *Salmonella* spp.: mỗi chủng *Salmonella* spp. được lấy 3-5 khuẩn lạc thuần khiết từ thạch Nutrient Agar (Merck/1.05450) để thực hiện đánh giá khả năng nhạy cảm kháng sinh bằng phương pháp Kirby-Bauer trên Muller Hinton Agar (Oxoid/CM0337). Dựa vào đường kính vùng ức chế theo hướng dẫn [8] để phiên giải kết quả mức độ nhạy cảm kháng sinh (R/I/S) của *Salmonella*.

Các kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu này được lựa chọn theo [9]. Các đĩa kháng sinh vô khuẩn (Oxoid, Anh) có đường kính 6 mm được tẩm dung dịch kháng sinh với nồng độ tương ứng như sau: ampicillin (AM, 10 µg/ml), amoxicillin/acid clavulanic (AMC, 30 µg/ml), ceftazidime (CAZ, 30 µg/ml), chloramphenicol (C, 30 µg/ml), ciprofloxacin (CIP, 5 µg/ml), ofloxacin (OFX, 5 µg/ml), gentamicin (CN, 10 µg/ml), streptomycin (STR, 10 µg/ml), nalidixic acid (NA, 30 µg/ml), tetracycline (TE, 30 µg/ml) và sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT, 30 µg/ml).

Ly trích ADN: dùng que cấy tròn lấy một vòng khuẩn lạc trên thạch Nutrient Agar (Merck/1.05450) cho vào Eppendorf chứa sẵn 1 ml nước cất vô trùng. Quy trình ly trích DNA được thực hiện theo bộ kit AccuRive pDNA Prep Kit (KT Biotech).

Khẳng định *Salmonella* spp. bằng kỹ thuật PCR: gen *invA* (invasion) được khuếch đại dựa trên trình tự các cặp mồi đặc hiệu tương ứng được trình bày ở bảng 1. Thành phần hỗn hợp phản ứng PCR thực hiện theo TCVN 8342:2010 [10], chương trình khuếch đại trên máy Mastercycler (Eppendorf) như sau: 95°C/5 phút (1 chu kỳ); 95°C/60 giây; 54°C/45 giây và 72°C/60 giây (35 chu kỳ); 72°C/10 phút (1 chu kỳ).

Bảng 1. Trình tự primer sử dụng cho phản ứng PCR.

Gen mục tiêu	Primer	Trình tự 5'-3'	Kích thước (bp)	Tham khảo
InvA	InvA1	TTGTTACGGCTATTTTGACCA	520	[10]
	InvA2	CTGACTGCTACCTTGGCTGATG		
Gen kháng β -lactam	blaTEM	GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372	[11]
		TTTATCCGCCTCCATCCAGTC		
	blaSHV	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231	
	CCGGGAAGCGCCTCAT			
blaCTX	CCCATGGTTAAAAACAACACTGC	950		
	CAGCGCTTTTGCCGTCTAAG			
Gen kháng Chloramphenicol	cmlA	CGCCACGGTGTGTGTGTAT	394	[12]
		GCGACCTGCGTAAATGTCAC		
	cmlB	ACTCGGATGGACATGTACT	840	
		ACGGAATGCGGAATCCATAG		
Gen kháng Tetracycline	tetA	GGCCTCAATTCCTGACG	372	[13]
		AAGCAGGATGAGCCTGTGC		
	tetB	GAGACGAATCGAATTCGG	228	
		TTTAGTGGCTATTCTCTCGCC		
Gen kháng Sulfamethoxazole	sul1	TCACCGAGGACTCCTTCTTC	331	[12]
		CAGTCCGCCTCAGCAATATC		
	sul2	CCTGTTTCGTCGACACAGA	435	
		GAAGCGCAGCCGAATTTCAT		

Phát hiện gen kháng kháng sinh bằng kỹ thuật multiplex PCR: các gen blaTEM, blaSHV, blaCTX mã hóa kháng kháng sinh nhóm β -lactam; gen cmlA, cmlB mã hóa kháng chloramphenicol; gen tetA, tetB mã hóa kháng tetracycline và gen sul1, sul2 mã hóa kháng sulfamethoxazole được xác định dựa trên việc sử dụng các cặp mồi đặc hiệu tương ứng cho từng gen kháng kháng sinh (bảng 1).

Thành phần phản ứng m-PCR gồm 2 UI AmpliTaq Gold; 0,2 mM dNTP; 1,5 mM MgCl₂; buffer 1X; 0,5 μ l mỗi đoạn mồi (nồng độ 0,625 μ M); 5 μ l DNA khuôn mẫu và nước cất khử ion vừa đủ thể tích 25 μ l.

Chương trình khuếch đại trên máy Mastercycler (Eppendorf) như sau:

- Đối với các gen kháng β -lactam: 95°C/02 phút; 95°C/30 giây; 25 chu kỳ (60°C/90 giây và 72°C/90 giây); 68°C/10 phút.

- Đối với các gen kháng chloramphenicol: 95°C/10 phút; 30 chu kỳ (95°C/30 giây, 55°C/01 phút, 72°C/01 phút); 72°C/07 phút.

- Đối với các gen kháng tetracycline: 94°C/01 phút; 30 chu kỳ (94°C/01 phút, 55°C/01 phút, 72°C/02 phút); 72°C/10 phút.

- Đối với các gen kháng sulfamethoxazole: 95°C/10 phút; 30 chu kỳ (95°C/30 giây, 55°C/01 phút, 72°C/01 phút); 72°C/7 phút.

Điện di và đọc kết quả: sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% có chứa 1 μ g/ml ethidium bromide trong TBE. Thang ladder (GenetBio/Hàn Quốc) cũng được điện di đồng thời. Thời gian điện di là 35-40 phút ở 100 V và 100 mA. Chụp hình gel bằng máy Ingenius/Anh.

Kết quả

Phân lập và xác định các chủng Salmonella spp.

Salmonella spp. trong các mẫu thịt tươi sống tại các chợ được phân lập theo ISO 6579-1:2017 và khẳng định bằng kỹ thuật PCR. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ mẫu thịt tươi sống nhiễm Salmonella.

Mẫu	Tổng số mẫu	Đương tính		Âm tính	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Thịt lợn	126	63	50,00	63	50,00
Thịt bò	123	33	26,83	90	73,17
Thịt gà	131	65	49,62	66	50,38
Tổng số	380	161	42,37	219	57,63

Bảng 2 cho thấy, trong số 380 mẫu được thu thập, phát hiện 161 mẫu nhiễm *Salmonella* spp., chiếm tỷ lệ 42,37% (161/380). Mẫu thịt lợn và thịt gà có mức độ nhiễm *Salmonella* tương đương nhau với tỷ lệ lần lượt là 50,00% (63/126) và 49,62% (65/131), mẫu thịt bò có tỷ lệ nhiễm thấp nhất với 26,83% (33/123).

Tỷ lệ nhạy cảm kháng sinh của các chủng Salmonella spp.

Mức độ đề kháng của 161 chủng *Salmonella* spp. phân lập được với 11 loại kháng sinh thử nghiệm được trình bày trong bảng 3. Từ đó cho thấy tỷ lệ đề kháng với ít nhất 1 loại kháng sinh của *Salmonella* spp. chiếm 37,89% (61/161), kháng từ 2 đến 5 loại kháng sinh 22,98% (37/161) và từ 6 đến 11 loại kháng sinh 8,70% (14/161).

Bảng 3. Mức độ kháng kháng sinh của Salmonella spp.

Số lượng kháng sinh	Tỷ lệ (%) (n=161)		
	Đề kháng	Trung gian	Nhạy cảm
Ít nhất 01 kháng sinh	37,89% (61)	29,19% (47)	57,14% (92)
Từ 02-05 kháng sinh	22,98% (37)	5,59% (09)	11,80% (19)
Từ 06-11 kháng sinh	8,70% (14)	0% (00)	34,78% (56)

Kết quả khảo sát tình hình kháng kháng sinh của các chủng *Salmonella* phân lập từ các nhóm mẫu khác nhau (bảng 4) cho thấy tỷ lệ kháng TE là cao nhất với 31,68%, thấp nhất là AMC với 1,86%, tỷ lệ kháng đối với các kháng sinh còn lại lần lượt là AM (22,98%), C (22,36%), SXT, STR (21,74%), NA (10,56%), GN (6,21%), CIP (4,97%), OFX (3,73%) và CAZ (3,11%).

Bảng 4. Mức độ kháng từng loại kháng sinh của Salmonella spp.

Kháng sinh	Thịt lợn (n=63)		Thịt bò (n=33)		Thịt gà (n=65)		Chung (n=161)	
	Số chủng đề kháng	%	Số chủng đề kháng	%	Số chủng đề kháng	%	Số chủng đề kháng	%
AMC	02	3,17	00	00	01	1,54	03	1,86
AM	14	22,22	04	12,12	19	29,23	37	22,98
CAZ	02	3,17	00	00	03	4,62	05	3,11
C	12	19,05	02	6,06	22	33,85	36	22,36
NA	05	7,94	01	3,03	11	16,92	17	10,56
CIP	04	6,35	01	3,03	03	4,62	08	4,97
OFX	02	3,17	01	3,03	03	4,62	06	3,73
GN	03	4,76	01	3,03	06	9,23	10	6,21
STR	09	14,29	06	18,18	20	30,77	35	21,74
TE	21	33,30	07	21,21	23	35,38	51	31,68
SXT	12	19,05	03	9,09	20	30,77	35	21,74

Chú thích: AMC (Amoxicillin/Clavunic acid), AM (Ampicillin), CAZ (Ceftazidime), C (Chloramphenicol), NA (Nalidixic acid), CIP (Ciprofloxacin), OFX (Ofloxacin), GN (Gentamycin), STR (Streptomycin), TE (Tetracycline), SXT (Sulfamethoxazol/Trimethoprim).

Xét về nguồn gốc phân lập thì các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt gà có tỷ lệ kháng với từng loại kháng sinh cao hơn các nguồn khác. Đối với TE thì các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt gà có tỷ lệ kháng là 35,38%, cao hơn từ thịt lợn (33,30%). Tương ứng, các chủng khác từ thịt gà so với thịt lợn như sau: SXT có tỷ lệ 30,77% so với 19,05%, STR 30,77% so với 14,29%, C có tỷ lệ 33,85% so với 19,05%, AM có tỷ lệ 29,23% so với 22,22%. *Salmonella* spp. phân lập từ thịt bò nhạy cảm hoàn toàn với AMC và CAZ và có tỷ lệ đề kháng thấp nhất so với các chủng phân lập từ thịt gà và thịt lợn (bảng 4).

Kết quả phát hiện gen đề kháng của các chủng *Salmonella* spp. đa kháng

Trong số 43 chủng *Salmonella* spp. có kiểu hình đa kháng phân lập được phát hiện, có 36/43 chủng mang gen đề kháng (bảng 5). Tỷ lệ phát hiện các gen đề kháng *sul1* (27,90%), *cmlA* (23,26%), *tetA* (21,74%), *sul2* (9,30%), *cmlB* (5,59%). Đối chiếu với kết quả của nhóm tác giả Hoàng Hoài Phương và cộng sự (2008) khi phát hiện gen kháng kháng sinh của 11 chủng *Salmonella* spp. phân lập từ thực phẩm có sự khác biệt với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, theo đó *blaTEM* (90,9%), *sul2* (72,7%), *tetA*, *tetB* và *sul1* cùng là 63,6%, *cmlA* (45,5%) [11].

Bảng 5. Tỷ lệ các *Salmonella* spp. mang gene kháng kháng sinh.

	Thịt lợn (n=14)	Thịt gà (n=25)	Thịt bò (n=04)	Tổng (n=43)
	Số chủng, n (%)	Số chủng, n (%)	Số chủng, n (%)	Số chủng, n (%)
<i>bla/cml/tet/sul</i>	13 (92,86)	21 (84,00)	02 (50,00)	36 (83,72)
<i>blaTEM</i>	11 (78,57)	12 (48,00)	02 (50,00)	25 (58,14)
<i>blaSHV</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>blaCTX</i>	01 (7,14)	03 (12,00)	0 (0)	04 (9,30)
<i>cmlA</i>	05 (35,71)	04 (16,00)	01 (25,00)	10 (23,26)
<i>cmlB</i>	05 (35,71)	04 (16,00)	0 (0)	09 (5,59)
<i>tetA</i>	13 (92,86)	20 (80,00)	02 (50,00)	35 (21,74)
<i>tetB</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>sul1</i>	01 (7,14)	08 (32,00)	0 (0)	12 (27,90)
<i>sul2</i>	01 (7,14)	02 (8,00)	01 (25,00)	04 (9,30)
<i>blaTEM/CTX</i>	01 (7,14)	01 (4,00)	0 (0)	02 (4,65)
<i>blaTEM-cmlA</i>	05 (35,71)	04 (16,00)	01 (25,00)	10 (23,26)
<i>blaTEM-cmlB</i>	05 (35,71)	03 (12,00)	0 (0)	08 (18,60)
<i>blaTEM-cmlA-cmlB</i>	05 (35,71)	03 (12,00)	0 (0)	08 (18,60)
<i>blaTEM-tetA</i>	11 (78,57)	12 (48,00)	02 (50,00)	25 (58,14)
<i>blaCTX-tetA</i>	01 (7,14)	03 (12,00)	0 (0)	04 (9,30)
<i>blaTEM/CTX-tetA</i>	01 (7,14)	01 (4,00)	0 (0)	01 (2,33)
<i>blaTEM-sul1</i>	01 (7,14)	0 (00)	0 (00)	01 (2,33)
<i>blaTEM-sul2</i>	01 (7,14)	02 (8,00)	0 (00)	03 (6,98)
<i>blaCTX-sul1</i>	0 (00)	02 (8,00)	0 (00)	02 (4,65)

Xét theo nguồn gốc phân lập thì các *Salmonella* nguồn gốc từ thịt lợn có tỷ lệ phát hiện gen đề kháng (13/14, 92,86%) cao hơn các chủng có nguồn gốc từ thịt gà (21/25, 84,00%) và thịt bò (2/4, 50,00%). Các gen mã hóa kháng TE được phát hiện cao nhất trong số

các gen đề kháng khác. Đối với gen *tetA*, các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt lợn có tỷ lệ phát hiện 13/14 (92,86%) cao hơn từ nguồn thịt gà 20/25 (80,00%) và thịt bò 2/4 (50,00%). Ở tất cả các nguồn phân lập, chúng tôi không phát hiện gen *tetB*. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ xuất hiện gen *cmlA* 05/14 (35,71%) và *cmlB* 04/25 (16,00%) mã hóa kháng C ở các chủng *Salmonella* phân lập từ thịt lợn và thịt gà tương đương nhau, xét kiểu hình đề kháng hoàn toàn phù hợp, chứng tỏ chúng có vai trò trong việc đề kháng với C ở các mẫu thịt tươi sống. Tỷ lệ phát hiện gen *sul1*, *sul2* mã hóa kháng kháng sinh SXT thấp hơn so với các gen đề kháng khác trong nghiên cứu này. Gen *sul2* phát hiện ở tất cả các chủng *Salmonella* với tỷ lệ 9,30% (4/43), ngược lại gen *sul1* chỉ phát hiện ở các chủng *Salmonella* có nguồn gốc phân lập từ thịt gà 32,00% (8/25) và thịt lợn 7,14% (1/14) (bảng 5).

Đặc điểm kiểu gen mã hóa ESBL của các chủng *Salmonella* spp.

Kết quả ở bảng 6 cho thấy, có 25/43 (58,14%) chủng *Salmonella* mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm TEM và 4/43 (9,30%) chủng mang gen thuộc nhóm CTX. Không phát hiện trường hợp nào mang các gen thuộc nhóm SHV. Kiểu gen TEM phát hiện ở *Salmonella* sinh ESBL phân lập từ thịt lợn cao hơn thịt bò và thịt gà lần lượt là (11/14, 78,57%), (2/4, 50,00%), (12/25, 48,00%). Trong khi đó, kiểu gen CTX chỉ phát hiện ở *Salmonella* sinh ESBL phân lập từ thịt gà (3/25, 12,00%), thịt lợn (1/14, 7,14%).

Bảng 6. Phân bố kiểu gen mã hóa ESBL ở các chủng *Salmonella* spp.

	Kiểu gen mã hóa ESBL, n (%)		
	<i>blaTEM</i> , n (%)	<i>blaCTX</i> , n (%)	<i>blaSHV</i> , n (%)
Thịt lợn (n=14)	11 (78,57)	01 (7,14)	0 (0)
Thịt gà (n=25)	12 (48,00)	03 (12,00)	0 (0)
Thịt bò (n=04)	02 (50,00)	0 (0)	0 (0)
Tổng (n=43)	25 (58,14)	04 (9,30)	0 (0)

Đối chiếu với kiểu hình kháng CAZ (bảng 4) của các chủng *Salmonella* thì có 4/5 chủng có phát hiện gen *blaCTX* với tỷ lệ 80,00%. CAZ là kháng sinh thuộc nhóm cephalosporin thế hệ thứ 3. Các β -lactamase thủy phân nhóm kháng sinh này phần lớn thuộc nhóm CTX, mã hóa bởi gene *blaCTX*, điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Bàn luận

Kết quả phân lập và xác định *Salmonella* spp. của chúng tôi có phần khác biệt so với một vài nghiên cứu khác. Theo đó, Đỗ Ngọc Thủy và cộng sự (2006) công bố rằng trong thịt tươi tại các chợ trên địa bàn Hà Nội, tỷ lệ nhiễm *Salmonella* spp. là 30%, trong đó thịt gà chiếm 47,1%, thịt lợn 27,3% và thịt bò 19% [12]. Nhóm tác giả thuộc Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh đã lấy ngẫu nhiên 1.150 mẫu thực phẩm thịt lợn, gà, bò tươi sống tại các chợ trên địa bàn thành phố. Kết quả, tỷ lệ thịt động vật tươi sống bày bán tại các chợ nhiễm khuẩn *Salmonella* spp. chiếm tới 32,26% (Trần Thị Thùy Giang và cộng sự, 2014 [13]). Tại TP Hồ Chí Minh, kết quả khảo sát của chúng tôi có phần cao hơn so với báo cáo của Lê Văn Du và cộng sự (2017) cho biết, *Salmonella* được phát hiện trong mẫu thịt lợn (43,75%) và mẫu thịt gà (37,24%) [5].

Phân tích tỷ lệ lưu hành các chủng *Salmonella* spp. kháng kháng sinh, kết quả cho thấy có 43/161 (26,71%) chủng *Salmonella* spp. phân lập có kiểu hình đa kháng kháng sinh. Trong đó tỷ lệ vi khuẩn *Salmonella* spp. đa kháng phân lập ở thịt gà 25/65 (38,46%) cao hơn so với thịt lợn 14/63 (22,22%) và thịt bò 4/33 (12,12%). Điều này, có sự khác biệt với kết quả của Trần Thị Thùy Nga và cộng sự (2019) cho thấy có 153/334 (45,8%) chủng *Salmonella* phân lập được từ sản phẩm thịt tươi sống tại khu vực miền Trung có kiểu hình đa kháng kháng sinh. Trong đó tỷ lệ vi khuẩn *Salmonella* đa kháng phân lập ở thịt gà (63,2%) cao hơn so với thịt lợn (47,5%) và thịt bò (34,6%) [14].

Mức độ kháng từng loại kháng sinh của *Salmonella* spp. cũng có sự khác biệt đáng kể so với nghiên cứu của Trương Hà Thái và cộng sự (2017) trên 241 chủng *Salmonella* phân lập từ đối tượng thịt lợn và thịt gia cầm tại các tỉnh miền Bắc. Theo đó, nhóm tác giả này phát hiện *Salmonella* kháng với SXT (34,0%), TET (58,5%), AMP (39,8%) và STR (47,3%) [15]. Tại khu vực phía Nam, nhóm tác giả Hoàng Hoài Phương và cộng sự (2008) cũng phát hiện các chủng *Salmonella* spp. phân lập từ thực phẩm tại TP Hồ Chí Minh đề kháng với SXT (37,5%), AMP (37,5%), CIP (12,5%) và GEN (5%) [11]. Tại khu vực miền Trung, Trần Thị Thùy Nga và cộng sự (2019) khảo sát tình hình kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ các sản phẩm thịt tươi sống tại khu vực miền Trung với tỷ lệ SXT (50,6%), TET (45,8%), AMP (41,6%) và STR (24%) [14].

Đặc điểm của các chủng *Salmonella* có khả năng sinh ESBL mang đồng thời cùng lúc 2 gen *bla*TEM/CTX là rất thấp 2/43 (4,65%), chủ yếu các chủng có nguồn gốc phân lập từ thịt lợn và thịt gà. Tuy nhiên, các chủng *Salmonella* có khả năng sinh ESBL mang gen kháng TE chiếm tỷ lệ 25/43 (58,14%) cao hơn các gen đề kháng khác, phần lớn các chủng có nguồn phân lập từ thịt lợn 11/14 (78,57%). Kể đến là các chủng sinh ESBL mang gen kháng C 10/43 (23,26%), các chủng có nguồn phân lập từ thịt lợn có tỷ lệ 35,71% (5/14) cao hơn thịt bò 1/4 (25,00%) và thịt gà 4/25 (16,00%). Sau cùng, các chủng sinh ESBL mang gen kháng SXT là thấp nhất với tỷ lệ 6,98% (3/43).

Kết luận

Mức độ vấy nhiễm *Salmonella* spp. từ thịt tươi sống là 42,37%. Khả năng kháng kháng sinh của *Salmonella* với 1 loại kháng sinh (37,89%), từ 2 đến 5 loại kháng sinh (22,98%) và từ 6 đến 11 loại kháng sinh (8,70%). Tỷ lệ *Salmonella* đa kháng là 26,71%. Kháng sinh có tỷ lệ kháng cao nhất là TE với 31,68% và thấp nhất là AMC với 1,86%. Phát hiện 83,72% chủng mang gen kháng kháng sinh và 58,14% chủng mang gen mã hóa ESBL thuộc nhóm TEM và 4/43 (9,30%) chủng mang gen thuộc nhóm CTX. Không phát hiện các gen thuộc nhóm SHV.

Từ kết quả nghiên cứu này có thể thấy rằng, vi khuẩn *Salmonella* có nguồn gốc phân lập từ thịt tươi sống bán lẻ tại các chợ truyền thống trên địa bàn TP Hồ Chí Minh có tỷ lệ đa kháng, mang gen kháng kháng sinh ở mức khá cao, đặc biệt là các chủng sinh ESBL mang gen mã hóa đề kháng. Đây là cơ sở khoa học phục vụ cho công tác giám sát vi khuẩn kháng thuốc lan truyền thông qua chuỗi thực phẩm. Kết quả của nghiên cứu này cung cấp thêm bằng chứng trực tiếp về tình trạng nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm và sự lưu hành các chủng kháng kháng sinh ở TP Hồ Chí Minh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ về kinh phí từ nhiệm vụ khoa học công nghệ thuộc Hợp đồng số 70/2019/HĐ-QPTKHCN của Sở Khoa học và Công nghệ TP Hồ Chí Minh. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S.K. Eng, P. Pusparajah, N.S. Ab Mutalib, H.L. Ser, K.G. Chan, L.H. Lee (2015), "Salmonella: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance", *Front Life Sci.*, **8(3)**, pp.284-293.
- [2] Nguyễn Thanh Việt, Nghiêm Ngọc Minh, Võ Thị Bích Thuý (2018), "Nghiên cứu đặc điểm kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* phân lập từ mẫu thịt lợn, thịt bò và thịt gà tại các chợ bán lẻ tại Hà Nội", *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, **16(3)**, tr.553-564.
- [3] Nguyễn Đức Trung (2004), "Đặc điểm kháng kháng sinh và cơ chế truyền gen kháng thuốc ở các chủng *Salmonella typhi* phân lập tại Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Công nghệ*, **89(01/2)**, tr.157-161.
- [4] V.T.N. Divek, V. Kumar, K.J. Anup (2018), "Antibiotic resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control", *Foods*, **7(167)**, pp.1-24.
- [5] Lê Văn Du, Hồ Thị Kim Hoa (2017), "Tình hình tồn dư chất tạo nạc, kháng sinh và nhiễm *Salmonella* trong thịt lợn và gà tiêu thụ tại TP Hồ Chí Minh", *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp*, **5**, tr.46-55.
- [6] Bộ Y tế (2011), *Thông tư 14/2011/TT-BYT ngày 1/4/2011 hướng dẫn chung về lấy mẫu thực phẩm phục vụ thanh tra, kiểm tra chất lượng, vệ sinh an toàn thực phẩm*.
- [7] ISO 6579-1:2017, Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - part 1: Detection of *Salmonella* spp.
- [8] <http://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>.
- [9] Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2017), *Quyết định 2625/QĐ-BNN-TY ngày 21/6/2017 về Kế hoạch hành động quốc gia về quản lý sử dụng kháng sinh và phòng chống kháng kháng sinh trong chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản giai đoạn 2017-2020*.
- [10] Bộ Khoa học và Công nghệ (2010), *TCVN 8342:2010: Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Phát hiện Salmonella bằng kỹ thuật phản ứng chuỗi polymeraza (PCR)*.
- [11] Hoàng Hoài Phương, Nguyễn Thị Kê, Phạm Hùng Văn, Nguyễn Đỗ Phúc, Nguyễn Thị Anh Đào và Trần Thị Ngọc Phương (2008), "Khảo sát gen kháng kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh phân lập từ thực phẩm", *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, **12(4)**, pp.283-290.
- [12] Đỗ Ngọc Thúy, Cù Hữu Phú, Văn Thị Hương, Đào Thị Hào, Nguyễn Xuân Huyền, Nguyễn Bạch Huệ (2006), "Đánh giá tình hình nhiễm một số loại vi khuẩn gây bệnh trong thịt lợn tươi trên địa bàn Hà Nội", *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, **3(8)**, tr.48-54.
- [13] Trần Thị Thùy Giang, Nguyễn Thị Nguyệt, Nguyễn Văn Trí, Nguyễn Thị Lê, Vương Xuân Vân, Ông Nguyễn Đức Ninh, Phạm Minh Thu, Cao Hữu Nghĩa (2014), "Khảo sát độ nhiễm khuẩn và khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* phân lập từ thực phẩm tại Viện Pasteur", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*, **61**, tr.164-172.
- [14] Trần Thị Thùy Nga, Lê Quốc Phong, Nguyễn Thị Ngọc Duyên, Đào Thị Vân Khánh, Viên Quang Mai, Lê Xuân Huy, Đỗ Thái Hùng (2019), "Thực trạng kháng kháng sinh của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại khu vực miền Trung", *Tạp chí Y học Dự phòng*, **29(11)**, tr.272-279.
- [15] Trương Hà Thái, Phạm Hồng Ngân, Chu Thị Thanh Hương (2017), "Khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* và *Salmonella* phân lập từ trứng gia cầm bán tại một số chợ trên địa bàn TP Hà Nội", *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **15(6)**, tr.770-775.

Nghiên cứu bổ sung whey protein để cải thiện chất lượng xúc xích nhũ tương

Phan Thanh Tâm*, Houangsa Honglikith

Viện Công nghệ sinh học - Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

Ngày nhận bài 26/3/2021; ngày chuyển phản biện 31/3/2021; ngày nhận phản biện 17/5/2021; ngày chấp nhận đăng 21/5/2021

Tóm tắt:

Xúc xích nhũ tương (emulsion sausages) là một trong các nhóm sản phẩm thịt rất phổ biến trên thế giới bởi hương vị thơm ngon, giá trị dinh dưỡng và đặc biệt bởi cấu trúc giòn, đàn hồi rất hấp dẫn. Ở Việt Nam, dòng sản phẩm xúc xích nhũ tương hiện đang chiếm phổ biến thị phần của nhóm sản phẩm thịt và được các công ty lớn sản xuất chủ đạo như Đức Việt, CP, Dabaco, Mavin... Chất lượng của xúc xích nhũ tương được quyết định bởi rất nhiều yếu tố, và nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của việc bổ sung whey protein đến chất lượng của xúc xích nhũ tương nhằm cải thiện cấu trúc, màu sắc, độ bền vững, đồng thời đưa ra các thông số công nghệ (chế độ gia nhiệt, bảo quản) phù hợp.

Từ khóa: độ bền gel, hệ nhũ tương thịt, whey protein, xúc xích nhũ tương.

Chi số phân loại: 2.10

A study on whey protein supplementation to improve emulsion sausage quality

Thanh Tam Phan*, Honglikith Houangsa

School of Biotechnology and Food Technology,
Hanoi University of Science and Technology

Received 26 March 2021; accepted 21 May 2021

Abstract:

Emulsion sausages are one of the most popular meat product groups in the world because of their delicious taste, nutritional value, and firm and elastic texture, which is very favourable. In Vietnam, the emulsion sausage product line currently occupies the most popular market share in the meat product group and is mainly produced by big companies such as Duc Viet, CP, Dabaco, Mavin, etc. The quality of this product is determined by many factors. Therefore, this study investigated the effect of whey protein supplementation on the quality of sausage emulsion to improve the structure, color, and stability, and provided suitable technology parameters (heating mode and store condition).

Keywords: emulsion sausage, gel strength, meat emulsion, whey protein.

Classification number: 2.10

Đặt vấn đề

Trên thế giới, xúc xích nhũ tương là một trong các nhóm sản phẩm thịt rất phổ biến và phong phú với các tên nổi tiếng như Frankfurter, Bologna Mortadella... Trong nước, dòng sản phẩm này được du nhập từ nước ngoài với các thương hiệu ban đầu như xúc xích Đức Việt, Hạ Long, Vissan... và gần đây xuất hiện rất nhiều thương hiệu mới (như xúc xích CP, Dabaco, Mavin...) khác nhau bởi thành phần nguyên liệu, gia vị, phụ gia hay công nghệ sản xuất... Chất lượng nhóm sản phẩm này được quyết định bởi rất nhiều yếu tố, trong đó thành phần nguyên liệu thịt/mỡ, các gia vị, phụ gia, công nghệ khi xay, cắt, gia nhiệt ảnh hưởng nhiều nhất đến chất lượng và hương vị của sản phẩm [1, 2].

Whey protein được biết đến chính là dịch whey thu hồi từ công nghệ sản xuất phomat, sau đó được xử lý cô đặc, sấy phun... chứa nhiều protein hòa tan của sữa. Whey protein không chỉ có giá trị dinh dưỡng cao mà còn có khả năng tạo cấu trúc tốt cho các sản phẩm thực phẩm, đặc biệt tăng cường cấu trúc gel cho xúc xích nhũ tương và đã được một số nghiên cứu trên thế giới đề cập đến [3-5]. Ở các nghiên cứu này, whey protein với hàm lượng protein 30-80% được ứng dụng cho một số sản phẩm thịt (như xúc xích nhũ tương từ 1 đến 5%) đều giúp cải thiện khả năng giữ nước, tăng cấu trúc gel và độ đàn hồi cho sản phẩm. Hơn nữa, các nghiên cứu cũng cho thấy whey protein còn có tác dụng làm giảm lượng vi sinh vật tổng số, coliform và nấm men khi bảo quản xúc xích nhũ tương trong 25 ngày ở 0-4°.

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về ứng dụng của whey protein trong sản xuất thực phẩm gần như chưa được đề cập. Nghiên cứu này mong muốn tìm được loại và lượng whey protein phù hợp nhằm cải thiện chất lượng của xúc xích nhũ tương, đặc biệt về cấu trúc, màu sắc, độ bền vững khi bảo quản. Bên cạnh đó, các quá

*Tác giả liên hệ: Email: tam.phanthanh@hust.edu.vn

trình công nghệ như gia nhiệt, bảo quản cũng được đánh giá để phù hợp với loại sản phẩm này.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

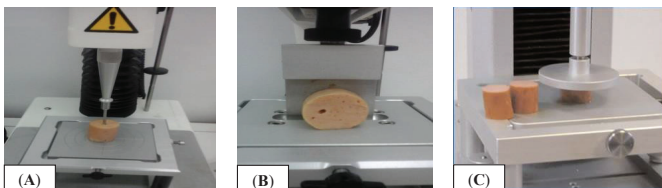
Nguyên liệu

Nguyên liệu thịt lợn và mỡ lợn được thu mua tại các cơ sở kinh doanh thịt, đảm bảo TCVN. Vỏ bao Collagen Edicas (Tây Ban Nha) đường kính 26 mm. Các gia vị, phụ gia: muối ăn, đường, mì chính (Việt Nam), Sodium pyrophosphate - TSPP và Sodium tripolyphosphate - STPP (loại Food Grade, Pháp), whey protein WPC 30 và 80% (xuất xứ Hà Lan, có hàm lượng ẩm <5%, protein 30-80%, và các thành phần còn lại là lactoza, chất béo, khoáng...). Đây là 2 loại whey protein có hàm lượng protein thấp nhất (30%) và cao nhất (80%) trong nhóm WPC được lựa chọn cho nghiên cứu này.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân tích:

- Xác định pH theo tiêu chuẩn TCVN 4834-1990.
- Đánh giá cấu trúc của các sản phẩm bằng thiết bị đo cấu trúc Texture Analyser TA.XT Plus.
- Đo lực nén ép (độ bền gel) bằng đầu đo hình cầu Spherical stainless 5 mm (P/5S).
- Đo lực cắt (Cutting force - độ rắn chắc thể hiện lực cắn) bằng đầu đo Warner Bratzler (HDP/BSW).
- Đo độ đàn hồi (độ biến dạng) bằng đầu đo dạng đĩa nén P/100, sử dụng phương pháp phân tích bộ cấu trúc TPA (Texture Profile Analysis).



Đo lực nén (A), lực cắt (B) và độ đàn hồi của sản phẩm (C).

- Đo màu sắc xúc xích: đo màu sắc của sản phẩm bằng thiết bị đo màu Spectrophotometer colorlite SPH 860 qua các giá trị L^* , a^* , b^* . Trong đó, L^* : thang đo 0-100 ứng với cường độ từ tối đến sáng của sản phẩm; a^* : sắc độ của màu từ xanh lá cây đến đỏ; b^* : sắc độ từ xanh dương đến vàng.

- Phương pháp định lượng tổng vi sinh vật hiếu khí trên môi trường PCA (TCVN 4884-2:2015).

Phương pháp bố trí thí nghiệm:

- Quy trình sản xuất xúc xích nhũ tương được thực hiện như sau [4]: nguyên liệu (thịt/mỡ lạnh đông) → rửa đông (-5°C) → cắt/cưa miếng, xay → băm nhuyễn, phối trộn (tạo nhũ tương) → nhồi, định lượng → sấy → hấp → làm nguội → đóng gói, hoàn thiện → bảo quản lạnh (sản phẩm). Các nguyên liệu phụ, phụ gia, whey protein

và đá vảy được bổ sung vào công đoạn băm nhuyễn, phối trộn.

- Công thức phối trộn xúc xích nhũ tương: thịt lợn sản vai (60%), mỡ lợn (25%); phụ gia, gia vị: NaCl, hỗn hợp muối photphat, NaNO_2 , erythobate, bột tiêu, bột tỏi, tinh bột biến tính, whey protein loại 30 và 80%, đá vảy, vỏ bao collagen đường kính 26 mm, khối lượng 50 g/chiếc. Mỗi mẻ tiến hành sản xuất 2 kg xúc xích nhũ tương để bảo quản và đánh giá các chỉ tiêu, các thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần, số liệu được xử lý bằng Excel.

- Nghiên cứu lựa chọn loại và lượng whey protein bổ sung phù hợp cho chất lượng cấu trúc xúc xích tốt nhất. Tiến hành sản xuất 6 mẫu xúc xích nhũ tương có thành phần phối trộn và công nghệ giống nhau như trên, chỉ thay đổi hàm lượng và loại whey protein và lượng đá vảy (thay đổi theo chất khô) và mẫu 7 là kiểm chứng không bổ sung whey theo bảng 1. Hàm lượng whey protein được khảo sát trước đó với hàm lượng từ 1 đến <3%, tuy nhiên cho hiệu quả không cao, do vậy ở bảng này tiến hành bổ sung WPC với hàm lượng 3-8%, tương ứng với hàm lượng đá vảy 8-16% tăng theo lượng WPC bổ sung do cần lượng nước đá từ đá vảy để hòa tan lượng chất khô bổ sung thêm.

Bảng 1. Hàm lượng whey protein và đá vảy sử dụng cho 7 mẫu xúc xích.

Mẫu xúc xích	1	2	3	4	5	6	7
HL whey protein 30 (%)	3	5	8	-	-	-	0
HL whey protein 80 (%)	-	-	-	3	5	8	0
HL đá vảy (%)	8	12	16	8	12	16	5

Ghi chú: HL: hàm lượng.

- Nghiên cứu lựa chọn chế độ gia nhiệt phù hợp cho xúc xích nhũ tương có bổ sung whey protein. Tiến hành làm mẫu xúc xích nhũ tương có tỷ lệ thịt nạc/mỡ/đá, gia vị phụ gia, tỷ lệ whey protein như nhau đã xác định được ở bước trên, chỉ khác nhau về chế độ gia nhiệt như bảng 2. Sấy ở nhiệt độ 50-60°C là công đoạn đầu tiên khi gia nhiệt, giúp làm giảm ẩm và tăng phản ứng làm bền màu đỏ hồng mô cơ bởi sự kết hợp của NO với sắc tố myoglobin của mô cơ thịt, giai đoạn này còn giúp tạo mối liên kết -S-S- làm tăng cấu trúc gel cho protein thịt.

Bảng 2. Các chế độ gia nhiệt xúc xích nhũ tương nghiên cứu.

	Mẫu 1 (chế độ I)	Mẫu 2 (chế độ II)	Mẫu 3 (chế độ III)
Thời gian sấy ở 50°C	45 phút	30 phút	15 phút
Thời gian sấy ở 60°C	15 phút	30 phút	45 phút

- Nghiên cứu đánh giá chất lượng (cấu trúc, vi sinh vật) của xúc xích nhũ tương có bổ sung whey protein so với mẫu kiểm chứng không bổ sung trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ -3 đến -5°C.

Kết quả

Nghiên cứu lựa chọn loại và lượng whey protein phù hợp để bổ sung vào xúc xích nhũ tương

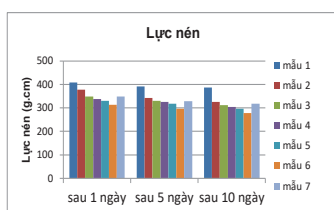
Tiến hành làm 7 mẫu xúc xích nhũ tương có tỷ lệ thịt nạc/mỡ và gia vị phụ gia, thành phần như nhau theo quy trình trên, chỉ

khác nhau về loại và lượng whey protein, lượng đá vảy (bảng 1). Sau khi gia nhiệt sấy ở 50°C (30 phút), 60°C (30 phút) và hấp bằng hơi nước ở 85°C trong 20 phút, các mẫu xúc xích được làm nguội, đóng gói, bảo quản ở 4°C và đem phân tích các chỉ tiêu cấu trúc lực nén, lực cắt và các chỉ số màu sau 1, 5 và 10 ngày. Kết quả đánh giá cấu trúc như sau:

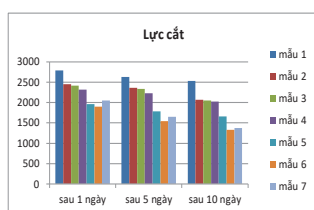
Lực nén: kết quả đánh giá lực nén (độ bền gel) của các mẫu xúc xích ở hình 1 cho thấy, sau 10 ngày, mẫu 1 giữ được cường độ gel (lực nén) ở mức cao nhất (408,02-387,39 g.cm); hai mẫu 2 và 7 có cường độ gel cao thứ 2 và 3, lần lượt là 378,41-325,69 và 348,36-318,48 g.cm; mẫu 6 có cường độ gel thấp nhất.

Lực cắt: các mẫu xúc xích sau khi bảo quản được tiến hành đo lực cắt tại các thời điểm sau 1, 5 và 10 ngày để đánh giá sự rắn chắc của sản phẩm theo thời gian. Mẫu 1 có lực cắt đo được lớn nhất (2789,55-2530,67 g), sau đó là mẫu 2 (2452,7-2066,67 g), mẫu 6 có lực cắt thấp nhất (1895,15-1329,23 g) (hình 2).

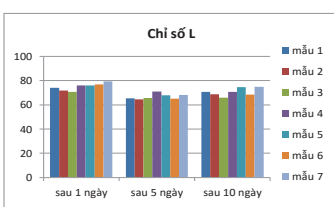
Đo màu xúc xích (L, a, b): các mẫu xúc xích sau khi bảo quản được tiến hành đo màu tại các thời điểm sau 1, 5 và 10 ngày để đánh giá sự thay đổi màu sắc của sản phẩm theo thời gian thông



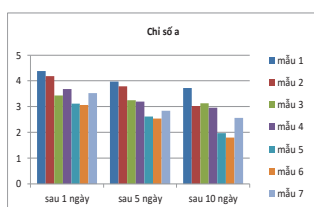
Hình 1. Lực nén của các mẫu xúc xích khi bổ sung hàm lượng whey protein khác nhau.



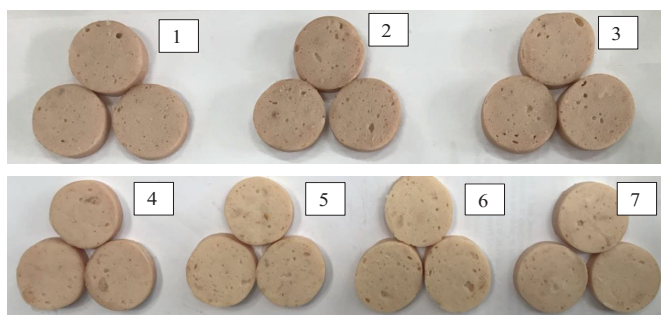
Hình 2. Lực cắt của các mẫu xúc xích khi bổ sung hàm lượng whey protein khác nhau.



Hình 3. Chỉ số L của mẫu xúc xích bổ sung hàm lượng whey protein khác nhau.



Hình 4. Chỉ số a của mẫu xúc xích bổ sung hàm lượng whey protein khác nhau.



Hình 5. Ảnh chụp lát cắt 7 mẫu xúc xích nhũ tương có bổ sung hàm lượng whey protein sau 10 ngày bảo quản ở 4°C.

qua chỉ số đo màu L và a. Kết quả thể hiện ở hình 3-5.

Kết quả đo màu hình 3 và 4 cho thấy, chỉ số L (độ sáng tối) giữa các mẫu qua các ngày là không có nhiều sự khác biệt. Với chỉ số a (ứng với cường độ màu đỏ) thì lại có sự khác nhau khá rõ giữa các mẫu, những mẫu bổ sung whey protein WPC 30% cho màu đỏ hồng đậm hơn so với những mẫu khác, đặc biệt là mẫu 1 với tỷ lệ whey protein 3% cho màu đỏ hồng đậm nhất. Cường độ màu đỏ hồng đặc trưng mô cơ là một thuộc tính quan trọng của các sản phẩm thịt và được đánh giá cao về mặt cảm quan.

Kết quả trên cho thấy, loại whey protein và hàm lượng bổ sung phù hợp nhất cho sản phẩm xúc xích nhũ tương là WPC 30% với tỷ lệ 3%. Kết quả này cũng khá phù hợp với nghiên cứu của Badpa Abdolgafor và cs (2014) [4] là khi sử dụng WPC với hàm lượng 3-4% cho khả năng giữ nước và cấu trúc gel của xúc xích nhũ tương cao nhất.

Nghiên cứu lựa chọn một số yếu tố công nghệ phù hợp sản xuất xúc xích nhũ tương có bổ sung whey protein

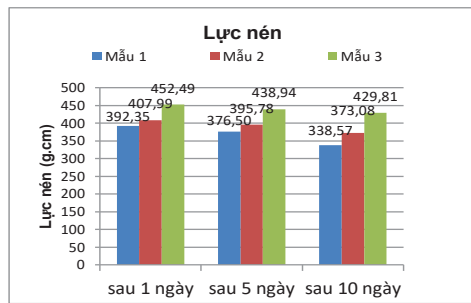
Nghiên cứu lựa chọn chế độ gia nhiệt phù hợp: quá trình gia nhiệt xúc xích nhũ tương thường được tiến hành theo 2 giai đoạn, giai đoạn 1 là quá trình sấy ở nhiệt độ 50-60°C với thời gian nhất định giúp làm se bề mặt, tạo điều kiện cho enzyme proteaza tạo mùi vị thơm ngon, màu sắc đỏ hồng cho mô cơ thịt. Đây cũng là giai đoạn hỗn hợp protein thịt trải qua khoảng nhiệt độ rất quan trọng là 40°C giúp tạo các mối liên kết disulfua -S-S- làm bền gel cho cấu trúc xúc xích. Do vậy, tiến hành làm 3 mẫu xúc xích nhũ tương bổ sung 3% whey protein WPC 30% có khối lượng 50 g/chiếc với chế độ gia nhiệt khác nhau như bảng 2, kết quả đo nhiệt độ tại tâm sản phẩm thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Chế độ gia nhiệt xúc xích và thời gian duy trì tâm sản phẩm ở 40°C.

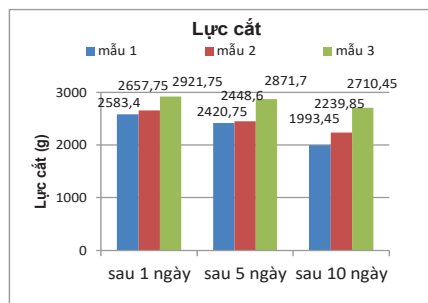
	Mẫu 1 (chế độ I)	Mẫu 2 (chế độ II)	Mẫu 3 (chế độ III)
Thời gian sấy ở 50°C	45 phút	30 phút	15 phút
Thời gian sấy ở 60°C	15 phút	30 phút	45 phút
Thời gian duy trì tâm sản phẩm ở 40°C (38-45°C)	6 phút	9 phút	18 phút

Kết quả cho thấy, chế độ sấy III ở 50°C/15 phút và nâng lên 60°C/45 phút duy trì được nhiệt độ tâm sản phẩm ở khoảng 40°C trong thời gian lâu hơn (18 phút) so với các mẫu còn lại, đây là nhiệt độ cần thiết để quá trình tạo gel của sản phẩm đạt hiệu quả cao nhất do hình thành mối liên kết disulfua -S-S- nhiều hơn. Sau đó xúc xích sẽ được gia nhiệt hoàn thiện ở giai đoạn 2 là tiến hành hấp bằng hơi nước bão hòa không chế ở 85°C để tâm sản phẩm đạt 70°C (nhiệt độ này sẽ làm chín xúc xích, tiêu diệt vi sinh vật sinh dưỡng, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm). Sau đó, xúc xích được làm nguội và đóng gói đưa đi bảo quản ở 4°C, được đánh giá cấu trúc về độ bền gel thông qua lực nén và độ rắn chắc thông qua lực cắt, kết quả thể hiện ở hình 6 và 7.

Kết quả cho thấy, mẫu 3 có lực nén cao nhất (452,49-429,81 g.cm), tiếp đó là mẫu 2 (407,99-373,08 g.cm) và thấp nhất là mẫu 1 (392,35-338,57 g.cm). Điều này khá phù hợp với lý thuyết và các nghiên cứu trước đó khi thời gian gia nhiệt ở nhiệt độ 40°C càng



Hình 6. Lực nén các mẫu xúc xích nhũ tương ở 3 chế độ gia nhiệt khác nhau.



Hình 7. Lực cắt các mẫu xúc xích nhũ tương ở 3 chế độ gia nhiệt khác nhau.

xích đánh giá sau 40 ngày bảo quản ở 0-4°C cho chất lượng khá tốt, đặc biệt về cấu trúc được đánh giá cảm quan cao hơn hẳn mẫu xúc xích không bổ sung WPC.

Nghiên cứu đánh giá chất lượng của xúc xích nhũ tương trong quá trình bảo quản ở nhiệt độ thấp -5°C: thông thường dòng xúc xích nhũ tương trên thị trường thường được bảo quản ở nhiệt độ 0-4°C với thời hạn sử dụng 30-40 ngày. Với mong muốn kéo dài thời gian bảo quản hơn nữa cho dòng xúc

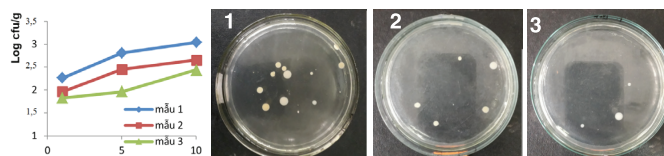
dài thì mới liên kết -S-S- tạo thành càng nhiều và càng làm tăng độ bền gel cho sản phẩm. Tương tự kết quả đo lực cắt (hình 7) cho thấy, mẫu xúc xích 3 cũng có lực cắt cao nhất sau 1, 5 và 10 ngày bảo quản là 2921,75-2710,45 g.

Kết quả đánh giá màu sắc của 3 mẫu xúc xích cho thấy, độ sáng L của các mẫu không sai khác nhiều sau sản xuất 1 và 10 ngày bảo quản, tuy nhiên màu đỏ hồng đặc trưng cho mô cơ thịt thể hiện qua chỉ số a thì có sự sai khác giữa các mẫu (hình 8), mẫu 3 có chỉ số a cao nhất ($5,05 \pm 0,08$) sau 1 ngày và giảm còn ($4,61 \pm 0,13$) sau 10 ngày bảo quản.



Hình 8. Màu sắc lát cắt các mẫu xúc xích nhũ tương ở 3 chế độ gia nhiệt khác nhau sau 10 ngày.

Các mẫu xúc xích với các chế độ gia nhiệt khác nhau, sau khi bảo quản được tiến hành đánh giá chỉ tiêu vi sinh vật tại các thời điểm sau 1, 5 và 10 ngày để đánh giá mức độ hư hỏng của sản phẩm theo thời gian thông qua sự biến đổi tổng vi sinh vật hiếu khí. Kết quả đánh giá ở hình 9 cho thấy, mẫu 3 luôn có lượng vi sinh vật tổng số thấp nhất qua các ngày, và cho thấy hiệu quả tiêu diệt vi sinh vật của chế độ gia nhiệt này là cao nhất.



Hình 9. Sự biến đổi số lượng tổng vi sinh vật hiếu khí và ảnh khuẩn lạc vi sinh vật tổng số (độ pha loãng 10^{-1}) của các mẫu xúc xích nhũ tương ở 3 chế độ gia nhiệt khác nhau.

Với các kết quả trên cho thấy, chế độ gia nhiệt III (sấy ở 50°C trong 15 phút, sau đó tăng lên 60°C trong 45 phút và cuối cùng hấp bổ sung ở 85°C trong 20 phút) là chế độ gia nhiệt phù hợp nhất cho xúc xích nhũ tương có bổ sung whey protein 30%. Chất lượng xúc

xích này ở nhiệt độ thấp hơn (<0°C) mà chất lượng và đặc biệt cấu trúc xúc xích không bị suy giảm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đánh giá chất lượng xúc xích nhũ tương có bổ sung whey protein khi bảo quản ở -5°C.

Tiến hành làm 2 mẫu xúc xích nhũ tương có tỷ lệ thịt nạc/mỡ/da và gia vị phụ gia, mẫu thí nghiệm bổ sung whey protein WPC 30% với hàm lượng 3% (tỷ lệ da vảy 8%) và mẫu kiểm chứng không bổ sung whey protein (tỷ lệ da vảy 5%). Sau khi gia nhiệt với chế độ III như trên, tiến hành làm nguội, đóng gói bảo quản ở -5°C và đánh giá các chỉ tiêu chất lượng trong thời gian 90 ngày (các mẫu sau khi lấy ra khỏi tủ lạnh bảo quản được rã đông trong 0,5÷1h để đưa về nhiệt độ 4°C rồi đưa đi phân tích các chỉ tiêu).

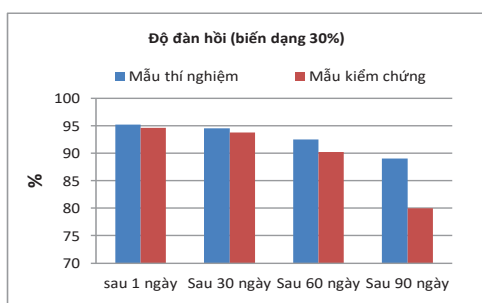
Chỉ tiêu pH gián tiếp đánh giá sự biến đổi chất lượng của sản phẩm thịt trong quá trình bảo quản, pH càng ổn định thì sự biến đổi về chất lượng vi sinh, mùi vị và cấu trúc càng ổn định, ít bị suy giảm. Kết quả thay đổi pH của 2 mẫu xúc xích theo thời gian bảo quản được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đo độ pH của các mẫu xúc xích nhũ tương trong quá trình bảo quản ở -5°C.

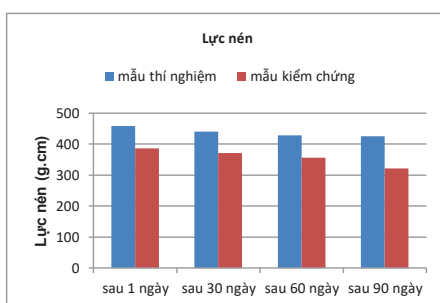
	pH			
	1 ngày	30 ngày	60 ngày	90 ngày
Mẫu thí nghiệm	6,22±0,02	6,19±0,01	6,17±0,02	6,13±0,02
Mẫu đối chứng	6,16±0,01	6,07±0,02	5,97±0,02	5,85±0,02

Sau 90 ngày theo dõi, độ pH của mẫu kiểm chứng có dấu hiệu sụt giảm (từ 6,16 xuống 5,97 sau 60 ngày và 5,85 sau 90 ngày), còn mẫu thí nghiệm có bổ sung whey protein pH khá ổn định và ít có sự thay đổi (sau 90 ngày giảm từ 6,22 xuống 6,13). Qua đó cho thấy, whey protein ít nhiều có vai trò làm ổn định chất lượng cả về vi sinh và gián tiếp là ổn định cấu trúc, mùi vị cho sản phẩm tốt hơn. Điều này có thể được giải thích do trong thành phần của WPC có đường lactoza và các axit amin của sữa nên có khả năng tham gia phản ứng Maillard khi gia nhiệt, tạo nên các hợp chất melanodin vừa làm tăng cường độ màu, vừa có khả năng kháng khuẩn [5].

Kết quả đánh giá cấu trúc (độ đàn hồi biến dạng) và độ bền gel (thông qua đo lực nén) của xúc xích nhũ tương bảo quản ở -5°C được thể hiện ở hình 10 và 11.



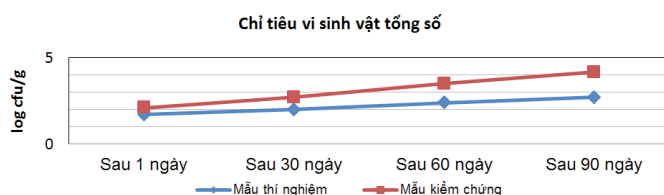
Hình 10. Độ đàn hồi (độ biến dạng 30%) của các mẫu xúc xích nhũ tương trong quá trình bảo quản ở -5°C.



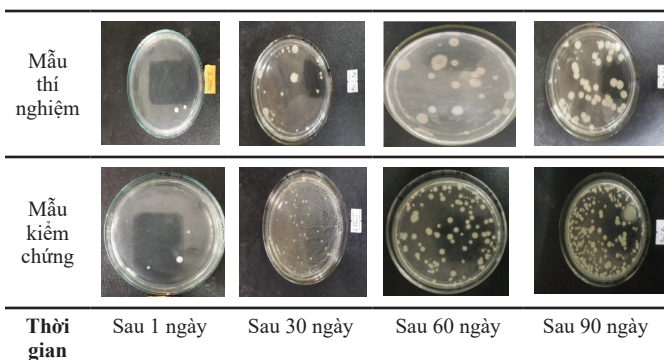
Hình 11. Lực nén của các mẫu xúc xích nhũ tương trong quá trình bảo quản ở -5°C.

Sau 90 ngày theo dõi, độ đàn hồi của mẫu thí nghiệm luôn cho thấy sự ổn định hơn và giảm khá ít (95 xuống 89%), với mẫu kiểm chứng không bổ sung whey protein thì giảm khá nhiều (95 xuống 80%). Về độ bền gel, với mẫu thí nghiệm giảm từ 458,8 xuống 425,4 g.cm, ở ngưỡng vẫn khá tốt và được chấp nhận của người tiêu dùng (>400 g.cm), trong khi đó mẫu kiểm chứng có dấu hiệu sụt giảm mạnh (từ 385,65 xuống 321,05 g.cm). Điều này cho thấy hiệu quả khá rõ rệt của whey protein trong việc làm tăng và ổn định cấu trúc của xúc xích nhũ tương.

Kết quả đánh giá chỉ số a - đặc trưng cho màu đỏ hồng của mẫu thí nghiệm có bổ sung whey protein có giá trị giảm khá ít, từ $5,08 \pm 0,04$ sau 1 ngày sản xuất xuống còn $4,20 \pm 0,11$ sau 90 ngày bảo quản ở -5°C; với mẫu không bổ sung thì a giảm khá nhiều, từ $3,48 \pm 0,05$ ban đầu xuống còn $2,15 \pm 0,09$, và đánh giá cảm quan cũng nhìn thấy mẫu này có màu khá nhạt so với mẫu có bổ sung.



Hình 12. Sự biến đổi số lượng tổng vi sinh vật hiếu khí của mẫu xúc xích (có và không bổ sung whey protein) trong quá trình bảo quản ở -5°C.



Hình 13. Ảnh khuẩn lạc tổng vi sinh vật hiếu khí của 2 mẫu xúc xích nhũ tương trong quá trình bảo quản ở -5°C (độ pha loãng 10^{-1}).

Kết quả đánh giá tổng lượng vi sinh vật hiếu khí của 2 mẫu xúc xích khi bảo quản ở -5°C được thể hiện ở hình 12 và 13 cho thấy, mẫu có bổ sung whey protein có sự tăng số lượng tổng vi sinh vật hiếu khí chậm hơn và sau 90 ngày vẫn đạt chỉ tiêu cho phép $\log CFU \leq 3$, mẫu kiểm chứng cảm quan thấy hơi nhớt và bắt đầu hồng, chứng tỏ whey protein có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật. Điều này cũng khá phù hợp với kết quả của một

số tác giả khi đánh giá hiệu quả của việc sử dụng WPC trong chế biến các sản phẩm thịt [3, 5], bởi do các hợp chất của WPC có khả năng tham gia phản ứng Maillard khi gia nhiệt, tạo hợp chất có khả năng ức chế vi sinh vật.

Kết quả đánh giá cảm quan cả 2 mẫu xúc xích cho thấy, mẫu bổ sung whey protein được đánh giá cảm quan tốt hơn nhiều về các chỉ tiêu (cấu trúc, mùi vị, màu sắc) sau 90 ngày bảo quản ở -5°C, cụ thể các đặc tính như màu đỏ hồng, lát cắt mịn, cấu trúc rắn chắc, mùi thơm gia vị... cũng như mức độ ưa thích của người dùng.

Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi thêm whey protein WPC 30% với hàm lượng bổ sung 3% vào xúc xích nhũ tương cho chất lượng tốt hơn hẳn các mẫu khác về tất cả các chỉ tiêu màu sắc, độ bền gel, độ rắn chắc.

Chế độ gia nhiệt ở công đoạn sấy phù hợp cho xúc xích nhũ tương có bổ sung whey protein là sấy ở 50°C trong 15 phút, nâng lên 60°C trong 45 phút và hấp ở 85°C trong 20 phút sẽ cho xúc xích có màu sắc đỏ hồng đẹp và cấu trúc gel tốt nhất.

Thời gian bảo quản với mẫu xúc xích có bổ sung 3% whey protein WPC 30% ở -5°C đến 90 ngày cho chất lượng khá ổn định và đạt yêu cầu về tất cả các chỉ tiêu màu sắc, mùi vị, cấu trúc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H.V. Alan, P.S. Jane (1995), *Meat and meat products (technology, chemistry and microbiology)*, Springer, pp.314-354.
- [2] A.M. Pearson, T.A. Gillet (1996), *Processed meats*, Chapman & Hall.
- [3] Abdolgafor Badpa, Saghir Ahmad (2015), "Effect of whey protein products on microbiological characteristics of buffalo meat emulsion sausage", *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, **11**, pp.260-272.
- [4] Badpa Abdolgafor (2014), "Effect of whey protein concentrate on quality and shelf life of buffalo meat emulsion sausage", *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, **1(4)**, pp.201-210.
- [5] Gitanjali Prabhu (2006), *U.S. whey proteins in processed meats*, U.S. Dairy Export Council.

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 - MOST

Volume 63 - Number 8 - August 2021

Nghiên cứu ảnh hưởng của vật liệu đế α -SiO₂ đến khả năng hấp phụ khí CO của graphene bằng tính toán mô phỏng lý thuyết phiếm hàm mật độ.

Phùng Thị Việt Bắc, Phạm Bá Lịch, Đinh Văn An

Nghiên cứu florua hóa dysprozi oxit bằng tác nhân amoni biflorua điều chế muối dysprozi florua.

Nguyễn Trọng Hùng, Lê Bá Thuận, Nguyễn Thanh Thủy

Nghiên cứu thành phần đồng vị của nước mưa khu vực thành phố Long Khánh, miền Đông Nam Bộ.

Bùi Quang Trí, Huỳnh Thị Thu Hương, Phạm Uyên Thi, Dương Thị Bích Chi, Phan Thị Luân, Lê Thị Thanh Tâm, Trần Trí Hải, Lê Văn Sơn, Nguyễn Văn Mười, Đặng Đức Nhận

Nghiên cứu hình thái hạt phấn của họ Nhài (*Oleaceae* Hoffmanns. & Link) ở Việt Nam.

Bùi Hồng Quang

Đánh giá khả năng phân loại của hai chỉ thị *rbcL* và *trnL* với một số mẫu Bách bộ (*Stemonaceae*) thu tại phía Bắc Việt Nam.

Huỳnh Thị Thu Huệ, Đào Quang Hà, Lê Hồng Diệp, Nguyễn Đăng Tôn

Đánh giá độc tính và khả năng tăng tín hiệu tương phản ảnh MRI của vật liệu nano từ Fe₃O₄@PLA-PEG trên mô hình in vitro.

Nguyễn Đắc Tú, Hà Phương Thư, Bùi Thị Vân Khánh, Phạm Hồng Nam, Nguyễn Xuân Phúc, Lâm Khánh, Hoàng Thị Mỹ Nhung

Ứng dụng thuật toán Rao tối ưu khung thép sử dụng phân tích phi tuyến tính phi đàn hồi.

Hà Mạnh Hùng, Trương Việt Hùng, Nguyễn Minh Phương

Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng và xác định giá trị mô đun đàn hồi (E_{ac}), hệ số lớp (a_1) của một số loại BTN chặt nóng ở Việt Nam.

Nguyễn Quang Phúc, Vũ Văn Thắng

Ứng dụng phương pháp vi sóng tổng hợp nhanh lớp hạt và màng lọc ZIF-8 để phân tách hỗn hợp khí propylene/propane.

Nguyễn Kim Minh, Trần Nguyên Tiến

Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn *Bacillus* sp. có khả năng sinh tổng hợp protease từ các sản phẩm đậu nành lên men.

Lê Thị Ngọc Hân, Võ Thị Ngọc Diệp, Trịnh Thị Tuyết Hoa, Nguyễn Văn Thành

Thực trạng và đặc điểm kháng kháng sinh của *Salmonella* spp. phân lập từ sản phẩm thịt tươi sống tại TP Hồ Chí Minh.

Trương Huỳnh Anh Vũ, Nguyễn Hoàng Khuê Tú, Chu Văn Hải, Huỳnh Yên Hà

Nghiên cứu bổ sung whey protein để cải thiện chất lượng xúc xích nhũ tương.

Phan Thanh Tâm, Houangsa Honglikith

1 Effect of α -SiO₂ substrate on the CO adsorption onto graphene using density functional theory calculations.

Thi Viet Bac Phung, Ba Lich Pham, Van An Dinh

9 Study on the fluorination of dysprosium oxide by ammonium bifluoride for the preparation of dysprosium fluoride.

Trong Hung Nguyen, Ba Thuan Le, Thanh Thuy Nguyen

14 Study on the isotopic composition of rainwater in Long Khanh city, Southeast of the Mekong Delta region.

Quang Tri Bui, Thi Thu Huong Huynh, Uyen Thi Pham, Thi Bich Chi Duong, Thi Luan Phan, Thi Thanh Tam Le, Tri Hai Tran, Van Son Le, Van Muoi Nguyen, Duc Nhan Dang

19 A study on pollen morphology of the family Oleaceae Hoffmanns. & Link in Vietnam.

Hong Quang Bui

25 Assessment of classification ability for *rbcL* and *trnL* barcode in some Stemonaceae samples collected from northern Vietnam.

Thi Thu Hue Huynh, Quang Ha Dao, Hong Diep Le, Dang Ton Nguyen

30 Evaluation of cytotoxicity and MRI contrast enhancement ability of Fe₃O₄@PLA PEG iron oxide nanoparticles in vitro model.

Dac Tu Nguyen, Phuong Thu Ha, Thi Van Khanh Bui, Hong Nam Pham, Xuan Phuc Nguyen, Khanh Lam, Thi My Nhung Hoang

35 Rao algorithm-based method for optimisation of steel frames using nonlinear inelastic analysis.

Manh Hung Ha, Viet Hung Truong, Minh Phuong Nguyen

40 Researching on influence factors and value confirmation of elastic modulus (E_{ac}), layer coefficient (a_1) of some types of hot dense asphalt concrete in Vietnam.

Quang Phuc Nguyen, Van Thang Vu

44 Rapid microwave-assisted seeding and secondary growth synthesis of ZIF-8 membrane for propylene/propane separation.

Kim Minh Nguyen, Nguyen Tien Tran

49 Isolation and selection of *Bacillus* sp. with the potential biosynthesis of protease from fermented soybean products.

Thi Ngoc Han Le, Thi Ngoc Diep Vo, Thi Tuyet Hoa Trinh, Van Thanh Nguyen

55 Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from raw meats at traditional markets in Ho Chi Minh city.

Huynh Anh Vu Truong, Hoang Khue Tu Nguyen, Van Hai Chu, Yen Ha Huynh

60 A study on whey protein supplementation to improve emulsion sausage quality.

Thanh Tam Phan, Honglikith Houangsa