



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

# KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

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

**B**

Tập 63 - Số 11 - Tháng 11 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 Hiến - 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 Nghiệm - 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

## PHÓ TỔNG BIÊN TẬP PHỤ TRÁCH

Nguyễn Thị Hương Giang

## PHÓ TỔNG BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hải Hằng

## TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP

Phạm Thị Minh Nguyệt

## TRƯỞNG BAN TẬP CHÍ ĐIỆN TỬ

Vũ Văn Hưng

## 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, VNU, Hanoi  
Vu Minh Giang - VNU, 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 Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology  
Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, 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 Nhuan - VNU, Hanoi  
Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University  
Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi  
Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi

## EXECUTIVE DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Nguyen Thi Huong Giang

## DEPUTY EDITOR

Nguyen Thi Hai Hang

## HEAD OF EDITORIAL BOARD

Pham Thi Minh Nguyet

## HEAD OF E-JOURNAL BOARD

Vu Van Hung

## HEAD OF ADMINISTRATION

Luong Ngoc Quang Hung

## ART DIRECTOR

Đinh Thị Luận

## TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội  
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794  
Email: [khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn](mailto:khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn)  
Tập chí điện tử: [b.vjst.vn](http://b.vjst.vn)

## EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi  
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794  
Email: [khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn](mailto:khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn)  
E-journal: [b.vjst.vn](http://b.vjst.vn)

## GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021  
Giá: 18000<sup>d</sup>

## PUBLICATION LICENCE

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

# Ứng dụng mô hình học sâu trong xác định các giai đoạn sinh trưởng của cây dưa lưới trồng trong nhà màng

Đặng Hoàng Anh Tuấn<sup>1\*</sup>, Nguyễn Minh Thắng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Ứng dụng Công nghệ

<sup>2</sup>Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Hàn Quốc

Ngày nhận bài 11/8/2021; ngày chuyển phản biện 16/8/2021; ngày nhận phản biện 14/9/2021; ngày chấp nhận đăng 16/9/2021

## **Tóm tắt:**

Ngày càng có nhiều mô hình học sâu (deep learning - DL) được ứng dụng trong đời sống, xã hội như phân tích và dự đoán tài chính, giao thông thông minh, xe tự hành..., nhưng việc sử dụng hiệu quả công nghệ này để hỗ trợ trong canh tác nông nghiệp còn hạn chế. Bài báo trình bày kết quả triển khai một kiến trúc tiên tiến và gọn nhẹ có tên là YOLOv5 trong việc nhận dạng tự động các giai đoạn sinh trưởng của cây dưa lưới trong quá trình sinh trưởng, phát triển từ những hình ảnh thu thập được của hệ thống mạng camera lắp đặt trong nhà màng. Đề xuất nhận dạng hình ảnh này đạt độ chính xác trung bình 96% điểm F1 trong việc xác định 5 giai đoạn sinh trưởng quan trọng của cây dưa lưới bằng cách sử dụng một bộ dữ liệu huấn luyện và thử nghiệm hạn chế (2.818 ảnh cây dưa lưới). Kết quả sơ bộ cho thấy, YOLOv5 là một giải pháp DL gọn nhẹ và đầy hứa hẹn sau khi áp dụng kỹ thuật học chuyển giao (transfer learning). Hơn nữa, kiến trúc YOLOv5 còn thực thi tốt trên các thiết bị có cấu hình thấp, điều này có thể mở ra hướng tiếp cận mới trong việc nhận dạng các đối tượng khác nhau theo thời gian thực, được thực thi trực tiếp trên các thiết bị như smartphone, Jetson Nano, camera ip...

**Từ khóa:** dưa lưới, mô hình học sâu, nông nghiệp thông minh, thị giác máy tính, YOLOv5.

**Chỉ số phân loại:** 1.2

## **Giới thiệu**

Để đảm bảo hiệu quả về năng suất cũng như chất lượng đáp ứng yêu cầu ngày càng cao và khắt khe hiện nay đối với các sản phẩm nông nghiệp, người nông dân cần phải có kiến thức và kinh nghiệm chuyên sâu về chăm sóc cây trồng, vật nuôi. Hiện nay, ngành nông nghiệp đang chuyển dịch từ quy mô hộ gia đình sang công ty và tập đoàn, với hình thức triển khai canh tác trên cánh đồng mẫu lớn; hệ thống các nhà màng khép kín với diện tích lên đến vài chục ha; trang trại chăn nuôi với quy mô lớn... Điều này đặt ra bài toán ứng dụng các công nghệ để quản lý, canh tác nông nghiệp hiệu quả, đáp ứng sự phát triển nêu trên.

Công nghệ trí tuệ nhân tạo (AI) là một thành phần quan trọng trong công nghệ nông nghiệp thông minh. Công nghệ AI được nghiên cứu và ứng dụng trong nông nghiệp nhằm phát hiện và cảnh báo sớm sâu bệnh trên cây trồng, nhận định tình trạng hạn, độ phì của đất qua việc phân tích ảnh vệ tinh, dự đoán sản lượng của mùa vụ... ngày càng được quan tâm và đầu tư. Trên cơ sở các kết quả/nhận định của AI, chúng ta có thể tham khảo để đưa ra các quyết định/chiến lược phát triển/phương án sản xuất phù hợp cho nông trại, hay cụ thể hơn là có thể xem xét và điều chỉnh chế độ canh tác cho cây trồng hay chăm sóc vật nuôi tại từng thời kỳ sinh trưởng. Vài năm gần đây, đã có một số công bố về việc ứng dụng AI trong trồng trọt như phát hiện các dấu hiệu sâu,

bệnh trên cây trồng như bệnh trên lá, nhận diện một số loại sâu, bọ gây hại... [1-4], nhưng với đối tượng là dưa lưới cho đến thời điểm hiện nay vẫn chưa thấy công bố nào.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi trình bày kết quả ứng dụng công nghệ AI với việc áp dụng mô hình DL mới trong phát hiện và phân loại 5 giai đoạn sinh trưởng, phát triển chính của cây dưa lưới từ những hình ảnh thu thập được của hệ thống mạng camera lắp đặt trong nhà màng. Mô hình của chúng tôi được xây dựng bằng cách sử dụng kiến trúc DL tiên tiến, gọn nhẹ nhất hiện nay có tên là YOLOv5 (một kiến trúc DL tiên tiến trong lĩnh vực phát hiện đối tượng, cần ít tài nguyên để tính toán hơn so với các kiến trúc khác trong khi vẫn giữ được hiệu năng tốt [5, 6]) và được huấn luyện trên 2.818 hình ảnh cây dưa lưới do chúng tôi thu thập và gán nhãn [7].

## **Dữ liệu và phương pháp nghiên cứu**

### ***Chuẩn bị và xử lý tập dữ liệu***

Nguồn dữ liệu chính trong nghiên cứu của chúng tôi được thu thập từ mạng camera thiết lập trong nhà màng trồng dưa lưới. Tổng số 2.818 hình ảnh cây dưa lưới với đủ các giai đoạn sinh trưởng, phát triển đã được thu thập, sau đó phân loại và gán nhãn thủ công với sự hỗ trợ của phần mềm VimageLabel (do nhóm nghiên cứu phát triển). Chú thích và hình ảnh ví dụ được hiển thị ở hình 1 (không sử dụng hình

\*Tác giả liên hệ: Email: tuandha1980@gmail.com

# Application of deep learning model in recognition of growth stages of *Cucumis melo* L. in greenhouse

Hoang Anh Tuan Dang<sup>1\*</sup>, Minh Thang Nguyen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Center for Technological Progress

<sup>2</sup>Vietnam - Korea Institute of Science and Technology

Received 11 August 2021; accepted 16 September 2021

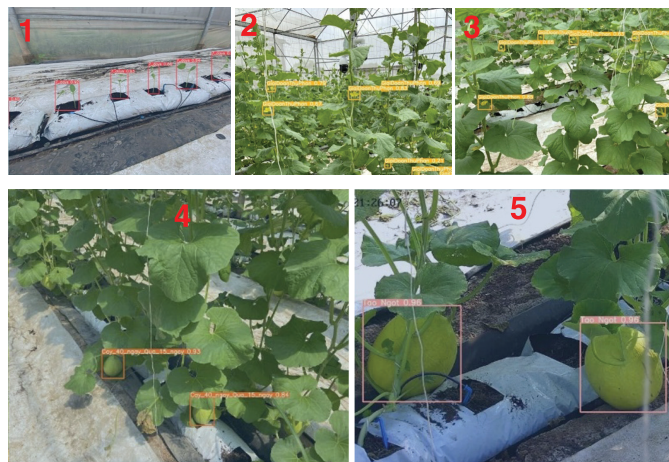
## Abstract:

Despite the increasing application of deep learning (DL) models in various socioeconomics such as financial analysis and forecast, intelligent transport, self-driving, disease diagnosis, the effective use of this technology to support agricultural cultivation is still limited. This paper introduces the implementation of the lightest and state-of-the-art YOLOv5 architecture for automatic recognising of important growth stages of *Cucumis melo* L. from the camera images collected in the greenhouse. This image identification initiative achieved an average accuracy of 96% F1-score in the identification of the five growth stages of *Cucumis melo* L. using a limited set of training and testing data (total 2,818 images of *Cucumis melo* L.). These preliminary results lead to the conclusion that the YOLOv5 object detection and classification model is a truly lightweight and promising DL solution after the adoption of the transfer learning technique. Moreover, the YOLOv5 model can execute good performance on edge devices which may open up a new approach in different object detection and classification in real-time directly from a smartphone, Jetson Nano, IP camera...

**Keywords:** computer vision, *Cucumis melo* L., deep learning, smart agri, YOLOv5.

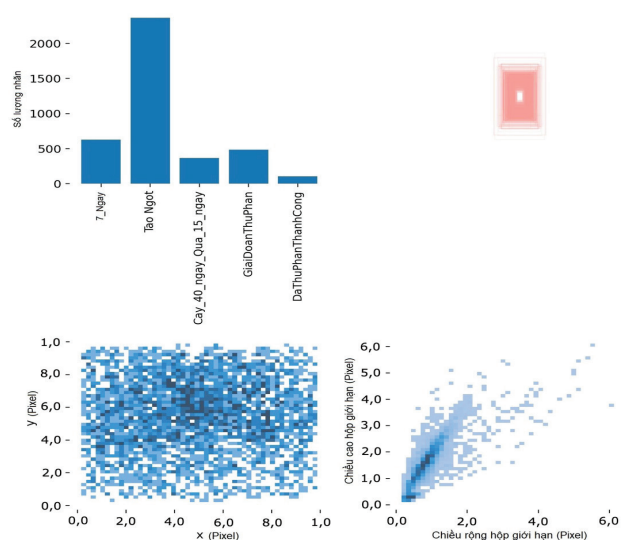
**Classification number:** 1.2

ảnh trong tập dữ liệu này). Thông qua việc nghiên cứu tài liệu và kinh nghiệm canh tác dưa lưới của Trang trại Linh An (Giang Biên, Long Biên, Hà Nội), chúng tôi xác định 5 giai đoạn sinh trưởng, phát triển quan trọng của cây dưa lưới trồng trong nhà màng cần được nhận biết gồm: 7 ngày; thụ phấn; đã thụ phấn; cây được 40 ngày và quả được 15 ngày; tạo ngọt. Với việc nhận biết chính xác các giai đoạn phát triển quan trọng này sẽ giúp người trồng có những chế độ canh tác phù hợp với nhu cầu sinh trưởng của cây.



**Hình 1. Các giai đoạn đã nhận diện thành công.** 1: giai đoạn 7 ngày; 2: giai đoạn thụ phấn; 3: giai đoạn đã thụ phấn; 4: giai đoạn cây được 40 ngày và quả được 15 ngày; 5: giai đoạn tạo ngọt.

Tương đương với 5 giai đoạn sinh trưởng, phát triển chính nêu trên, chúng tôi có 5 lớp nhận diện trong tập dữ liệu này. Hình ảnh trong tập dữ liệu của chúng tôi có nhiều kích cỡ khác nhau nhưng phần nhiều là độ phân giải 2.0 Megapixel. Sự phân bố các kích thước và số lượng dữ liệu được thể hiện ở hình 2.



**Hình 2. Sự phân bố dữ liệu của các giai đoạn.**

Kết quả hình 2 cho thấy, giai đoạn tạo ngọt (Tạo Ngọt) có số nhãn nhiều nhất (2.124), tiếp đến là 7 ngày (7\_days) 512, thụ phấn (GiaiDoanThuPhan) 321, cây được 40 ngày và quả được 15 ngày (Cay\_40\_ngay\_Qua\_15\_ngay) 164, đã thụ phấn (DaThuPhanThanhCong) 42. Ở đây có sự phân biệt dữ liệu như vậy là do việc thu thập dữ liệu của các giai đoạn có sự khó khăn khác nhau, như giai đoạn đã thụ phấn thành công quả rất nhỏ, bị che nhiều bởi lá cây, cộng với việc đặt camera ở xa so với kích thước nhãn của giai đoạn này.

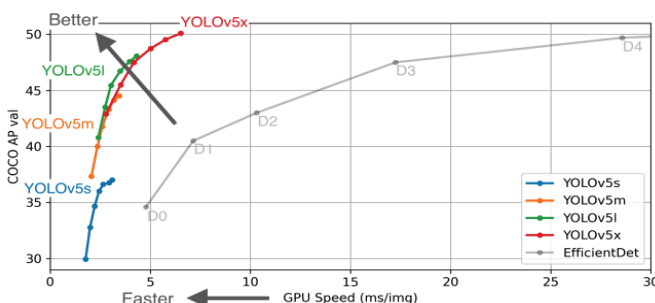
Tiếp theo kích thước của nhãn phân bố với chiều rộng ảnh từ 0,001x1.920 đến 0,6x1.920 pixel và chiều cao ảnh từ 0,001x1.080 đến 0,6x1.080 pixel. Các nhãn này tập trung chủ yếu ở kích thước rất nhỏ, chiều rộng từ 0,001x1.920 đến 0,2x1.920 pixel và chiều cao từ 0,001x1.080 đến 0,3x1.080 pixel.

Chúng tôi thực hiện xác thực chéo trong các thử nghiệm. Đây là quá trình tách tập dữ liệu thành 3 phần có kích thước bằng nhau và tiến hành 3 lần huấn luyện. Đối với mỗi lần huấn luyện, 20% dữ liệu được sử dụng để xác thực và 80% còn lại được sử dụng để huấn luyện mạng. Số vòng huấn luyện được lựa chọn tăng dần, tỷ lệ phần trăm đúng của các epoch khác nhau được phân bố ở bảng 1.

**Bảng 1. Tỷ lệ % đúng của các epoch trong các lần huấn luyện.**

| Epoch | Các giai đoạn | 7 ngày (%) | Tạo ngọt (%) | Cây được 40 ngày và quả được 15 ngày (%) | Thụ phấn (%) | Đã thụ phấn thành công (%) |
|-------|---------------|------------|--------------|------------------------------------------|--------------|----------------------------|
| 100   |               | 93         | 90           | 85                                       | 45           | 35                         |
| 200   |               | 98         | 95,5         | 92                                       | 88           | 86                         |
| 300   |               | 99,8       | 97,6         | 98,3                                     | 96,3         | 88                         |

Lý do chọn mô hình YOLOv5 cho nghiên cứu này gồm: hiện là mạng tiên tiến nhất trong lĩnh vực phát hiện đối tượng nhanh; kiến trúc nhẹ, điều này cho phép chúng tôi huấn luyện mô hình bằng cách sử dụng các tài nguyên tính toán nhỏ và chi phí thấp; kích thước nhỏ của mô hình có thể cho phép nó được ứng dụng với các thiết bị di động (nhận diện người, đồ vật...). Hình 3 cho thấy khả năng vượt trội của mô hình YOLOv5 so với các mô hình khác.



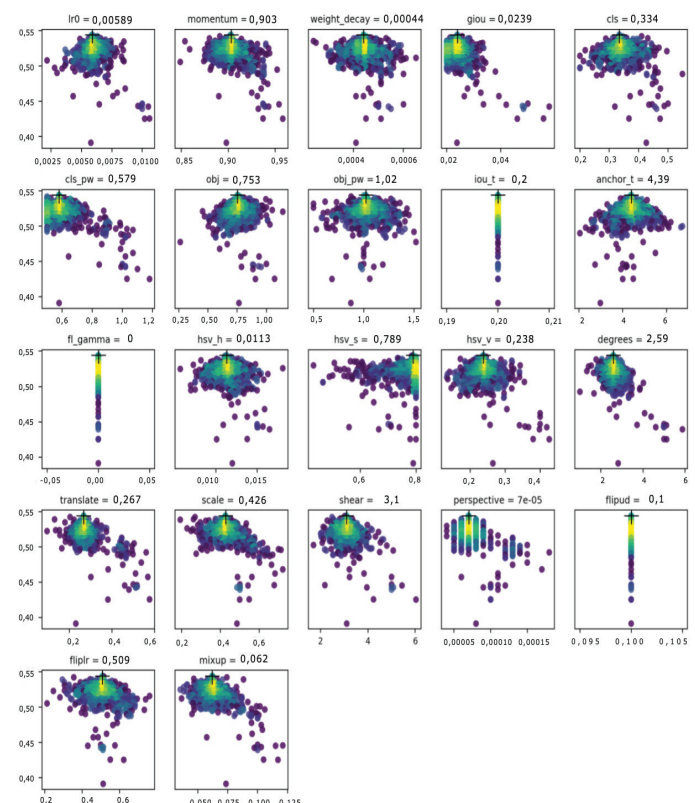
**Hình 3. So sánh giữa các mô hình YOLOv5 và EfficientDet [8].**

Các hình ảnh mà chúng tôi thu thập được đều có độ phân giải trung bình 1.920x1.080 pixel, cùng với độ chính xác của YOLOv5s6 là thấp hơn nhiều so với YOLOv5m6 và YOLOv5l6 khó giải quyết vấn đề nhận biết các đối tượng nhỏ (vấn đề nổi tiếng của YOLO) [9]. YOLOv5l6 và YOLOv5x6 lại có params rất lớn, gấp 2,15 và 3,94 lần YOLOv5m6 nên việc huấn luyện mô hình là rất mất thời gian và quan trọng nhất là không thực thi được trên thiết bị có cấu hình thấp như thiết bị Jetson AGX Xavier Developer Kit của chúng tôi. Vì vậy, chúng tôi đã chọn Pretrained Model YOLOv5m6 làm mô hình huấn luyện trong nghiên cứu này.

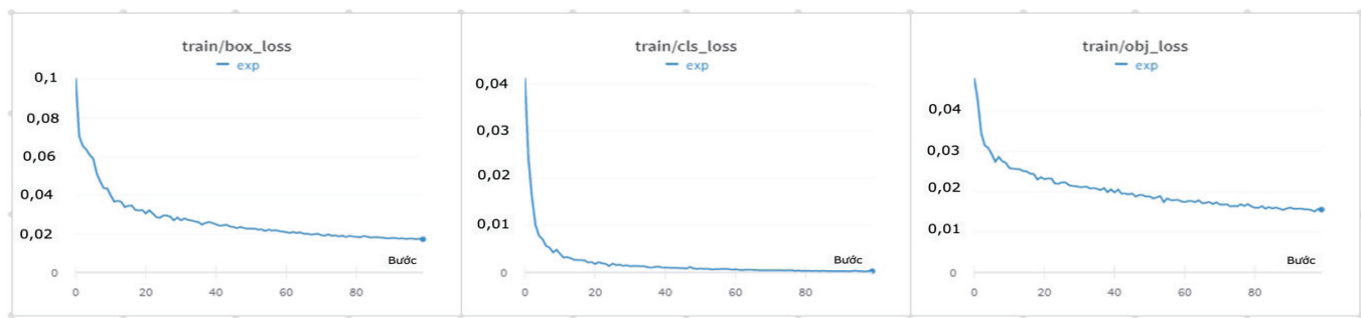
### Huấn luyện mô hình

Việc đầu tiên của quá trình huấn luyện mô hình là điều chỉnh siêu tham số (hyper-parameter), điều này giúp xác định các tham số tối ưu hơn cho tập dữ liệu huấn luyện. Tiếp theo, sử dụng các hyper-parameter đã được điều chỉnh để huấn luyện mô hình và bắt đầu từ việc kiểm tra mô hình YOLOv5m6 đã được huấn luyện. Có khoảng 30 hyper-parameter được sử dụng trong YOLOv5m6 [10].

Sau quá trình huấn luyện, các hyper-parameter được mô hình hoá như ở hình 4. Mỗi hyper-parameter là một chấm nhỏ thể hiện sự phù hợp (trục y) tương ứng với các giá trị của nó (trục x); màu vàng cho biết mật độ của các hyper-parameter tập trung cao hơn; sự phân bố của các chấm nhỏ theo chiều dọc cho thấy một tham số bị vô hiệu và không làm ảnh hưởng đến các đối tượng đi qua nó.



**Hình 4. Sự phân bố của các loại hyper-parameter.**



Hình 5. Các thay đổi về hồi quy, phân loại và mất đối tượng của hộp giới hạn trong quá trình huấn luyện mô hình.

Sử dụng mô hình được huấn luyện trước là một kỹ thuật phổ biến trong thị giác máy được gọi là học chuyển giao [11]. Kỹ thuật này giúp đẩy nhanh quá trình huấn luyện và giữ cho sự tổng quát hóa ở mức cao. Trong các thí nghiệm, chúng tôi đã quan sát thấy rằng, số chu kỳ huấn luyện tối ưu là 300, sau đó có những thay đổi không đáng kể trong mô hình. Hình 5 cho thấy các hàm loss thay đổi như thế nào trong quá trình huấn luyện, kết quả được hiển thị trên một trong các phần tách để xác nhận chéo giữa các lần huấn luyện.

Hàm YOLOv5 loss là tổng của 3 hàm loss nhỏ hơn: loss hồi quy hộp giới hạn - hình phạt cho việc phát hiện hộp neo sai, lỗi bình phương trung bình được tính toán dựa trên vị trí hộp dự đoán (x, y, h, w); loss phân loại - Entropy chéo được tính toán để phân loại đối tượng; loss đối tượng - lỗi bình phương trung bình được tính cho điểm đối tượng - độ tin cậy (ước tính nếu hộp neo chứa đối tượng).

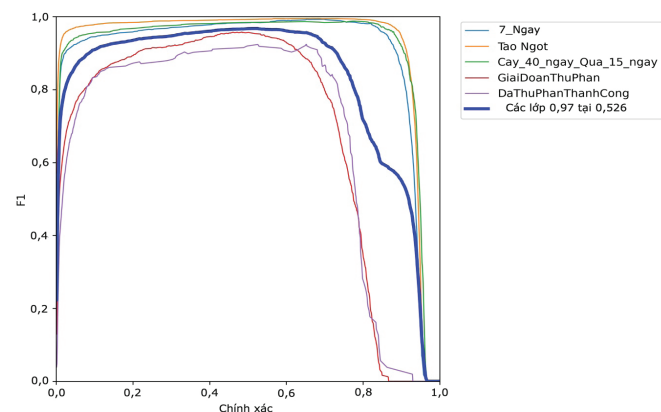
Phần mềm chính được sử dụng trong việc huấn luyện các mô hình là Python 3.8.8, với PyTorch 1.7.1, CUDA 11.1 và PyCharm Professional. Tất cả các lần lặp lại mô hình AI cũng như mô hình cuối cùng đều được huấn luyện bằng cách sử dụng card màn hình GPU GTX 1650. Chúng tôi đã thực hiện thử nghiệm trên Jetson AGX Xavier Developer Kit với phần mềm Linux được cài đặt sẵn. Thời gian huấn luyện cho một lần (100 epochs) trên dữ liệu huấn luyện mất 3 giờ (8,5 giờ cho toàn bộ quá trình xác nhận chéo).

## Kết quả và thảo luận

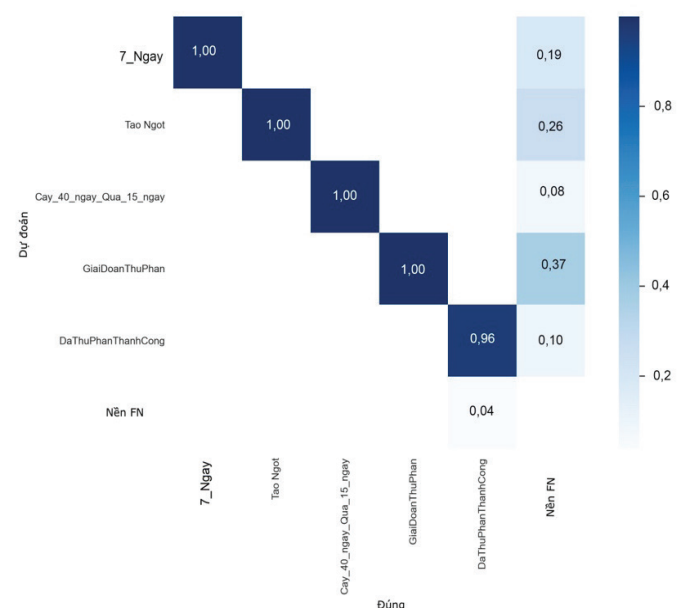
Sau các lần huấn luyện mô hình với một lượng dữ liệu hạn chế (2.818 ảnh), kết quả cho thấy, trung bình 96% điểm F1 trong việc xác định 5 giai đoạn sinh trưởng, phát triển quan trọng của cây dưa lưới. Mô hình YOLOv5 không chỉ có thể duy trì tỷ lệ phát hiện cao, mà còn đáp ứng được các yêu cầu phát hiện trong thời gian thực chính xác và nhanh chóng. Các kết quả được trình bày ở đây là kết quả trung bình từ 5 lần phân tách để thực hiện quá trình xác nhận chéo.

Từ dữ liệu nêu trên, chúng ta có thể thấy độ chính xác phát hiện đối với giai đoạn đã thụ phấn thành công là thấp nhất do có số lượng nhãn ít nhất và hình dạng rất nhỏ so với các đối tượng khác. Hơn nữa, lớp đã thụ phấn thành công có điểm F1 thấp nhất (0,88) vì ngoài sự phong phú của giai đoạn đã thụ phấn thành công thấp, thời điểm này còn dễ bị

nhầm sang giai đoạn thụ phấn. Cả 2 giai đoạn này đều có đối tượng nhận diện rất nhỏ và số nhãn ít. Do đó, giai đoạn thụ phấn và đã thụ phấn thành công thường bị phát hiện thiếu khi thực thi mô hình của chúng tôi (hình 6). Những khuyết điểm nêu trên sẽ được khắc phục ở các thí nghiệm trong tương lai.

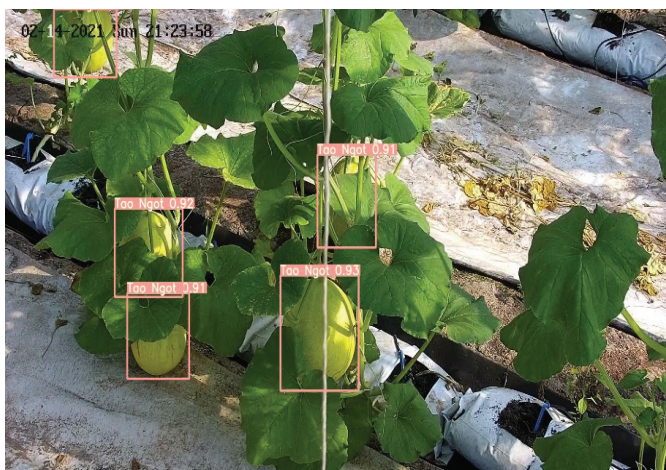


Hình 6. Độ chính xác của các giai đoạn ở tập thử nghiệm.



Hình 7. Ma trận của các giai đoạn ở tập thử nghiệm.

*Các ví dụ nhận dạng thiếu:* chúng tôi nhận thấy những nhược điểm của mô hình phân loại có 4 vấn đề phổ biến nhất là: đối tượng nhận dạng bị che khuất, nhận dạng quá xa, bị mờ và trùng với màu của lá.



*Các ví dụ nhận dạng chính xác:* giải pháp đã thử nghiệm hoạt động với mức độ chính xác dự kiến ở các giai đoạn có thể nhìn thấy một phần trên hình ảnh. Hình 8 cho thấy sự phát hiện và phân loại chính xác của giai đoạn tạo ngọt chỉ có khoảng 20% quả có thể nhìn thấy trong khung hình. Các ví dụ tiếp theo (hình 9) chứng minh rằng, mô hình có thể phát hiện các giai đoạn bị trộn lẫn với lá cây.

Kết quả sơ bộ đạt được khi sử dụng một lượng dữ liệu huấn luyện hạn chế, trung bình 96,0% điểm F1 trong việc xác định các giai đoạn sinh trưởng chính của cây dưa lưới trồng trong nhà màng. Những kết quả đầy hứa hẹn này cho thấy tiềm năng lớn trong việc sử dụng kiến trúc học sâu YOLOv5 để huấn luyện mô hình AI trong xác định các giai đoạn sinh trưởng, phát triển của cây dưa lưới nói riêng, các yêu cầu nhận dạng khác nói chung trong tương lai. Bộ dữ liệu hình ảnh càng lớn sẽ cho phép khả năng nhận diện của mô hình ngày càng tốt hơn, nhanh và chính xác hơn. Hơn nữa, kiến trúc YOLOv5 này đã được chúng tôi thử nghiệm thành công trên các thiết bị Jetson AGX Xavier Developer Kit và Jetson Nano, điều này có thể mở ra một hướng tiếp cận mới trong việc nhận dạng các đối tượng khác nhau theo thời gian thực được thực thi trực tiếp trên các thiết bị như smartphone, Jetson Nano, camera IP...

Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam - Hàn Quốc, Viện Ứng dụng Công nghệ, Viện Nghiên cứu Rau quả Việt Nam, Trang trại Linh An đã giúp đỡ trong quá trình thực hiện nghiên cứu này.

- [1] <https://www.hindawi.com/journals/ddns/2020/2479172/>.
- [2] <https://www.hindawi.com/journals/complexity/2021/6663442/>.
- [3] <https://www.hindawi.com/journals/jece/2021/9981437/>.
- [4] <https://www.hindawi.com/journals/complexity/2021/6683255/>.
- [5] <https://arxiv.org/abs/1506.01497>.
- [6] <https://www.aaai.org/ocs/index.php/AAAI/AAAI17/paper/viewFile/14806/14311>.
- [7] <https://tinyurl.com/anhdualuoi>.
- [8] <https://github.com/ultralytics/yolov5/releases/tag/v5.0>.
- [9] <https://github.com/ultralytics/yolov5/issues/2009>.
- [10] <https://github.com/ultralytics/yolov5/issues/607>.
- [11] <https://github.com/ultralytics/yolov5/wiki/Train-Custom-Data>.

# Phát triển hệ kính hiển vi huỳnh quang siêu phân giải ứng dụng trong nghiên cứu vi-rút

Nguyễn Trọng Nghĩa<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Bích Ngọc<sup>1</sup>, Trần Hồng Nhung<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Toàn<sup>1</sup>, Nghiêm Thị Hà Liên<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Thu Thủy<sup>2</sup>, Nguyễn Thanh Thủy<sup>2</sup>, Lê Trà My<sup>3</sup>, Đào Huyền Quyên<sup>4</sup>, Nguyễn Minh Hiền<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Viện Vật lý, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương

<sup>3</sup>Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>4</sup>Bệnh viện Bạch Mai

<sup>5</sup>Bệnh viện Thanh Nhàn

Ngày nhận bài 15/3/2021; ngày chuyển phản biện 23/3/2021; ngày nhận phản biện 26/5/2021; ngày chấp nhận đăng 2/6/2021

## Tóm tắt:

Kính hiển vi (KHV) huỳnh quang siêu phân giải là hệ kính ưu việt nhờ kết hợp tính năng chụp ảnh huỳnh quang với khả năng quan sát các mẫu sinh học vượt qua được giới hạn nhiễu xạ của KHV quang học. Hệ kính này giúp quan sát được mẫu sống với độ chính xác và độ phân giải cao. Vi-rút là đối tượng đặc trưng cho nghiên cứu sử dụng hệ kính này do hầu hết các loại vi-rút có kích thước nhỏ hơn giới hạn nhiễu xạ ( $<200$  nm). Trong nghiên cứu này, các tác giả đã xây dựng hệ thống KHV huỳnh quang siêu phân giải dựa trên kỹ thuật định vị đơn điểm, độ phân giải của kính đạt được là 20 nm. Đường kính mẫu vi-rút sốt xuất huyết (SXH) Dengue nuôi cấy trên tế bào BHK-21 được đánh dấu miễn dịch huỳnh quang có kết quả đo là  $84 \pm 12$  nm, trừ đi chiều dài của kháng thể, xấp xỉ với kết quả đo bởi KHV điện tử truyền qua (TEM, 45-60 nm). Sự thuận tiện của kỹ thuật chuẩn bị mẫu và chụp được hình ảnh vi-rút SXH Dengue nói riêng, các loại vi-rút nói chung bằng KHV huỳnh quang siêu phân giải với độ chính xác và độ phân giải cao sẽ đóng góp cho nghiên cứu, đào tạo và giảng dạy về vi-rút học.

**Từ khóa:** định vị đơn điểm, kính hiển vi huỳnh quang siêu phân giải, nanoscopy, STORM, vi-rút sốt xuất huyết Dengue.

**Chỉ số phân loại:** 1.3

## Đặt vấn đề

KHV quang học luôn là công cụ đắc lực của khoa học sự sống nhờ ưu điểm nổi bật là khả năng quan sát các tế bào và mô sống. Nhiều nghiên cứu cải tiến KHV quang học thông qua các cải tiến về kỹ thuật chiếu quang, kỹ thuật xử lý ảnh... đã được thực hiện. Kết quả là sự ra đời của nhiều phương pháp hiển vi quang học phân giải cao, như KHV quang học quét trường gần (Scanning Nearfield Optical Microscope - SNOM) [1, 2], KHV huỳnh quang dập tắt cưỡng bức (Stimulated Emission Depletion - STED) [3, 4], và KHV huỳnh quang định vị đơn phân tử (Single Molecule Localization Microscopy - SMLM) [5]. KHV quang học SNOM có độ phân giải ngang tới vài chục nano mét, độ phân giải dọc vài nano mét, tùy thuộc vào khẩu độ của đầu dò. Hệ kính này có ưu điểm là độ phân giải không phụ thuộc vào bước sóng, cho phép quan sát bề mặt mẫu vật, tuy nhiên loại kính này không cho phép nghiên cứu sâu bên trong mẫu vật [6]. KHV STED được phát triển từ cấu hình KHV đồng tiêu cải tiến kỹ thuật chiếu sáng đồng thời hai chùm laser lên mẫu. Chùm thứ nhất có cường độ thấp kích thích các phân tử đánh dấu phát quang. Chùm thứ hai có bước sóng dài hơn, có cường độ mạnh hơn nhiều hội tụ hình vành khăn lên mẫu, có cường độ ở tâm bằng không. Chùm này cưỡng

bức được các phân tử (được chùm thứ nhất kích thích) hồi phục về mức cơ bản. Do đó chỉ còn lại các phân tử ở tâm chùm phát huỳnh quang được ghi nhận. Kỹ thuật này không yêu cầu xử lý ảnh phức tạp và có thể đạt được độ phân giải ngang cỡ 30-70 nm, phân giải dọc trục cỡ 50-100 nm. Tuy nhiên, do kỹ thuật chiếu quang phức tạp, nên STED ít được lựa chọn phát triển tại nhiều phòng thí nghiệm [7]. Ảnh hiển vi huỳnh quang sử dụng kỹ thuật SMLM có độ phân giải ngang 20-50 nm [8]. Dựa trên phương pháp KHV huỳnh quang định vị đơn phân tử SMLM có hai kỹ thuật KHV siêu phân giải chính được phát triển đã đưa độ phân giải ngang xuống 20-50 nm, đó là KHV định vị quang hoạt (PALM - Photoactivatable Localization Microscopy) [9] và KHV quang dựng ảnh ngẫu nhiên (STORM - Stochastic Optical Reconstruction Microscopy) [10]. Kỹ thuật KHV huỳnh quang siêu phân giải tái tạo ảnh ngẫu nhiên STORM được phát triển từ năm 2006 [10]. Hai phương pháp STORM và PALM khác nhau về loại phân tử quang hoạt được sử dụng. Các chất phát quang sử dụng trong kỹ thuật PALM là các protein phát quang. Kỹ thuật STORM sử dụng quy trình đánh dấu miễn dịch huỳnh quang với các phân tử phát quang tổng hợp như cyanine, rhodamine... có độ bền quang cao hơn rất nhiều so với protein phát quang sử dụng trong kỹ thuật PALM. KHV siêu phân giải được sử dụng để đo kích

\*Tác giả liên hệ: Email: halien@iop.vast.vn

# Developing super-resolution fluorescent microscopy for virology research

Trong Nghia Nguyen<sup>1</sup>, Thi Bich Ngoc Nguyen<sup>1</sup>,  
Hong Nhung Tran<sup>1</sup>, Duc Toan Nguyen<sup>1</sup>,  
Thi Ha Lien Nghiem<sup>1\*</sup>, Thi Thu Thuy Nguyen<sup>2</sup>,  
Thanh Thuy Nguyen<sup>2</sup>, Tra My Le<sup>3</sup>, Huyen Quyen Dao<sup>4</sup>,  
Minh Hien Nguyen<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Institute of Physics, VAST

<sup>2</sup>National Institute of Hygiene and Epidemiology

<sup>3</sup>Vietnam National University, Hanoi

<sup>4</sup>Bachmai Hospital

<sup>5</sup>Thanhnhon Hospital

Received 15 March 2021; accepted 2 June 2021

## Abstract:

Taking advantage of the use of photoswitchable probes and high precision localisation of single molecules to surpass the diffraction limit, super-resolution fluorescence microscopy allows observing non-invasive live-cell at sub-diffraction size (<200 nm). Given the advantage of super-resolution fluorescence microscopy, our group has reconstructed the super-resolution fluorescence microscopy based on the single-molecule localisation microscopy technique with a resolution of 20 nm. In this research, the authors present the reconstruction process of the microscopy system and its application in observing hemorrhagic fever Dengue virus. Dengue virus was cultured in baby hamster kidney (BHK-21) cells and was then negative stained for transmission electron microscope (TEM) or immunofluorescent labeled for stochastic optical reconstruction microscopy (STORM). The diameter of the Dengue virus particles is 45-60 nm measured using TEM and is 84±12 nm measured using STORM. After subtraction of the length of the antibody attached to the virus particles, the diameter of Dengue virus particles measured using STORM are close to which measured using TEM. In conclusion, the authors highlight the findings of super-resolution fluorescence microscopy-based Dengue virus studies and their contributions to the understanding of Dengue virus particles. The current advances in super-resolution microscopy may open new avenues for future virology teaching and research.

**Keywords:** Dengues virus, nanoscopy, single-molecule localisation microscopy, STORM, super-resolution fluorescence microscopy.

**Classification number:** 1.3

thước, quan sát hình thái cũng như quá trình lây nhiễm của vi-rút HIV và HPV trên tế bào [11], các vi-rút này thường có kích thước trong khoảng (120-200 nm). Với các vi-rút kích thước nhỏ dưới 100 nm như vi-rút Dengue hay Rota chưa có nhiều nghiên cứu thực hiện bằng biện pháp này.

Sốt Dengue và xuất huyết Dengue là một bệnh do vi-rút lây truyền từ muỗi sang người. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) ước tính mỗi năm có khoảng 50-100 triệu người mắc bệnh, phần lớn trong số đó là trẻ em, tỷ lệ tử vong vào khoảng 2,5%. Tại các tỉnh phía Nam Việt Nam, độ tuổi trên 15 mắc SXH đã tăng từ 14% năm 1991 lên đến 30% năm 2004. Tính đến giữa tháng 9/2015 cả nước đã có hơn 30.000 trường hợp mắc SXH, dịch này đã bùng phát tại 50 tỉnh, thành phố trên cả nước với 18 ca tử vong, bệnh đã tăng hơn 76% so với cùng kỳ năm trước [12-14]. Hiện nay, để chẩn đoán lâm sàng SXH Dengue, người ta thường sử dụng phương pháp huyết học (phát hiện sự giảm số lượng bạch cầu, tiểu cầu...) và chẩn đoán xác định bằng phương pháp tìm các kháng thể Dengue-IgM, -IgG trong huyết thanh hoặc định tip huyết thanh bằng kỹ thuật Real-time PCR - hiện đang là phương pháp chẩn đoán SXH hiệu quả nhất vì cho kết quả không chỉ có tác dụng phát hiện chính xác nguyên nhân gây SXH Dengue mà còn xác định được tip của vi-rút Dengue. Điều này giúp các nhà y học và dịch tễ học xác định được các vụ dịch gây ra do tip Dengue nào và tiên đoán được khuynh hướng thay đổi tip gây bệnh theo thời gian [15]. Ví dụ: ở nước ta, khuynh hướng chuyển tip Dengue gây bệnh từ DEN-3 sang DEN-2 và sang DEN-1 đã được dự báo từ năm 2004.

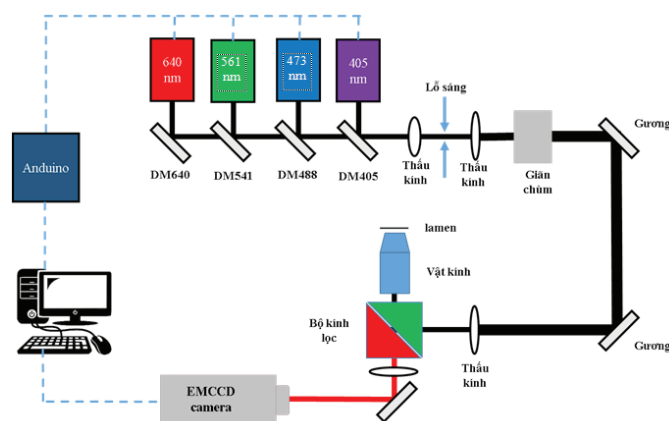
Trong bài báo này, chúng tôi trình bày việc xây dựng hệ thống KHV huỳnh quang siêu phân giải tại Việt Nam và dựng ảnh kỹ thuật siêu phân giải tái tạo quang ngẫu nhiên STORM cho các nghiên cứu vi-rút. Thực nghiệm được thực hiện trên vi-rút SXH Dengue tip 2, được nuôi cấy trong tế bào thận chuột đất vàng BHK-21. Vi-rút SXH Dengue được đánh dấu miễn dịch huỳnh quang với màu CF.647, được sử dụng làm đối tượng hiện ảnh cho kỹ thuật này. Việc phát hiện được vi-rút Dengue tip 2 bằng KHV siêu phân giải đã mở đường cho việc ứng dụng các thiết bị máy móc và phương pháp hiện đại trong chẩn đoán xác định nhanh, chính xác và trong nghiên cứu đào tạo giảng dạy về các vi-rút gây bệnh trên người trong tương lai ở Việt Nam.

## Phương pháp nghiên cứu

### Xây dựng hệ KHV huỳnh quang siêu phân giải

KHV huỳnh quang siêu phân giải được xây dựng dựa trên thân KHV Ti2E của Hãng Nikon có tích hợp mô-đun tự động giữ mặt tiêu PFS (Perfect Focus System). Mô-đun PFS giúp giữ mặt tiêu của KHV ổn định theo trục z trong thời gian dài. KHV được trang bị 3 vật kính 10, 20 và 100x. Vật kính 100x CFI HP APO TIRF được sử dụng để thu ảnh phát quang của các đơn phân tử. Khối laser gồm có 4 laser của Hãng Roithner, trong đó có hai nguồn laser được sử

dụng trong nghiên cứu này. Laser bán dẫn 405 nm là laser kích hoạt, công suất 25 mW, có tác dụng chuyển trạng thái của phân tử phát quang từ OFF sang ON. Laser bán dẫn 640 nm là laser kích thích, công suất 190 mW. Hai laser còn lại có bước sóng phát là 488 và 561 nm. Dưới tác dụng của laser kích thích, phân tử hoặc phát quang hoặc chuyển sang trạng thái OFF. Các laser đã được chuẩn trực sẵn. Bốn laser được ghép vào cùng một đường quang nhờ các kính lọc thông cao LP của Hãng Semrock (hình 1).



**Hình 1. Hệ KHV huỳnh quang siêu phân giải STORM.**

Các chùm laser được cho qua bộ giãn chùm GBE05-A của Hãng Thorlabs. Khi truyền qua bộ giãn chùm, đường kính của các chùm laser đạt 4 mm. Việc giãn chùm laser sẽ giúp làm tăng diện tích chiếu lên mẫu của các chùm. Tiếp đó, các chùm laser đi tới gương phẳng M2. Gương này có thể điều chỉnh góc nghiêng để thay đổi góc vào KHV. Do đó, chúng ta dễ dàng thay đổi giữa các chế độ chiếu sáng epi, HILO (Highly Inclined and Laminated Optical, góc tới lớn và kỹ thuật chiếu lát) - TIR (Total Internal Reflection, phản xạ nội toàn phần). Công suất cực đại của hai laser 405 và 640 nm tại lối vào của KHV lần lượt là 2,4 và 60 mW.

Hệ KHV được xây dựng với các chế độ chiếu sáng là TIR và HILO.

Trong chế độ chiếu sáng TIR ánh sáng kích thích được chiếu xiên với góc tới lớn và bị phản xạ tại bề mặt tiếp xúc giữa kính và mẫu tạo ra sóng tiêu tán kích thích phần mẫu tiếp xúc với lam kính với độ sâu khoảng 100 nm. Trong chế độ HILO, góc nghiêng của chùm sáng nhỏ hơn góc phản xạ toàn phần tại lớp tiếp xúc giữa mẫu và lam kính. Khi đó ta có một chùm sáng song song, hẹp chiếu kích thích lên mẫu. Do chùm kích thích là một dải sáng hẹp nên giảm được nhiễu nền phát ra từ các phân tử không nằm trong mặt tiêu phát quang.

Cặp laser dập tắt quang và kích thích quang được sử dụng tùy thuộc vào chất màu huỳnh quang đánh dấu trên mẫu. Trước khi đi vào KHV, cả hai chùm laser được cho đi qua thấu kính hội tụ tiêu cự 500 mm. Thấu kính này sẽ hội tụ hai chùm laser tại mặt phẳng tiêu sau của vật kính...

Cả 4 laser đều được điều khiển bật tắt, chọn chế độ liên tục hoặc xung. Độ rộng của xung laser được điều khiển bằng các xung TTL (Transistor - Transistor logic) được tạo ra bởi một mạch Arduino mega 2560, nhận lệnh điều khiển từ máy tính.

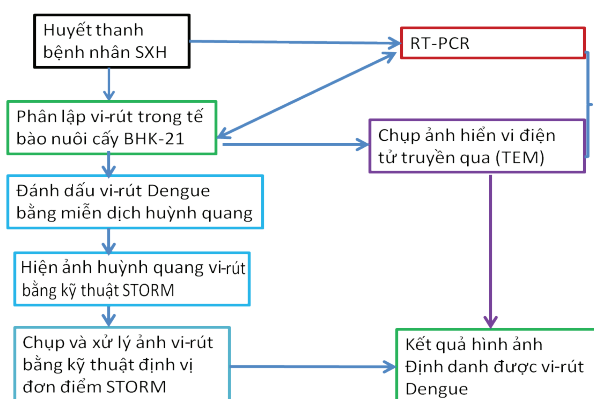
Đầu thu sử dụng một camera EMCCD iXon Ultra 897 với độ nhạy cao, có khả năng phát hiện đơn photon, hiệu suất lượng tử đạt 90% trong vùng 500-700 nm.

Giới hạn phân giải của KHV huỳnh quang siêu phân giải phụ thuộc vào cách thu và xử lý ảnh, ngoài ra còn phụ thuộc vào các tham số khác như sai số của phép định vị đơn phân tử và độ ổn định cơ khí của thiết bị.

## Chuẩn bị mẫu vi-rút Dengue cho KHV STORM

*Nguyên vật liệu hóa chất:* kháng thể đặc hiệu vi-rút Dengue được sử dụng trong nghiên cứu là IgG của chuột do Trung tâm Kiểm soát dịch bệnh Mỹ cung cấp. Kháng thể kháng IgG chuột gắn màu CF.647 (Anti-Mouse IgG (H+L)) là kháng thể của thỏ được mua từ Hãng Invitrogene. Enzyme glucose oxidase và catalase được cung cấp bởi Hãng Invitrogene. Các hóa chất  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , KCl và Tris base được mua của Merck. Các hóa chất mercaptoethylamine (MEA), axit chlohydric, Triton X-100, protein huyết tương bò, glutaraldehyde, paraformaldehyde, glucose, NaCl được mua của Sigma Aldrich. Nước khử ion được tiệt trùng để dùng cho các thí nghiệm đánh dấu và hiện ảnh STORM.

Các bước chuẩn bị mẫu vi-rút Dengue cho KHV STORM được trình bày trên sơ đồ khối ở hình 2. Các mẫu huyết thanh của bệnh nhân SXH được phân lập trong tế bào BHK-21 được nuôi cấy, trong tế bào các vi-rút SXH được nhân lên. Sau đó, các vi-rút trong tế bào được gắn kết với các phân tử màu STORM bởi quy trình đánh dấu miễn dịch huỳnh quang thông thường. Dung dịch hiện ảnh huỳnh quang được đưa vào các giếng chứa tế bào được đánh dấu trước khi chụp ảnh STORM. Các ảnh sau đó được xử lý bằng phần mềm chuyên dụng để được kết quả hình ảnh của vi-rút trong tế bào.



**Hình 2. Sơ đồ quy trình chuẩn bị mẫu vi-rút cho chụp ảnh KHV STORM.**

Dưới đây là chi tiết các bước trong sơ đồ quy trình chuẩn bị mẫu vi-rút cho chụp ảnh KHV STORM.

**Phân lập vi-rút Dengue:** tế bào nguyên bào sợi của thận chuột BHK-21 được nuôi trong môi trường DMEM chứa 10% huyết thanh bê bào thai, trong điều kiện vô trùng ở nhiệt độ 37°C có 5% CO<sub>2</sub>. Mẫu huyết thanh bệnh nhân nghi mắc SXH đã được xác định có vi-rút Dengue típ 2 bằng kỹ thuật Realtime - PCR trước đó [16]. Mẫu huyết thanh dương tính sau đó được phân lập trên tế bào BHK-21 tại Phòng thí nghiệm vi-rút Arbo - Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Mẫu đối chứng âm là các tế bào BHK-21 được nuôi trong cùng điều kiện. Vi-rút Dengue được nuôi cấy trong vòng 48h, sau đó các vi-rút được nhuộm âm bản hoặc được đánh dấu bằng hoá chất miễn dịch huỳnh quang.

**Phương pháp nhuộm bản âm sử dụng TEM:** mẫu là dịch nước nổi tế bào BHK-21 sau 48 giờ phân lập từ huyết thanh bệnh nhân dương tính với vi-rút Dengue típ 2. Phương pháp này được thực hiện trong tủ an toàn sinh học bậc 2 theo phương pháp nhỏ giọt trên giấy parafin, sử dụng lưới đồng 300 mắt được phủ màng collodion và cacbon. Thời gian tiến hành các bước khoảng 5 phút ở điều kiện nhiệt độ phòng thí nghiệm.

Mẫu được cố định bằng dung dịch Glutaraldehyde 1% trong cacodylate 0,1 M. Rửa mẫu bằng dung dịch cacodylate 0,1 M. Nhuộm mẫu bằng dung dịch Uranyl acetate 1%. Để khô mẫu, đọc kết quả dưới TEM 1010-JEOL (Nhật Bản).

**Đánh dấu vi-rút Dengue bằng miễn dịch huỳnh quang:** quy trình đánh dấu huỳnh quang vi-rút Dengue được thực hiện theo quy trình đánh dấu miễn dịch huỳnh quang sử dụng kháng thể sơ cấp là IgG từ chuột đặc hiệu cho protein trên vỏ vi-rút Dengue và kháng thể thứ cấp là kháng thể kháng đặc hiệu cho IgG của chuột có gắn huỳnh quang màu CF.647. Việc đánh dấu miễn dịch huỳnh quang cơ bản theo các bước sau: i) Mẫu được cố định tế bào bằng dung dịch 3% paraformaldehyde và 0,1% glutaraldehyde; ii) Sử dụng dung dịch NaBH<sub>4</sub> 0,1% khử các liên kết không đặc hiệu; iii) Sử dụng dung dịch chặn và đục màng 0,2% BSA và 0,2% triton X 100; iv) Sử dụng dung dịch chặn 3% BSA để chặn những vị trí liên kết không đặc hiệu; v) Đưa kháng thể đặc hiệu kháng vi-rút Dengue típ 2, tiếp theo gắn kết với kháng thể thứ cấp liên kết với phân tử màu CF.647; vi) Rửa sạch các kháng thể dư sử dụng dung dịch cố định tế bào và chống nấm mốc NaN<sub>3</sub> nồng độ 0,02% để mẫu được bảo vệ dài lâu. Sau đánh dấu, mẫu sẽ được bảo quản trong điều kiện lạnh và tối.

**Hiện ảnh huỳnh quang vi-rút bằng kỹ thuật STORM:** dung dịch hiện ảnh STORM bao gồm các enzyme glucose oxidase và catalase, MEA và glucose được pha trong dung dịch đệm Tris, pH 8,5, được chuẩn bị theo quy trình của NIKON [17] và đưa vào các giếng trước khi chụp ảnh KHV huỳnh quang siêu phân giải STORM.

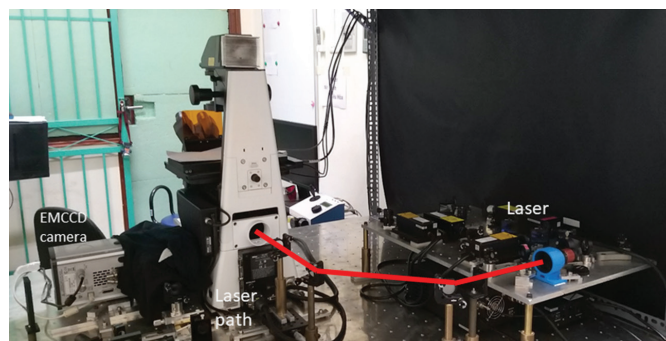
**Chụp và xử lý ảnh vi-rút bằng kỹ thuật định vị đơn điểm:** trước tiên đánh dấu miễn dịch huỳnh quang tế bào, sau đó dung dịch hiện ảnh được đưa vào các giếng tế bào. Chiếu

đồng thời hai laser 640 và 405 nm vào vị trí cần thu ảnh. Liên tục lặp lại quá trình trên cho đến khi đạt được số ảnh cần thu từ 10000 đến 20000, tốc độ khung hình là 30 hình/giây. Tập ảnh trên được xử lý bằng chương trình SMAP [18] để dựng được ảnh huỳnh quang siêu phân giải.

## Kết quả

### Hệ thống kính STORM xây dựng ở Việt nam

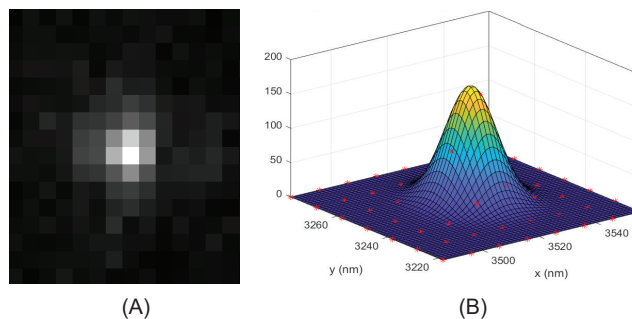
Hình 3 là ảnh của hệ thống KHV SPG (STORM) đã được xây dựng ở Việt Nam với các linh kiện được trình bày chi tiết trong phần phương pháp nghiên cứu. Hệ KHV STORM gồm thân kính Ti2E ECLIPSE, hệ tự điều chỉnh tiêu, bộ dịch chuyển XYZ piezo kết nối quang với nguồn kích thích gồm 4 laser, đầu thu sử dụng một camera siêu nhạy EMCCD. Các thông số của hệ KHV SPG đạt được như sau: độ phân giải ngang x, y được đánh giá xấp xỉ 20 nm. Độ phân giải dọc trục z đạt được trong khoảng 80-150 nm; thời gian lấy mẫu khoảng 10 phút; các mode kích thích hiện ảnh: TIRFM-STORM, 3D STORM; phần mềm điều khiển hệ được viết bằng ngôn ngữ lập trình Labview.



Hình 3. Hệ KHV STORM sử dụng 4 laser kích được kết nối quang với KHV, đầu thu là một camera siêu nhạy EMCCD.

### Giới hạn phân giải của KHV siêu phân giải

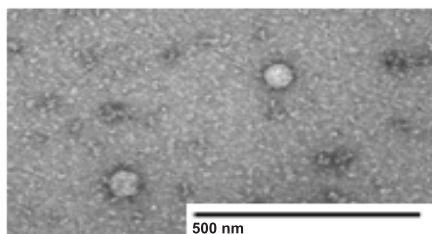
Để đánh giá giới hạn phân giải của KHV, các phân tử màu huỳnh quang rhodamine 6G (Rh6G) được phân tán trên lam kính. Kết quả hình ảnh điểm phát quang của đơn phân tử Rh6G được thể hiện ở hình 4A. Phân bố vị trí được định vị của phân tử Rh6G trên hình 4A là các chấm đỏ trong hình 4B được làm khớp với hàm phân bố Gauss.



Hình 4. Hình ảnh điểm phát quang của đơn phân tử Rh6G. Phân bố vị trí được định vị của phân tử Rh6G trên hình (A) là các chấm đỏ trong hình (B) và được làm khớp với hàm phân bố Gauss.

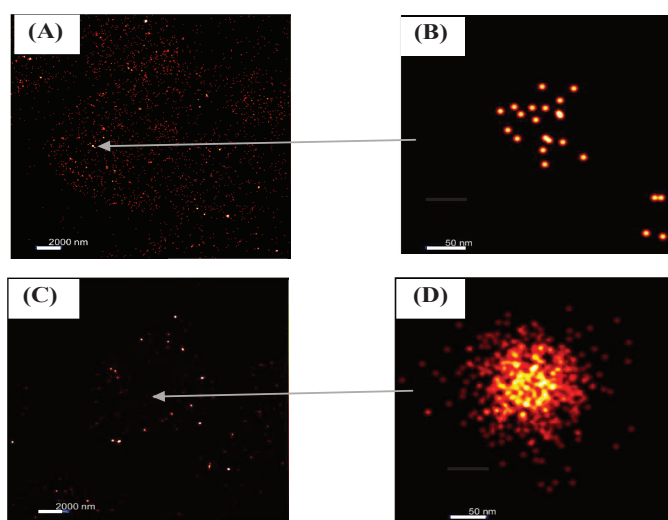
### Kết quả hiện ảnh của vi-rút Dengue

Để thu được hình dạng và đường kính của hạt vi-rút Dengue với độ chính xác cao, các hạt vi-rút Dengue trước tiên được phân tích với TEM. Hình 5 thể hiện hình ảnh của hạt vi-rút Dengue tip 2 được chụp bởi TEM. Trên các ảnh được phân tích, vi-rút Dengue có dạng hình cầu, kích thước đo được nằm trong khoảng 45-60 nm. Số liệu được ghi nhận trên hai mẫu dịch nổi chứa vi-rút Dengue và tổng số khoảng 60 hạt đã được đo.



Hình 5. Hình ảnh vi-rút Dengue tip 2 dưới TEM thang đo 500 nm.

Hình 6 là ảnh thu được của các tế bào BHK-21 có và không có vi-rút Dengue tip 2 chụp bằng kỹ thuật STORM. Hình 6A là ảnh của tế bào BHK-21 nuôi không nhiễm vi-rút, hình 6B là ảnh phóng đại của các chấm sáng trên hình 6A. Kết quả cho thấy các chấm sáng trên hình 6A chỉ là nhiễu nền. Hình 6C là ảnh huỳnh quang của tế bào BHK-21 có nhiễm vi-rút Dengue, các chấm sáng có độ chói cao hơn, sau khi phóng đại các chấm sáng này sẽ thu được ảnh như hình 6D. Hình 6E thể hiện phân bố vị trí được định vị các chấm đỏ, tương ứng với các chấm sáng trên hình D và được làm khớp với hàm phân bố Gauss.



Hình 6. Ảnh STORM của tế bào BHK-21 không có vi rút (A); hình ảnh phóng đại của chấm sáng trên hình A, tương ứng với nhiễu của nền (B); ảnh STORM của vi rút Dengue tip 2 trong tế bào BHK-21 (C); ảnh phóng đại của vi rút tương ứng với từng chấm sáng trên hình B (D); phân bố vị trí được định vị các chấm đỏ trong hình E, tương ứng với các chấm sáng trên hình D và được làm khớp với hàm phân bố Gauss (E).

### Bàn luận

#### Đánh giá sai số của hệ thống KHV huỳnh quang SPG

Sai số của phép định vị đơn phân tử được tính bởi công thức sau [18]:

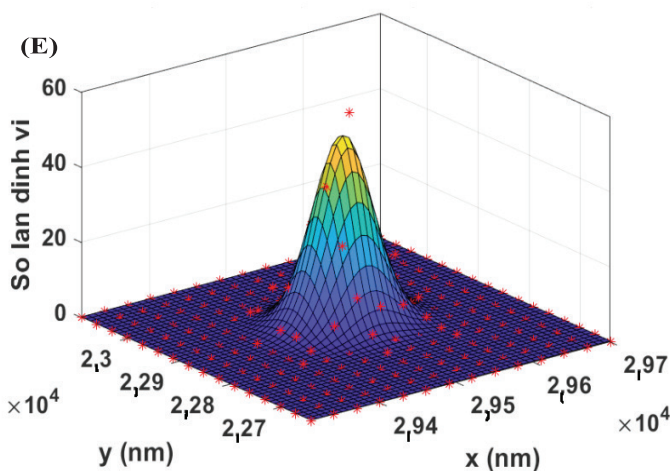
$$\langle (\Delta x)^2 \rangle = \frac{\left(s^2 + \frac{a^2}{12}\right)}{N} + \frac{4\sqrt{\pi}s^3b^2}{aN^2}$$

trong đó:  $\Delta x$  là sai số định vị;  $s$  là độ lệch chuẩn của hàm mở rộng điểm (thường là hàm Gauss) tính theo nano mét;  $N$  là số photon ghi nhận được do một phân tử phát ra;  $b$  là nhiễu nền;  $a$  là kích thước pixel tính theo nano mét. Ta có thể thấy sai số định vị giảm đối với phân tử phát quang mạnh hơn trên nền nhiễu yếu hơn.

Trong kỹ thuật KHV huỳnh quang siêu phân giải định vị đơn phân tử, cần thu hàng nghìn đến hàng trăm nghìn ảnh. Do đó thời gian thu ảnh có thể từ vài phút đến vài chục phút. Trong khoảng thời gian đó, KHV có thể chịu các tác động cơ khí khiến ảnh huỳnh quang thu được bị trôi theo trục x, y và z. Để khắc phục hiện tượng này, mô-đun PFS của Hãng Nikon được trang bị, giúp giữ ổn định mặt tiêu theo trục z. Các thuật toán khử trôi được sử dụng để khử trôi theo trục x, y [19].

#### Đánh giá giới hạn phân giải x, y của STORM

Đối với mỗi phân tử phát quang, 4000 ảnh liên tiếp được thu với tốc độ trung bình khoảng 50 ảnh/giây (hình 4A). Phân tử phát quang trên từng ảnh được định vị bằng phần mềm SMAP [20]. Sau đó, các vị trí của phân tử được xác định trong từng 500 ảnh liên tiếp được sử dụng để xác định phân bố định vị của phân tử đó. Phân bố vị trí này sẽ được làm khớp với hàm Gauss để xác định sai số định vị. Sai số này được xác định bằng độ rộng nửa chiều cao của phân bố thu được. Hình 4B biểu diễn phân bố vị trí của phân tử bằng



các dấu chấm màu đỏ và hàm Gauss được làm khớp. Kết quả cho thấy, hàm Gauss có độ rộng phân bố là 16 nm theo cả hai trục x và y. Với nhiều điểm phát quang khác chúng tôi thu được kết quả tương tự cho phép kết luận, KHV huỳnh quang siêu phân giải xây dựng được có thể đạt độ phân giải xấp xỉ 20 nm với độ lệch chuẩn là  $\pm 2$  nm.

### Kết quả SPG mẫu vi-rút SXH Dengue

Hình 6 (C, D) là hình ảnh của tế bào có vi-rút, chúng ta thấy mật độ chấm sáng của các hạt vi-rút dày hơn so với các mật độ chấm sáng của mẫu không có vi-rút (hình 6 A, B) tương ứng. Kích thước đo được tương ứng trung bình trong khoảng 79-84 nm theo hai chiều x và y được xác định từ 22 chấm sáng của hình 6C cho kích thước của vi-rút theo chiều x =  $79,14 \pm 11,94$  nm và theo chiều y =  $83,8 \pm 11,92$  nm. Độ lệch chuẩn  $\sim 12$  nm này được đóng góp chủ yếu từ sự thay đổi kích thước thực của vi-rút Dengue trong khoảng 45-60 nm. Sau khi đánh dấu miễn dịch huỳnh quang với 2 kháng thể IgG nguyên phát đặc hiệu vi-rút và IgG thứ phát có gắn màu CF.647, kích thước của kháng thể IgG xấp xỉ 14 nm [21]. Như vậy, KHV siêu phân giải của chúng tôi, dựa trên kỹ thuật định vị đơn điểm STORM cho phép có thể quan sát được các cấu trúc kích thước dưới 200 nm và kết hợp với miễn dịch huỳnh quang đặc hiệu giúp định danh được vi-rút. Kỹ thuật này tương đương với hai phương pháp kết hợp trước đây, đó là sử dụng KHV điện tử và kỹ thuật đánh dấu miễn dịch huỳnh quang hoặc RT-PCR.

### Kết luận

Lần đầu tiên, một thiết bị KHV huỳnh quang siêu phân giải đã được xây dựng thành công ở Việt Nam. Độ phân giải hiện tại đạt được giá trị phân giải thông thường của các thiết bị hiển vi siêu phân giải định vị đơn điểm là 20 nm với độ lệch chuẩn là  $\pm 2$  nm. Bằng kỹ thuật chụp ảnh KHV siêu phân giải STORM và đánh dấu miễn dịch huỳnh quang thông thường, chúng ta hoàn toàn có thể chụp ảnh được vi-rút Dengue, có kích thước trung bình xác định được là trong khoảng 79-84 nm với độ lệch chuẩn  $\sim 12$  nm, vốn trước đây chỉ quan sát được bằng TEM. Chỉ với kỹ thuật KHV huỳnh quang siêu phân giải STORM cho phép vừa định danh, vừa xác định được kích thước của vi-rút. KHV siêu phân giải STORM cho phép chẩn đoán nhanh, chính xác loại vi-rút, giúp cho việc hỗ trợ đưa ra liệu pháp điều trị chính xác cho bệnh nhân. Việc phát hiện và định danh được vi-rút SXH Dengue bằng KHV siêu phân giải sẽ đóng góp cho việc nhận dạng xác định nhanh tác nhân vi-rút gây bệnh, đồng thời mở đường cho việc ứng dụng thiết bị hiện đại trong các nghiên cứu sâu về các vi-rút gây bệnh trên người trong tương lai ở Việt Nam.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Y. Oshikane, et al. (2007), "Observation of nanostructure by scanning near-field optical microscope with small sphere probe", *Science and Technology of Advanced Materials*, **8**(3), pp.181-185.
- [2] K. Hoshino, et al. (2012), "Nanoscale fluorescence imaging with

quantum dot near-field electroluminescence", *Appl. Phys. Lett.*, **101**, DOI: 10.1063/1.4739235.

[3] T. Klar, et al. (2000), "Fluorescence microscopy with diffraction resolution barrier broken by stimulated emission", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**(15), pp.8206-8210.

[4] M. Yamanaka, et al. (2014), "Introduction to super-resolution microscopy", *Microscopy*, **63**(3), pp.177-192.

[5] I. Khater, et al. (2020), "A review of super-resolution single molecule localization microscopy cluster analysis and quantification methods", *Patterns*, **1**(12), pp.1-23.

[6] P. Bazylewski, S. Ezugwu, G. Fanchini (2017), "A review of three-dimensional scanning near-field optical microscopy (3D-SNOM) and its applications in nanoscale light management", *Appl. Sci.*, **7**, pp.1-25.

[7] P. Bianchi, et al. (2015), "STED nanoscopy: a glimpse into the future", *Cell Tissue Res.*, **360**, pp.143-150.

[8] E. Betzig (1995), "Proposed method for molecular optical imaging", *Optics Letters*, **20**(3), pp.237-239.

[9] E. Betzig, et al. (2006), "Imaging intracellular fluorescent proteins at nanometer resolution", *Science*, **313**, pp.1642-1645.

[10] M. Rust, et al. (2006), "Sub-diffraction-limit imaging by stochastic optical reconstruction microscopy (STORM)", *Nature Methods*, **3**(10), pp.793-796.

[11] Romain F. Laine, et al. (2015), "Structural analysis of herpes simplex virus by optical super-resolution imaging", *Nature Communications*, **6**, p.5980.

[12] <https://www.who.int/vietnam/news/detail/16-07-2019-dengue-increase-likely-during-rainy-season-ministry-of-health-who-warn>.

[13] Kim Lien Pham Thi, et al. (2017), "Incidence of dengue and chikungunya viruses in mosquitoes and human patients in border provinces of Vietnam", *Parasites and Vectors, BioMed. Central.*, **10**(1), p.556.

[14] Dang Thi Thuy, et al. (2020), "Whole genome sequencing and genetic variations in several dengue virus type 1 strains from unusual dengue epidemic of 2017 in Vietnam", *Virology Journal*, **17**(7), DOI: 10.1186/s12985-020-1280-z.

[15] Bộ Y tế (2019), *Quyết định số 3705/2019/QĐ-BYT về việc hướng dẫn chẩn đoán, điều trị sốt xuất huyết Dengue*.

[16] Nguyễn Thị Thu Thủy và cs (2014), "Đặc điểm virus Dengues 1 gây dịch tại Hà Nội 2008-2009", *Tạp chí Y học dự phòng*, **24**, tr.63-69.

[17] <https://wiki.ucl.ac.uk/display/LMCBLMic/STORM+Sample+Preparation>.

[18] E.T. Russell, et al. (2002), "Precise nanometer localization analysis for individual fluorescent probes", *Biophysical Journal*, **82**, pp.2775-2783.

[19] Sian Culley, et al. (2018), "SRRF: universal live-cell super-resolution microscopy", *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, **101**, pp.74-79.

[20] Jona Ries (2020), "SMAP: a modular super-resolution microscopy analysis platform for SMLM data", *Nature Methods*, **17**, pp.870-872.

[21] G.W. Nicholas, et al. (2017), "Orientation and characterization of immobilized antibodies for improved immunoassays", *Biointerphases*, **12**(2), p.02D301.

# Khảo sát tính chất hoá lý và điện hoá của các hệ điện giải nồng độ cao với muối $\text{LiBF}_4$ ứng dụng cho pin sạc Li-ion điện thế cao 5 V

Phạm Kim Ngân, Lê Minh Kha, Trương Thị Thanh Tuyền, Huỳnh Thị Kim Tuyền,  
Nguyễn Văn Hoàng, Trần Văn Mẫn, Lê Mỹ Loan Phụng\*

*Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh*

Ngày nhận bài 12/7/2021; ngày chuyển phản biện 18/7/2021; ngày nhận phản biện 19/8/2021; ngày chấp nhận đăng 27/8/2021

## **Tóm tắt:**

Nghiên cứu này khảo sát tính chất hoá lý và điện hoá của các dung dịch điện giải có nồng độ cao sử dụng muối lithium tetrafluoroborate ( $\text{LiBF}_4$ ) hoà tan trong các dung môi như tetramethylene sulfone (TMS) hoặc trimethyl phosphate (TMP) theo các tỷ lệ mol khác nhau. Kết quả cho thấy hệ điện giải  $\text{LiBF}_4/\text{TMS}$  tỷ lệ 1:3 (nồng độ ~3,4 M) có độ bền oxy cao nhất (6,2 V vs.  $\text{Li}^+/\text{Li}$ ) và độ dẫn ion cao 1,0 mS/cm, phù hợp để sử dụng làm hệ điện giải cho pin sạc Li-ion có vùng thế hoạt động từ 3,5 đến 4,9 V. Tính tương thích của hệ điện giải  $\text{LiBF}_4/\text{TMS}$  (1:3) với vật liệu điện cực dương  $\text{LiNi}_{0,5}\text{Mn}_{1,5}\text{O}_4$  (LNMO) hoạt động ở vùng thế cao được đánh giá trên bán pin mô hình cúc áo sử dụng kim loại Li là điện cực âm. Kết quả cho thấy pin có hiệu suất phóng sạc cao >91% với dung lượng phóng đầu tiên đạt 113,0 mAh/g và duy trì khá ổn định trong 100 chu kỳ ở tốc độ C/10. Ngoài ra, hệ số khuếch tán của ion  $\text{Li}^+$  cũng được đánh giá bằng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn, có giá trị là  $4,51 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ .

**Từ khóa:** chất điện giải nồng độ cao,  $\text{LiBF}_4$ ,  $\text{LiNi}_{0,5}\text{Mn}_{1,5}\text{O}_4$ , pin sạc Li-ion, tetramethylene sulfone.

**Chỉ số phân loại:** 1.4

## **Giới thiệu**

Hiện nay, pin sạc Li-ion (LIB) được xem là một trong những thiết bị lưu trữ năng lượng hiệu quả nhất, với nhiều ưu điểm vượt trội như: mật độ năng lượng lớn (100-200 Wh/kg), dải thế hoạt động rộng (3-4 V), độ tự phóng thấp (<1%/năm) và độ bền phóng sạc cao (~1000 chu kỳ) [1, 2]. Do đó, LIB ngày càng được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khoa học và đời sống, từ các thiết bị điện tử như điện thoại, máy ảnh, laptop, máy tính bảng đến các thiết bị y tế nhỏ gọn như máy trợ thính, máy đo đường huyết cầm tay [3, 4]. Đặc biệt, LIB còn được hướng đến là nguồn điện chủ yếu cho các loại xe điện (Electric Vehicles - EV) hay các loại xe sử dụng động cơ xăng lai điện (Hybrid Electric Vehicle - HEV). Trên xe điện, LIB thể hiện nhiều ưu điểm như mật độ năng lượng cao cho phép pin kích thước nhỏ và nhẹ mà xe vẫn đi được quãng đường lớn, điện áp ổn định giúp bảo vệ động cơ tốt và thân thiện với môi trường [5-7].

Mật độ năng lượng là một trong những thông số quan trọng để đánh giá chất lượng của pin. Để nâng cao mật độ năng lượng (E) của LIB, việc thiết kế hệ điện cực - chất điện giải có độ tương thích và hiệu suất cao có vai trò đặc biệt quan trọng. Do mật độ năng lượng tỷ lệ với dung lượng và điện thế theo công thức  $E = Q \times V$  [8] nên để cải thiện mật độ năng lượng của pin cần phải phát triển các vật liệu điện cực có dung lượng cao (tăng Q) hoặc điện thế hoạt động cao (tăng V). Hiện nay, việc phát triển vật liệu điện cực dương (cathode) hoạt động ở vùng thế cao (>5 V so với  $\text{Li}^+/\text{Li}$ ) nhận được nhiều sự chú ý hơn vì giúp tăng hiệu quả mật độ năng

lượng của pin [9, 10]. Đồng thời, để pin hoạt động tốt ở vùng thế cao, yêu cầu cấp thiết là phải tìm ra các hệ điện giải mới phù hợp để hạn chế các phản ứng không mong muốn của vật liệu cathode với chất điện giải, do hiện tại các chất điện giải thương mại dùng các dung môi carbonate hữu cơ trong LIB trên thị trường chỉ có độ bền oxy hóa ở thế <4,5 V (so với  $\text{Li}^+/\text{Li}$ ). Khi sạc lên vùng thế cao hơn 4,5 V, chất điện giải truyền thống sẽ bị phân hủy tạo ra lớp thụ động trên bề mặt điện cực, làm cho dung lượng sụt giảm nhanh chóng và ảnh hưởng đáng kể đến tuổi thọ của pin.

Đến nay đã có nhiều công bố khoa học về chất điện giải dùng chất lỏng ion, chất điện giải rắn vô cơ và chất điện giải polymer [11] được dùng như các hệ điện giải mới để thay thế chất điện giải truyền thống trên cơ sở dung môi carbonate. Thông thường, hệ điện giải được chia làm hai loại phổ biến là hệ điện giải nồng độ thấp có nồng độ ion dẫn điện chính  $\leq 1 \text{ mol/l}$  và hệ điện giải nồng độ cao (Highly concentrated electrolyte - HCE) có nồng độ ion  $> 1 \text{ mol/l}$ . Các nghiên cứu cũng đã chứng minh rằng, ở nồng độ cao các tính chất hóa lý và điện hóa của hệ điện giải thay đổi rất lớn như: tính bền nhiệt cao hơn, áp suất hơi bão hòa thấp hơn và tính ổn định điện hóa tốt hơn do hàm lượng dung môi tự do ít hơn đáng kể so với chất điện giải nồng độ thấp [12].

Nhờ tính ổn định điện hoá được cải thiện nên có thể ứng dụng HCE trong LIB sử dụng vật liệu điện cực dương điện thế cao. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, việc sử dụng muối  $\text{LiBF}_4$  tốt hơn  $\text{LiPF}_6$  ở điều kiện tốc độ phóng cao và nhiệt độ cao 50°C do độ dẫn ion của  $\text{LiBF}_4$  cao hơn [13, 14]. Ngoài ra, tetramethylene sulfone

\*Tác giả liên hệ: Email: lmlphung@hcmus.edu.vn

# Investigating on physical and electrochemical properties of high concentrated electrolytes based on $\text{LiBF}_4$ salt for 5 V Li-ion rechargeable batteries

Kim Ngan Pham, Minh Kha Le,  
Thi Thanh Tuyen Truong, Thi Kim Tuyen Huynh,  
Van Hoang Nguyen, Van Man Tran, My Loan Phung Le\*

Vietnam National University, Ho Chi Minh city

Received 12 July 2021; accepted 27 August 2021

## Abstract:

In this work, highly concentrated electrolytes were prepared by dissolving tetrafluoroborate ( $\text{LiBF}_4$ ) salt in the two solvents including tetramethylene sulfone (TMS) and trimethyl phosphate (TMP) with different mole ratios. The results indicated that the electrolyte  $\text{LiBF}_4/\text{TMS}$  (1:3) (~3.4 M) possessed the highest oxidation stability of 6.2 V (vs.  $\text{Li}^+/\text{Li}$ ) and high ionic conductivity of 1.0 mS/cm that could be promising for high voltage Li-ion batteries operated in the voltage range of 3.5–4.9 V. The electrolyte compatibility with high voltage cathode  $\text{Li} \parallel \text{LiNi}_{0.5}\text{Mn}_{1.5}\text{O}_4$  (LNMO) was evaluated in coin-cell configuration, which displayed high reversible discharge capacity of 113 mAh/g in the first cycle and high initial Coulombic efficiency >91% and remained >80% of the initial capacity at the 100<sup>th</sup> cycle. By using the cyclic voltammetry (CV) method, the diffusion coefficient was also calculated as about  $4.51 \times 10^{-11} \text{ cm}^2/\text{s}$ .

**Keywords:** high concentrated electrolytes,  $\text{LiBF}_4$ , Li-ion batteries,  $\text{LiNi}_{0.5}\text{Mn}_{1.5}\text{O}_4$ , tetramethylene sulfone.

**Classification number:** 1.4

(TMS) là một dung môi tiềm năng để thay thế cho các dung môi carbonate do TMS có độ phân cực cao và bền oxy hóa khử với cửa sổ điện hoá lên đến 5 V [12, 15, 16]. Bên cạnh TMS, trimethyl phosphate (TMP) cũng là một dung môi nổi bật sử dụng trong HCE, không chỉ vì tính phân cực cao và chống cháy tốt mà còn bởi giá thành thấp [17]. Nghiên cứu trên pin hoàn chỉnh graphite  $\parallel$  LNMO sử dụng hệ điện giải HCE là  $\text{LiFSI}/\text{TMS}$  cho thấy quá trình oxy hoá điện giải ở vùng thế >5 V diễn ra không đáng kể khi nồng độ muối lithium là 3,0 mol/l và do vậy dung lượng duy trì được 69% sau 1000 chu kỳ ở tốc độ C/5 ngay cả trong điều kiện nhiệt độ cao ~55°C [18]. Ngoài ra, dung môi TMP có thể tạo thành HCE với muối  $\text{LiFSI}$  có nồng độ >5 mol/l mà không cần chất pha loãng (diluent) nhưng vẫn cho phép bán pin  $\text{Li} \parallel \text{LiNi}_{1/3}\text{Mn}_{1/3}\text{Co}_{1/3}\text{O}_2$  hoạt động tốt sau 100 chu kỳ với hiệu suất Coulomb >99%. Dung lượng

của bán pin này ở chu kỳ đầu tiên đạt được là 117,5 mAh/g [19].

Trong nghiên cứu này, các hệ điện giải nồng độ cao của muối  $\text{LiBF}_4$  trên cơ sở hai dung môi TMS và TMP với tỷ lệ muối/dung môi = 1:3 và 1:4 được tổng hợp và khảo sát các tính chất hoá lý và điện hoá. Kết quả đo phóng xạ của bán pin  $\text{Li} \parallel \text{LNMO}$  hoạt động ở vùng thế cao (>4,5 V) trong hệ điện giải  $\text{LiBF}_4/\text{TMS}$  và  $\text{LiBF}_4/\text{TMP}$  sẽ được thảo luận chi tiết ở các phần sau.

## Thực nghiệm

### Chuẩn bị chất điện giải nồng độ cao

Các chất điện giải nồng độ cao được pha và bảo quản trong buồng thao tác chân không (glovebox, MBRAUN, Pháp) chứa khí argon với nồng độ  $\text{H}_2\text{O}$  và  $\text{O}_2$  được kiểm soát dưới 1 ppm.  $\text{LiBF}_4$  (98%, Sigma-Aldrich) được sấy chân không ở 110°C trong 12 giờ trước khi sử dụng. TMS (98%, Sigma-Aldrich) và TMP (99%, Acros) được bảo quản trong glovebox.  $\text{LiBF}_4$  được hòa tan lần lượt với TMS và TMP với các tỷ lệ 1:3 và 1:4 theo số mol. Các hỗn hợp trên được khuấy từ với tốc độ 150 vòng/phút trong 10 h cho hỗn hợp hoàn toàn đồng nhất và trong suốt.

### Chuẩn bị điện cực dương và lắp ráp bán pin cúc áo

Vật liệu điện cực dương  $\text{LiNi}_{0.5}\text{Mn}_{1.5}\text{O}_4$  (LNMO, MTI, Mỹ), carbon AB (Imerys, Pháp), graphite (MTI, Mỹ) và chất kết dính polyvinylidene fluoride (PVdF) theo tỷ lệ 80:7,5:7,5:5 về khối lượng được phối trộn bằng máy nghiền bi (MSK-SFM-3) trong một lượng vừa đủ dung môi N-methyl-2-pyrrolidone (NMP, Acros, Pháp) để tạo thành dạng keo đồng nhất. Hỗn hợp này được phủ lên màng nhôm bằng kỹ thuật Doctor Blade. Sau đó, màng nhôm được sấy chân không ở 80°C trong 12 giờ và cắt thành điện cực tròn với đường kính 12 mm, mật độ khối lượng 1-2 mg/cm.

Bán pin cúc áo CR2032  $\text{Li} \parallel \text{LNMO}$  được lắp ráp trong glovebox chứa khí argon, sử dụng màng điện cực được chế tạo ở trên làm cathode, kim loại Li làm anode, 2 màng ngăn sợi thủy tinh Whatman (Aldrich, Mỹ) và chất điện giải là dung dịch 1 mol/l  $\text{LiBF}_4/\text{EC-DMC}$  hoặc các HCE được chuẩn bị ở phần trên.

### Đánh giá tính chất hóa lý và điện hóa của dung dịch điện giải

Độ dẫn ion của chất điện giải được xác định bằng phương pháp phổ tổng trở điện hóa (EIS) trong dải tần số từ 1 MHz - 100 MHz với biên độ thế kích thích là 10 mV. Cell đo độ dẫn CDC641T (Radiometer Analytical) được chuẩn bị trong glovebox gồm 2 bán điện cực Pt với khoảng cách không đổi nhúng vào dung dịch điện giải. Hệ được ổn định nhiệt ở 25°C trong 2 h trước khi tiến hành đo EIS trên thiết bị đo điện hóa VSP (BioLogic, Pháp). Dung dịch chuẩn KCl 0,010 M (1412  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) được sử dụng để hiệu chỉnh hằng số điện cực.

Phương pháp quét thế tuyến tính (LSV) được thực hiện trên máy MPG2 (Biologic, Pháp) để khảo sát độ bền oxy hoá của các hệ điện giải. Pin cúc áo CR2032 được lắp ráp gồm điện cực làm việc là lá Al đường kính 14 mm, điện cực đối và so sánh là lá Li kim loại có cùng đường kính, màng ngăn Whatman (loại GF/C) được thấm ướt bằng dung dịch điện giải nồng độ cao. Thế trên điện

cực làm việc được quét tuyến tính với tốc độ 0,1 mV/s từ thế cân bằng (OCV) đến giá trị 6-7 V.

Pin cúc áo Li || LNMO được khảo sát bằng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn (CV) ở tốc độ quét 0,1 mV/s để khảo sát độ bền trong vùng thế hoạt động 3,0-4,5 V và tính toán hệ số khuếch tán. Phép đo được thực hiện trên máy MPG2 (Biologic, Pháp). Pin cúc áo Li || LNMO được đo phóng sạc trên máy CT2001A (Landt Inst., Trung Quốc), sử dụng phương pháp phóng sạc dòng cố định với giá trị dòng C/10 (tương ứng với khả năng nạp cài 1 Li<sup>+</sup> trong 10 giờ) trong vùng thế hoạt động 3,0-4,5 V.

## Kết quả và bàn luận

Giá trị nồng độ ion Li<sup>+</sup> và độ dẫn ion của các HCE ở 25°C thể hiện trong bảng 1. Các hệ điện giải với tỷ lệ mol muối/dung môi = 1:4 có độ dẫn ion cao hơn so với hệ có tỷ lệ 1:3 (LiBF<sub>4</sub>/TMS 1:4 - 1,16 mS/cm, LiBF<sub>4</sub>/TMS 1:3 - 1,00 mS/cm), phù hợp với việc pha loãng làm tăng độ dẫn ion do làm giảm tương tác giữa các ion trái dấu. So sánh hai dung môi, hệ điện giải chứa TMP (LiBF<sub>4</sub>/TMP 1:4 - 2,97 mS/cm) có giá trị độ dẫn cao hơn hệ điện giải chứa TMS (LiBF<sub>4</sub>/TMS 1:4 - 1,16 mS/cm). Nguyên nhân bởi vì dung môi TMS có khả năng solvate hóa các ion của muối tốt hơn do hằng số điện môi của TMS cao hơn TMP ( $\epsilon_{\text{TMS}}=44,0$ ;  $\epsilon_{\text{TMP}}=20,6$ ) [20, 21] nên mặc dù sự phân tách cation Li<sup>+</sup> và anion BF<sub>4</sub><sup>-</sup> tốt hơn nhưng làm dày lớp vỏ solvate hoá của các ion, làm giảm tốc độ chuyển động của chúng dưới tác dụng của điện trường. Ngoài ra, độ nhớt của TMP thấp hơn TMS rất nhiều (2,257 cP [22] < 10,2 cP [23]) cũng góp phần làm tăng độ dẫn của hệ điện giải chứa dung môi TMP.

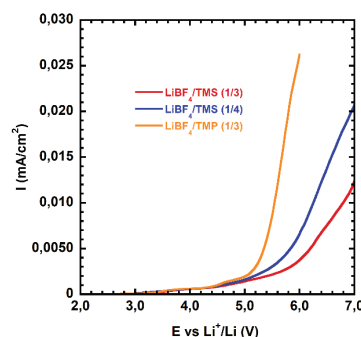
**Bảng 1.** Giá trị độ dẫn ion của các hệ điện giải nồng độ cao so với hệ điện giải dung môi carbonate.

| Chất điện giải                          | Nồng độ ion | Độ dẫn (mS/cm) |
|-----------------------------------------|-------------|----------------|
| LiBF <sub>4</sub> /TMS (1:3)            | 3,40        | 1,00           |
| LiBF <sub>4</sub> /TMP (1:3)            | 2,86        | 1,04           |
| LiBF <sub>4</sub> /TMS (1:4)            | 1,68        | 1,16           |
| LiBF <sub>4</sub> /TMP (1:4)            | 1,32        | 2,97           |
| LiBF <sub>4</sub> /EC-DMC (1,0 M, 25°C) | 1,00        | 4,90 [13]      |

Khi so sánh độ dẫn ion của điện giải carbonate nồng độ thấp thông thường (1 mol/l LiBF<sub>4</sub>/EC-DMC - 4,9 mS/cm), các hệ điện giải nồng độ cao trong nghiên cứu này có độ dẫn ion thấp hơn khoảng 4,5 lần, trừ hệ LiBF<sub>4</sub>/TMP chỉ thấp hơn 1,6 lần. Kết quả này phù hợp với việc tăng nồng độ muối làm tăng khả năng ghép cặp ion làm giảm độ dẫn ion. Tuy nhiên, hệ điện giải nồng độ cao vẫn có ý nghĩa do khả năng bền điện hoá của nó khi tiếp xúc với các vật liệu điện cực điện thế cao như LNMO nhờ việc mở rộng cửa sổ điện hoá (chủ yếu mở rộng vùng bền oxy hoá).

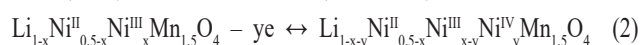
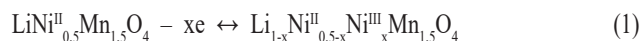
Thật vậy, đường cong quét thế tuyến tính LSV của các hệ điện giải để xác định thế oxy hoá được thể hiện trong hình 1. Thế oxy hoá được chọn tại mật độ dòng  $i=0,005$  mA/cm. Nhìn chung, độ bền oxy hoá hay thế oxy hoá của các hệ điện giải tăng khi tăng nồng độ muối (tỷ lệ muối/dung môi nhỏ hơn). Với dung môi TMS,

giá trị thế oxy hoá của hệ LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:3) là 6,2 V, cao hơn so với hệ LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:4) (5,8 V) và hệ điện giải nồng độ thấp 1 M LiBF<sub>4</sub>/EC-DMC (4,6 V [24] vs Li<sup>+</sup>/Li). So sánh giữa hai loại dung môi, hệ điện giải sử dụng dung môi TMP có độ bền oxy hoá thấp hơn (khoảng 5,4 V). Điều này đã được giải thích ở trên, là do khả năng solvate hoá các cation và anion từ muối đối với TMS tốt hơn, làm giảm bớt lượng dung môi tự do, là thành phần dễ bị oxy hoá của hệ điện giải.

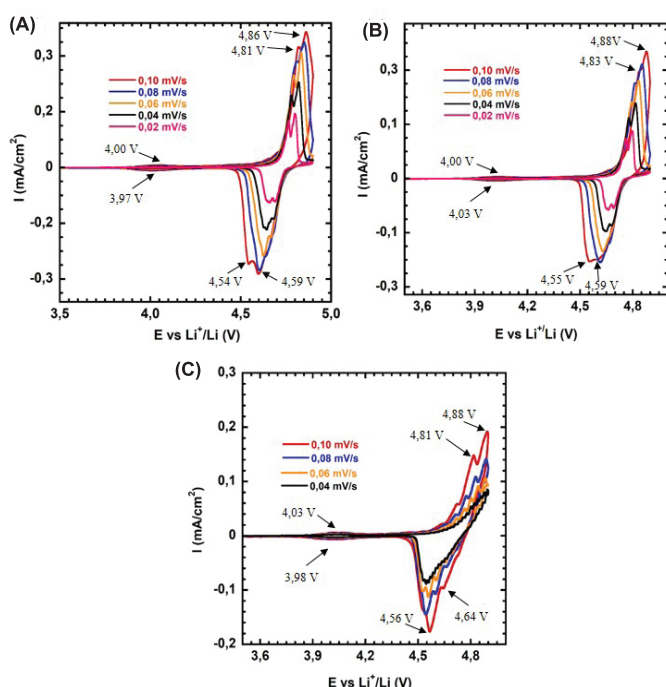


**Hình 1.** Đường cong quét thế tuyến tính LSV của điện cực làm việc AI trong các loại hệ điện giải ở tốc độ quét 0,1 mV/s.

Tính tương hợp của hệ điện giải nồng độ cao trên vật liệu LNMO được khảo sát qua phương pháp CV trong mô hình bán pin Li || LNMO từ 3,5-4,9 V (so với Li<sup>+</sup>/Li) với tốc độ quét thế 0,02-0,1 mV/s. Kết quả CV (hình 2) cho thấy vùng thế hoạt động của vật liệu LNMO nằm trong khoảng 4,6-4,8 V, được đặc trưng bởi hai cặp mũi xen phủ lên nhau tương ứng với cặp oxy hoá khử Ni<sup>2+</sup>/Ni<sup>3+</sup> (vùng thế thấp) và Ni<sup>3+</sup>/Ni<sup>4+</sup> (vùng thế cao) được biểu diễn tương ứng bởi phương trình (1) và (2).



Bên cạnh đó, trên đường CV còn xuất hiện một cặp mũi nhỏ ở khoảng 4,0 V do phản ứng oxy hóa khử Mn<sup>4+</sup>/Mn<sup>3+</sup> của ion Mn<sup>3+</sup> còn lại trong cấu trúc của LNMO [18]. Trong hệ điện giải với dung môi TMS, điện cực LNMO thể hiện hết các đặc trưng oxy hoá khử trong vùng thế được khảo sát và ở các tốc độ từ cao đến thấp. Trong khi đó, vật liệu LNMO trong hệ điện giải LiBF<sub>4</sub>/TMP chỉ thể hiện các mũi oxy hoá khi bắt đầu quét ở tốc độ cao, sau đó các mũi oxy hoá dịch chuyển về phía dương và mất dần khi tốc độ giảm dần đến các giá trị nhỏ hơn. Kết quả này cho thấy vật liệu LNMO không tương thích tốt với hệ điện giải sử dụng dung môi TMP. Mặc dù các hệ điện giải được sử dụng có độ dẫn ion gần nhau như có thể thấy ở bảng 1, nhưng độ bền oxy hoá của dung môi là yếu tố quyết định chính đến độ bền hoạt động của chất điện giải khi tiếp xúc trực tiếp với vật liệu LNMO và sự hình thành liên diện pha rắn bền vững là yếu tố cần thiết để ngăn chặn sự phân huỷ của chất điện giải ở các chu kỳ phóng sạc. Sự giảm hoạt tính của điện cực LNMO có liên quan đến thế oxy hoá thấp của TMP và khi dung môi bị phân huỷ sẽ tạo ra rất nhiều các sản phẩm phụ đọng trên bề mặt điện cực và làm giảm khả năng dẫn ion và trao đổi điện tử.



**Hình 2.** Đường CV của bán pin Li || LNMO sử dụng hệ điện giải (A) LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:3), (B) LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:4) và (C) LiBF<sub>4</sub>/TMP (1:3) trong vùng thế 3,5-4,9 V (so với Li<sup>+</sup>/Li) ở tốc độ quét thế 0,02-0,1 mV/s.

Phương trình Randles-Sevcik được sử dụng để xác định giá trị hệ số khuếch tán đối với phản ứng đan cài và giải phóng ion Li<sup>+</sup> trong cấu trúc vật liệu LNMO khi sử dụng các hệ điện giải nồng độ cao có biểu thức như sau:

$$I = 2,69 \times 10^5 \times n^{3/2} A C_{Li^+} D_{Li^+}^{1/2} v^{1/2} \quad (3)$$

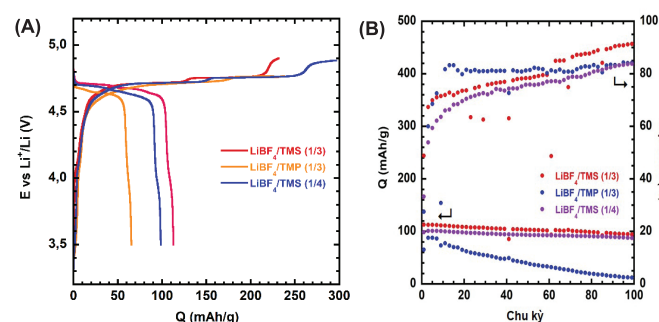
trong đó: I là dòng trao đổi (A), n là số electron trao đổi, A là diện tích bề mặt điện cực làm việc (cm<sup>2</sup>), C<sub>Li<sup>+</sup></sub> là nồng độ Li<sup>+</sup> trong vật liệu (mol/cm<sup>3</sup>), D là hệ số khuếch tán (cm<sup>2</sup>/s), v là tốc độ quét thế (mV/s).

**Bảng 2.** Giá trị hệ số góc của đường biểu diễn I theo v<sup>1/2</sup> và giá trị hệ số khuếch tán tương ứng.

| Hệ điện giải                 | Hệ số góc | Hệ số khuếch tán D (cm <sup>2</sup> /s) |
|------------------------------|-----------|-----------------------------------------|
| LiBF <sub>4</sub> /TMS (1:3) | 0,0497    | 4,51×10 <sup>-11</sup>                  |
| LiBF <sub>4</sub> /TMS (1:4) | 0,0329    | 1,97×10 <sup>-11</sup>                  |
| LiBF <sub>4</sub> /TMP (1:3) | 0,0228    | 9,50×10 <sup>-12</sup>                  |

Bảng 2 trình bày các hệ số góc của đường biểu diễn cường độ dòng I theo v<sup>1/2</sup> và các giá trị hệ số khuếch tán tính được trong quá trình quét CV của điện cực LNMO trong các hệ điện giải. Sự khuếch tán của ion Li<sup>+</sup> bao gồm sự khuếch tán từ bề sâu dung dịch đến bề mặt điện cực và sự khuếch tán trong cấu trúc vật liệu. Trong trường hợp hệ điện giải nồng độ cao, sự khuếch tán trong dung dịch có sự ảnh hưởng nhất định đến tốc độ khuếch tán chung của ion Li<sup>+</sup>. Hệ điện giải sử dụng dung môi TMS có giá trị hệ số khuếch tán cao hơn nhiều so với hệ sử dụng dung môi TMP. Điều này phù hợp với kết quả đo CV cho thấy hệ TMP có phản ứng phụ hình thành lớp thụ động ngăn cản sự

khuyết tán của ion Li<sup>+</sup> và làm giảm hoạt tính điện hoá của điện cực sau các chu kỳ. Tuy nhiên, khi so sánh với cùng dung môi TMS, nhận thấy hệ số khuếch tán tính được trong hệ điện giải LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:3) cao hơn khoảng 1,5 lần hệ LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:4) mặc dù hệ này có độ dẫn ion kém hơn. Có thể lý giải điều này khi theo dõi thế oxy hoá của các hệ điện giải chứa TMS như ở hình 1. Hệ điện giải LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:4) có thể oxy hoá thấp hơn và gần hơn với vùng thế được khảo sát của vật liệu LNMO. Hệ điện giải này có nồng độ muối thấp, do đó vẫn còn nhiều phần tử dung môi chưa tham gia vào quá trình solvate hoá và bị oxy hoá trong quá trình quét thế, dẫn đến các sản phẩm thụ động vẫn được hình thành trên bề mặt điện cực LNMO và ngăn chặn sự khuếch tán của ion Li<sup>+</sup>. Tuy nhiên, sản phẩm thụ động hình thành trong dung môi TMS vẫn có thể cho các ion Li<sup>+</sup> trao đổi tốt hơn so với trường hợp của dung môi TMP. Đặc trưng phóng xạ của điện cực LNMO trong các hệ điện giải nồng độ cao được trình bày trong hình 3. Đường cong phóng xạ của LNMO (hình 3A) thể hiện hai vùng thế phẳng gần nhau ở khoảng 4,7 V tương ứng với quá trình oxy hóa khử của cặp Ni<sup>4+</sup>/Ni<sup>3+</sup> và Ni<sup>3+</sup>/Ni<sup>2+</sup> của vật liệu LNMO. Kết quả này phù hợp với kết quả CV đã thảo luận ở trên. Tuy nhiên, quá trình đan cài của ion Li<sup>+</sup> đối với vật liệu LNMO diễn ra không hoàn toàn thuận nghịch ở các chu kỳ. Ở chu kỳ đầu tiên xảy ra quá trình oxy hoá chất điện giải trên bề mặt điện cực hình thành lớp liên diện pha rắn bền vững bảo vệ bề mặt điện cực, vì vậy tiêu tốn một lượng nhất định điện lượng đi qua hệ, dẫn đến độ bất thuận nghịch lớn ở chu kỳ đầu tiên. Hệ điện giải sử dụng dung môi TMS có hiệu suất phóng xạ tương đối tốt, đạt trên 80% đối với cả hai tỷ lệ 1:3 và 1:4. Kết quả này cũng phù hợp với giá trị hệ số khuếch tán đã tính toán ở bảng 2, cho thấy hệ điện giải sử dụng dung môi TMS tỷ lệ 1:4 có dung lượng bất thuận nghịch cao hơn tỷ lệ 1:3 do hình thành màng thụ động nhiều hơn. Vật liệu LNMO cho dung lượng phóng đạt 113,0 mAh/g trong chu kỳ đầu tiên (dung lượng lý thuyết là 148 mAh/g) và hiệu suất Coulomb có xu hướng tăng dần theo chu kỳ, đạt giá trị 91,86% ở chu kỳ thứ 100 trong hệ điện giải LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:3). Với hệ điện giải LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:4), dung lượng phóng chỉ đạt được 98,6 mAh/g ở chu kỳ đầu tiên. Các giá trị dung lượng và hiệu suất Coulomb trong quá trình phóng xạ của bán pin Li || LNMO trong các hệ điện giải được trình bày ở bảng 3.



**Hình 3.** (A) Đường cong phóng xạ chu kỳ đầu tiên, (B) dung lượng và hiệu suất Coulomb theo chu kỳ của bán pin Li || LNMO trong các hệ điện giải nồng độ cao sử dụng dung môi TMS và TMP.

**Bảng 3. Dung lượng phóng sạc, hiệu suất Coulomb chu kỳ 1 và độ duy trì dung lượng sau 100 chu kỳ của bán pin Li | LNMO.**

| Hệ điện giải               | Dung lượng chu kỳ 1 (mAh/g) |       | Hiệu suất Coulomb chu kỳ 1 (%) | Độ duy trì dung lượng sau 100 chu kỳ (%) |
|----------------------------|-----------------------------|-------|--------------------------------|------------------------------------------|
|                            | Phóng                       | Sạc   |                                |                                          |
| LiBF <sub>4</sub> /TMS 1:3 | 113,0                       | 231,4 | 48,83                          | 83,40                                    |
| LiBF <sub>4</sub> /TMS 1:4 | 98,6                        | 296,5 | 33,26                          | 86,77                                    |
| LiBF <sub>4</sub> /TMP 1:3 | 65,4                        | 237,7 | 27,53                          | 13,56                                    |

Khả năng duy trì dung lượng phóng sạc theo chu kỳ của cả hai chất điện giải sử dụng dung môi TMS với tỷ lệ mol 1:3 và 1:4 đều khá tốt (>80%), cho thấy tính ổn định và khả năng tương thích tốt của hệ điện giải nồng độ cao này với vật liệu LNMO. Dung môi TMS solvate hóa tốt ion Li<sup>+</sup>, do đó sự vận chuyển và đan cài ion Li<sup>+</sup> vào cấu trúc vật liệu tương đối thuận nghịch, không gây ra sự thay đổi cấu trúc và bên cạnh đó lớp liên diện điện cực - điện giải bền vững tạo thuận lợi cho quá trình chuyển điện tích trên bề mặt điện cực. Đây cũng là lý do giúp tăng cường tuổi thọ của pin (thể hiện qua số chu kỳ phóng sạc) (hình 3B). Trong đó, hệ điện giải với tỷ lệ mol 1:3 cho hiệu năng phóng sạc tốt nhất nhờ có đầy đủ các yếu tố thuận lợi về độ dẫn ion và độ bền oxy hoá. Tuy nhiên, độ bền phóng sạc sau 100 chu kỳ của hệ điện giải với tỷ lệ mol 1:4 cho thấy lớp liên diện điện cực - điện giải có thể dày hơn, giúp ngăn chặn tốt sự oxy hoá của dung môi khi phóng sạc nhiều chu kỳ, nhưng ngược lại làm giảm dung lượng thuận nghịch do trở kháng của lớp liên diện lớn hơn.

Hệ điện giải LiBF<sub>4</sub>/TMP tỷ lệ 1:3 có dung lượng rất thấp (65,4 mAh/g) và có xu hướng giảm rất nhanh nên khả năng duy trì dung lượng sau 100 chu kỳ chỉ đạt 13,56%. Điều này cho thấy khả năng tương thích kém của dung môi TMP đối với điện cực LNMO. Nguyên nhân có thể do dung môi TMP không solvate hóa tốt các ion Li<sup>+</sup> như TMS nên sự vận chuyển và sự đan cài của ion Li<sup>+</sup> vào trong cấu trúc vật liệu không tốt, đồng thời làm chậm quá trình phản ứng điện hóa, dẫn đến sự giảm dung lượng nhanh chóng qua các chu kỳ.

## Kết luận

Hệ điện giải nồng độ cao sử dụng muối LiBF<sub>4</sub> kết hợp với các dung môi TMS và TMP đã được tổng hợp và khảo sát tính chất hoá lý và điện hoá. Hệ điện giải sử dụng dung môi TMP có độ dẫn ion cao hơn TMS nhưng có mức độ solvate hoá ion Li<sup>+</sup> kém, dẫn đến độ bền oxy hoá kém hơn so với hệ điện giải sử dụng dung môi TMS. Độ bền oxy hoá của hệ LiBF<sub>4</sub>/TMS (1:3) lên đến 6,2 V vs. Li<sup>+</sup>/Li, cao hơn vùng thế hoạt động của điện cực LNMO.

Hệ điện giải sử dụng TMS cho thấy tính tương thích tốt và hoạt động ổn định ở vùng thế cao khi tiếp xúc với điện cực LNMO. Phản ứng phụ phân huỷ chất điện giải để hình thành lớp thụ động trên bề mặt điện cực LNMO giảm đi khi tăng nồng độ muối, giảm hàm lượng dung môi TMS. Do đó, hệ điện ly LiBF<sub>4</sub>/TMS giúp cho LNMO thể hiện tính năng phóng sạc tốt nhất. Dung lượng của vật liệu đạt được 113,0 mAh/g ở chu kỳ đầu tiên và duy trì được 93,9 mAh/g sau 100 chu kỳ với hiệu suất Coulomb khoảng 92%.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Sở Khoa học và Công nghệ TP Hồ Chí Minh thông qua đề tài mã số 54/2020/HĐ-QPTKHCN. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. Xie, Y.-C. Lu (2020), "A retrospective on lithium-ion batteries", *Nat. Commun.*, **11**, pp.2499, DOI: 10.1038/s41467-020-16259-9.
- [2] M. Winter, B. Barnett, K. Xu (2018), "Before Li-ion batteries", *Chem. Rev.*, **118**, pp.11433-11456, DOI: 10.1021/acs.chemrev.8b00422.
- [3] J.B. Goodenough, K.-S. Park (2013), "The Li-ion rechargeable battery: a perspective," *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, pp.1167-1176, DOI: 10.1021/ja3091438.
- [4] J.R. Croy, A. Abouimrane, Z. Zhang (2014), "Next-generation lithium-ion batteries: the promise of near-term advancements", *MRS Bull.*, **39**, pp.407-415, DOI: 10.1557/mrs.2014.84.
- [5] B. Kennedy, D. Patterson, S. Camilleri (2000), "Use of lithium-ion batteries in electric vehicles", *J. Power Sources*, **90**, pp.156-162, DOI: 10.1016/S0378-7753(00)00402-X.
- [6] X. Chen, W. Shen, T.T. Vo, Z. Cao, A. Kapoor (2012), "An overview of lithium-ion batteries for electric vehicles", *10th International Power & Energy Conference (IPEC)*, pp.230-235, DOI: 10.1109/ASSCC.2012.6523269.
- [7] L. Lu, X. Han, J. Li, J. Hua, M. Ouyang (2013), "A review on the key issues for lithium-ion battery management in electric vehicles", *J. Power Sources*, **226**, pp.272-288, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2012.10.060.
- [8] L. Wang, Z. Wu, J. Zou, P. Gao, X. Niu, H. Li, L. Chen (2019), "Li-free cathode materials for high energy density lithium batteries", *Joule*, **3**, pp.2086-2102, DOI: 10.1016/j.joule.2019.07.011.
- [9] K. Amine, H. Yasuda, M. Yamachi (1999), "Olivine LiCoPO<sub>4</sub> as 4.8 V electrode material for lithium batteries", *Electrochem. Solid-State Lett.*, **3**, pp.178, DOI: 10.1149/1.1390994.
- [10] Y. Cai, S.-Z. Huang, F.-S. She, J. Liu, R.-L. Zhang, Z.-H. Huang, F.-Y. Wang, H.-E. Wang (2016), "Facile synthesis of well-shaped spinel LiNi<sub>0.8</sub>Mn<sub>0.2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as cathode materials for lithium ion batteries", *RSC Adv.*, **6**, pp.2785-2792, DOI: 10.1039/C5RA21723G.
- [11] Y. Yamada, A. Yamada (2015), "Review-superconcentrated electrolytes for lithium batteries", *J. Electrochem. Soc.*, **162**, pp.A2406-A2423, DOI: 10.1149/2.0041514jes.
- [12] A. Nakanishi, K. Ueno, D. Watanabe, Y. Ugata, Y. Matsumae, J. Liu, M.L. Thomas, K. Dokko, M. Watanabe (2019), "Sulfolane-based highly concentrated electrolytes of lithium bis(trifluoromethanesulfonyl)amide: ionic transport, Li-ion coordination, and Li-S battery performance", *J. Phys. Chem. C*, **123**, pp.14229-14238, DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b02625.
- [13] K. Xu (2004), "Nonaqueous liquid electrolytes for lithium-based rechargeable batteries", *Chem. Rev.*, **104**, pp.4303-4417, DOI: 10.1021/cr030203g.
- [14] E. Zygadlo-Monikowska, Z. Florjańczyk, P. Kubisa, T. Biedron, A. Tomaszewska, J. Ostrowska, N. Langwald (2010), "Mixture of LiBF<sub>4</sub> and lithium difluoro(oxalato)borate for application as a new electrolyte for lithium-ion batteries", *J. Power Sources*, **195**, pp.6202-6206, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2009.10.083.
- [15] J. Xia, J. Self, L. Ma, and J.R. Dahn (2015), "Sulfolane-based electrolyte for high voltage Li(Ni<sub>0.42</sub>Mn<sub>0.42</sub>Co<sub>0.16</sub>)O<sub>2</sub> (NMC442)/graphite pouch cells", *J. Electrochem. Soc.*, **162**, pp.A1424-A1431, DOI: 10.1149/2.0121508jes.
- [16] X. Ren, S. Chen, H. Lee, D. Mei, M.H. Engelhard, S.D. Burton, W. Zhao, J. Zheng, Q. Li, M.S. Ding, M. Schroeder, J. Alvarado, K. Xu, Y.S. Meng, J. Liu, J.G. Zhang, W. Xu (2018), "Localized high-concentration sulfone electrolytes for high-efficiency lithium-metal batteries", *Chem.*, **4**, pp.1877-1892, DOI: 10.1016/j.chempr.2018.05.002.
- [17] J. Xia, J.R. Dahn (2016), "Improving sulfolane-based electrolyte for high voltage Li-ion cells with electrolyte additives", *J. Power Sources*, **324**, pp.704-711, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2016.06.008.
- [18] J. Alvarado, M.A. Schroeder, M. Zhang, O. Borodin, E. Gobrogge, M. Olguin, M.S. Ding, M. Gobet, S. Greenbaum, Y.S. Meng, K. Xu (2018), "A carbonate-free, sulfone-based electrolyte for high-voltage Li-ion batteries", *Mater. Today*, **21**, pp.341-353, DOI: 10.1016/j.mattod.2018.02.005.
- [19] P. Shi, H. Zheng, X. Liang, Y. Sun, S. Cheng, C. Chen, H. Xiang (2018), "A highly concentrated phosphate-based electrolyte for high-safety rechargeable lithium batteries", *Chem. Commun.*, **54**, pp.4453-4456, DOI: 10.1039/C8CC00994E.
- [20] M. Vahidi, B. Moshtari (2013), "Dielectric data, densities, refractive indices, and their deviations of the binary mixtures of N-methyldiethanolamine with sulfolane at temperatures 293.15-328.15 K and atmospheric pressure", *Thermochim. Acta*, **551**, pp.1-6, DOI: 10.1016/j.tca.2012.10.004.
- [21] L. Zhang, J. Li, Y. Huang, D. Zhu, H. Wang (2019), "Synergetic effect of ethyl methyl carbonate and trimethyl phosphate on BF<sub>4</sub><sup>-</sup> intercalation into a graphite electrode", *Langmuir*, **35**, pp.3972-3979, DOI: 10.1021/acs.langmuir.9b00262.
- [22] Z. Zeng, X. Jiang, R. Li, D. Yuan, X. Ai, H. Yang, Y. Cao (2016), "A safer sodium-ion battery based on nonflammable organic phosphate electrolyte", *Adv. Sci.*, **3**, pp.1600066, DOI: 10.1002/adv.201600066.
- [23] S. Li, B. Li, X. Xu, X. Shi, Y. Zhao, L. Mao, X. Cui (2012), "Electrochemical performances of two kinds of electrolytes based on lithium bis(oxalate)borate and sulfolane for advanced lithium ion batteries", *J. Power Sources*, **209**, pp.295-300, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2012.03.004.
- [24] D.W. Kim, Y.K. Sun (2001), "Electrochemical characterization of gel polymer electrolytes prepared with porous membranes", *J. Power Sources*, **102**, pp.41-45, DOI: 10.1016/S0378-7753(01)00771-6.

# Sự biến đổi nồng độ asen trong nước ngầm dọc theo một mặt cắt ở làng Vạn Phúc, Hà Nội

Vũ Thị Duyên<sup>1,2</sup>, Lăng Thế Anh<sup>1</sup>, Phạm Thị Kim Trang<sup>1,2</sup>, Phạm Hùng Việt<sup>1,2\*</sup>, Michael Berg<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ phân tích phục vụ kiểm định môi trường và an toàn thực phẩm (KLATEFOS), Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ môi trường và Phát triển bền vững (CETASD), Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>3</sup>Viện Khoa học và Công nghệ nước Liên bang Thụy Sĩ (Eawag)

Ngày nhận bài 17/6/2021; ngày chuyển phản biện 22/6/2021; ngày nhận phản biện 21/7/2021; ngày chấp nhận đăng 23/7/2021

## Tóm tắt:

Nghiên cứu trình bày kết quả về sự biến đổi nồng độ asen (As) trong nước ngầm dọc theo một mặt cắt tại khu vực gần trung tâm thành phố Hà Nội. Kết quả cho thấy, nước ngầm tại khu vực này không đủ an toàn để sử dụng cho mục đích ăn uống, với 64% số mẫu có nồng độ As vượt quá tiêu chuẩn cho phép của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) về nồng độ As trong nước ăn uống. Sự biến đổi As dọc theo mặt cắt nghiên cứu phụ thuộc mạnh vào đặc điểm trầm tích của từng vùng tương ứng. Ngoài As, nước ngầm tại đây cũng bị ô nhiễm bởi nồng độ cao của Fe, Mn và amoni. Nghiên cứu cũng cho thấy mối tương quan thuận giữa As với các thành phần thể hiện tính khử cho môi trường nước là DOC (cacbon hữu cơ hòa tan),  $\text{NH}_4^+$  và  $\text{CH}_4$ . Tuy mối tương quan giữa As với Fe và Mn không rõ ràng theo một chiều hướng, nhưng với các kết quả đã đạt được có thể khẳng định, sự hình thành của As trong nước ngầm ở khu vực nghiên cứu là theo cơ chế khử hòa tan các khoáng Fe dưới điều kiện khử.

**Từ khóa:** asen, asen địa hóa, mặt cắt, nước ngầm, Vạn Phúc, vùng chuyển tiếp oxy hóa khử.

**Chỉ số phân loại:** 1.5

## Giới thiệu

Nước ngầm bị ô nhiễm As không phải là vấn đề mới, nó đã được phát hiện ở nhiều nơi trên thế giới từ đầu những năm 1980. Ở Việt Nam, những nghiên cứu về ô nhiễm As ở Hà Nội và các khu vực lân cận lần đầu tiên được công bố vào năm 2001 bởi M. Berg và cs [1]. Sau đó, nhiều nghiên cứu về As trong nước ngầm đã được thực hiện ở Hà Nội, các khu vực lân cận và toàn bộ Đồng bằng sông Hồng [2-5]. Kết quả của các nghiên cứu cho thấy, tầng chứa nước ở Đồng bằng sông Hồng bị ô nhiễm bởi As với nồng độ lên tới hơn 3.000  $\mu\text{g/l}$ , trong đó nước ngầm tầng nông ở Hà Nội có nồng độ As trong khoảng 240-320  $\mu\text{g/l}$  [1]. Hơn nữa, một khảo sát trên toàn bộ vùng Đồng bằng sông Hồng cho thấy, các giếng có nồng độ As cao tập trung chủ yếu ở các khu vực đông dân cư dọc theo sông Hồng như Hà Nội, Hà Nam, Nam Định, Hưng Yên, Thái Bình [5]. Tuy nhiên, không phải tầng chứa nước nào ở các khu vực này cũng bị ô nhiễm As. Các nghiên cứu trên cũng chỉ ra rằng, nước ngầm tầng nông hay tầng chứa nước Holocene với trầm tích trẻ và điều kiện khử mạnh dễ bị ô nhiễm bởi As nồng độ cao. Trong khi đó, tầng chứa nước sâu hơn, với trầm tích già hơn và điều kiện khử yếu hoặc một số nơi thậm chí có tính oxy hóa thì ít có khả năng bị ô nhiễm bởi As [2-4].

Nước ngầm thường được sử dụng làm nước ăn uống, sinh hoạt trước khi có nước cấp. Tuy nhiên, do sự gia tăng dân số, đặc biệt ở Hà Nội trong các thập kỷ qua đã dẫn đến

việc khai thác quá mức nguồn nước này, gây nên tình trạng nước ngầm dễ bị ô nhiễm bởi As, các chất hữu cơ, amoni và những chất ô nhiễm khác. Hiện nước ngầm đã được hạn chế khai thác sau khi nhiều nghiên cứu cho thấy, các tầng chứa nước ở khu vực Đồng bằng sông Hồng bị ô nhiễm bởi As với nồng độ cao [1, 2, 4-6]. Do đó, các nhà máy xử lý nước đã dần chuyển sang sử dụng nước mặt để xử lý và cung cấp nước sinh hoạt cho thành phố. Mặc dù vậy, nước ngầm vẫn là nguồn cung cấp chính cho nước sinh hoạt của cả thành phố. Ước tính năm 2017, tổng lượng khai thác nước ngầm của toàn Hà Nội là 1 triệu  $\text{m}^3/\text{ngày}$ , trong khi đó, lượng nước mặt được khai thác từ sông Đà và sông Hồng bởi các nhà máy xử lý nước chỉ đạt khoảng 330-350 nghìn  $\text{m}^3/\text{ngày}$  [7]. Việc khai thác quá mức nguồn nước ngầm có thể làm thay đổi hướng dòng chảy tự nhiên và xu hướng bổ cập của nước ngầm. Chính việc thay đổi hướng dòng chảy và sự bổ cập này có thể dẫn đến sự lan truyền các chất ô nhiễm, đặc biệt là As, từ tầng chứa nước phía trên xuống tầng dưới vốn được coi là an toàn [8, 9].

Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu về sự biến đổi As dọc theo một mặt cắt tại làng Vạn Phúc, huyện Thanh Trì, thành phố Hà Nội cũng như mối tương quan giữa As và một số thành phần hóa học của nước ngầm trong khu vực nghiên cứu dưới tác động của quá trình khai thác nước tập trung tại trung tâm thành phố.

\*Tác giả liên hệ: Email: phamhungviet@hus.edu.vn

# Variations of arsenic in groundwater from a transect in Van Phuc village, Hanoi

Thi Duyen Vu<sup>1,2</sup>, The Anh Lang<sup>1</sup>, Thi Kim Trang Pham<sup>1,2</sup>, Hung Viet Pham<sup>1,2\*</sup>, Michael Berg<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Analytical Technology for Environmental Quality and Food Safety Control (KLATEFOS), University of Science, Vietnam National University, Hanoi

<sup>2</sup>Research Center for Environmental Technology and Sustainable Development (CETASD),

University of Science, Vietnam National University, Hanoi

<sup>3</sup>Eawag - Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology

Received 17 June 2021; accepted 23 July 2021

## Abstract:

In this study, the author report detailed results of the variation of arsenic in groundwater along a transect in an area near the Hanoi city centre. The results showed that 64% of collected samples exceeded the WHO guideline value for arsenic concentration in drinking water. The arsenic concentration varied in a wide range, strongly depending on the sediment characteristics of each zone along the transect. Aside from As, groundwater in this area also was contaminated by elevated concentrations of Fe, Mn, and ammonium. The study also pointed out a positive correlation between As and reductive chemical species, namely DOC,  $\text{NH}_4^+$ , and  $\text{CH}_4$  in groundwater. Although there is no clear trend in the correlation between As and Fe, Mn, it can be concluded that the formation of arsenic in groundwater in the study area was due to the reductive dissolution of As-bearing iron minerals under the presence of organic matter.

**Keywords:** arsenic, arsenic geochemistry, groundwater, redox transition zone, transect, Van Phuc.

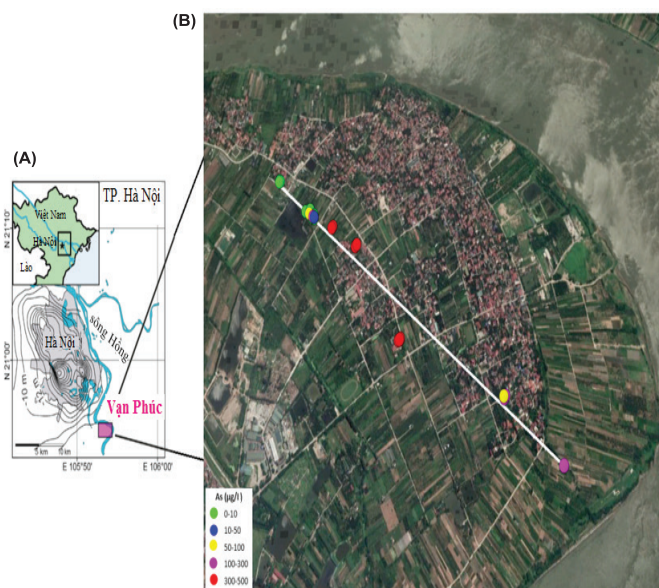
**Classification number:** 1.5

## Phương pháp nghiên cứu

### Vị trí nghiên cứu

Khu vực nghiên cứu thuộc địa phận xã Vạn Phúc, huyện Thanh Trì, cách trung tâm thành phố Hà Nội khoảng 13 km về phía nam và đông nam (hình 1). Đây là một trong những khu vực điển hình cho Đồng bằng sông Hồng do nằm ở khúc quanh của sông, hàng năm nhận được lượng phù sa lớn đổ về giúp cho đất đai màu mỡ, thuận tiện cho việc trồng các loại hoa màu và cây công nghiệp. Trước đây, khu vực này thường xảy ra lụt lội vào mùa mưa và nước ngầm hầu hết được khai thác để phục vụ cho mục đích ăn uống, sinh

hoạt của người dân nơi đây. Hiện nay, người dân đã sử dụng nước cấp cho ăn uống và sinh hoạt, nhưng nước ngầm vẫn được khai thác, sử dụng tại một số hộ dân cho các mục đích khác nhau (tưới tiêu vào mùa khô hoặc tắm giặt). Hơn nữa, nước ngầm tại khu vực này cũng chịu ảnh hưởng trực tiếp từ quá trình khai thác nước tập trung từ các nhà máy xử lý nước tại trung tâm thành phố. Với các đặc điểm tự nhiên về dòng chảy nước ngầm, các đặc tính về trầm tích tầng chứa nước Holocene và Pleistocene cũng như vị trí địa lý làm cho khu vực này đặc biệt phù hợp cho các nghiên cứu về sự lan truyền của As giữa các tầng chứa nước [3, 4, 10]. Vì vậy, các giếng quan trắc đã được lắp đặt dọc theo một mặt cắt ở khu vực làng Vạn Phúc nhằm phục vụ cho các mục đích nghiên cứu sự ô nhiễm As trong nước ngầm và sự lan truyền giữa các tầng chứa nước.



**Hình 1. Mặt cắt nghiên cứu tại làng Vạn Phúc, Thanh Trì, Hà Nội.** (A) Mô tả vị trí địa lý của làng Vạn Phúc trong khu vực Đồng bằng sông Hồng; (B) Ảnh vệ tinh (Google Earth, 2020) mô tả vị trí mặt cắt và các giếng quan trắc. Đường kẻ màu trắng đánh dấu mặt cắt nghiên cứu.

### Lấy mẫu và phân tích

Tổng cộng 25 mẫu nước ngầm ở các độ sâu khác nhau (khoảng -20 đến -54 m từ mặt đất) được lấy từ các giếng quan trắc dọc theo mặt cắt nghiên cứu trong tháng 4/2019 bằng bơm chìm và phần nước đọng trong giếng được bơm bỏ hoàn toàn. Sau khi các thông số hiện trường ổn định (pH, oxy hòa tan, độ dẫn điện - Ec, thế oxy hóa khử - Eh), các mẫu nước này được lọc qua màng CA 0,45  $\mu\text{m}$  để loại bỏ phần không tan vào trong 2 lọ nhựa. Một lọ cho phân tích các ion kim loại,  $\text{NH}_4^+$  và  $\text{PO}_4^{3-}$  được axit hóa bằng  $\text{HNO}_3$  (65%, Merck) tới pH<2, lọ còn lại cho phân tích các anion. Mẫu cho phân tích tổng DOC được lọc vào lọ thủy tinh có nắp kín với septum và axit hóa bằng HCl (37%, Merck) tới pH<2. Các mẫu này sau đó được bảo quản lạnh ngoài hiện trường và ở 4°C trong phòng thí nghiệm cho các phân tích

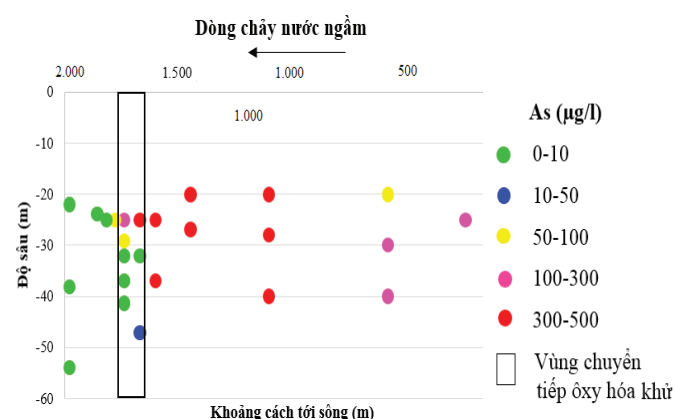
tiếp theo. Mẫu cho phân tích  $\text{CH}_4$  được lấy trực tiếp từ đầu vòi vào lọ chân không (819 W, Labco Ltd) với thể tích nước khoảng 2/3 lọ. Sau đó, các lọ này được úp ngược và bảo quản trong đá khô ngoài hiện trường, rồi trong ngăn đá tủ lạnh đến khi phân tích.

Các ion kim loại được phân tích trên thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử AA-6800, Shimadzu. As tổng được phân tích trên cùng thiết bị kết hợp với bộ hydrua hóa (HVG-AAS). Các anion:  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  được phân tích bằng thiết bị sắc ký trao đổi ion HIC-20A Super, Shimadzu. Các ion  $\text{NH}_4^+$  và  $\text{PO}_4^{3-}$  được phân tích bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử trên thiết bị UV 1800, Shimadzu. Nồng độ DOC trong nước ngầm được thực hiện trên thiết bị phân tích tổng C hữu cơ TOC-V<sup>CSH</sup>, Shimadzu.  $\text{CH}_4$  được phân tích trên thiết bị sắc ký khí GC-2014, Shimadzu. Các mẫu kiểm chứng với nồng độ có sẵn của các chất cần phân tích (dung dịch chuẩn đa nguyên tố ICP IV và ICP IX, Merck, mẫu kiểm chứng nội bộ ARS 26 và ARS 27; dung dịch kiểm chứng anion PIA, Shimadzu) được phân tích kèm theo trong suốt quá trình phân tích mẫu thực với độ thu hồi trong khoảng 90-110%. Mỗi phép đo cho cả mẫu thực và kiểm chứng được thực hiện 3 lần và %RSD của các phép đo luôn <10%.

## Kết quả và thảo luận

### Sự biến đổi nồng độ As trong nước ngầm dọc theo mặt cắt nghiên cứu

Nồng độ As tổng trong nước ngầm ở mặt cắt nghiên cứu biến đổi trong khoảng <5-525  $\mu\text{g/l}$ , trong đó có tới 64% (16/25 mẫu) số giếng nghiên cứu có nồng độ As vượt quá tiêu chuẩn của WHO và quy chuẩn Việt Nam đối với nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt (10  $\mu\text{g/l}$ ) từ 2 đến 50 lần [11, 12]. Hơn nữa, có thể thấy, nước ngầm có nồng độ As cao đều tập trung ở các giếng có độ sâu trong khoảng 20-40 m (hình 2). Khoảng nồng độ tương tự của As trong nước ngầm cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Stopelli và cs (2020) [3], Eiche và cs (2008) [10] tại làng Vạn Phúc.



Hình 2. Sự biến đổi As trong nước ngầm dọc theo mặt cắt nghiên cứu.

Ngoài ô nhiễm As, nước ngầm tại khu vực này còn bị ô nhiễm bởi Fe, Mn và amoni với tỷ lệ số giếng vượt quá QCVN 01-1:2018/BYT về chất lượng nước sạch cho mục đích sinh hoạt lần lượt là 80 (20/25), 68 (17/25) và 72% (18/25). Nếu xét theo giá trị dựa trên sức khỏe của WHO là 2 mg/l đối với Fe, 0,4 mg/l đối với Mn thì vẫn có tới 68 và 60% số giếng bị ô nhiễm (bảng 1). Vì vậy, hầu hết các giếng này không đủ tiêu chuẩn để sử dụng làm nước ăn uống [11, 12].

Bảng 1. Nồng độ As, DOC,  $\text{CH}_4$  và  $\text{NH}_4^+$  tại mặt cắt nghiên cứu.

| Độ sâu (m) | Khoảng cách (m) | As ( $\mu\text{g/l}$ ) | Fe (mg/l) | Mn (mg/l) | DOC (mg C/l) | $\text{CH}_4$ (mg/l) | $\text{NH}_4^+$ (mgN/l) |
|------------|-----------------|------------------------|-----------|-----------|--------------|----------------------|-------------------------|
| -25        | 240             | 144,53                 | 12,58     | 0,77      | 0,65         | -                    | 0,60                    |
| -20        | 580             | 78,01                  | 17,89     | 0,34      | 2,06         | 12,66                | 10,65                   |
| -30        | 580             | 244,91                 | 22,14     | 0,23      | 2,24         | 10,15                | 15,60                   |
| -40        | 580             | 235,62                 | 23,54     | 0,29      | 2,01         | 6,92                 | 12,34                   |
| -20        | 1.100           | 439,34                 | 9,97      | 1,05      | 5,64         | 39,87                | 53,00                   |
| -28        | 1.100           | 524,05                 | 12,16     | 0,27      | 4,54         | 47,53                | 33,80                   |
| -40        | 1.100           | 388,77                 | 13,60     | <0,2      | 2,55         | 20,83                | 29,73                   |
| -27        | 1.490           | 339,95                 | 20,20     | <0,2      | 3,14         | 2,31                 | 5,69                    |
| -20        | 1.490           | 437,59                 | 20,09     | <0,2      | 1,73         | 11,26                | 5,24                    |
| -25        | 1.640           | 525,33                 | 12,22     | <0,2      | 6,26         | 57,84                | 67,40                   |
| -37        | 1.640           | 416,37                 | 11,40     | 0,21      | 1,98         | 6,06                 | 10,17                   |
| -25        | 1.730           | 423,07                 | 11,46     | 0,55      | 3,89         | 37,36                | 26,50                   |
| -32        | 1.730           | <5                     | <0,3      | 1,59      | 0,82         | -                    | 9,46                    |
| -47        | 1.730           | 10,50                  | 16,00     | 1,14      | 1,13         | 0,18                 | 0,54                    |
| -25        | 1.740           | 293,05                 | 10,44     | 0,96      | 2,70         | 15,55                | 18,20                   |
| -29        | 1.740           | 51,40                  | 9,45      | 2,36      | 1,78         | 13,65                | 14,60                   |
| -32        | 1.740           | <5                     | 0,68      | 2,06      | 0,74         | -                    | 5,71                    |
| -37        | 1.740           | <5                     | <0,3      | 2,69      | 0,72         | -                    | 0,97                    |
| -41,5      | 1.740           | 5,61                   | 1,85      | 2,24      | 0,84         | -                    | 1,71                    |
| -25        | 1.760           | 70,83                  | 8,46      | 3,38      | 2,07         | 18,90                | 15,30                   |
| -25        | 1.780           | <5                     | 0,73      | 1,99      | 1,23         | 0,38                 | 11,04                   |
| -24        | 1.790           | -                      | <0,3      | 1,26      | 0,91         | -                    | 11,93                   |
| -22        | 1.980           | -                      | <0,3      | 2,49      | 0,67         | -                    | <0,2                    |
| -38        | 1.980           | -                      | <0,3      | 0,32      | <0,50        | -                    | <0,2                    |
| -54        | 1.980           | 6,90                   | 24,83     | 1,14      | 0,61         | -                    | 0,65                    |

Ghi chú: "-": không phát hiện.

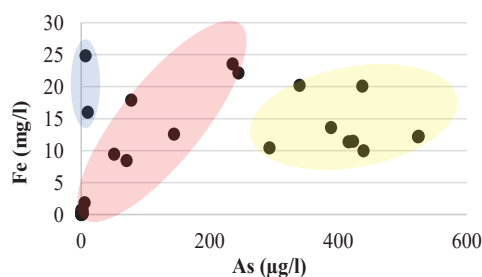
Vùng chuyển tiếp giữa tầng chứa nước Holocene và Pleistocene thường được xác định bởi sự thay đổi điều kiện khử của tầng chứa nước (từ khử mạnh sang yếu hơn), từ đó tạo thành vùng chuyển tiếp oxy hóa khử. Vùng chuyển tiếp oxy hóa khử trong khu vực nghiên cứu được xác định như trong các nghiên cứu của Stopelli và cs (2020) [3], Geen và cs (2013) [4]. Nếu xét dọc theo mặt cắt và hướng của dòng chảy nước ngầm có thể thấy, nồng độ As trong nước ngầm cao, tăng dần từ bờ sông đến trước vùng chuyển tiếp và ít thay đổi theo độ sâu. Tại vùng chuyển tiếp oxy hóa khử, nồng độ As lại giảm dần và đặc biệt giảm mạnh theo độ sâu. Sau vùng chuyển tiếp, hầu như không thấy sự xuất hiện của As trong nước ngầm tại các giếng này (hình 1 và 2).

Trầm tích khu vực nghiên cứu có sự đan xen giữa tầng Holocene (độ sâu 15-55 m), Pleistocene (18-45 m) và được ngăn cách bởi lớp cách nước [3, 4, 10]. Theo các kết quả nghiên cứu về đặc tính trầm tích tại khu vực nghiên cứu cho thấy, ứng với mỗi dạng trầm tích sẽ quan sát thấy nồng độ As khác nhau trong nước ngầm. Khoảng cách từ bờ sông vào 600 m, nồng độ As trong nước ngầm tại đây nằm trong khoảng 78-245  $\mu\text{g/l}$  ứng với trầm tích Holocene gần bờ sông (bảng 1). Tiến xa hơn so với bờ sông ở khoảng cách 1.000-1.600 m ứng với trầm tích Holocene, nồng độ As trong nước ngầm là cao nhất (340-525  $\mu\text{g/l}$ ) (bảng 1). Ứng với vùng này, nồng độ  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CH}_4$  và DOC cũng là cao nhất, qua đó cho thấy tính khử của nước ngầm ở vùng này mạnh nhất. Còn tại vùng chuyển tiếp, có thể thấy rõ nồng độ As giảm mạnh theo độ sâu tương ứng với sự thay đổi màu sắc của trầm tích tại vùng này (từ cát/cát-bùn trộn xám sang cát/cát-bùn trộn vàng-nâu). Cuối cùng, vùng mà hầu như tìm thấy rất ít sự có mặt của As ở khoảng cách 1.760-1.800 m ứng với trầm tích tầng Pleistocene.

Nghiên cứu cho thấy, khả năng tầng chứa nước Pleistocene bị ô nhiễm As do sự lan truyền từ tầng Holocene hoàn toàn có thể xảy ra ở khu vực này. Từ bảng 1 có thể nhận thấy, nồng độ DOC trong nước ngầm là khá cao ở 2 vùng từ bờ sông tới trước vùng chuyển tiếp (trong khoảng 0 đến 1.640 m). Nếu có sự lan truyền xảy ra thì các vật chất hữu cơ này cũng có khả năng được vận chuyển theo dòng nước ngầm tới vùng xa hơn và sâu hơn, thậm chí vật chất hữu cơ từ các tầng cách nước cũng có thể được vận động và đi vào tầng chứa nước Pleistocene. Điều này làm cho tầng chứa nước Pleistocene càng có nguy cơ bị ô nhiễm As. Nguyên nhân hình thành As trong nước ngầm được đa số các nhà khoa học thống nhất là do As được giải phóng vào nước ngầm thông qua quá trình khử hòa tan các khoáng Fe dưới điều kiện khử với sự có mặt của các vật chất hữu cơ [2, 13]. Tuy nhiên, để kết luận chính xác về khả năng lan truyền As tới tầng chứa nước sâu hơn dưới tác động của quá trình khai thác nước ngầm quá mức thì các nghiên cứu về sự biến đổi As trong nước ngầm theo thời gian vẫn cần thiết.

#### Mối tương quan giữa As và các thành phần khác trong nước ngầm

**Tương quan giữa As và Fe:** đây là mối tương quan mà hầu hết các nghiên cứu về As đều đề cập đến. Theo các nhà khoa học, một trong những giả thiết về cơ chế làm cho nước ngầm bị ô nhiễm As nồng độ cao là do As hình thành dưới điều kiện khử thông qua quá trình khử hòa tan các khoáng Fe có chứa As trong tầng chứa nước với sự có mặt của các chất hữu cơ [2, 10]. Theo giả thuyết này, As sẽ có mối tương quan thuận với Fe. Tuy nhiên, trong thực tế, mối tương quan thuận này không phải bao giờ cũng có thể quan sát được. Do trong tự nhiên, các tầng chứa nước thường chịu tác động bởi nhiều yếu tố địa chất, thủy văn phức tạp cũng như các hoạt động của vi khuẩn nên thành phần hóa học nước ngầm cũng bị ảnh hưởng theo.



Hình 3. Mối tương quan As-Fe.

Hình 3 thể hiện mối tương quan giữa As tổng và Fe tổng ở khu vực nghiên cứu. Từ hình 3 có thể thấy, tương quan giữa As và Fe tại mặt cắt này được chia làm 3 vùng tương ứng với 3 mối tương quan khác nhau nếu xét dựa trên cơ chế hình thành As trong nước ngầm.

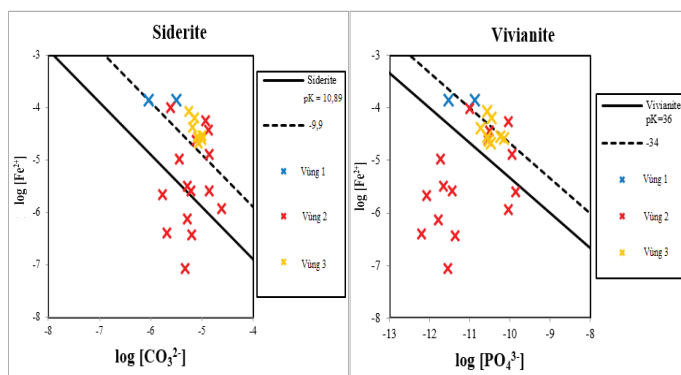
**Vùng 1 (màu xanh):** As thấp - Fe cao. Việc nồng độ Fe tổng tại các giếng này cao trong khi sự có mặt của As lại rất thấp có thể là do trầm tích tại đây không có As hoặc có nhưng đã giải phóng và vận chuyển đi nơi khác sau khi quá trình khử hòa tan các khoáng Fe có chứa As xảy ra. Hoặc cũng có thể do As liên kết với các pha khoáng bền của Fe (như pha pyrit) mà ở điều kiện khử thông thường của tầng chứa nước thì không đủ mạnh để có thể hòa tan các khoáng này, đồng thời giải phóng As. Vì các nghiên cứu về sự phân bố của As trên các pha khoáng Fe trong trầm tích tầng chứa nước ở Đồng bằng sông Hồng chỉ ra rằng, As phần lớn liên kết với pha khoáng Fe (oxi)hydr)oxit tinh thể, một phần nhỏ được phân bố trên pha khoáng dễ hòa tan và pha hấp phụ ion. Trong khi đó, Fe lại chủ yếu được tìm thấy trên 2 pha là (oxi)hydr)oxit tinh thể và khoáng dễ hòa tan [2, 10, 14, 15].

**Vùng 2 (màu đỏ):** Fe thấp - As thấp, Fe cao - As cao. Vùng này cho thấy mối tương quan thuận giữa As và Fe, khi nồng độ Fe tăng thì nồng độ As cũng tăng theo. Hay nói cách khác, các giếng thuộc vùng này tuân theo lý thuyết về cơ chế giải phóng As từ trầm tích vào nước ngầm qua quá trình khử hòa tan các khoáng Fe có chứa As.

**Vùng 3 (màu vàng):** Fe cao và As cũng cao, As tăng nhưng Fe thì không tăng. Mối tương quan không rõ ràng như vùng này có thể là do quá trình tái kết tủa của Fe với các ion như carbonat và/hoặc ion phosphate có mặt trong nước ngầm. Tức là, tại các giếng này cơ chế giải phóng As từ trầm tích vào nước ngầm vẫn tuân theo cơ chế khử hòa tan các khoáng Fe và làm cho nồng độ Fe và As tại đây cao. Nhưng sau khi đi vào nước ngầm, với sự có mặt của các ion như  $\text{CO}_3^{2-}$  và  $\text{PO}_4^{3-}$  đã diễn ra quá trình tái kết tủa của Fe với các ion này và làm cho nồng độ As tăng, nhưng nồng độ của Fe thì không tăng theo.

Khả năng hình thành hay hòa tan một khoáng nào đó trong tầng chứa nước thường được xem xét dựa trên chỉ số bão hòa của khoáng đó. Hình 4 biểu diễn mối quan hệ giữa hàm logarit hoạt độ cation và anion của các khoáng Siderite

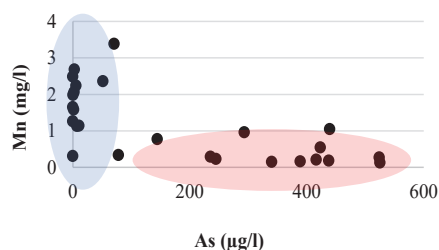
và Vivianite ứng với từng vùng tương quan Fe-As (các điểm chấm) với các đường biểu diễn tích số tan của các khoáng đó (đường liền và đường đứt đoạn). Nhìn vào vị trí của các điểm so với các đường tích số tan của từng khoáng có thể biết được trạng thái bão hòa của khoáng đó trong nước ngầm. Nếu các điểm nằm phía dưới đường biểu diễn tích số tan thì khoáng chưa bão hòa. Nếu điểm trùng với đường thì chứng tỏ khoáng đó đã đạt trạng thái bão hòa. Trường hợp các điểm nằm ở phía trên đường biểu diễn thì khoáng đó đạt trạng thái quá bão hòa và sẽ tái kết tủa.



**Hình 4. Trạng thái bão hòa của các khoáng Siderite và Vivianite tương ứng với từng vùng tương quan giữa As và Fe.** Các đường nét liền và nét đứt trong biểu đồ biểu diễn cho tích số tan của các khoáng.

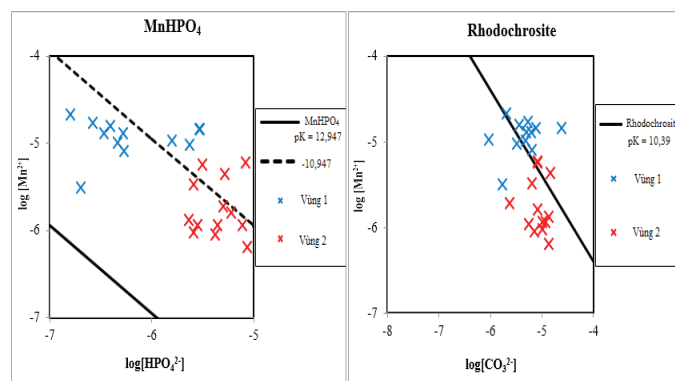
Từ hình 4 có thể thấy, các mẫu ứng với vùng 3 ở cả 2 khoáng trên đều ở trạng thái quá bão hòa. Điều này có thể chứng minh cho giải thích trên về sự tương quan không theo quy luật của As và Fe là xảy ra sự tái kết tủa của các khoáng Fe. Do đó, hàm lượng Fe tại các giếng này cao nhưng không tăng tỷ lệ với nồng độ As và quá trình tái kết tủa này cũng không kéo theo sự tái kết tủa/hấp phụ của As trên bề mặt các khoáng Fe này. Trạng thái quá bão hòa đối với các khoáng của Fe ở khu vực nghiên cứu cũng được khẳng định trong nghiên cứu ở cùng khu vực của Stopelli và cs (2020), Eiche và cs (2008) [3, 10].

**Tương quan giữa As và Mn:** theo thứ tự chuỗi oxy hóa khử xảy ra trong nước ngầm thì các oxit của Mn sẽ bị khử trước khi xảy ra quá trình khử hòa tan các oxit Fe, đồng thời giải phóng As [13]. Điều này có nghĩa là, nếu chiếu theo quy luật, nơi nào Mn cao thì chưa chắc đã có As, nơi nào As cao thì Mn cũng sẽ cao.



**Hình 5. Mối tương quan As-Mn.**

Tuy nhiên, mối tương quan giữa As và Mn ở khu vực nghiên cứu lại không hoàn toàn tuân theo quy luật này. Từ hình 5 có thể thấy, tương quan giữa As và Mn ở đây cũng được chia làm hai vùng. Vùng 1 (màu xanh) cho thấy, tại các giếng này nồng độ Mn trong nước ngầm cao nhưng nồng độ As lại thấp, có thể nói tương quan Mn và As trong nước ngầm tại các giếng này tuân theo quy luật trên. Tuy nhiên, ở vùng 2 (màu đỏ), quy luật này không còn đúng khi mà nồng độ As cao nhưng Mn lại thấp. Điều này có thể do quá trình tái kết tủa các khoáng của Mn với các ion  $\text{CO}_3^{2-}$  hoặc  $\text{HPO}_4^{2-}$  làm cho nồng độ Mn giảm xuống, trong khi đó As đã giải phóng ra sau quá trình khử hòa tan khoáng Fe thì vẫn còn tồn tại trong nước.

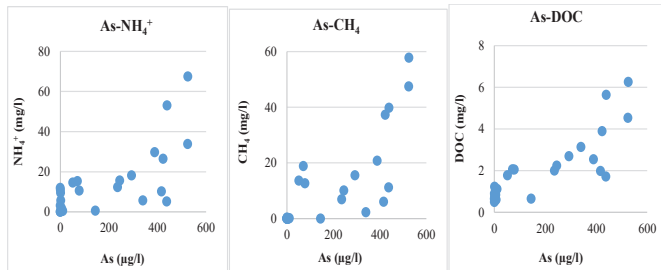


**Hình 6. Trạng thái bão hòa các khoáng của Mn tương ứng với từng vùng tương quan As-Mn.**

Hình 6 biểu diễn trạng thái bão hòa các khoáng  $\text{MnHPO}_4$  và Rhodochrosite ( $\text{MnCO}_3$ ) trong nước ngầm tại các giếng ở khu vực nghiên cứu. Từ hình 6 có thể thấy, nước ngầm tại khu vực nghiên cứu là quá bão hòa đối với khoáng  $\text{MnHPO}_4$  và quá bão hòa một phần đối với khoáng Rhodochrosite ở cả hai vùng tương quan trên. Điều này có thể giải thích cho sự tương quan không thống nhất giữa Mn và As trên toàn bộ khu vực nghiên cứu và một lần nữa khẳng định sự phức tạp của hệ thống thủy địa hóa nước ngầm.

**Tương quan giữa As và các thành phần thể hiện tính khử của nước ngầm:** quá trình phân hủy các hợp chất hữu cơ đóng một vai trò quan trọng trong tầng chứa nước, liên quan trực tiếp đến tính oxy hóa khử của môi trường nước xung quanh nó. Nồng độ DOC trong nước càng cao càng thuận lợi cho quá trình phân hủy chất hữu cơ do vi sinh vật. Theo thứ tự dãy phản ứng oxy hóa khử xảy ra trong nước ngầm,  $\text{NH}_4^+$  là sản phẩm khử đầu tiên và  $\text{CH}_4$  là sản phẩm khử cuối cùng. Do đó, có thể nói rằng, bên cạnh DOC thì  $\text{NH}_4^+$  và  $\text{CH}_4$  cũng là một trong những chỉ thị và thước đo cho tính khử của môi trường nước ngầm [13, 16]. Vì vậy, về mặt lý thuyết, giữa As tổng với  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CH}_4$  và DOC sẽ có mối tương quan thuận theo giả thuyết môi trường càng có tính khử thì càng thuận lợi cho quá trình giải phóng As vào nước ngầm. Hình 7 thể hiện mối tương quan giữa As,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CH}_4$  và DOC trong nước ngầm ở khu vực nghiên cứu. Qua hình này có thể thấy rõ một điều rằng, giữa As với  $\text{NH}_4^+$ , As

với  $\text{CH}_4$ , và giữa As với DOC đều có mối tương quan thuận, phù hợp với quy luật giải phóng As từ trầm tích vào nước ngầm qua quá trình khử hòa tan các khoáng Fe. Ngoài ra, mối tương quan này còn khẳng định môi trường nước ngầm tại khu vực nghiên cứu có tính khử.



Hình 7. Mối tương quan giữa As với  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{CH}_4$  và DOC trong nước ngầm ở khu vực nghiên cứu.

### Kết luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy, nước ngầm tại khu vực nghiên cứu là không đủ an toàn để sử dụng cho mục đích sinh hoạt, bởi nồng độ As tại đây cao hơn từ 2 đến 50 lần so với tiêu chuẩn cho phép của WHO và QCVN 01-1:2018/BYT. Ngoài As, nước ngầm tại khu vực này còn bị ô nhiễm bởi Fe, Mn và amoni. Sự biến đổi của As trong nước ngầm tương ứng với đặc điểm trầm tích của từng vùng dọc theo mặt cắt nghiên cứu. Theo hướng dòng chảy, nồng độ As tăng dần từ bờ sông tới trước vùng chuyển tiếp và ít thay đổi theo độ sâu, tại vùng chuyển tiếp thì nồng độ As giảm mạnh theo độ sâu cho tới gần như không xuất hiện sau vùng chuyển tiếp. Nghiên cứu cũng cho thấy mối tương quan thuận giữa As và các thành phần mang tính khử trong nước ngầm như DOC,  $\text{NH}_4^+$  và  $\text{CH}_4$ . Ngoài ra, mối tương quan giữa As và Fe cũng như giữa As và Mn cũng đã được phân tích, tuy nhiên mối tương quan này lại không thể hiện một xu hướng rõ ràng. Qua đó cho thấy, tính phức tạp trong hệ thống thủy địa hóa nước ngầm. Mặt khác, các kết quả này cũng khẳng định sự hình thành As trong nước ngầm tại khu vực nghiên cứu là theo cơ chế khử hòa tan các khoáng Fe dưới điều kiện khử.

### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội thông qua đề tài mã số TN.19.19. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn dự án “Retardation and mobilization of As at redox fronts under advective flow conditions - a concerted multidisciplinary approach (AdvectAs)” đã cho phép nhóm tác giả sử dụng hệ thống các giếng khoan của dự án để phục vụ cho việc thu thập mẫu dùng làm đối tượng nghiên cứu trong công trình này.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Berg, et al. (2001), “Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat”, *Environmental Science & Technology*, **35**(13), pp.2621-2626.
- [2] D. Postma, et al. (2007), “Arsenic in groundwater of the Red river floodplain, Vietnam: controlling geochemical processes and reactive transport modeling”, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **71**(21), pp.5054-5071.
- [3] E. Stopelli, et al. (2020), “Spatial and temporal evolution of groundwater arsenic contamination in the Red river delta, Vietnam: interplay of mobilisation and retardation processes”, *Science of the Total Environment*, **717**, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137143.
- [4] A. Van Geen, et al. (2013), “Retardation of arsenic transport through a Pleistocene aquifer”, *Nature*, **501**(7466), pp.204-207.
- [5] L.H.E. Winkel, et al. (2011), “Arsenic pollution of groundwater in Vietnam exacerbated by deep aquifer exploitation for more than a century”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**(4), pp.1246-1251.
- [6] T.T. Mai, et al. (2017), “Chemical characteristics of groundwater in southeastern Hanoi”, *HNUE Journal of Science, Chemical and Biological Science*, **62**(10), pp.44-51.
- [7] P.H. Giao, V.T. Hue, N.D. Han, N.T.H. Anh, N.N. Minh (2020), “Land subsidence prediction for a new urban mass rapid transit line in Hanoi”, *Underground Space*, **5**(2), pp.93-104.
- [8] H.V. Pham, T.K.T. Pham, V.N. Dao (2018), “Arsenic contamination in groundwater in the Red river delta, Vietnam - a review”, *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, **60**(1), pp.23-27.
- [9] M.O. Stahl, et al. (2016), “River bank geomorphology controls groundwater arsenic concentrations in aquifers adjacent to the Red river, Hanoi, Vietnam”, *Water Resources Research*, **52**(8), pp.6321-6334.
- [10] E. Eiche, et al. (2008), “Geochemical processes underlying a sharp contrast in groundwater arsenic concentration in a village on Red river delta, Vietnam”, *Applied Geochemistry*, **23**, pp.3143-3154.
- [11] Bộ Y tế (2018), *QCVN 01-1:2018/BYT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt*.
- [12] World Health Organization (2017), *Guidelines for Drinking-Water Quality: Fourth Edition Incorporating the First Addendum*.
- [13] C.A.J. Appelo, D. Postma (2005), *Geochemistry, Groundwater and Pollution*, CRC Press, 683pp.
- [14] M. Berg, et al. (2008), “Hydrological and sedimentary controls leading to arsenic contamination of groundwater in the Hanoi area, Vietnam: the impact of iron-arsenic ratios, peat, river bank deposits, and excessive groundwater abstraction”, *Chemical Geology*, **249**, pp.91-112.
- [15] Vũ Thị Duyên và cs (2017), “Nghiên cứu sự phân bố As trong trầm tích tại khu vực tây bắc Hà Nội bằng phương pháp chiết đơn”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **12**(1), tr.12-17.
- [16] K.R. Henke (2009), *Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*, John Wiley & Sons, 588pp.

# Khảo sát sơ bộ sự có mặt của các hợp chất PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông Cầu

Trần Hoài Lê<sup>1,2\*</sup>, Vũ Đức Thảo<sup>1</sup>, Huỳnh Trung Hải<sup>1</sup>, Hoàng Thị Liên<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Viện Khoa học và Công nghệ Môi trường, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

<sup>2</sup>Khoa Kỹ thuật Môi trường, Trường Đại học Xây dựng

<sup>3</sup>Phòng Phân tích môi trường Dioxin và độc chất, Trung tâm Quan trắc Môi trường miền Bắc

Ngày nhận bài 6/5/2021; ngày chuyển phản biện 14/5/2021; ngày nhận phản biện 16/6/2021; ngày chấp nhận đăng 23/6/2021

## Tóm tắt:

Hợp chất Perfluoro-octane sulfonate (PFOS) và Perfluoro-octanoic acid (PFOA) được xác định là những hợp chất ô nhiễm môi trường mới vì tính bền vững của chúng trong các thành phần môi trường và khả năng gây độc đối với con người và động vật. Nghiên cứu này đánh giá sơ bộ sự ô nhiễm PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông Cầu tại thành phố Thái Nguyên. Kết quả ghi nhận nồng độ PFOS và PFOA trong nước lần lượt dao động <LOQ-0,67 ng/l và 0,05-8,11 ng/l, trong trầm tích 1,19-4,73 ng/g và 0,17-1,78 ng/g. Tổng nồng độ của PFOS và PFOA cao nhất cả trong mẫu nước và trầm tích đều được ghi nhận ở các khu vực tiếp nhận nước thải sinh hoạt và công nghiệp. Hệ số phân bố nước - trầm tích ( $K_d$ ) khác nhau đáng kể đối với PFOS và PFOA, giá trị  $K_d$  dao động 20,51-72,83 l/g cho PFOS và 1,21-20,31 l/g với PFOA. Kết quả này gợi ý về sự phân bố của PFOS và PFOA giữa nước và trầm tích, trong đó PFOS sẽ ưu tiên lưu giữ trong trầm tích, còn PFOA có xu hướng phân bố trong pha lỏng.

**Từ khóa:** hệ số phân bố, nước, PFOA, PFOS, sông Cầu, Thái Nguyên, trầm tích.

**Chỉ số phân loại:** 1.5

## Giới thiệu

Các hợp chất hydrocarbon perfluor hóa (PFCs) là nhóm hợp chất nhân tạo được sản xuất từ những năm 1950. PFCs sở hữu các đặc tính độc đáo và hữu ích như cực kỳ bền vững, trơ về mặt hóa học, không thấm nước, không bị phân hủy sinh học, vì vậy chúng được sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp và sản phẩm tiêu dùng. Các nguồn phát thải của PFCs ra môi trường bao gồm nước thải từ sản xuất công nghiệp, các sản phẩm tiêu dùng, các bãi chôn lấp chất thải, các trạm xử lý nước thải [1]. PFCs cũng được biết đến là những hợp chất có tính độc và khả năng tích lũy sinh học. Nhiều kết quả nghiên cứu đã công bố về những tác động tiêu cực của PFCs đối với sức khỏe con người dựa trên mối tương quan giữa sự phơi nhiễm PFCs và các bệnh lý như hàm lượng cholesterol cao, các bệnh tuyến giáp, huyết áp cao khi mang thai, ung thư thận và tinh hoàn [2]. PFCs đã được xem như là một nhóm chất mới của "Các chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy - POPs", trong đó PFOS và PFOA là những chất tiêu biểu nhất cho nhóm hợp chất PFCs đã được bổ sung vào Công ước Stockholm từ năm 2009 và năm 2017.

Sự tồn tại của PFCs trong môi trường chủ yếu ở các dạng sau: (1) tan trong nước; (2) hấp phụ lên các hạt rắn trong không khí và nước; (3) lắng đọng trong trầm tích, đất; và (4) tích lũy sinh học trong cơ thể động vật và con người [1]. Các nghiên cứu về sự ô nhiễm của PFCs đã ghi nhận sự hiện diện của PFCs trong nước và trầm tích với nồng độ dao động trong khoảng từ ppb đến ppm [3, 4]. Sự tồn tại của PFCs trong nước và trầm tích phụ thuộc vào sự phân bố trầm tích - nước. Sự phân bố này rất phức tạp và phụ thuộc vào đặc tính lý hóa của hợp chất PFCs, đặc tính môi trường nước

và trầm tích. Vì vậy, việc xác định sự phân bố của PFCs trong nước và trầm tích là rất cần thiết để hiểu được cơ chế vận chuyển và chuyển hóa của các hợp chất này trong môi trường.

Cũng như các quốc gia đang phát triển khác, các nghiên cứu về các hợp chất POPs tại Việt Nam bao gồm PFCs chỉ mới được chú ý trong những năm gần đây. Nghiên cứu đầu tiên về PFOS và PFOA trong nước mặt ở Việt Nam vào năm 2007, trong đó PFOS và PFOA được phát hiện với nồng độ cao nhất lần lượt là 6,6 ng/l và 1,27 ng/l trong các sông, mương thải và hồ ở Hà Nội [5]. Nghiên cứu Nguyễn Thúy Ngọc và cộng sự [6] đã ghi nhận mức ô nhiễm PFOS và PFOA trong các kênh nước thải của các làng nghề dệt nhuộm tại Hà Nội và Bắc Ninh dao động trong khoảng 7,68-11,5 ng/l, với PFOS và PFHxA (perfluorohexanoic acid) là những chất ô nhiễm chiếm ưu thế. Một nghiên cứu ở quy mô toàn quốc đầu tiên về sự ô nhiễm của 16 hợp chất PFCs trong các kênh thoát nước đô thị tại 4 thành phố lớn của Việt Nam gồm Hà Nội, Huế, Đà Nẵng và thành phố Hồ Chí Minh được thực hiện bởi nhóm nghiên cứu của H.T. Duong và cộng sự [7]. Các kết quả cho thấy PFOS, PFOA và PFNA (perfluorononanoic acid) là những chất ô nhiễm điển hình với nồng độ cao nhất lần lượt là 5,3, 18,0 và 0,93 ng/l. Nghiên cứu của nhóm tác giả N.H. Lam và cộng sự [8] đã đo được nồng độ của PFOA và PFOS trong các mẫu nước mặt của các kênh thoát nước tiếp nhận nước thải của trạm xử lý nước thải lần lượt là 53,5 và 40,2 ng/l, PFOS và PFHxS (perfluorohexanoic sulfonate) là những chất ô nhiễm điển hình trong trầm tích. Có thể thấy, cho đến nay dữ liệu về sự ô nhiễm PFCs trong nước và trầm tích tại Việt Nam còn khá ít ỏi.

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

# Preliminary investigation of the presence of PFOS and PFOA in water and sediment in Cau river

Hoai Le Tran<sup>1,2\*</sup>, Duc Thao Vu<sup>1</sup>, Trung Hai Huynh<sup>1</sup>, Thi Lien Hoang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Environmental Science and Technology,  
Hanoi University of Science and Technology

<sup>2</sup>Faculty of Environmental Engineering,  
National University of Civil Engineering

<sup>3</sup>Analytical Laboratory for Environment, Dioxin and Toxics;  
Northern Center for Environmental Monitoring

Received 6 May 2021; accepted 23 June 2021

## Abstract:

Perfluoro-octane sulfonate (PFOS) and Perfluoro-octanoic acid (PFOA) are recognised as emerging environmental pollutants because of their high persistence in various environmental matrices and toxic effects on humans and animals. The objectives of this study were to preliminarily investigate the occurrence of PFOS and PFOA in the water and sediment of the Cau river in Thai Nguyen city. The concentration of PFOS and PFOA in water ranged from <LOQ-0.67 ng/l and 0.05-8.11 ng/l; 1.19-4.73 ng/g, and 0.17-1.78 ng/g in sediment, respectively. The highest total concentrations of PFOS and PFOA were recorded in the areas that directly received wastewater from domestic and industrial activities. The water-sediment distribution coefficient ( $K_d$ ) was relatively different for PFOS and PFOA, with  $K_d$  ranged from 20.51-72.83 l/g and 1.21-20.31 l/g for PFOS and PFOA, respectively. This result suggested the distribution of PFOS and PFOA between water and sediment, in which PFOS will preferentially deposit in the sediment, and PFOA will tend to distribute in the liquid phase of the aquatic environment.

**Keywords:** Cau river, distribution coefficient, PFOA, PFOS, sediment, Thai Nguyen, water.

**Classification number:** 1.5

Như vậy, sự có mặt của các hợp chất PFCs nói chung và PFOS, PFOA nói riêng trong môi trường đã được ghi nhận tại Việt Nam. Tuy nhiên, các nghiên cứu mới chỉ được thực hiện tại một số khu vực nhỏ hoặc đặc thù, nên chưa đưa ra được bức tranh tổng quát về hiện trạng ô nhiễm các hợp chất này trong các thành phần môi trường. Đặc biệt là sự phân bố giữa nước và trầm tích vẫn chưa được mô tả và nghiên cứu đầy đủ, đây là một trong những khoảng trống lớn trong các nghiên cứu về PFCs ở Việt Nam. Vì vậy, nghiên cứu này của chúng tôi được thực hiện với mục tiêu: (1) khảo sát sơ bộ sự ô nhiễm của hợp chất PFOS và PFOA trong nước và trầm

tích sông Cầu; (2) so sánh mức độ ô nhiễm tại sông Cầu với các nghiên cứu khác tại Việt Nam và (3) đánh giá sơ bộ sự phân bố của PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông.

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Hợp chất PFOS và PFOA được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu. Hai hợp chất này là các đại diện tiêu biểu của nhóm hợp chất PFCs, chúng thường được phát hiện với nồng độ cao nhất trong tất cả các mẫu môi trường như nước, trầm tích, bùn cặn... đồng thời độc tính, khả năng tích tụ sinh học của chúng đã được báo cáo trong rất nhiều kết quả nghiên cứu [3, 4, 9-11].

Nghiên cứu được thực hiện tại sông Cầu, đoạn chảy qua thành phố Thái Nguyên. Lưu vực sông Cầu là một trong những lưu vực sông lớn ở Việt Nam với tổng diện tích là 6.030 km<sup>2</sup>, đồng chính là sông Cầu (chiều dài 290 km); có vị trí địa lý quan trọng; tài nguyên đa dạng và phong phú... Trong các địa phương thuộc lưu vực sông, tỉnh Thái Nguyên là nơi tập trung nhiều nhất các nguồn thải ra sông Cầu, trong đó thành phố Thái Nguyên là vùng kinh tế phát triển năng động nhất của tỉnh, là trung tâm công nghiệp lâu đời và là nơi tập trung chủ yếu các khu công nghiệp và nhà máy lớn.

### Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

Các chất chuẩn *Perfluoro-n-octanoic acid* (PFOA-001S) và *Perfluorooctane-n-sulfonic acid* (PFOS-001S) được mua từ AccuStandard, Inc. (Mỹ). Các chất nội chuẩn MPFOS (*Sodium perfluoro-1-[1,2,3,4-13C<sub>4</sub>] octane sulfonate*) và MPFOA (*Perfluoro-n-[1,2,3,4-13C<sub>4</sub>] octanoic acid*) được mua từ Wellington Laboratories (Canada). Các dung dịch methanol và acetonitrile với cấp độ tinh khiết HPLC của Merck (Đức). Tất cả các dụng cụ trong quá trình lấy mẫu, xử lý và phân tích mẫu đều được tráng rửa bằng methanol và nước Milli-Q trước khi sử dụng. Hợp chất PFOS và PFOA trong mẫu nước và trầm tích được phân tích bằng hệ thống sắc ký lỏng ghép nối khối phổ song song Agilent 6430A Triple Quadrupole HPLC-MS/MS System (Agilent, Mỹ), với cột sắc ký là Eclipse Agilent XDB-C18, 2,1 x 150 mm, 5 µm narrow-bore (Agilent, Mỹ).

### Lấy mẫu, chuẩn bị và phân tích mẫu

22 mẫu nước và 5 mẫu trầm tích đã được lấy tại sông Cầu đoạn chảy qua thành phố Thái Nguyên vào tháng 10/2019. Các vị trí lấy mẫu được lựa chọn nhằm đánh giá mức độ ô nhiễm các hợp chất PFOS và PFOA của sông Cầu từ thượng lưu, hạ lưu và các khu vực tiếp nhận nước thải từ các kênh, suối chính đổ ra sông. Mẫu nước được đựng trong các chai nhựa Polypropylen dung tích 1,5 l. Mẫu trầm tích được lấy bằng gầu lấy mẫu, đựng trong các hộp nhựa Polypropylen. Mẫu nước và trầm tích được bảo quản trong thùng lạnh khi vận chuyển về phòng thí nghiệm và được xử lý trong vòng 24 giờ.

Mẫu nước và trầm tích được xử lý sơ bộ theo quy trình phát triển bởi C. Kunacheva và cộng sự [12]. Tại phòng thí nghiệm, 1.000 ml mẫu nước được lọc qua giấy lọc sợi thủy tinh GF/B (Whatman, Anh) với kích thước lỗ 1 µm để tách chất rắn lơ lửng.

Dung dịch chứa các chất nội chuẩn MPFOS và MPFOA (nồng độ 10 µg/l) được bơm vào dung dịch sau lọc trước khi thực hiện quá trình chiết pha rắn SPE nhằm đánh giá độ thu hồi của mẫu. Quy trình xử lý mẫu như sau: dung dịch sau lọc được đưa qua một cột chiết PresepC-Agri C18 (Wako, Nhật Bản) ghép nối với một cột chiết Oasis HLB C18 (Water, Mỹ). Trước đó, các cột chiết được hoạt hoá bằng 10 ml methanol, tiếp theo là 20 ml Milli-Q. Tốc độ dòng là 10 ml/phút được duy trì trong toàn bộ quá trình chiết mẫu. Hợp chất PFOS và PFOA được rửa giải ra khỏi cột chiết bằng 4 ml methanol, dung dịch thu được được chuyển vào ống polypropylene có dung tích 20 ml, làm khô bằng dòng khí nitơ tinh khiết, rồi hoàn nguyên bằng dung dịch acetonitrile 40% thu được thể tích cuối cùng là 1 ml. Mẫu trầm tích được để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Sau đó, mẫu được cân với khối lượng xác định (0,2-0,3 g), bổ sung dung dịch nội chuẩn MPFOS và MPFOA (nồng độ 10 µg/l), rồi đưa vào cell chiết của hệ chiết dung môi nhanh ASE 350 (Thermo Fisher, Mỹ) với dung môi chiết là methanol. Quá trình chiết được thực hiện trong hai vòng ở áp suất 2.000 psi và nhiệt độ 100°C. Dịch chiết thu được có dung tích 60-90 ml, được định mức đến 1.000 ml bằng nước Milli-Q, và tiếp tục thực hiện quá trình chiết pha rắn giống như mẫu nước. Như vậy, quá trình chiết xuất trên đã giúp làm sạch và làm giàu dung dịch mẫu. 1.000ml dung dịch mẫu được cô đặc xuống thể tích cuối cùng là 1 ml. 5 µl dung dịch chiết xuất cuối cùng được tiêm vào cột sắc ký, phân tích bằng hệ HPLC-MS/MS. Pha động bao gồm kênh (A) 5 mM amoni axetat trong nước Milli-Q và kênh (B) 100% acetonitrile.

### Kiểm soát chất lượng

Các đường chuẩn định lượng được dựng từ 5 điểm nằm trong dải nồng độ 0,1-100 µg/l. Hệ số xác định ( $R^2$ ) của các đường chuẩn tuyến tính đều lớn hơn 0,99. Giới hạn định lượng (LOQ) được tính bằng tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu (S/N) là 10:1, giá trị LOQ cho mỗi chất phân tích được tóm tắt trong bảng 1. Độ thu hồi được kiểm tra bằng việc phân tích nồng độ các chất chuẩn nội MPFOS và MPFOA. Kết quả độ thu hồi của tất cả các mẫu dao động trong khoảng 78,5-116%.

**Bảng 1. Giá trị giới hạn phát hiện của phương pháp phân tích PFCs trong mẫu nước và trầm tích.**

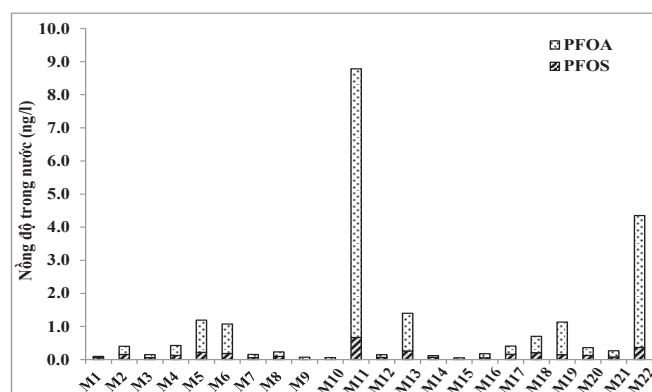
| Hợp chất | LOQ (ng/l) | Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) |                      |
|----------|------------|------------------------------------------|----------------------|
|          |            | Mẫu nước (ng/l)                          | Mẫu trầm tích (ng/g) |
| PFOS     | 0,02       | 0,02                                     | 0,04                 |
| PFOA     | 0,05       | 0,05                                     | 0,10                 |

### Kết quả và thảo luận

#### Hàm lượng PFOS và PFOA trong nước sông Cầu

Kết quả khảo sát hiện trạng ô nhiễm PFOS và PFOA trong nước sông Cầu được biểu diễn trên hình 1.

PFOA được phát hiện tại 22/22 vị trí khảo sát, với nồng độ dao động trong khoảng 0,05-8,11 ng/l, PFOS được tìm thấy trong 19/22 vị trí với nồng độ dao động <LOQ-0,67 ng/l. Độ thu hồi cho tất cả các mẫu nước dao động 78,5-115,3% cho PFOS và 79,7-



**Hình 1. Nồng độ PFOS và PFOA trong nước (ng/l).**

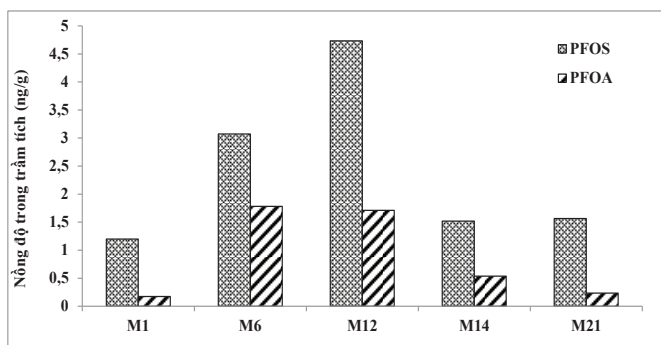
116% cho PFOA. Giá trị tổng nồng độ của PFOS và PFOA cao nhất là 8,7 ng/l được ghi nhận tại vị trí M11, tiếp theo là M22 với tổng nồng độ đo được là 4,34 ng/l. Các giá trị cao nhất đều được tìm thấy tại những vị trí xung quanh Nhà máy xử lý nước thải của thành phố Thái Nguyên. Nhà máy xử lý nước thải nằm cách sông Cầu khoảng 700 m về phía đông nam. Nước thải sau xử lý của nhà máy được đổ vào suối Xương Rồng, rồi chảy vào sông Cầu. Suối Xương Rồng đoạn đầu chủ yếu đi qua đồng ruộng, đoạn sau đi qua khu vực tập trung đông dân cư sinh sống, có nhiều đoạn lòng suối bị người dân lấn chiếm. Theo báo cáo Đánh giá tác động môi trường dự án “Hệ thống thoát nước và xử lý nước thải thành phố Thái Nguyên”, lưu lượng dòng chảy lớn nhất tại suối Xương Rồng là 18,93 m<sup>3</sup>/s, tốc độ dòng trung bình 3,96 m/s [13]. M11 và M22 đều là những vị trí nằm trên suối Xương Rồng, M22 nằm trước điểm xả, cách điểm xả 425 m, M11 là vị trí nằm sau điểm xả, cách điểm xả 185 m. Ngoài ra, Nhà máy xử lý nước thải Thái Nguyên hiện sử dụng các công đoạn gồm lắng cát, tách dầu mỡ, xử lý sinh học bằng mương oxy hóa, khử trùng bằng clo để xử lý nước thải. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, chỉ những nhà máy có tích hợp các công nghệ xử lý tiên tiến như quá trình oxy hóa nâng cao (quang phân bằng tia UV, quang xúc tác...), lọc màng, quá trình xử lý hóa lý kết hợp siêu âm mới có thể loại bỏ hiệu quả các hợp chất PFCs ra khỏi môi trường nước [14, 15].

Mức nồng độ thấp hơn được ghi nhận tại các vị trí M5 và M6 với tổng nồng độ PFOS và PFOA lần lượt là 1,19 và 1,08 ng/l. Đây là khu vực trung tâm thành phố Thái Nguyên, có mật độ dân số cao. Các vị trí có nồng độ thấp nhất được ghi nhận ở khu vực thượng lưu của sông (M1), khu vực sản xuất nông nghiệp (M9, M10, M14, M15) và hạ lưu sông (M21). Các kết quả này gợi ý rằng, các nhà máy xử lý nước thải đô thị với các công nghệ truyền thống sẽ là một trong những nguồn phát thải chính các hợp chất PFOS và PFOA ra môi trường nước. Kết luận tương tự cũng được khẳng định bởi các nhóm tác giả J. Yu và cộng sự [16], B.R. Shivakoti và cộng sự (2010) [17], C. Kunacheva và cộng sự (2011) [12].

#### Hàm lượng PFOS và PFOA trong trầm tích sông Cầu

Các kết quả đo đạc về nồng độ của PFOS và PFOA trong trầm tích tại sông Cầu, thành phố Thái Nguyên được trình bày trong hình 2. Nồng độ của PFOS và PFOA dao động lần lượt trong khoảng 1,19-4,73 ng/g và 0,17-1,78 ng/g, với độ thu hồi cho các mẫu dao

động từ 87,5-115,4% với PFOS và 86,1-115,5% với PFOA. Tương tự như với mẫu nước, tổng nồng độ của PFOS và PFOA trong trầm tích lớn nhất được ghi nhận tại vị trí M12 là 6,44 ng/g. Đây là vị trí sông Cầu tiếp nhận nước thải từ mương thoát nước của Nhà máy xử lý nước thải thành phố Thái Nguyên. Nồng độ cao thứ hai được tìm thấy tại vị trí M6, với giá trị tổng nồng độ đo được là 4,85 ng/g, trong đó nồng độ của PFOS và PFOA lần lượt là 3,07 ng/g và 1,78 ng/g. Trong khi đó, các vị trí còn lại là M1, M14, M21 là các vị trí thuộc khu vực thượng lưu, điểm hợp lưu giữa sông Cầu và mương thủy lợi, và hạ lưu sông đều có mức nồng độ tương đối thấp với tổng nồng độ PFOS và PFOA đo được lần lượt là 1,37, 2,06 và 1,80 ng/g. Các kết quả này khẳng định rằng, nước thải sinh hoạt và nước thải công nghiệp không được xử lý hoặc xử lý không hiệu quả sẽ là những nguồn có khả năng gây ô nhiễm các hợp chất PFOS và PFOA đến trầm tích sông. Kết quả này cũng tương đồng với các kết luận được đưa ra trong các nghiên cứu của các nhóm tác giả Bao và cộng sự (2010) [18], Pan và cộng sự (2015) [19].



Hình 2. Nồng độ PFOS và PFOA trong trầm tích (ng/g).

### So sánh nồng độ PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông Cầu

Hợp chất PFOS và PFOA đã xuất hiện trong các mẫu nước sông Cầu, song hàm lượng của chúng còn tương đối thấp nếu so sánh với mẫu nước mặt (sông, hồ) tại các thành phố lớn như Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh hay Đà Nẵng, tuy nhiên vẫn cao hơn nếu so sánh với mẫu nước các sông lớn tại các tỉnh/thành phố như Thanh Hoá, Phú Yên hay Ninh Thuận. Với trầm tích, nồng độ của cả PFOS và PFOA trong trầm tích sông Cầu tại thành phố Thái Nguyên đều ghi nhận có mức nồng độ cao hơn đáng kể so với hàm lượng trong trầm tích được ghi nhận một số sông lớn ở Việt Nam (bảng 2). Sự khác nhau về nồng độ PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông giữa các kết quả nghiên cứu có thể được lý giải là do sự khác nhau của các nguồn phát thải ô nhiễm, phương pháp xử lý nước thải, lưu lượng xả thải, số lượng, vị trí và thời gian lấy mẫu, đặc điểm địa chất thủy văn của sông và đặc tính hóa lý của nước và trầm tích sông. Tuy nhiên, do dữ liệu về nồng độ các chất PFOS và PFOA trong nước và đặc biệt trong trầm tích tại Việt Nam hiện vẫn còn khá hạn chế, nên sự so sánh này sẽ có tính chính xác hơn khi các dữ liệu về sự ô nhiễm trong nước và trầm tích đầy đủ và chi tiết hơn.

Bảng 2. Nồng độ PFOS và PFOA trong nước và trầm tích tại các khu vực ở Việt Nam.

| Tỉnh/thành phố                                  | Địa điểm lấy mẫu                                                     | PFOS      | PFOA       | TLTK |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------|------------|------|
| Nồng độ PFOS và PFOA trong mẫu nước (ng/l)      |                                                                      |           |            |      |
| Hà Nội                                          | Mẫu nước (sông Hồng, sông Nhuệ)                                      | ND-0,14   | ND-1,00    | [5]  |
|                                                 | Mẫu nước hồ (hồ Tây, hồ Hoàn Kiếm)                                   | 0,17-0,81 | 1,40-6,60  |      |
|                                                 | Mẫu nước sông Tô Lịch                                                | ND-1,30   | ND-6,10    |      |
|                                                 | Mẫu nước gần Trạm xử lý nước thải Yên Sở                             | ND-0,80   | ND-7,70    | [20] |
|                                                 | Mẫu nước tại mương thoát nước của bãi chôn lấp chất thải rắn Nam Sơn | ND-2,50   | ND-11,00   |      |
|                                                 | Mẫu nước mặt tại làng nghề dệt nhuộm Hà Đông                         | (0,05)    | (3,31)     | [21] |
|                                                 | Mẫu nước sông Hồng                                                   | ND-0,04   | 0,13-0,40  | [8]  |
|                                                 | Mẫu nước hồ Tây                                                      | (0,42)    | (2,48)     | [22] |
|                                                 | Mẫu nước hồ Yên Sở                                                   | (0,46)    | (2,93)     |      |
| Hưng Yên                                        | Mẫu nước mặt tại làng nghề tái chế chì Đông Mai                      | ND-2,70   | 2,50-5,60  | [20] |
|                                                 | Mẫu nước mặt tại làng nghề tái chế rác thải điện tử Bùi Dâu          | ND-1,80   | 3,30-35,00 |      |
| Bắc Ninh                                        | Mẫu nước mặt tại làng nghề dệt nhuộm Hối Quan                        | (0,33)    | (2,81)     | [21] |
| Thanh Hóa                                       | Mẫu nước sông Mã                                                     | ND        | ND         | [8]  |
| Huế                                             | Mẫu nước sông Bồ và sông Hương                                       | ND-0,19   | 0,09-0,32  | [8]  |
| Đà Nẵng                                         | Mẫu nước sông (sông Cầu Đỏ, sông Hàn) và hồ (hồ Bàu Trâm)            | ND-3,80   | ND-104,50  | [23] |
|                                                 | Mẫu nước sông Cu Đê, sông Túy Loan                                   | ND-0,84   | 0,32-9,80  |      |
| Phú Yên                                         | Mẫu nước sông Đà Rằng, Đà Nồng                                       | ND-0,05   | ND-0,22    | [8]  |
| Ninh Thuận                                      | Mẫu nước sông Cái, sông Quán Trường                                  | ND-0,05   | ND-0,16    | [8]  |
| Đồng Nai                                        | Mẫu nước sông Đồng Nai                                               | ND-0,20   | ND-1,06    | [8]  |
| TP Hồ Chí Minh                                  | Mẫu nước sông Sài Gòn                                                | ND-1,62   | 0,92-6,39  | [8]  |
|                                                 | Mẫu nước sông Đồng Nai, sông Sài Gòn                                 | ND-5,30   | 0,21-18,00 | [7]  |
| TP Thái Nguyên                                  | Mẫu nước sông Cầu                                                    | ND-0,67   | 0,05-8,11  |      |
| Nồng độ PFOS và PFOA trong mẫu trầm tích (ng/g) |                                                                      |           |            |      |
| Hà Nội                                          | Trầm tích hồ Tây                                                     | (0,05)    | (0,05)     | [22] |
|                                                 | Trầm tích hồ Yên Sở                                                  | (0,13)    | (0,14)     |      |
| Phú Yên                                         | Trầm tích sông Đà Rằng, Đà Nồng                                      | ND-0,17   | ND         | [8]  |
| Ninh Thuận                                      | Trầm tích sông Cái, sông Quán Trường                                 | ND        | ND         | [8]  |
| Đồng Nai                                        | Trầm tích sông Đồng Nai                                              | ND        | ND         | [8]  |
| TP Hồ Chí Minh                                  | Trầm tích sông Sài Gòn                                               | ND        | ND         | [8]  |
| TP Thái Nguyên                                  | Trầm tích sông Cầu                                                   | 1,19-4,73 | 0,17-1,78  |      |

Ghi chú: trong ngoặc là giá trị trung bình. ND - không phát hiện được.

### Sự phân bố giữa nước và trầm tích của PFOS và PFOA

Sự phân bố của PFOS và PFOA giữa nước và trầm tích được đánh giá qua hệ số phân bố  $K_d$ . Hệ số  $K_d$  được xác định bằng tỷ số giữa nồng độ trong trầm tích ( $C_s$ ) và nồng độ trong nước ( $C_w$ ) theo công thức:  $K_d = C_s / C_w$ . Kết quả tính toán hệ số  $K_d$  cho nước và trầm tích sông Cầu tại các vị trí nghiên cứu được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Hệ số phân bố ( $K_d$ ) giữa nước và trầm tích sông Cầu.

| Vị trí | PFOS            |                 | $K_d$<br>(l/g) | Độ tan*<br>(g/l) | Log $K_{ow}$ | PFOA            |                 | $K_d$<br>(l/g) | Độ tan*<br>(g/l) | Log $K_{ow}$ |
|--------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|--------------|-----------------|-----------------|----------------|------------------|--------------|
|        | $C_s$<br>(ng/g) | $C_w$<br>(ng/l) |                |                  |              | $C_s$<br>(ng/g) | $C_w$<br>(ng/l) |                |                  |              |
| M1     | 1,199           | 0,056           | 21,42          | 0,57             | 5,26         | 0,175           | 0,041           | 4,31           | 3,4              | 4,59         |
| M6     | 3,773           | 0,184           | 20,51          |                  |              | 1,783           | 0,892           | 1,99           |                  |              |
| M12    | 4,734           | 0,065           | 72,83          |                  |              | 1,710           | 0,084           | 20,31          |                  |              |
| M14    | 1,519           | 0,063           | 24,11          |                  |              | 0,538           | 0,053           | 10,19          |                  |              |
| M21    | 1,565           | 0,074           | 21,15          |                  |              | 0,235           | 0,194           | 1,21           |                  |              |

Ghi chú: (\*) [24].

Kết quả tính toán cho thấy giá trị  $K_d$  tương đối khác nhau giữa PFOS và PFOA, giá trị  $K_d$  dao động trong khoảng 20,51-72,83 g/l với PFOS và 1,21-20,31 g/l với PFOA. Hệ số phân bố Octanol-Nước ( $K_{ow}$ ) là thông số thường được sử dụng để ước tính mức độ kỵ nước của một hợp chất. Giá trị  $\log K_{ow}$  của PFOS là 5,26, cao hơn so với  $\log K_{ow}$  của PFOA là 4,59. Giá trị này chỉ ra rằng, PFOS có tính kỵ nước hơn so với PFOA. Ngoài ra, PFOS có độ tan trong nước rất thấp (0,57 g/l), trong khi đó PFOA có độ tan trong nước tương đối cao (3,4 g/l). Các giá trị này gợi ý rằng, PFOS có ái lực hấp phụ lên trầm tích cao hơn đáng kể so với PFOA mặc dù hai hợp chất này có cùng độ dài chuỗi carbon trong phân tử. Điều đó giúp khẳng định rằng, một trong những cơ chế chính của quá trình hấp phụ lên trầm tích là dựa trên tương tác kỵ nước giữa phân tử hợp chất PFCs và bề mặt của trầm tích. Với cùng độ dài chuỗi carbon trong phân tử thì nhóm chức sulfonate (đại diện là PFOS) có đặc tính kỵ nước cao hơn so với nhóm chức carboxylate (đại diện là PFOA) [25]. Kết quả này cũng gợi ý về sự tồn tại và đặc tính sinh khả dụng của các hợp chất nghiên cứu trong môi trường nước. PFOS với ái lực hấp phụ cao lên trầm tích nên chúng sẽ ưu tiên lưu giữ trong trầm tích hơn là trong pha nước. Ngược lại, PFOA với khả năng hấp phụ yếu, cộng với độ hòa tan trong nước cao, chúng sẽ có xu hướng phân bố trong pha lỏng khi xuất hiện trong môi trường nước.

## Kết luận

Nghiên cứu đã xác định mức độ ô nhiễm hợp chất PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông Cầu (đoạn qua thành phố Thái Nguyên). Nồng độ PFOS và PFOA trong nước lần lượt dao động <LOQ-0,67 ng/l và 0,05-8,11 ng/l, trong trầm tích là 1,19-4,73 ng/g và 0,17-1,78 ng/g. Tổng nồng độ của PFOS và PFOA cao nhất ghi nhận ở các khu vực tiếp nhận nước thải sinh hoạt và công nghiệp của thành phố. Hệ số phân bố nước - trầm tích ( $K_d$ ) dao động 20,51-72,83 l/g cho PFOS và 1,21-20,31 l/g với PFOA. Kết quả nghiên cứu cũng gợi ý về sự tồn tại và phân bố của PFOS và PFOA giữa nước và trầm tích, trong đó PFOS ưu tiên lắng đọng trong trầm tích, còn PFOA có xu hướng phân bố trong pha lỏng. Tuy nhiên, cần có thêm các nghiên cứu về sự ảnh hưởng của đặc tính hóa lý của môi trường nước, của trầm tích, đặc điểm của hợp chất PFCs đến sự phân bố giữa nước và trầm tích, để có sự hiểu biết rõ ràng và chặt chẽ hơn về cơ chế phân bố và chuyển hóa các hợp chất này trong môi trường.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.P. Cheremisinoff (2017), *Perfluorinated Chemicals (PFCs) - Contaminants of Concern*, Scrivener Publishing.
- [2] C. Lau, et al. (2007), "Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings", *Toxicol. Sci.*, **99**(2), pp.366-394.
- [3] C. Gomez, et al. (2011), "Occurrence of perfluorinated compounds in water, sediment and mussels from the Cantabrian Sea (North Spain)", *Mar. Pollut. Bull.*, **62**(5), pp.948-955.
- [4] N.H. Lam, et al. (2014), "Perfluorinated alkyl substances in water, sediment, plankton and fish from Korean rivers and lakes: a nationwide survey", *Sci. Total. Environ.*, **491-492**, pp.154-162.
- [5] N.P.H. Lien (2007), *Study on Distribution and Behavior of PFOS (Perfluorooctane Sulfonate) and PFOA (Perfluorooctanoate) in Water Environment*, Department of Urban and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University, Japan.
- [6] Nguyễn Thủy Ngọc và cộng sự (2017), "Phân tích nhóm hợp chất perfluor hóa trong các mẫu môi trường: nước, trầm tích, cá bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần", *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, **33**(3), tr.87-93.
- [7] H.T. Duong, et al. (2015), "Occurrence of perfluoroalkyl acids in environmental waters in Vietnam", *Chemosphere*, **122**, pp.115-124.
- [8] N.H. Lam, et al. (2017), "A nationwide survey of perfluorinated alkyl substances in waters, sediment and biota collected from aquatic environment in Vietnam: distributions and bioconcentration profiles", *J. Hazard. Mater.*, **323**(A), pp.116-127.
- [9] A.M. Becker, et al. (2008), "Perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate in the sediment of the Roter Main river, Bayreuth, Germany", *Environ. Pollut.*, **156**(3), pp.818-820.
- [10] F. Li, et al. (2011), "Perfluorinated compounds in Haihe river and Dagou Drainage canal in Tianjin, China", *Chemosphere*, **84**(2), pp.265-271.
- [11] Y. Pico, et al. (2012), "Occurrence of perfluorinated compounds in water and sediment of L'Albufera Natural Park (Valencia, Spain)", *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **19**(4), pp.946-957.
- [12] C. Kunacheva, et al. (2011), "Mass flows of perfluorinated compounds (PFCs) in central wastewater treatment plants of industrial zones in Thailand", *Chemosphere*, **83**(6), pp.737-744.
- [13] Ban Quản lý dự án thoát nước và xử lý nước thải thành phố Thái Nguyên (2008), *Báo cáo Đánh giá tác động môi trường dự án thoát nước và xử lý nước thải thành phố Thái Nguyên*.
- [14] Y. Yao, et al. (2014), "Comparative study on adsorption of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) by different adsorbents in water", *Water Sci. Technol.*, **70**(12), pp.1983-1991.
- [15] O.S. Arvaniti, et al. (2015), "Review on the occurrence, fate and removal of perfluorinated compounds during wastewater treatment", *Sci. Total. Environ.*, **524-525**, pp.81-92.
- [16] J. Yu, et al. (2009), "Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in sewage treatment plants", *Water Res.*, **43**(9), pp.2399-2408.
- [17] B.R. Shivakoti, et al. (2010), "Occurrences and behavior of perfluorinated compounds (PFCs) in several wastewater treatment plants (WWTPs) in Japan and Thailand", *J. Environ. Monit.*, **12**(6), pp.1255-1264.
- [18] J. Bao, et al. (2010), "Perfluorinated compounds in urban river sediments from Guangzhou and Shanghai of China", *Chemosphere*, **80**(2), pp.123-130.
- [19] C.G. Pan, et al. (2015), "Spatial distribution of perfluoroalkyl substances in surface sediments of five major rivers in China", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **68**(3), pp.566-576.
- [20] J.W. Kim, et al. (2013), "Contamination by perfluorinated compounds in water near waste recycling and disposal sites in Vietnam", *Environ. Monit. Assess.*, **185**(4), pp.2909-2919.
- [21] Phùng Thị Vĩ và cộng sự (2015), "Khảo sát sơ bộ hàm lượng của các hợp chất perfluor hóa (PFCs) trong nước mặt tại một số làng nghề dệt nhuộm phía Bắc Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, **31**(4), tr.90-97.
- [22] Nguyễn Thủy Ngọc và cộng sự (2018), "Sự phân bố và tích lũy các hợp chất perfluor hóa (PFCs) trong nước và trầm tích tại hai hồ lớn của thành phố Hà Nội", *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, **34**(1), tr.31-37.
- [23] D.Q. Hung (2015), *Development of a Rapid and Easy Measurement Protocol for Perfluorinated Carboxylic Acids (PFCAs) by a Continuous Flow Analysis*, The Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University, Japan.
- [24] S. Deng, et al. (2012), "Sorption mechanisms of perfluorinated compounds on carbon nanotubes", *Environ. Pollut.*, **168**, pp.138-144.
- [25] Z. Du, et al. (2014), "Adsorption behavior and mechanism of perfluorinated compounds on various adsorbents - a review", *J. Hazard. Mater.*, **274**, pp.443-454.

# Đánh giá thích hợp đất đai trong điều kiện biến đổi khí hậu và nước biển dâng tại tỉnh Thái Bình bằng mô hình tích hợp GIS-ALES

Hoàng Quốc Nam<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Thủy<sup>1</sup>, Lưu Thế Anh<sup>2</sup>, Nguyễn Ngọc Thành<sup>1</sup>, Nguyễn Đức Thành<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Viện Địa lý, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Tài nguyên và Môi trường, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 7/6/2021; ngày chuyển phản biện 11/6/2021; ngày nhận phản biện 12/7/2021; ngày chấp nhận đăng 14/7/2021

## Tóm tắt:

Đánh giá thích hợp đất đai là căn cứ khoa học để quy hoạch sử dụng đất một cách hợp lý. Quy trình đánh giá này liên quan đến các điều kiện đất đai tự nhiên như địa hình, khí hậu, thủy văn... Tuy nhiên, các yếu tố này đang bị thay đổi do tác động của biến đổi khí hậu (BĐKH) và nước biển dâng (NBD), đặc biệt là ở các vùng ven biển (sự xâm nhập mặn, ngập úng), đây là những yếu tố cần được đưa vào đánh giá. Kết quả ứng dụng mô hình tích hợp GIS (Geographic information system)-ALES (Automated land evaluation system) vào đánh giá thích hợp đất đai trong điều kiện BĐKH, NBD tại tỉnh Thái Bình cho thấy, diện tích đất đai rất thích hợp (S1) và thích hợp (S2) cho trồng lúa là 92.818,5 ha, nuôi trồng thủy sản (NTTS) 34.518,6 ha, cây màu 27.424,9 ha và cây lâu năm (chủ yếu là cây ăn quả) 13.104,1 ha. Phân bố không gian của các cấp thích hợp cũng đã được thể hiện trên bản đồ tỷ lệ 1/50.000. Kết quả nghiên cứu đã giúp đưa ra định hướng quy hoạch sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp cho tỉnh Thái Bình.

**Từ khóa:** ALES, biến đổi khí hậu, đánh giá đất đai, GIS.

**Chỉ số phân loại:** 1.5

## Mở đầu

Thái Bình là tỉnh sản xuất nông nghiệp trọng điểm của vùng Đồng bằng sông Hồng, có điều kiện đất đai tự nhiên thuận lợi cho phát triển nhiều loại hình sản xuất nông nghiệp khác nhau (chuyên lúa, màu, cây ăn quả, NTTS...). Những năm gần đây, với mục tiêu nâng cao giá trị sản xuất, việc chuyển đổi cơ cấu sử dụng đất giữa các loại hình sử dụng đất sản xuất nông nghiệp của tỉnh diễn ra mạnh mẽ. Tuy nhiên, việc quy hoạch nhanh chóng và chuyển đổi cấp tập giữa các loại hình sử dụng đất sẽ tiềm ẩn nhiều rủi ro khi chưa có những nghiên cứu đầy đủ và đồng bộ về khả năng thích hợp của các loại sử dụng đất (Land utilization types - LUTs) với các điều kiện sinh thái của mỗi vùng. Đặc biệt, trong điều kiện tỉnh lại giáp biển với chiều dài 54 km, cùng 5 cửa sông chính, nên sản xuất nông nghiệp đã và đang phải chịu những tác động trực tiếp của BĐKH và NBD (như gia tăng mức độ hạn hán, ngập úng và xâm nhập mặn) [1]. Vì vậy, để có cơ sở khoa học cho việc định hướng sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp tỉnh Thái Bình, việc đánh giá thích hợp đất đai có xem xét đến các tác động của BĐKH, NBD là hết sức cần thiết.

Hiện nay, khung hướng dẫn đánh giá đất đai của FAO (1976, 2007) được vận dụng và chấp nhận là phương pháp tốt nhất để đánh giá đất đai ở Việt Nam cũng như nhiều quốc gia khác trên thế giới [2-5]. Đánh giá đất đai có thể coi là quá trình phân tích đa chỉ tiêu, yêu cầu phải xử lý và phân tích nhiều loại dữ liệu không gian với khối lượng lớn, điều mà hệ thống thông tin địa lý có khả năng xử lý dễ dàng và hiệu quả. Mặt khác, trong tiến trình đánh giá đất đai, việc xây dựng các bảng so sánh và tính toán khả năng thích hợp thường mất nhiều thời gian và dễ xảy ra sai sót. Để giải quyết

vấn đề này, phần mềm đánh giá đất đai tự động đã được Rossiter và Van Wambeke (1997) [6] phát triển dựa trên phương pháp đánh giá đất đai của FAO. ALES có thể tự động tính toán đưa ra mức độ thích hợp đất đai dựa trên phần khung là cây quyết định có sẵn và phần dữ liệu được người sử dụng đưa vào theo yêu cầu. Các mô hình đánh giá này có thể được lưu lại để phục vụ những lần cập nhật dữ liệu sau, giúp giảm thời gian và kinh phí cho người tạo lập mô hình. Kết quả đánh giá thích hợp bằng ALES không những chỉ ra các mức độ S1, S2, S3, N mà còn làm rõ các nhân tố hạn chế làm nên hạng thích hợp ở cấp đó, là căn cứ cho việc định hướng cải tạo đất khi đưa một loại hình vào sử dụng. Hạn chế chính của ALES là chỉ xử lý các dữ liệu thuộc tính, không thể biểu diễn dữ liệu không gian trên bản đồ. Như vậy, việc tích hợp GIS-ALES sẽ tận dụng được những điểm mạnh và khắc phục được những hạn chế của hai hệ thống này trong đánh giá thích hợp đất đai.

Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu đánh giá thích hợp đất đai nhằm đề xuất định hướng quy hoạch sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp ở tỉnh Thái Bình bằng mô hình tích hợp GIS-ALES.

## Cơ sở dữ liệu và phương pháp nghiên cứu

### Cơ sở dữ liệu

Các chỉ tiêu được lựa chọn để đánh giá thích hợp đất đai của tỉnh Thái Bình cho LUTs sản xuất nông nghiệp (chuyên lúa, cây màu và NTTS) gồm 4 nhóm chỉ tiêu: đất (loại đất, độ dày tầng đất, thành phần cơ giới,  $pH_{KCl}$ , hàm lượng chất hữu cơ - OM, khả năng trao đổi cation - CEC), địa hình (địa hình tương đối, độ dốc), khí hậu (lượng mưa trung bình năm, nhiệt độ trung bình năm, độ dài

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

# Land suitability assessment in climate change and sea level rise conditions in Thai Binh province with GIS-ALES integration model

Quoc Nam Hoang<sup>1\*</sup>, Thi Thuy Nguyen<sup>1</sup>, The Anh Luu<sup>2</sup>,  
Ngoc Thanh Nguyen<sup>1</sup>, Duc Thanh Nguyen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Geography, Vietnam Academy of Science and Technology

<sup>2</sup>Central Institute for Natural Resources and Environmental Studies (CRES), Vietnam National University, Hanoi

Received 7 June 2021; accepted 14 July 2021

## Abstract:

Land suitability assessment is the scientific basis for rational land use planning. This assessment process relates to natural soil conditions (soil, topography, climate, hydrology, etc.). However, these factors are being changed due to the impacts of climate change and sea level rise, especially in coastal areas (saline intrusion, inundation), which should be included in the assessment. The results of applying the integrated GIS-ALES model for land suitability assessment in climate change and sea level rise in Thai Binh province, showed that the very suitable (S1) and suitable (S2) land area for rice cultivation, aquaculture, crops, and perennial crops (mainly fruit trees) were 92,818.5 ha, 34,518.6 ha, 27,424.9 ha, and 13,104.1 ha respectively. The spatial distribution of the appropriate grades was also shown on a 1/50,000 scale map. The results of this study help to orient planning the rational use of agricultural land for Thai Binh province.

**Keywords:** ALES, climate change, GIS, land assessment.

**Classification number:** 1.5

mùa khô), thủy văn và chế độ nước (chế độ tưới, mức độ ngập úng, mức độ xâm nhập mặn).

**Dữ liệu về đặc tính và tính chất vật lý đất:** gồm độ dày tầng đất và thành phần cơ giới được chiết tách từ bản đồ đất tỉnh Thái Bình tỷ lệ 1/50.000 (Viện Quy hoạch và Thiết kế nông nghiệp, 2005). Các chỉ tiêu về tính chất hóa học đất ( $pH_{KCl}$ , OM, CEC) được tính toán từ kết quả phân tích của 91 mẫu đất tầng mặt (gồm 13 phẫu diện và 78 mẫu nông hóa lân cận) trong vùng nghiên cứu. Giá trị  $pH_{KCl}$ , OM, CEC của một khoảnh vi đất là kết quả tính giá trị trung bình của các mẫu đất trên khoảnh vi đó, kết quả này gán giá trị cho các khoảnh vi đất không có mẫu khảo sát, nhưng có một số thuộc tính tương đồng về loại đất, tầng dày, thành phần cơ giới và hiện trạng sử dụng đất.

**Dữ liệu về địa hình:** thông số về độ dốc được chiết tách từ mô hình số DEM với độ phân giải 30 m và địa hình tương đối được chiết tách từ bản đồ đất tỉnh Thái Bình tỷ lệ 1/50.000 (Viện Quy hoạch và Thiết kế nông nghiệp, 2005).

**Dữ liệu về khí hậu:** được chiết tách từ bản đồ lượng mưa, nhiệt

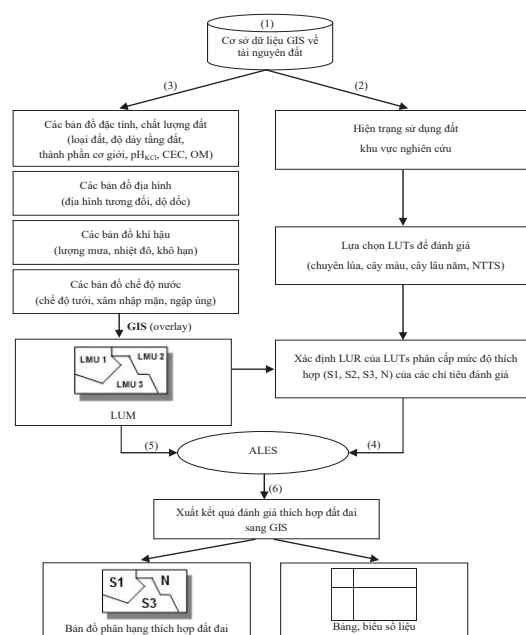
độ trung bình năm vùng Đồng bằng sông Hồng giai đoạn 1985-2015 tỷ lệ 1/100.000; bản đồ phân bố mức độ khô hạn vùng Đồng bằng sông Hồng giai đoạn 1985-2015, được thành lập bởi Phòng Địa lý khí hậu, Viện Địa lý, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam năm 2019.

**Dữ liệu về chế độ tưới và mức độ ngập lụt, xâm nhập mặn:** được xác định theo kết quả điều tra của tiêu dự án “Điều tra, đánh giá chất lượng đất, tiềm năng đất đai lần đầu vùng Đồng bằng sông Hồng” thuộc dự án “Tổng điều tra, đánh giá tài nguyên đất đai toàn quốc (hợp phần I: điều tra, đánh giá đất đai cả nước, các vùng kinh tế - xã hội)” do Trung tâm Điều tra và Quy hoạch đất đai, Tổng cục Quản lý đất đai, Bộ Tài nguyên và Môi trường thực hiện năm 2019.

Ngoài ra, nghiên cứu đã sử dụng dữ liệu hiện trạng sử dụng đất canh tác lúa, cây màu, cây lâu năm và NTTS từ bản đồ hiện trạng sử dụng đất và dữ liệu kiểm kê đất đai tỉnh Thái Bình năm 2015 tỷ lệ 1/50.000 do Bộ Tài nguyên và Môi trường công bố năm 2015.

## Phương pháp nghiên cứu

Các bước đánh giá thích hợp đất đai tuân theo TCVN 8409:2012 - Quy trình đánh giá đất sản xuất nông nghiệp do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ban hành năm 2012 [7]. Tuy nhiên, nghiên cứu giới hạn trong việc đánh giá thích hợp đất đai về mặt tự nhiên. Phần mềm GIS sử dụng trong nghiên cứu là Mapinfo 12.0 và ArcGIS 10.2, phần mềm ALES 4.65 được cài đặt và chạy ổn định trên Window 7 (32 bit). Các bước nghiên cứu được tiến hành như sau (hình 1):



**Hình 1. Mô hình tích hợp GIS-ALES trong đánh giá thích hợp đất đai tỉnh Thái Bình.**

- Bước 1: xác định mục tiêu đánh giá, thu thập cơ sở dữ liệu GIS về tài nguyên đất (bản đồ hiện trạng sử dụng đất, bản đồ đất, bản đồ lượng mưa trung bình năm, bản đồ nhiệt độ trung bình năm, bản đồ phân bố vùng hạn...).

- Bước 2: từ cơ sở dữ liệu GIS, phân tích bản đồ hiện trạng sử dụng đất để lựa chọn LUTs có triển vọng nhằm đánh giá thích hợp đất đai. Xác định yêu cầu sử dụng đất (land use requirement, LUR) của từng LUT. Lựa chọn và phân cấp mức độ thích hợp (S1, S2, S3, N) các chỉ tiêu thuộc tính đất đai (land characteristic, LC) cho đánh giá của từng LUT.

- Bước 3: từ cơ sở dữ liệu GIS, phân cấp và xây dựng các bản đồ đơn tính của từng chỉ tiêu LC cho đánh giá (bản đồ đất, tầng dày, thành phần cơ giới, địa hình tương đối...), chồng xếp các bản đồ đơn tính để xây dựng bản đồ đơn vị đất đai (land unit map, LMU).

- Bước 4: thiết lập trong ALES danh sách LUR và mô tả LC tương ứng với thuộc tính của LMU. Thiết lập LUT và LUR của LUT, xây dựng cây quyết định của từng LUR.

- Bước 5: nhập dữ liệu LMU và giá trị LC từ GIS vào ALES. ALES tự động tính toán thích hợp cho các LMU theo nguyên tắc giới hạn cao nhất.

- Bước 6: xuất kết quả đánh giá từ ALES sang GIS và thành lập bản đồ đánh giá thích hợp đất đai, tính toán diện tích các cấp thích hợp của từng LUT.

## Kết quả nghiên cứu

### LUTs có triển vọng

Phân tích dữ liệu sử dụng đất từ bản đồ hiện trạng sử dụng đất và kết quả kiểm kê đất đai của tỉnh Thái Bình năm 2015, niên giám thống kê tỉnh Thái Bình năm 2016 [8], đã lựa chọn LUTs sản xuất nông nghiệp có triển vọng phát triển đưa vào đánh giá khả năng thích hợp để đề xuất quy hoạch sử dụng đất hợp lý. Kết quả lựa chọn được LUTs sản xuất nông nghiệp là: lúa, cây màu (cây hàng năm khác), cây lâu năm và NTTS.

### Các chỉ tiêu và phân cấp xây dựng LMU

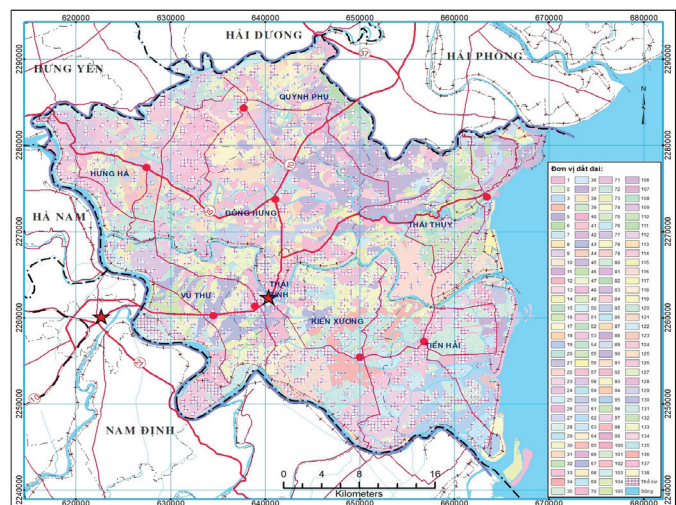
Căn cứ vào LUR của 4 LUT được chọn, các điều kiện đất đai thực tế (đất, địa hình, khí hậu, thủy văn, chế độ nước) và đặc điểm tác động của BĐKH, NBD (chế độ mưa, ngập úng, xâm nhập mặn) đến các đặc tính và chất lượng đất đai tỉnh Thái Bình trong giai đoạn năm 1985-2015, 11 chỉ tiêu thuộc 4 nhóm tiêu chí để xây dựng LMU tỉnh Thái Bình ở tỷ lệ 1/50.000 đã được lựa chọn (bảng 1). Các chỉ tiêu có giá trị đồng nhất ở mức S1 trên toàn tỉnh Thái Bình là độ dốc địa hình <3°, nhiệt độ trung bình năm >22°C và độ dài mùa khô >2 tháng không đưa vào xây dựng LMU và đánh giá.

### LMU

LMU tỉnh Thái Bình được xây dựng bằng phương pháp chồng xếp các bản đồ đơn tính của 11 chỉ tiêu đã lựa chọn. Mỗi LMU chứa đựng đầy đủ các tính chất đất đai thể hiện trong các bản đồ đơn tính và phân biệt với các đơn vị khác bởi sự khác biệt của ít nhất một chỉ tiêu. Kết quả đã tổng hợp và xác định được 138 LMU (hình 2).

**Bảng 1. Phân cấp các chỉ tiêu xây dựng LMU tỉnh Thái Bình.**

| Chỉ tiêu                                | Ký hiệu           | Phân cấp chỉ tiêu         |
|-----------------------------------------|-------------------|---------------------------|
| Các chỉ tiêu đặc tính và chất lượng đất |                   |                           |
| Loại đất                                | G                 | 1 C, Cc                   |
|                                         |                   | 2 Mm, Mn                  |
|                                         |                   | 3 M                       |
|                                         |                   | 4 Sp2, Sp2M               |
|                                         |                   | 5 Sp1Mn                   |
|                                         |                   | 6 Sp1                     |
|                                         |                   | 7 Pbe                     |
|                                         |                   | 8 Pf, Pc, Pc, P/c         |
|                                         |                   | 9 Pg                      |
| Độ dày tầng đất (cm)                    | TD                | 1 <100                    |
|                                         |                   | 2 ≥100                    |
| Thành phần cơ giới                      | TPCG              | 1 a (cát)                 |
|                                         |                   | 2 b (cát pha)             |
|                                         |                   | 3 c (thịt nhẹ)            |
|                                         |                   | 4 d (thịt trung bình)     |
| pH <sub>KCl</sub>                       | pH <sub>KCl</sub> | 1 ≥6-7                    |
|                                         |                   | 2 ≥4-6                    |
|                                         |                   | 3 <4, >7                  |
| OM (%)                                  | OM                | 1 <1 (rất thấp)           |
|                                         |                   | 2 1-2 (thấp)              |
|                                         |                   | 3 2,1-4,2 (trung bình)    |
|                                         |                   | 4 4,3-6 (cao)             |
|                                         |                   | 5 >6 (rất cao)            |
| CEC (lđl/100 g đất)                     | CEC               | 1 ≥25                     |
|                                         |                   | 2 ≥10-25                  |
|                                         |                   | 3 <10                     |
| Các chỉ tiêu địa hình                   |                   |                           |
| Địa hình tương đối                      | DHTD              | 1 Thấp, trũng             |
|                                         |                   | 2 Trung bình              |
|                                         |                   | 3 Cao, rất cao            |
| Các chỉ tiêu khí hậu                    |                   |                           |
| Lượng mưa trung bình năm (mm)           | R                 | 1 1600-1800               |
|                                         |                   | 2 1400-1600               |
| Các chỉ tiêu về chế độ nước             |                   |                           |
| Chế độ tưới                             | I                 | 1 Không tưới              |
|                                         |                   | 2 Có tưới                 |
| Mức độ xâm nhập mặn (tháng/năm)         | SA                | 1 Không xâm nhập mặn (<1) |
|                                         |                   | 2 Xâm nhập mặn ít (≥1-3)  |
| Mức độ ngập úng (ngày/năm)              | F                 | 1 Không ngập (<5)         |
|                                         |                   | 2 Ngập nhẹ (≥5-30)        |



**Hình 2. LMU tỉnh Thái Bình.**

## LUR của các LUT

Tổng hợp LUR theo 4 mức độ thích hợp: S1, S2, S3 (ít thích hợp) và N (không thích hợp), cho 4 LUT sản xuất nông nghiệp được lựa chọn của tỉnh Thái Bình được thể hiện ở bảng 2. Các chỉ tiêu này đều được lựa chọn, phân cấp trên cơ sở điều kiện tự nhiên của tỉnh và tham chiếu với các giá trị về yêu cầu sinh thái của các loại cây trồng ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới theo tài liệu của Sys và cs (1993) [9].

**Bảng 2. Phân cấp LUR của các LUT.**

| LUTs        | Chỉ tiêu                      | Mức độ thích hợp/hạn chế |               |                                        |            |
|-------------|-------------------------------|--------------------------|---------------|----------------------------------------|------------|
|             |                               | S1                       | S2            | S3                                     | N          |
| Lúa         | Loại đất                      | Pf, Pe, Pc, P/c, Pg      | M, Sp2, Sp2M  | Pbe, Sp1                               | Đất khác   |
|             | Độ dày tầng đất               | ≥100                     | <100          | -                                      | -          |
|             | Thành phần cơ giới            | d                        | c             | b                                      | a          |
|             | pH <sub>KCl</sub>             | ≥4-7                     | >7,0; <4,0    | -                                      | -          |
|             | OM                            | ≥2                       | 1-2           | <1                                     | -          |
|             | CEC                           | ≥25                      | 10-25         | <10                                    | -          |
|             | Địa hình tương đối            | Trung bình               | Thấp, trung   | Cao, rất cao                           | -          |
|             | Chế độ tưới                   | Có tưới                  | -             | -                                      | Không tưới |
|             | Mức độ xâm nhập mặn           | <1                       | -             | ≥1-3                                   | -          |
|             | Mức độ ngập úng               | <5                       | ≥5-30         | -                                      | -          |
| Cây màu     | Loại đất                      | Pf, Pe, Pc, P/c, Pbe     | -             | Pg, M, Sp2, Sp2M, C, Cc                | Đất khác   |
|             | Độ dày tầng đất               | ≥100                     | <100          | -                                      | -          |
|             | Thành phần cơ giới            | c, d                     | b             | a                                      | -          |
|             | pH <sub>KCl</sub>             | ≥4-7                     | >7,0; <4,0    | -                                      | -          |
|             | OM                            | ≥2                       | ≥1-2          | <1                                     | -          |
|             | CEC                           | ≥25                      | ≥10-25        | <10                                    | -          |
|             | Địa hình tương đối            | Trung bình               | Cao, rất cao  | Thấp, trung                            | -          |
|             | Lượng mưa trung bình năm (mm) | ≤2000                    | -             | ≥2000                                  | -          |
|             | Chế độ tưới                   | Có tưới                  | -             | -                                      | Không tưới |
|             | Mức độ xâm nhập mặn           | <1                       | -             | ≥1-3                                   | -          |
| Cây lâu năm | Loại đất                      | Pf, Pe, Pc, P/c          | Pbe           | Pg, M, Sp2, Sp2M                       | Đất khác   |
|             | Độ dày tầng đất               | ≥100                     | <100          | -                                      | -          |
|             | Thành phần cơ giới            | d                        | c             | b                                      | a          |
|             | pH <sub>KCl</sub>             | ≥4-7                     | >7,0; <4,0    | -                                      | -          |
|             | OM                            | ≥2                       | ≥1-2          | <1                                     | -          |
|             | CEC                           | ≥25                      | ≥10-25        | <10                                    | -          |
|             | Địa hình tương đối            | Cao, rất cao             | Trung bình    | Thấp, trung                            | -          |
|             | Lượng mưa trung bình năm (mm) | >1200                    | 1000-1200     | -                                      | -          |
|             | Chế độ tưới                   | Có tưới                  | -             | Không tưới                             | -          |
|             | Mức độ xâm nhập mặn           | <1                       | -             | ≥1-3                                   | -          |
| NTTS        | Loại đất                      | M, Mn, Mm                | Sp2, Sp2M, Pg | Pf, Pe, Pc, P/c Pbe, C, Cc, Sp1, Sp1Mn | Đất khác   |
|             | Thành phần cơ giới            | c, d                     | b             | a                                      | -          |
|             | pH <sub>KCl</sub>             | ≥6-7                     | ≥4-6          | >7,0; <4,0                             | -          |
|             | Địa hình tương đối            | Thấp, trung              | Trung bình    | Cao, rất cao                           | -          |
|             | Chế độ tưới                   | Có tưới                  | -             | Không tưới                             | -          |
|             | Mức độ xâm nhập mặn           | ≥1-3                     | <1            | -                                      | -          |
|             | Mức độ ngập úng               | ≥5-30                    | <5            | -                                      | -          |

## Kết quả đánh giá thích hợp đất đai

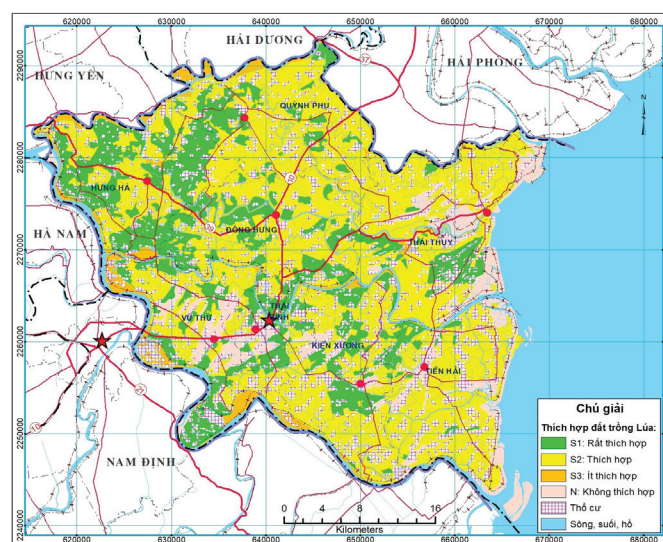
Kết quả đánh giá thích hợp đất đai cho 4 LUT sản xuất nông nghiệp ở bảng 3 cho thấy:

**Đất trồng lúa:** cấp S1 và S2 có diện tích 92.818,5 ha, chiếm 84,89% diện tích đất nông nghiệp của tỉnh. Cấp S3 và N chỉ chiếm

15,11% (16.522,5 ha), chủ yếu phân bố ở các vùng đất cát biển các huyện Vũ Thư, Kiến Xương, Tiền Hải, Thái Thụy và các vùng đất mặn nhiều, đất mặn sú, vẹt, đước, đất phèn tiềm tàng nông dưới rừng ngập mặn ven biển các huyện Tiền Hải, Thái Thụy. Các yếu tố giới hạn ở những vùng đất này chủ yếu là thành phần cơ giới nhẹ từ cát pha (b) đến cát (a), thời gian xâm nhập mặn dài (1-3 tháng/năm), không có điều kiện tưới và mức độ mặn, phèn của loại đất. Phân bố không gian của các cấp thích hợp thể hiện ở hình 3.

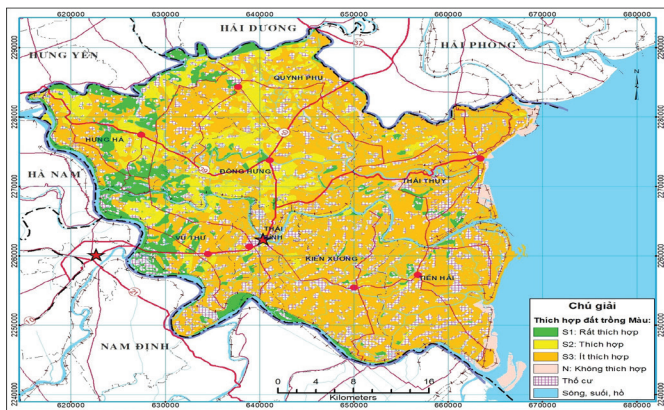
**Bảng 3. Kết quả phân hạng thích hợp đất đai cho LUTs.**

| Mức độ thích nghi                   | Lúa (ha)  | Tỷ lệ (%) | Cây màu (ha) | Tỷ lệ (%) | Cây lâu năm (ha) | Tỷ lệ (%) | NTTS (ha) | Tỷ lệ (%) |
|-------------------------------------|-----------|-----------|--------------|-----------|------------------|-----------|-----------|-----------|
| S1                                  | 25.376,0  | 23,21     | 11.511,3     | 10,53     | 7.075,3          | 6,47      | 10,0      | 0,01      |
| S2                                  | 67.442,5  | 61,68     | 15.913,6     | 14,55     | 6.028,8          | 5,51      | 34.508,6  | 31,56     |
| S3                                  | 5.305,0   | 4,85      | 79.023,1     | 72,27     | 87.164,2         | 79,72     | 74.822,4  | 68,43     |
| N                                   | 11.217,5  | 10,26     | 2.893,0      | 2,65      | 9.072,7          | 8,30      | -         | -         |
| Tổng diện tích đất nông nghiệp (ha) | 109.341,0 | 100,00    | 109.341,0    | 100,00    | 109.341,0        | 100,00    | 109.341,0 | 100,00    |

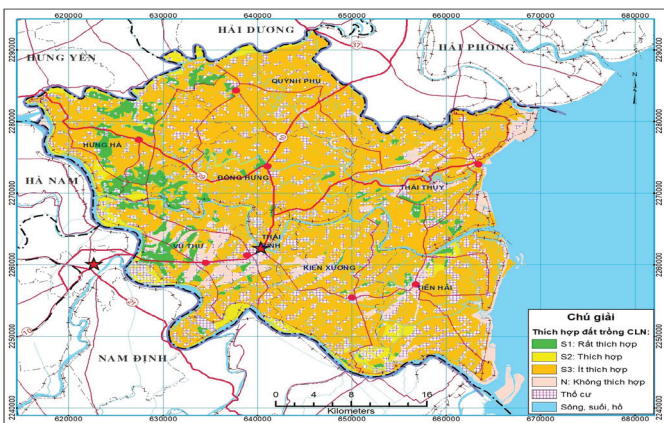


**Hình 3. Bản đồ phân hạng thích hợp đất đai cho cây lúa nước.**

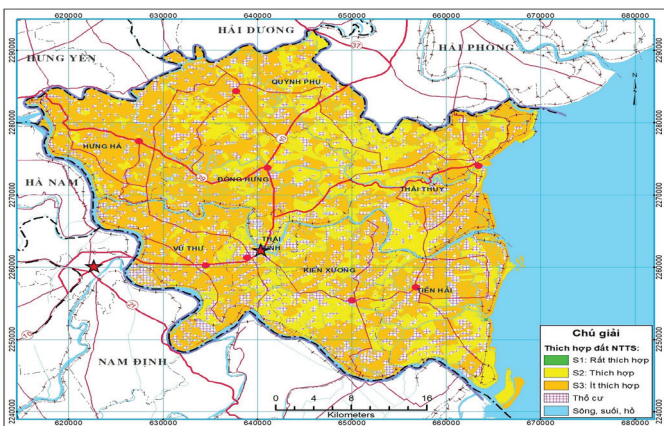
**Đất trồng màu:** cấp S1 và S2 có diện tích nhỏ (27.424,9 ha, chiếm 25,08% diện tích đất nông nghiệp), tập trung ở các huyện Hưng Hà, Vũ Thư, Đông Hưng, Quỳnh Phụ. Có thể thấy rằng, trên thực tế diện tích đất trồng các loại cây màu của tỉnh còn khá nhỏ so với tiềm năng đất đai tự nhiên. Cấp S3 có diện tích lớn nhất (79.023,1 ha, chiếm 72,27%), tập trung chủ yếu ở các huyện Kiến Xương, Tiền Hải, Thái Thụy do điều kiện giới hạn về thành phần cơ giới nhẹ (cát), địa hình thấp, trung, thời gian ngập úng (5-30 ngày) và xâm nhập mặn dài (1-3 tháng) cũng như đặc tính loại đất. Cấp N có diện tích rất nhỏ (2.893,0 ha, chiếm 2,65%), là những vùng đất mặn nhiều, đất mặn sú, vẹt, đước, đất phèn tiềm tàng nông ven biển các huyện Thái Thụy và Tiền Hải. Phân bố không gian của các cấp thích hợp thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Bản đồ phân hạng thích hợp đất đai cho cây màu.



Hình 5. Bản đồ phân hạng thích hợp đất đai cho cây lâu năm.



Hình 6. Bản đồ phân hạng thích hợp đất đai cho NTTS.

**Đất trồng cây lâu năm:** cấp S1 và S2 có diện tích nhỏ (13.104,1 ha, chiếm 11,98% diện tích đất nông nghiệp), chủ yếu ở các huyện Hưng Hà, Đông Hưng, Vũ Thư. Cấp S3 có diện tích lớn nhất (87.164,2 ha, chiếm 79,72%), các yếu tố giới hạn ở những vùng đất này chủ yếu là thành phần cơ giới nhẹ (cát pha), địa hình thấp, trũng, thời gian xâm nhập mặn dài (1-3 tháng), không có điều kiện tưới. Cấp N có diện tích nhỏ nhất (9.072,7 ha, chiếm 8,30%), gồm những vùng đất cát biển và đất mặn nhiều, đất mặn sú, vẹt, đước, đất phèn tiềm tàng nông ở các huyện Vũ Thư, Kiến Xương, Tiền Hải, Thái Thụy. Phân bố không gian của các cấp đất thích hợp thể hiện ở hình 5.

**Đất NTTS:** cấp S1 và S2 chiếm 31,57% diện tích đất nông nghiệp (34.518,6 ha), tập trung ở các huyện Thái Thụy, Tiền Hải, Kiến Xương, Đông Hưng, Quỳnh Phụ. Diện tích đất nông nghiệp còn lại 78.822,4 ha (tương ứng 68,43%) được đánh giá ở cấp S3 do các điều kiện giới hạn về thành phần cơ giới nhẹ (cát), địa hình tương đối cao, không có điều kiện tưới... (hình 6).

#### Đề xuất sử dụng đất

Tổng hợp, phân tích kết quả đánh giá, phân hạng đất đai với hiện trạng sử dụng đất tỉnh Thái Bình năm 2015 và tham khảo kế hoạch chuyển đổi cơ cấu cây trồng trên đất lúa năm 2020 và giai đoạn 2021-2025 của UBND tỉnh Thái Bình [10], đã đề xuất định hướng quy hoạch sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp của tỉnh trong điều kiện BĐKH, NBD theo các LMU (bảng 4, 5 và hình 7).

**Bảng 4. Điều chuyển LUTs cho định hướng quy hoạch sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp trong điều kiện BĐKH, NBD của tỉnh Thái Bình.**

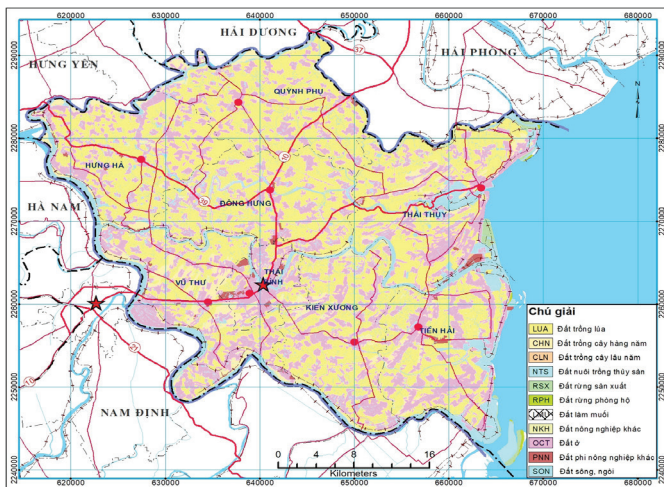
| LUTs            | Hiện trạng (ha) | Điều chuyển giữa LUTs |         |         |          |         |     | Cộng giảm** (ha) | Biến động (*,**) (ha) | Đề xuất (ha) |
|-----------------|-----------------|-----------------------|---------|---------|----------|---------|-----|------------------|-----------------------|--------------|
|                 |                 | LUA                   | HNK     | CLN     | NTTS     | RSX     | RPH |                  |                       |              |
| LUA             | 79.736,0        | 62.653,5              | 8.264,3 | 2.066,6 | 5.751,6  |         |     | 16.082,5         | -15.270,6             | 64.465,4     |
| HNK             | 6.331,0         | 659,7                 | 5.509,1 | 110,6   | 51,7     |         |     | 822,0            | 7.588,1               | 13.919,1     |
| CLN             | 7.885,0         |                       |         | 7.885,0 |          |         |     | 0,0              | 2.177,2               | 10.062,2     |
| NTTS            | 12.985,0        |                       |         |         | 10.387,8 | 2.597,2 |     | 2.597,2          | 3.409,2               | 16.394,2     |
| RSX             | -               |                       |         |         |          | -       |     | 0,0              | 2.597,3               | 2.597,3      |
| RPH             | 885,0           |                       |         |         |          |         | 885 | 0,0              | 0,0                   | 885,0        |
| CSD             | 501,0           | 152,2                 | 145,8   |         | 203,1    |         | -   | 501,0            | -501,0                | -            |
| Cộng tăng* (ha) |                 | 811,9                 | 8.410,1 | 2.177,2 | 6.006,4  | 2.597,3 | -   |                  |                       |              |

Ghi chú: LUA: đất trồng lúa nước; HNK: đất trồng cây hàng năm khác (cây màu); CLN: đất trồng cây lâu năm; RSX: đất rừng sản xuất; RPH: đất rừng phòng hộ; CSD: đất chưa sử dụng.

**Bảng 5. Kết quả định hướng quy hoạch sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp trong điều kiện BĐKH và NBD của tỉnh Thái Bình.**

| TT             | LUT                         | Hiện trạng năm 2015 |           | Đề xuất        |           | Tăng/giảm (ha) |
|----------------|-----------------------------|---------------------|-----------|----------------|-----------|----------------|
|                |                             | Diện tích (ha)      | Tỷ lệ (%) | Diện tích (ha) | Tỷ lệ (%) |                |
| 1              | Đất nông nghiệp             | 108.840,0           | 68,61     | 109.341,1      | 68,93     | 501,1          |
| 1.1            | Đất sản xuất nông nghiệp    | 93.952,0            | 59,23     | 88.446,7       | 55,76     | -5.505,3       |
| 1.1.1          | Đất trồng lúa               | 79.736,0            | 50,27     | 64.465,4       | 40,64     | -15.270,6      |
| 1.1.2          | Đất trồng cây hàng năm khác | 6.331,0             | 3,99      | 13.919,1       | 8,77      | 7.588,1        |
| 1.1.3          | Đất trồng cây lâu năm       | 7.885,0             | 4,97      | 10.062,2       | 6,34      | 2.177,2        |
| 1.2            | Đất lâm nghiệp              | 885,0               | 0,56      | 3.482,3        | 2,20      | 2.597,3        |
| 1.2.1          | Đất rừng sản xuất           | -                   | 0,00      | 2.597,3        | 1,64      | 2.597,3        |
| 1.2.2          | Đất rừng phòng hộ           | 885,0               | 0,56      | 885,0          | 0,56      | -              |
| 1.2.3          | Đất rừng đặc dụng           | -                   | 0,00      | -              | 0,00      | -              |
| 1.3            | Đất NTTS                    | 12.985,0            | 8,19      | 16.394,1       | 10,33     | 3.409,1        |
| 1.4            | Đất làm muối                | 50,0                | 0,03      | 50,0           | 0,03      | -              |
| 1.5            | Đất nông nghiệp khác        | 968,0               | 0,61      | 968,0          | 0,61      | -              |
| 2              | Đất phi nông nghiệp         | 49.290,0            | 31,07     | 49.290,0       | 31,07     | -              |
| 3              | Đất chưa sử dụng            | 501,0               | 0,32      | -              | 0,00      | -501,0         |
| Tổng DTTN (ha) |                             | 158.631,0           | 100,00    | 158.631,0      | 100,00    | 0              |

DTTN: diện tích tự nhiên.



**Hình 7. Bản đồ đề xuất định hướng sử dụng đất sản xuất nông nghiệp tỉnh Thái Bình trong điều kiện BĐKH và NBD.**

**Đất trồng lúa:** đề xuất giảm 15.270,6 ha, còn 64.465,4 ha (chiếm 40,64% DTTN). Trong đó, giữ nguyên diện tích đất đang trồng lúa trên các LMU có hạng thích hợp (S1, S2). Điều chuyển giảm 16.082,5 ha đất đang trồng lúa trên các LMU có hạng S3 hoặc N sang các loại sử dụng khác, trong đó căn cứ vào mức độ thích hợp đất đai cho LUTs, cụ thể chuyển 8.264,3 ha sang trồng cây màu, 2.066,6 ha sang trồng cây lâu năm và 5.751,6 ha sang NTTS. Đồng thời, điều chuyển tăng thêm 811,9 ha đất thích hợp (S2) cho trồng lúa từ các LMU đang trồng cây màu ở cấp ít thích hợp (S3) là 659,7 ha và đất chưa sử dụng là 152,2 ha.

**Đất trồng màu:** đề xuất tăng thêm 7.588,1 ha lên 13.919,1 (chiếm 8,77% DTTN). Trong đó, giữ nguyên diện tích đất đang trồng cây màu trên các LMU có hạng S1, S2 và những LMU hạng S3 (do có thành phần cơ giới nhẹ) nhưng chủ động nước tưới là 5.509,1 ha. Điều chuyển giảm 822,0 ha đất đang trồng cây màu trên các LMU có hạng S3 hoặc N sang các loại sử dụng khác, trong đó căn cứ vào mức độ thích hợp đất đai cho LUTs, cụ thể chuyển 659,7 ha sang trồng lúa, 110,6 ha sang trồng cây lâu năm, 51,7 ha sang NTTS. Đồng thời, điều chuyển tăng thêm 8.410,1 ha đất thích hợp (S1, S2) cho trồng cây màu từ các LMU đang trồng lúa ở cấp S3 và đất chưa sử dụng.

**Đất trồng cây lâu năm:** đề xuất tăng thêm 2.177,2 ha lên 10.062,2 ha (chiếm 6,34% DTTN). Trong đó, giữ nguyên diện tích đất đang trồng cây lâu năm trên các LMU có hạng S1, S2 hoặc S3 (do có thành phần cơ giới nhẹ) nhưng có nguồn nước tưới thuận lợi là 7.885 ha. Điều chuyển tăng thêm 2.177,2 ha đất thích hợp cho trồng cây lâu năm từ các LMU đang trồng lúa, cây màu ở cấp S3 và đất chưa sử dụng.

**Đất NTTS:** đề xuất tăng thêm 3.409,1 ha lên 16.394,1 ha (chiếm 10,33% DTTN). Trong đó, giữ nguyên diện tích đất đang NTTS trên các LMU có hạng S1, S2 là 10.387,8 ha. Điều chuyển giảm 2.597,3 ha đất đang NTTS ở các LMU có hạng S3 ở ven biển sang trồng rừng sản xuất. Điều chuyển tăng thêm 6.006,4 ha đất thích hợp cho NTTS từ các LMU đang trồng lúa và cây màu ở cấp S3, N và đất chưa sử dụng.

## Kết luận và kiến nghị

Kết quả đánh giá thích hợp đất đai cho LUTs sản xuất nông nghiệp bằng mô hình tích hợp GIS-ALES trong điều kiện BĐKH và NBD hiện tại cho thấy, Thái Bình hiện vẫn có điều kiện đất đai thuận lợi để chuyên canh lúa, với diện tích đất hạng S1 và S2 cho trồng lúa là 92.818,5 ha, chiếm đến 84,89% diện tích đất nông nghiệp. Tỉnh hiện cũng có tiềm năng đất đai lớn để phát triển NTTS với 34.518,6 ha, chiếm 31,57% diện tích đất nông nghiệp, không chỉ ở vùng ven biển mà còn cả trong vùng nội đồng. Bên cạnh đó, tỉnh cũng có một diện tích không nhỏ S1 và S2 cho các loại hình canh tác cây màu (27.424,9 ha, chiếm 25,08% diện tích đất nông nghiệp) và cho cây lâu năm (chủ yếu là cây ăn quả, 13.104,1 ha, chiếm 11,98% diện tích đất nông nghiệp).

Kết quả đánh giá này cung cấp cơ sở khoa học để đề xuất định hướng quy hoạch sử dụng hợp lý đất sản xuất nông nghiệp của tỉnh Thái Bình đến năm 2025, theo đó đề xuất diện tích đất trồng lúa là 64.465,4 ha, giảm 15.270,6 ha do được chuyển sang NTTS, cây màu và cây lâu năm. Trong đó, đất NTTS là 16.394,1 ha, tăng 3.409,1 ha; đất trồng cây màu là 13.919,1 ha, tăng 7.588,1 ha; đất trồng cây lâu năm là 10.062,2 ha, tăng 2.177,2 ha.

Mô hình tích hợp GIS-ALES có thể áp dụng để đánh giá đất đai thích ứng với các kịch bản BĐKH và NBD cho tỉnh Thái Bình ở các giai đoạn tiếp theo, với dữ liệu đầu vào được cập nhật tương ứng.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu sử dụng một phần kết quả của đề tài độc lập cấp quốc gia “Nghiên cứu, đánh giá tác động của BĐKH đến tài nguyên đất vùng Đồng bằng sông Hồng và đề xuất các giải pháp chủ động ứng phó” (mã số ĐTĐLCN.48/15) và đề tài cho cán bộ trẻ cấp Viện Địa lý, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lưu Thế Anh (2017), Báo cáo Nghiên cứu phân vùng chức năng sinh thái làm cơ sở phục vụ phát triển bền vững kinh tế - xã hội và chủ động thích ứng với BĐKH tỉnh Thái Bình (mã số VAST.NDP.02/15-16).
- [2] FAO (1976), *A Framework for Land Evaluation*, FAO Soils Bulletin 32.
- [3] FAO (2007), *Land Evaluation: Towards a Revised Framework*, FAO Land and Water Discussion paper no.6, 124pp.
- [4] L.T. Bạt, V.N. Dũng, B.T.N. Dung, Đ.Đ. Đài, P.Q. Khánh, Đ.Đ. Sâm, L.H. Cừ, P.V. Tự (2015), *Sổ tay điều tra, phân loại, lập bản đồ đất và đánh giá đất đai*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, 115tr.
- [5] Nguyễn Thị Thủy (2020), *Nghiên cứu cơ sở địa lý học trong khai thác sử dụng đất đai phục vụ quy hoạch bền vững TP Đà Lạt và vùng phụ cận, tỉnh Lâm Đồng*, Luận án tiến sĩ địa lý, Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.
- [6] D.G. Rossiter, A.R. Van Wambeke (1997), *Automated Land Evaluation System: Version 4.65 User's Manual*. Cornell University, USA.
- [7] Bộ Khoa học và Công nghệ (2012), *TCVN 8409:2012 - Quy trình đánh giá đất sản xuất nông nghiệp*.
- [8] Cục Thống kê Thái Bình (2016), *Niên giám thống kê tỉnh Thái Bình năm 2016*.
- [9] C. Sys, E. Van Ranst, J. Debaveye, F. Beernaert (1993), *Land Evaluation Part 3 Crop Requirements*, Agricultural Publications, Brussels, Belgium, 191pp.
- [10] UBND tỉnh Thái Bình (2020), *Kế hoạch chuyển đổi cơ cấu cây trồng trên đất trồng lúa năm 2020 và giai đoạn 2021-2025*.

# Nghiên cứu thực nghiệm tinh chế tinh dầu hồi trên tháp chưng luyện chân không gián đoạn

Nguyễn Thị Thảo, Đỗ Xuân Trường\*

*Viện Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội*

Ngày nhận bài 1/6/2021; ngày chuyển phản biện 4/6/2021; ngày nhận phản biện 2/7/2021; ngày chấp nhận đăng 6/7/2021

## Tóm tắt:

Việt Nam là một trong những nước có sản lượng hồi thu hoạch hàng năm lớn nhất thế giới. Tuy nhiên, các sản phẩm từ hồi của chúng ta hiện nay chủ yếu ở dạng quả hồi sấy khô và tinh dầu thô có giá trị kinh tế thấp. Thành phần chính của tinh dầu hồi thô là trans-anethole cần được tinh chế để sản xuất các sản phẩm có giá trị cao hơn. Nghiên cứu này tập trung vào xây dựng hệ thống thực nghiệm để tinh chế tinh dầu hồi bằng tháp chưng luyện gián đoạn loại đệm làm việc ở áp suất chân không. Các sản phẩm thu được trong quá trình tinh chế được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS). Kết quả phân tích được dùng để đánh giá khả năng tách các tạp chất dễ bay hơi trong hỗn hợp tinh dầu hồi thô. Nghiên cứu chỉ ra rằng, nhiệt độ đáy tháp dưới 150°C tương ứng với áp suất chân không dưới 0,1 bar có thể giảm phân hủy nhiệt của tinh dầu. Các cấu tử dễ bay hơi hơn anethole như  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -phellandrene, limonene, linalool được tách triệt để trên đỉnh tháp. Sản phẩm tinh dầu hồi tinh chế thu được tại đáy tháp và đạt hàm lượng anethole trên 88% khối lượng (wt.%). Hiệu suất thu hồi tinh dầu là 98,5 và 88,8% tại áp suất đỉnh tương ứng 0,1 và 0,08 bar. Sản phẩm đáy có thể có thành phần anethole cao hơn nếu tăng chiều cao tháp, tăng chỉ số hồi lưu, giảm áp suất, và tăng lượng tạp lấy ra tại đỉnh tháp. Các kết quả nghiên cứu thực nghiệm là rất hữu ích cho tính toán, thiết kế, chế tạo và vận hành hệ thống tinh chế tinh dầu hồi quy mô công nghiệp.

**Từ khóa:** anethole, chưng luyện gián đoạn, tháp đệm, tinh dầu hồi.

**Chỉ số phân loại:** 2.4

## **Đặt vấn đề**

Tổng diện tích trồng hồi của Việt Nam là gần 50.000 ha, trong đó, đại hồi (*Illicium verum*) là loài cây xanh quanh năm, được trồng chủ yếu ở các tỉnh phía Bắc như Lạng Sơn, Cao Bằng, Quảng Ninh. Tinh dầu hồi chiết xuất đạt 3,0-3,5 wt.% đối với quả hồi tươi và đạt 8-13 wt.% đối với quả hồi khô [1]. Thành phần chính của tinh dầu hồi thô ở Việt Nam là trans-anethole (86,06 wt.%), ngoài ra còn có methyl chavicol (6,65 wt.%), linalool (2,34 wt.%) và một số hợp chất khác với hàm lượng rất nhỏ. Nhưng trên thực tế, tinh dầu thô trên thị trường nước ta hiện nay có hàm lượng anethole chỉ khoảng 82-84 (wt.%), do đặc trưng hồi của từng vùng và công nghệ chưng cất tinh dầu chưa đạt hiệu quả cao, cũng như chưa có công nghệ tinh chế hoàn chỉnh.

Tinh dầu hồi tinh chế (hàm lượng anethole >95 wt.%) là hương liệu quan trọng trong sản xuất rượu thơm Anise. Ngoài ra, tinh dầu hồi còn được dùng làm hương liệu cao cấp, là thành phần quan trọng để sản xuất nước hoa và các hoá mỹ phẩm khác [2, 3]. Tinh dầu hồi thô cần phải được tinh chế nâng cao nồng độ của anethole để có thể đáp ứng yêu cầu khắt khe trong các ngành công nghiệp dược phẩm, hương liệu và mỹ phẩm.

Phương pháp phổ biến nhất để tinh chế tinh dầu hồi là phương pháp chưng luyện ở áp suất chân không. Phương pháp này có thể tách được các cấu tử có nhiệt độ sôi thấp hơn anethole ra khỏi hỗn hợp ban đầu. Với năng suất tinh chế thấp, phương pháp chưng luyện gián đoạn được ưu tiên sử dụng. Tháp đệm có ưu điểm là

số đĩa lý thuyết trên 1 đơn vị chiều cao lớn, trở lực nhỏ, do vậy sẽ giảm được chiều cao tháp và nhiệt độ sôi của hỗn hợp ở đáy tháp. Hỗn hợp tinh dầu hồi có nhiệt độ sôi khoảng 234°C tại áp suất khí quyển và khoảng 110°C tại 0,1 bar. Do vậy, vận hành tháp ở áp suất chân không sẽ làm giảm nhiệt độ sôi của hỗn hợp, giảm lượng nhiệt cấp vào đáy tháp, đồng thời tránh phản ứng phân hủy bởi nhiệt của tinh dầu.

Đến nay, trên thế giới có một số nghiên cứu về tách tinh dầu hồi bằng phương pháp chưng cuốn theo hơi nước, trích ly siêu tới hạn hoặc trích ly với sự hỗ trợ của sóng siêu âm [4-7]. Chiết xuất bằng CO<sub>2</sub> lỏng thu được lượng tinh dầu nhiều hơn 9,8% so với chưng cất bằng hơi nước. Hàm lượng anethole trong tinh dầu thu được bằng hai phương pháp trên khác nhau không đáng kể và nằm trong khoảng 89-92 wt.% [7]. Đã có một số nghiên cứu về việc tinh chế tinh dầu quýt xanh, sả chanh và cam bằng chưng cất chân không [8-10].

Tóm lại, đã có những nghiên cứu về tách tinh dầu ra khỏi quả hồi bằng phương pháp chưng lôi cuốn theo hơi nước, trích ly siêu tới hạn hay có sự hỗ trợ của sóng siêu âm; nghiên cứu thực nghiệm tinh chế tinh dầu cam, quýt xanh, hay tinh dầu sả chanh. Tuy nhiên, chưa có công bố nào liên quan đến quá trình tinh chế tinh dầu hồi để nâng cao nồng độ anethole. Vì vậy, nhóm tác giả thực hiện nghiên cứu này nhằm cung cấp các thông tin cần thiết cho quá trình tinh chế tinh dầu hồi đạt hiệu quả cao nhất. Nội dung của nghiên cứu này bao gồm: (1) Xây dựng hệ thống thực nghiệm chưng chân không gián đoạn loại đệm; (2) Thực nghiệm tinh chế

\*Tác giả liên hệ: Email: truong.doxuan@hust.edu.vn

# Experimental study on essential anise star oil purification in vacuum batch distillation

Thi Thao Nguyen, Xuan Truong Do\*

School of Chemical Engineering,  
Hanoi University of Science and Technology

Received 1 June 2021; accepted 6 July 2021

## Abstract:

Vietnam is one of the world's largest annual anise harvest countries. However, products from anise are mainly in the form of dried anise fruit and crude star anise essential oil with low economic value. The main component of the star anise essential oil is trans-anethole which needs to be purified to produce higher-value products. This study focused on building an experimental system for purifying star anise essential oil by a batch distillation column working at vacuum pressure. The products obtained during the purification process were analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Analytical results were used to evaluate the ability to separate volatile impurities in the crude star anise essential oil. Results showed that the bottom temperature of the tower below 150°C, corresponding to a vacuum pressure of less than 0.1 bar, can reduce the thermal decomposition of essential oils. The volatile components, such as  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -phellandrene, limonene, and linalool, were thoroughly separated at the top of the tower. The purified star anise essential oil was from the bottom of the distillation and had the anethole composition of over 88% of mass fraction (wt.%). Anethole recovery efficiency was 98.5 and 88.8% at a pressure of 0.1 and 0.08 bar, respectively. The bottom product can have a higher anethole composition if increasing the column height, the reflux ratio, and decreasing the pressure and the quality of impurities removed at the top is increased. The experimental results are helpful for the calculation, design, manufacture, and operation of an industrial-scale essential oil purification system.

**Keywords:** anethole, batch distillation, packed column, star anise essential oil.

**Classification number:** 2.4

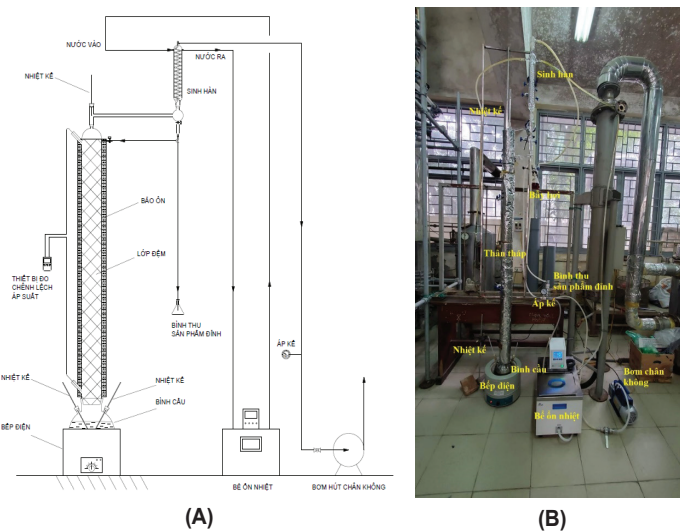
tinh dầu hồi trên tháp chưng chân không gián đoạn loại đậm; (3) Đánh giá thành phần sản phẩm đỉnh và đáy thông qua phương pháp phân tích GC-MS.

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp thực nghiệm và vận hành tháp chưng luyện gián đoạn**

Chưng luyện gián đoạn được sử dụng phổ biến với các hệ có năng suất vừa và nhỏ hoặc để tách hệ nhiều cấu tử khi chỉ cần dùng một tháp. Đây là kỹ thuật tách đã có từ lâu, được sử dụng rộng rãi để phân tách, tinh chế, loại bỏ tạp chất trong công nghiệp hóa chất, thực phẩm và dược phẩm [11]. Ưu điểm chính của phương pháp chưng luyện gián đoạn so với phương pháp chưng luyện liên tục là ở sự đơn giản và đa năng của hệ thống chưng luyện, chỉ với một thiết bị có thể tách thành nhiều hỗn hợp lỏng khác nhau. Thậm chí, ngay cả hỗn hợp nhiều cấu tử cũng có thể tách được bằng chưng luyện gián đoạn chỉ trong một tháp bằng cách lấy sản phẩm ra ở các thời điểm khác nhau. Nhược điểm của phương pháp chưng luyện gián đoạn chính là hỗn hợp lỏng có thời gian lưu tại nhiệt độ cao lâu. Do đó làm tăng khả năng phân hủy nhiệt và suy giảm chất lượng sản phẩm. Ngoài ra, năng lượng tiêu tốn nói chung sẽ lớn hơn và năng suất thấp hơn so với phương pháp chưng luyện liên tục.

Nghiên cứu thực nghiệm tinh chế tinh dầu hồi được thực hiện trên hệ thống tháp chưng luyện gián đoạn chân không loại đậm đặt tại phòng 106, toà nhà C4, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.



**Hình 1. Sơ đồ hệ thống thiết bị chưng luyện gián đoạn chân không loại đậm. (A) Sơ đồ nguyên lý; (B) Hình ảnh hệ thống thí nghiệm.**

Hệ thống thiết bị chưng luyện chân không gián đoạn loại đậm được mô tả trong hình 1. Hệ thống bao gồm bình chưng thủy tinh 3 cổ dung tích 3 l, trên 2 cổ bé của bình được nút chặt và có cảm nhiệt kế thủy ngân có dải đo 0-300°C đo nhiệt độ tinh dầu trong bình chưng, cổ nhám to còn lại được nối với thân tháp. Thân tháp gồm 1 ống thủy tinh có chiều dài 1000 mm và đường kính 35 mm.

Bên trong thân tháp có chứa đệm kim loại vòng Raschig kích thước  $10 \times 10 \times 0,5$  mm được đồ lộn xộn. Đệm bên trong tháp được đỡ bởi lưới đỡ đệm có tác dụng phân bố lại đệm và phân bố hơi đi lên đoạn luyện. Phía trên đoạn luyện được cắm một nhiệt kế thủy ngân có dải đo  $0-300^\circ\text{C}$  để đo nhiệt độ hơi lên trên đỉnh. Hơi lên đỉnh tháp được ngưng tụ bởi hệ thống sinh hàn 3 lớp với nước lạnh được bơm từ bể ổn nhiệt. Bơm hút chân không được kết nối với đỉnh tháp. Áp suất chân không được đo bằng đồng hồ đo áp suất. Chênh lệch áp suất giữa đỉnh và đáy tháp được đo bằng thiết bị đo chênh lệch áp suất. Đối với hệ thống thí nghiệm trên, chênh lệch áp không đáng kể và hầu như không đổi. Giá trị đo chênh lệch áp suất giữa đỉnh và đáy tháp là 30 Pa. Các thông số của thiết bị chính trong hệ thống thực nghiệm được liệt kê ở bảng 1.

Ban đầu, 0,5 kg hỗn hợp tinh dầu hồi thô được rót vào bình chưng. Tiếp đó, bếp điện được bật để gia nhiệt cho hỗn hợp tinh dầu trong bình chưng. Điều chỉnh bếp điện gia nhiệt từ từ cho tới khi tinh dầu sôi đều. Trong quá trình thí nghiệm, tránh cấp nhiệt lượng quá lớn vì có thể dẫn đến quá nhiệt và mất ổn định của hệ thống. Khi tinh dầu trong đáy tháp sôi, hơi đi lên thực hiện quá trình phân tách. Hơi tiếp tục lên đỉnh tháp và được ngưng tụ hoàn toàn bằng nước lạnh trong sinh hàn 3 lớp. Hỗn hợp lỏng ngưng một phần được hồi lưu trở lại tháp, phần còn lại được chứa trong bình thu sản phẩm. Tỷ lệ giữa lượng lỏng hồi lưu và lượng sản phẩm đỉnh có thể được điều chỉnh bằng các van trong bộ điều chỉnh chỉ số hồi lưu trên đỉnh tháp.

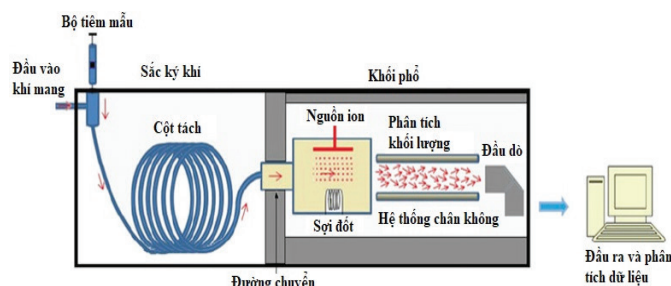
**Bảng 1. Các thông số kỹ thuật của các thiết bị chính trong hệ thống thí nghiệm.**

| STT | Thiết bị chính                         | Thông số kỹ thuật                                                                                                                                                                               |
|-----|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1   | Bơm chân không                         | + Công suất động cơ: 180 W<br>+ Năng suất hút khí lớn nhất: 90 l/phút<br>+ Giới hạn áp suất chân không: 2 Pa<br>+ Điện áp: 220 V/50 Hz                                                          |
| 2   | Bếp điện                               | + Nhiệt độ tối đa: $380^\circ\text{C}$<br>+ Công suất nhiệt tối đa: 600 W                                                                                                                       |
| 3   | Đồng hồ đo chênh lệch áp suất          | + Dải áp suất: -1000 ..... +1000 Pa<br>+ Độ chính xác: $\pm 0,5\%$ ( $\pm 2$ Pa)                                                                                                                |
| 4   | Nhiệt kế                               | + Dải nhiệt độ: $0-300^\circ\text{C}$<br>+ Độ chia nhỏ nhất: $2^\circ\text{C}$                                                                                                                  |
| 5   | Bình chưng                             | + Thể tích: 3000 ml                                                                                                                                                                             |
| 6   | Bể ổn nhiệt và bơm tuần hoàn nước lạnh | + Khoảng nhiệt độ: $RT+5-40^\circ\text{C}$<br>+ Độ chính xác: $\pm 0,1^\circ\text{C}$<br>+ Thể tích bể ổn nhiệt: 14,5 l<br>+ Năng suất bơm nước lạnh: 4 l/phút<br>+ Công suất gia nhiệt: 1000 W |
| 7   | Tháp chưng                             | + Đường kính (D): 35 mm<br>+ Chiều cao (H): 1000 mm                                                                                                                                             |
| 8   | Đệm inox (vòng Raschig)                | + Kích thước: $10 \times 10 \times 0,5$ mm<br>+ Bề mặt riêng: $500 \text{ (m}^2/\text{m}^3)$<br>+ Thể tích tự do: $0,88 \text{ (m}^3/\text{m}^3)$<br>+ Khối lượng riêng: $950 \text{ (kg/m}^3)$ |

Hỗn hợp nguyên liệu là hệ tinh dầu có khả năng phân huỷ bởi nhiệt độ, do vậy tháp cần làm việc ở áp suất chân không càng thấp càng tốt. Độ chân không càng lớn thì nhiệt độ sôi của hỗn hợp càng nhỏ, nên có thể hạn chế hiện tượng phân huỷ nhiệt của sản phẩm. Ngoài ra, tháp loại đệm được sử dụng để giảm tổn thất áp suất của tháp. Nghiên cứu thực nghiệm này sử dụng đệm kim loại vòng Raschig kích thước  $10 \times 10 \times 0,5$  mm.

### Phương pháp phân tích thành phần tinh dầu hồi

Thành phần các chất trong mẫu tinh dầu hồi nguyên liệu, sản phẩm đỉnh, và sản phẩm đáy được xác định bằng phương pháp phân tích GC-MS [12]. Hình 2 mô tả nguyên lý của hệ thống GC-MS. Thông qua phân tích GC-MS, các hợp chất khác nhau được xác định, bao gồm trans-anethole,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -phellandrene, limonene, linalool, methyl chavicol, anisaldehyde, caryophyllene,  $\beta$ -bergamoten, o-cymene. Các mẫu tinh dầu được đo tại Phòng thí nghiệm hoá phân tích, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội.



**Hình 2. Sơ đồ hệ thống GC-MS [13].**

### Nguyên liệu tinh dầu hồi thô

Tinh dầu hồi thô chứa nhiều cấu tử với thành phần chủ yếu là anethole, pinene, limonene, linalool, methyl chavicol. Trong nghiên cứu này, tinh dầu hồi thô được sản xuất từ quả hồi trồng ở Lạng Sơn, Việt Nam. Bảng 2 thể hiện thành phần tinh dầu thô được sử dụng làm nguyên liệu cho tháp tinh chế trong nghiên cứu này. Nhiệt độ sôi của các cấu tử được dùng để dự đoán khả năng tách các chất trong hỗn hợp tinh dầu thô.

**Bảng 2. Thành phần tinh dầu hồi thô sử dụng trong thực nghiệm (wt.%).**

| Cấu tử                                          | Hàm lượng (wt.%) | Nhiệt độ sôi ở áp suất khí quyển ( $^\circ\text{C}$ ) |
|-------------------------------------------------|------------------|-------------------------------------------------------|
| $\alpha$ -pinene                                | 2,42             | 156,0                                                 |
| $\beta$ -phellandrene                           | 0,87             | 174,0                                                 |
| limonene                                        | 2,41             | 177,6                                                 |
| linalool                                        | 2,14             | 198,0                                                 |
| methyl chavicol                                 | 5,03             | 216,0                                                 |
| anisaldehyde                                    | 1,02             | 249,0                                                 |
| <b>anethole</b>                                 | <b>83,34</b>     | <b>234,0</b>                                          |
| caryophyllene                                   | 1,07             | 253,2                                                 |
| $\beta$ -bergamoten                             | 0,58             | 260,0                                                 |
| 1-(3-methyl-2-butenyloxy)-4-(1-propenyl)benzene | 0,76             | 310,2                                                 |
| Các chất khác                                   | 0,36             | -                                                     |
| Tổng                                            | 100,0            |                                                       |

### Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Nghiên cứu thực nghiệm tinh chế tinh dầu hồi được thực hiện trên hệ thống tháp chưng với năng suất 0,5 kg/mẻ. Quá trình chưng được thực hiện ở các điều kiện áp suất chân không khác nhau, chế độ hồi lưu hoàn toàn và hồi lưu một phần  $R=3$ , trong khoảng thời gian từ 4,2-4,5 giờ (bảng 3).

**Bảng 3. Các điều kiện vận hành tháp.**

| Các điều kiện vận hành | TN1       | TN2 | TN3 | TN4 |
|------------------------|-----------|-----|-----|-----|
| Thời gian chưng (giờ)  | 4,2       | 4,5 | 4,5 | 4,5 |
| Tỷ số hồi lưu          | Hoàn toàn | 3   | 3   | 3   |
| Lượng nguyên liệu (kg) | 0,5       | 0,5 | 0,5 | 0,5 |

Bảng 4 thể hiện sự thay đổi nhiệt độ tại đỉnh tháp và đáy tháp theo thời gian tại chế độ hồi lưu hoàn toàn và áp suất chân không 0,08 bar. Nhiệt độ đáy tháp thay đổi từ 22-144°C, trong khi nhiệt độ đỉnh tháp thay đổi từ 22-92°C. Trong khoảng thời gian ban đầu từ 0-1,5 giờ, chưa có hơi hoặc hơi lên đỉnh tháp rất ít và lượng lỏng ngưng tụ không ổn định. Trạng thái ổn định của tháp tương ứng với nhiệt độ đỉnh và đáy không đổi được duy trì trong 2,7 giờ tiếp theo. Ở trạng thái ổn định, nhiệt độ trung bình đỉnh tháp là 90°C, và nhiệt độ trung bình đáy tháp là 140°C. Nhiệt độ đáy tương đối thấp có thể hạn chế hỗn hợp tinh dầu bị phân hủy nhiệt.

**Bảng 4. Nhiệt độ đáy và đỉnh trong trường hợp hồi lưu hoàn toàn (TN1).**

| Thời gian (giờ)    | Áp suất đỉnh (bar) | Nhiệt độ đáy (°C) | Nhiệt độ đỉnh (°C) | Ghi chú                                             |
|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------------------------|
| 0                  | 0,08               | 22                | 22                 | Bắt đầu chưng                                       |
| 0,3                | 0,08               | 110               | 22                 | Tính dầu đáy bắt đầu sôi, chưa có hơi lên trên đỉnh |
| 0,6                | 0,08               | 130               | 24                 | Chưa có hơi lên trên đỉnh                           |
| 0,9                | 0,08               | 130               | 28                 | Có ít lỏng ngưng tụ                                 |
| 1,2                | 0,08               | 136               | 34                 | Có ít lỏng ngưng tụ                                 |
| 1,5                | 0,08               | 134               | 36                 | Có ít lỏng ngưng tụ                                 |
| 1,8                | 0,08               | 138               | 89                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 2,1                | 0,08               | 138               | 89                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 2,4                | 0,08               | 140               | 90                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 2,7                | 0,08               | 140               | 90                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 3                  | 0,08               | 138               | 90                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 3,3                | 0,08               | 140               | 90                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 3,6                | 0,08               | 142               | 90                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 3,9                | 0,08               | 144               | 92                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| 4,2                | 0,08               | 140               | 90                 | Có nhiều lỏng ngưng tụ                              |
| <b>Trung bình*</b> | <b>0,08</b>        | <b>140</b>        | <b>90</b>          |                                                     |

\*: nhiệt độ trung bình trong khoảng thời gian ổn định.

Kết quả thực nghiệm tại các điều kiện áp suất chân không khác nhau được liệt kê trong bảng 5. Trường hợp áp suất đỉnh từ 0,2 bar, nhiệt độ đáy tháp rất cao lên tới 178°C. Nhiệt độ trung bình đáy và đỉnh tháp trong khoảng thời gian sản phẩm đỉnh ổn định lần lượt là 168,8 và 144°C. Nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu ở đáy cao kết hợp với thời gian chưng cất dài dẫn đến tinh dầu bị phân hủy bởi nhiệt nhiều.

Khi áp suất đỉnh duy trì ổn định tại 0,1 bar, nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu ở đáy tháp thay đổi từ 18-150°C, nhiệt độ đỉnh thay đổi từ 18-128°C. Tổng thời gian chưng là 4,5 giờ. Thời gian kể từ lúc bắt đầu lấy sản phẩm đỉnh là 4 giờ. Thời gian để hơi lên trên đỉnh mất 0,5 giờ. Trong khoảng thời gian lấy sản phẩm đỉnh ổn định, nhiệt

độ đáy dao động nhẹ trong khoảng 150-152°C. Nhiệt độ trung bình ở đáy tháp và đỉnh tháp trong khoảng thời gian này lần lượt là 150,7 và 120,7°C, nhiệt độ đáy này tương đối thấp, giúp giảm hiện tượng hỗn hợp tinh dầu đáy tháp bị phân hủy bởi nhiệt.

Tại áp suất 0,08 bar, nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu ở đáy tháp thay đổi từ 20-144°C, nhiệt độ đỉnh tháp thay đổi từ 20-124°C. Tổng thời gian chưng là 4,5 giờ, thời gian có lỏng ngưng tụ là 1,5 giờ. 3 giờ tiếp theo, có sản phẩm đỉnh ngưng tụ. Trong khoảng thời gian lấy sản phẩm đỉnh ổn định, nhiệt độ đáy dao động trong khoảng 130-144°C, nhiệt độ trung bình đáy và đỉnh tháp là 136 và 116,4°C.

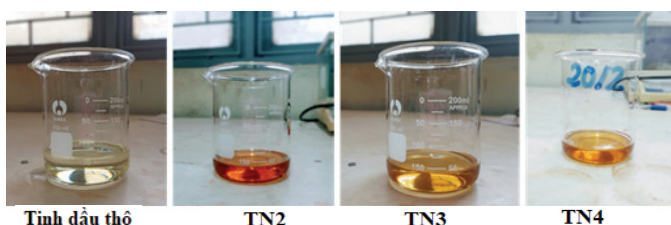
**Bảng 5. Nhiệt độ đỉnh và đáy tháp trong trường hợp chỉ số hồi lưu R=3.**

| TN2             |                    |          |           | TN3             |                    |          |           | TN4             |                    |          |           |
|-----------------|--------------------|----------|-----------|-----------------|--------------------|----------|-----------|-----------------|--------------------|----------|-----------|
| Thời gian (giờ) | Áp suất đỉnh (bar) | Đáy (°C) | Đỉnh (°C) | Thời gian (giờ) | Áp suất đỉnh (bar) | Đáy (°C) | Đỉnh (°C) | Thời gian (giờ) | Áp suất đỉnh (bar) | Đáy (°C) | Đỉnh (°C) |
| 0               | 0,2                | 18       | 18        | 0               | 0,1                | 18       | 18        | 0               | 0,08               | 20       | 20        |
| 0,5             | 0,2                | 120      | 96        | 0,5             | 0,1                | 130      | 96        | 0,75            | 0,08               | 72       | 34        |
| 1               | 0,2                | 130      | 100       | 1               | 0,1                | 140      | 100       | 1               | 0,08               | 86       | 40        |
| 1,5             | 0,2                | 134      | 106       | 1,5             | 0,1                | 146      | 106       | 1,25            | 0,08               | 102      | 44        |
| 2               | 0,2                | 140      | 108       | 2               | 0,1                | 150      | 110       | 1,5             | 0,08               | 120      | 98        |
| 2,5             | 0,2                | 158      | 120       | 2,5             | 0,1                | 152      | 112       | 1,75            | 0,08               | 130      | 110       |
| 3               | 0,2                | 162      | 134       | 3               | 0,1                | 152      | 120       | 2               | 0,08               | 130      | 110       |
| 3,5             | 0,2                | 170      | 144       | 3,5             | 0,1                | 150      | 126       | 2,5             | 0,08               | 132      | 112       |
| 4               | 0,2                | 176      | 158       | 4               | 0,1                | 150      | 128       | 2,75            | 0,08               | 132      | 114       |
| 4,5             | 0,2                | 178      | 164       | 4,5             | 0,1                | 150      | 128       | 2,8             | 0,08               | 134      | 114       |
| -               | -                  | -        | -         | -               | -                  | -        | -         | 3               | 0,08               | 136      | 118       |
| -               | -                  | -        | -         | -               | -                  | -        | -         | 3,3             | 0,08               | 138      | 120       |
| -               | -                  | -        | -         | -               | -                  | -        | -         | 3,5             | 0,08               | 140      | 120       |
| -               | -                  | -        | -         | -               | -                  | -        | -         | 3,75            | 0,08               | 144      | 122       |
| -               | -                  | -        | -         | -               | -                  | -        | -         | 4,5             | 0,08               | 144      | 124       |
| Trung bình*     |                    | 168,8    | 144       |                 |                    | 150,7    | 120,7     |                 |                    | 136      | 116,4     |

\*: nhiệt độ trung bình trong khoảng thời gian ổn định.

Tóm lại, quá trình tinh chế tinh dầu hồi tại áp suất đỉnh  $\leq 0,1$  bar, nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu đáy tháp tương đối thấp, giúp giảm phân hủy nhiệt tinh dầu. Tại áp suất đỉnh 0,08 bar, thời gian bắt đầu có lỏng ngưng tụ lâu hơn. Do vậy, để đảm bảo tinh dầu không bị đun nóng quá lâu gây phân hủy nhiệt, thời gian chưng phải không quá dài. Khi thực hiện chưng ở áp suất chân không cao, cần cân đối thời gian chưng để đảm bảo chất lượng sản phẩm tinh dầu hồi tinh chế.

Hình 3 cho thấy hình ảnh mẫu tinh dầu hồi nguyên liệu và các mẫu sản phẩm đáy thu được qua các thực nghiệm. Qua màu sắc của các mẫu, ta thấy mẫu tinh dầu nguyên liệu có màu vàng rất nhạt, ở TN2 vàng rất đậm (gần như chuyển sang màu đỏ), TN3 và TN4 có màu vàng đậm hơn một chút. Như vậy, bằng phương pháp so màu các mẫu, có thể đánh giá định tính được mẫu sản phẩm đáy ở TN2 bị phân hủy nhiệt nhiều do nhiệt độ đáy tháp rất cao và thời gian chưng lâu.



Hình 3. Ảnh mẫu tinh dầu thô và các mẫu sản phẩm đáy thu được ở các thí nghiệm.

Bảng 6 trình bày kết quả thành phần các mẫu tinh dầu nguyên liệu, sản phẩm đỉnh, sản phẩm đáy (được phân tích định lượng bằng phương pháp GC-MS) và hiệu suất thu hồi. Điều kiện vận hành bao gồm lượng nguyên liệu đầu 0,5 kg, chỉ số hồi lưu R=3, và tại 2 áp suất khác nhau 0,1 và 0,08 bar.

Tại áp suất đỉnh 0,1 bar, sau 4,5 giờ chưng, lượng sản phẩm đỉnh (tạp) và đáy (sản phẩm tinh chế) thu được lần lượt là 0,4625 và 0,0375 kg. Sản phẩm đáy thu được chứa hàm lượng cấu tử anethole là 88,76 wt.%, ngoài ra chứa các cấu tử khác như methyl chavicol 3,78 wt.%, linalool 1,65 wt.%, anisaldehyde 1,22 wt.%,  $\beta$ -bergamoten 1,16 wt.%, 1-(3-methyl-2-butenyloxy)-4-(1-propenyl) benzene 1,62 wt.%, và 1,81 wt.% các chất khác. Tạp chất thu được ở đỉnh thấp chứa hàm lượng cấu tử anethole 14,83 wt.%, methyl chavicol 43,35 wt.%, linalool 7,00 wt.%, và nhiều chất khác không có trong hỗn hợp tinh dầu nguyên liệu 28,34 wt.%. Các hợp chất *o*-cymene và terpinen-4-ol không có trong tinh dầu nguyên liệu nhưng lại xuất hiện trong sản phẩm sau quá trình chưng cất, đặc biệt trên sản phẩm đỉnh. Điều này có thể do ảnh hưởng của nhiệt độ dẫn tới các phản ứng phức tạp trong tinh dầu và các phản ứng biến đổi giữa các đồng phân.

Bảng 6. Thành phần các chất trong sản phẩm đỉnh, đáy sau tinh chế (wt.%).

| Cấu tử                                          | Tinh dầu thô | TN3: P=0,1 bar |              | TN4: P=0,08 bar |             |
|-------------------------------------------------|--------------|----------------|--------------|-----------------|-------------|
|                                                 | Nguyên liệu  | Đáy            | Đỉnh         | Đáy             | Đỉnh        |
| $\alpha$ -pinene                                | 2,42         | -              | 0,84         | -               | 5,26        |
| $\beta$ -phellandrene                           | 0,87         | -              | -            | -               | 0,71        |
| <i>o</i> -cymene                                | -            | -              | 0,83         | -               | 2,64        |
| limonene                                        | 2,41         | -              | 2,30         | 0,21            | 18,57       |
| linalool                                        | 2,14         | 1,65           | 7,00         | -               | 30,50       |
| terpinen-4-ol                                   | -            | -              | 1,09         | 0,09            | 3,16        |
| methyl chavicol                                 | 5,03         | 3,78           | 43,35        | 2,69            | 13,71       |
| anisaldehyde                                    | 1,02         | 1,22           | 0,83         | 2,87            | 1,53        |
| <b>anethole</b>                                 | <b>83,34</b> | <b>88,76</b>   | <b>14,83</b> | <b>88,08</b>    | <b>15,9</b> |
| caryophyllene                                   | 1,07         | -              | 0,09         | 1,42            | -           |
| $\beta$ -bergamoten                             | 0,58         | 1,16           | 0,50         | 1,55            | -           |
| 1-(3-methyl-2-butenyloxy)-4-(1-propenyl)benzene | 0,76         | 1,62           | -            | 1,61            | -           |
| Các chất khác                                   | 0,36         | 1,81           | 28,34        | 1,48            | -           |
| Tổng                                            | 100          | 100            | 100          | 100             |             |
| <b>Lượng sản phẩm thu được</b>                  |              |                |              |                 |             |
| Lượng sản phẩm đáy (kg)                         |              | 0,4625         |              | 0,42            |             |
| Lượng sản phẩm đỉnh (kg)                        |              | 0,0375         |              | 0,08            |             |
| Lượng anethole trong sản phẩm đáy (kg)          |              | 0,4105         |              | 0,3699          |             |
| Lượng anethole trong tinh dầu thô (kg)          |              | 0,4167         |              | 0,4167          |             |
| Hiệu suất thu hồi anethole trong đáy (%)        |              | 98,5           |              | 88,8            |             |

\*Hiệu suất thu hồi anethole trong đáy (%) =  $100 \times (\text{lượng anethole trong sản phẩm đáy}) / (\text{lượng anethole trong tinh dầu thô})$ .

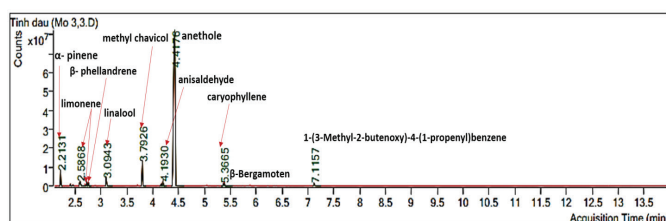
Khi áp suất đỉnh duy trì ổn định ở 0,08 bar, sau 4,0 giờ chưng thu được 0,42 kg sản phẩm đáy và 0,08 kg tạp chất đỉnh. Sản phẩm đáy thu được chứa hàm lượng cấu tử anethole là 88,08 wt.%, ngoài ra các cấu tử như limonene 0,21 wt.%, terpinen-4-ol 0,09 wt.%, methyl chavicol 2,69 wt.%, anisaldehyde 2,87 wt.%, caryophyllene 1,42 wt.%,  $\beta$ -bergamoten 1,55 wt.%, 1-(3-methyl-2-butenyloxy)-4-(1-propenyl) benzene 1,61 wt.%, và 1,48 wt.% các chất khác. Tạp chất thu được ở đỉnh thấp cho thấy các cấu tử có nhiệt độ sôi thấp và trung bình như limonene (18,57 wt.%), linalool (30,50 wt.%) và methyl chavicol (13,71 wt.%) được tách ra với hàm lượng tương đối lớn. Kết quả này cho thấy trong sản phẩm đáy hầu như không còn hiện diện của cấu tử có nhiệt độ sôi thấp như limonene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -phellandrene; các chất có nhiệt độ sôi trung bình như linalool, methyl chavicol, terpinen-4-ol có hàm lượng tương đối thấp.

Quá trình tinh chế ở áp suất 0,1 bar, lượng sản phẩm đáy và đỉnh thu được lần lượt là 0,4625 và 0,0375 kg. Hiệu suất thu hồi anethole trong sản phẩm đáy là 98,5%. Tại áp suất 0,08 bar, lượng sản phẩm đáy và đỉnh thu được lần lượt là 0,42 và 0,08 kg. Hiệu suất thu hồi anethole trong sản phẩm đáy là 88,8%. Trường hợp tinh chế ở áp suất đỉnh 0,08 bar thời gian bắt đầu có sản phẩm đỉnh mất tới 1,5 giờ cho hiệu suất thu hồi anethole thấp hơn trường hợp áp suất đỉnh 0,1 bar. Có thể kéo dài thời gian chưng để tăng hiệu suất thu hồi anethole trong trường hợp này, tuy nhiên thời gian chưng quá lâu kết hợp với nhiệt độ đáy cao, sẽ gây hiện tượng phân hủy nhiệt nhiều, làm ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm tinh dầu.

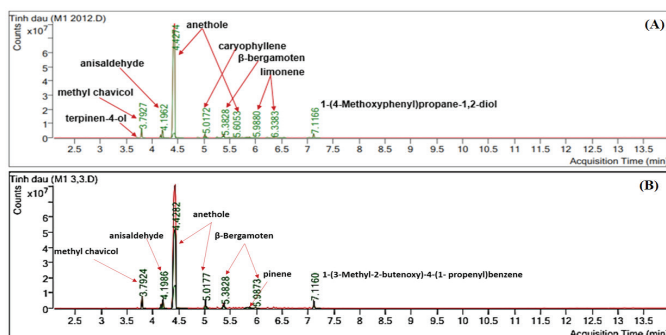
Sử dụng sắc ký đồ phân tích các mẫu tinh dầu nguyên liệu, sản phẩm đáy, sản phẩm đỉnh (hình 4-6) kết hợp với thông tin từ hệ thống dữ liệu tương ứng, xác định được thành phần các chất có chứa trong mẫu tinh dầu và % hàm lượng các chất tương ứng thông qua chuẩn hoá diện tích các đỉnh. Sản phẩm tinh dầu tại đáy trong TN2 bị biến đổi màu rất đậm, do đó về mặt định tính tinh dầu không đáp ứng được chất lượng. Sản phẩm tinh dầu trong TN2 không được phân tích GC-MS để xác định thành phần. Cấu tử chính anethole trong mẫu tinh dầu thô và sản phẩm đỉnh được thể hiện tại đỉnh lớn nhất và lân cận đỉnh đó. Các cấu tử khác như limonene, linalool, methyl chavicol,  $\alpha$ -pinene trong các mẫu được chỉ rõ trên sắc ký đồ.

Quá trình tinh chế tinh dầu hồi bằng tháp chưng gián đoạn loại đệm ở áp suất 0,1-0,08 bar, chỉ số hồi lưu R=3 nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu đáy thấp tương đối thấp, có thể hạn chế được hiện tượng tinh dầu bị phân hủy nhiệt. Bằng phương pháp GC-MS xác định được định lượng các chất trong sản phẩm tinh dầu tinh chế, trong đó hàm lượng cấu tử chính anethole đạt trên 88 wt.%.

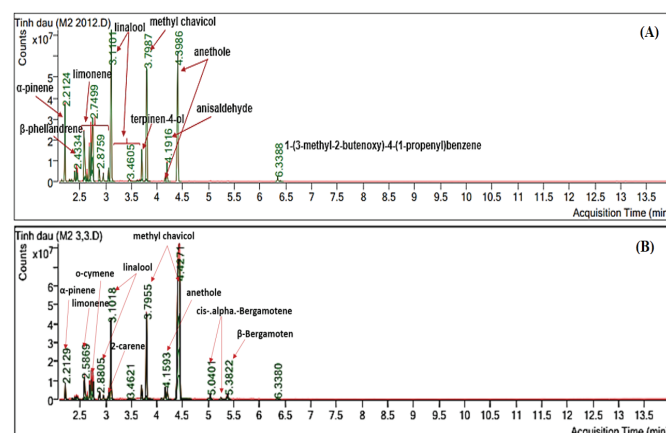
Tuy nhiên, qua phân tích GC-MS mẫu sản phẩm đáy và sản phẩm đỉnh cho thấy một số chất bị biến đổi trong quá trình tinh chế. Sản phẩm đỉnh chứa các chất như isomaltol; cyclopropene, 3-methyl-3-vinyl-; 1-(4-methoxyphenyl)propane-1,2-diol; 1,5-dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl butyrate; 1,2,4,5-tetramethyl-3-neopentyl benzene. Đây là các chất được tạo thành do có sự phân hủy nhiệt và trùng hợp các monomer bị phân hủy. Nguyên nhân chủ yếu là do nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu ở đáy còn cao, kèm theo thời gian chưng dài. Sự phân hủy nhiệt và trùng hợp các monomer này làm giảm hiệu suất thu hồi anethole trong sản phẩm đáy. Sự phân hủy nhiệt này rất khó để hoàn toàn không xảy ra, tuy nhiên, để giảm thiểu hiện tượng phân hủy nhiệt có thể điều chỉnh lượng



Hình 4. Sắc ký đồ phân tích mẫu nguyên liệu tinh dầu thô bằng GC-MS.



Hình 5. Sắc ký đồ phân tích mẫu sản phẩm đáy bằng GC-MS trường hợp tinh chế tại áp suất đỉnh (A) - 0,1 bar (TN3) và (B) - 0,08 bar (TN4).



Hình 6. Sắc ký đồ phân tích mẫu sản phẩm đỉnh bằng GC-MS trường hợp tinh chế tại áp suất đỉnh (A) 0,1 bar (TN3) và (B) 0,08 bar (TN4).

hiệt cấp vào đáy tháp và giảm bớt thời gian chưng.

Sau quá trình tinh chế, sản phẩm đỉnh thu được có hàm lượng anethole là 14,83 wt.% (trường hợp áp suất đỉnh 0,1 bar) và 15,9 wt.% (trường hợp 0,08 bar). Giá trị trên còn khá cao đối với phần tạp. Tuy nhiên, lượng sản phẩm đỉnh thu được ít nên có thể gom khoảng 12-13 mẻ sản phẩm đỉnh để tiếp tục tinh chế nhằm tăng hiệu suất thu hồi anethole.

## Kết luận

Nghiên cứu đã tiến hành ở chế độ hồi lưu hoàn toàn và chế độ lấy sản phẩm, tại một số áp suất khác nhau, cho lượng sản phẩm đỉnh khác nhau. Kết quả thực nghiệm đã chỉ ra tại các áp suất đỉnh lớn hơn hoặc bằng 0,2 bar thì nhiệt độ hỗn hợp đáy tháp trong quá trình chưng lớn, xảy ra hiện tượng tinh dầu bị phân hủy bởi nhiệt. Trong trường hợp áp suất đỉnh nhỏ hơn hoặc bằng 0,1 bar, đáy chưng làm

việc với chỉ số hồi lưu  $R=3$ , sản phẩm tinh dầu hồi tinh chế đạt hàm lượng anethole trên 88 wt.%. Hiệu suất thu hồi đạt 88,8% với trường hợp áp suất đỉnh 0,08 bar và 98,5% với trường hợp áp suất đỉnh 0,1 bar.

Trong quá trình nghiên cứu còn nhiều hạn chế như hệ thống thiết bị chưa chịu được áp suất chân không triệt để, dẫn đến nhiệt độ hỗn hợp tinh dầu đáy tháp chưng còn cao, ít nhiều vẫn gây nên hiện tượng phân hủy nhiệt. Đề nghiên cứu được hoàn chỉnh và đầy đủ nhất thì hướng đi tiếp theo của đề tài sẽ khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình tinh chế như nguyên liệu, chỉ số hồi lưu, nhiệt lượng cấp vào đáy tháp, các loại đệm khác nhau. Nghiên cứu tiếp theo có thể kết hợp thực nghiệm và sử dụng phần mềm mô phỏng để mô hình hoá lại quá trình chưng luyện gián đoạn tinh chế tinh dầu hồi để có thể tính toán tối ưu và chuyển quy mô tháp tinh chế tinh dầu hồi. Từ đó, có thể thiết kế, chế tạo hệ thống tinh chế tinh dầu hồi quy mô công nghiệp có ứng dụng thực tế hơn để đưa sản phẩm tinh dầu hồi đạt chất lượng cao phục vụ các ngành dược phẩm, hương liệu, mỹ phẩm.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa Hà Nội, trong đề tài mã số T2020-PC-052. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lưu Đàm Cư, Trương Anh Thư (2005), *Thành phần hóa học của tinh dầu hồi Lạng Sơn*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- [2] M.K. Ibrahim, Z.A. Mattar, H.H. Abdel-Khalek, Y.M. Azzam (2017), "Evaluation of antibacterial efficacy of anise wastes against some multidrug resistant bacterial isolates", *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, **10**(1), pp.34-43.
- [3] Q. Liu, M. Zhang, B. Bhandari, J. Xu, C. Yang (2020), "Effects of nanoemulsion-based active coatings with composite mixture of star anise essential oil, polylysine, and nisin on the quality and shelf life of ready-to-eat Yao meat products", *Food Control*, **107**, DOI: 10.1016/j.foodcont.2019.106771.
- [4] G.D. Porta, R. Taddeo, E. D'Urso, E. Reverchon (1998), "Isolation of clove bud and star anise essential oil by supercritical  $\text{CO}_2$  extraction", *LWT - Food Science and Technology*, **31**(5), pp.454-460.
- [5] V.D. Jeliazkov, T. Astatkie, B. O'Brocki, E. Jeliazkova (2013), "Essential oil composition and yield of anise from different distillation times", *HortScience*, **48**(11), pp.1393-1396.
- [6] H. Ohira, N. Torii, T.M. Aida, M. Watanabe, R.L. Smith (2009), "Rapid separation of shikimic acid from Chinese star anise (*Illicium verum* Hook. f.) with hot water extraction", *Separation and Purification Technology*, **69**(1), pp.102-108.
- [7] D.Q. Tuan, S.G. Ilangantileket (1997), "Liquid  $\text{CO}_2$  extraction of essential oil from star anise fruits (*Illicium verum* H.)", *Journal of Food Engineering*, **31**(1), pp.47-57.
- [8] J. Arias, D. Casas-Orozco, A. Cáceres-León, J. Martínez, E. Stashenko, A-L. Villa (2020), "Dynamic modeling and experimental validation of essential oils fractionation: application for the production of phenylpropanoids", *Computers & Chemical Engineering*, **135**, DOI: 10.1016/j.compchemeng.2020.106738.
- [9] S.C. Beneti, E. Rosset, M.L. Corazza, C.D. Frizzo, M.D. Luccio, J.V. Oliveira (2011), "Fractionation of citronella (*Cymbopogon winterianus*) essential oil and concentrated orange oil phase by batch vacuum distillation", *Journal of Food Engineering*, **102**(4), pp.348-354.
- [10] W.P. Silvestre, F. Agostini, L.A.R. Muniz, G.F. Pauletti (2016), "Fractionating of green mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) essential oil by vacuum fractional distillation", *Journal of Food Engineering*, **178**, pp.90-94.
- [11] M. Mujtaba (2004), *Batch Distillation Design and Operation*, Imperial College Press, 416pp.
- [12] H. Ullah, B. Honermeier (2013), "Fruit yield, essential oil concentration and composition of three anise cultivars (*Pimpinella anisum* L.) in relation to sowing date, sowing rate and locations", *Industrial Crops and Products*, **42**, pp.489-499.
- [13] A.H. Emwas, Z.A.A. Talla, Y. Yang, N. Kharbatia (2015), "Gas chromatography-mass spectrometry of biofluids and extracts", *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, **1277**, pp.91-112.

# Một số đặc điểm của purpurin-18 tổng hợp từ chlorophyll a tách chiết từ tảo *Spirulina*

Nguyễn Minh Hiếu<sup>1</sup>, Lê Bình Dương<sup>2</sup>, Mai Anh Tuấn<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Bình<sup>2</sup>,  
Bùi Thị Thanh Phương<sup>2</sup>, Phạm Hương Sơn<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Lại<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nano và Năng lượng, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ

Ngày nhận bài 28/12/2020; ngày chuyển phản biện 30/12/2020; ngày nhận phản biện 20/1/2021; ngày chấp nhận đăng 25/1/2021

## Tóm tắt:

Việc nghiên cứu tổng hợp chất nhạy quang (PS) purpurin-18 (Pp-18) từ tự nhiên và xác định một số đặc điểm của nó là một trong những chủ đề được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm và phát triển. Trong khuôn khổ nghiên cứu này, các tác giả đã xác định một số đặc điểm của Pp-18 tổng hợp được từ chlorophyll a, một chất được phân lập từ tảo *Spirulina*. Kết quả cho thấy, Pp-18 có khả năng phân tán tốt trong acetone tại bước sóng 478,5 nm ( $R^2=0,98285$ ) và đạt 98%. Phổ huỳnh quang của Pp-18 trong acetone thực nghiệm được đo tại nồng độ 70 ppm và bước sóng 365,39, 417,62 và 557,96 nm. Thời gian sống của Pp-18 trong dung dịch acetone là 2,85 ns.

**Từ khóa:** chất nhạy quang, phổ hấp thụ UV-Vis, phổ huỳnh quang, Pp-18, *Spirulina*.

**Chỉ số phân loại:** 2.6

## Đặt vấn đề

Liệu pháp quang động (Phytophotodynamic therapy - PDT) được coi là một phương thức sáng tạo và hấp dẫn để điều trị các tế bào bệnh lý tại chỗ và bề ngoài [1, 2]. Trái ngược với các phương pháp điều trị y tế thông thường khác, PDT không cần thiết phải giải phóng loại thuốc đã sử dụng và nó dựa trên đặc điểm các phân tử PS có thể tạo ra các loại oxy phản ứng khi chiếu xạ, chẳng hạn như  $^1O_2$  hoặc các gốc tự do, có thể làm tổn thương không thể phục hồi các tế bào bệnh lý mà không làm hỏng các tế bào khỏe mạnh lân cận [3].

Các dihydroporphyrin tự nhiên đã thu hút nhiều sự quan tâm vì chúng có thể được sử dụng như PS hiệu quả để làm trung gian cho PDT [4]. Các hợp chất này thể hiện năng suất lượng tử cao trong việc hình thành oxy nguyên tử, độc tính thấp và hấp thụ mạnh trong vùng bước sóng 650-700 nm [5]. Pp-18 (hình 1) là một dẫn xuất của chất diệp lục, một dihydroporphyrin thứ vị để tạo ra chất PS như các dẫn xuất imide của Pp-18, hấp thụ ánh sáng trong vùng đỏ đến hồng ngoại và hoạt động chống khối u hiệu quả nên được dùng làm nguyên liệu ban đầu để tổng hợp các chất PS phức tạp hơn đã được sử dụng trong nhiều nghiên cứu [6-8].

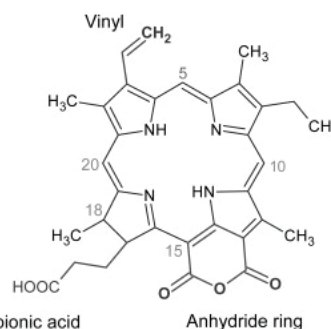
Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định một số đặc điểm của Pp-18 đã tổng hợp từ chlorophyll a thu được từ tảo *Spirulina*.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu

Mẫu Pp-18 được tổng hợp bởi Phòng Thí nghiệm Phát triển ứng dụng y sinh công nghệ cao, Viện Ứng dụng Công

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



Hình 1. Cấu trúc hóa học của Pp-18 [9].

nghe. Các dung môi như  $H_2O$ ,  $C_2H_5OH$  và  $(CH_3)_2CO$  tinh khiết (Merck) được sử dụng để xác định khả năng phân tán của Pp-18.

### Phương pháp nghiên cứu

**Phương pháp nghiên cứu sự phân tán của Pp-18 trong dung dịch:** trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng thiết bị đo kích thước hạt bằng máy Zetasizer nano ZS để đánh giá sự phân tán của Pp-18 trong các dung môi là: nước, acetone và  $C_2H_5OH$ . Phương pháp nghiên cứu quá trình phân tán của Pp-18 được tiến hành như sau: Pp-18 được cân định lượng và phân tán vào dung môi với các tỷ lệ 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 và 70 ppm. Các dung môi chứa Pp-18 được đặt vào bể siêu âm và tiến hành siêu âm trong thời gian 30 phút với mục đích giúp Pp-18 phân tán tốt trong dung môi. Sau đó tiến hành đo phân bố kích thước hạt của các mẫu dung môi chứa Pp-18 tại các tỷ lệ khác nhau. Cuối cùng phân tích kết quả thu được từ thiết bị đo.

# Some characteristics of purpurin-18 synthesised from chlorophyll a of *Spirulina*

Minh Hieu Nguyen<sup>1</sup>, Binh Duong Le<sup>2</sup>, Anh Tuan Mai<sup>2</sup>,  
Thi Binh Nguyen<sup>2</sup>, Thi Thanh Phuong Bui<sup>2</sup>,  
Huong Son Pham<sup>2</sup>, Thi Lai Nguyen<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Nano and Energy Center, University of Science,  
Vietnam National University, Hanoi

<sup>2</sup>National Center for Technological Progress, MOST

Received 28 December 2020; accepted 25 January 2021

## Abstract:

Research and synthesis of photosensitive purpurin 18 (Pp-18) from nature is one of the topics that many research groups are interested in and developing. In this study, the authors defined some characteristics of Pp-18 synthesised from chlorophyll a - a substance isolated from *Spirulina*. The results showed that Pp-18 had good dispersion in acetone at 478.5 nm ( $R^2=0.98285$ ) and reached 98%. Fluorescence spectroscopy of Pp-18 in acetone was measured at a concentration of 70 ppm, wavelengths 365.39, 417.62, and 557.96 nm. The fluorescence lifetime of Pp-18 in acetone solution was 2.85 ns.

**Keywords:** fluorescence spectroscopy, photosensitizer, Pp-18, *Spirulina*, UV-Vis.

**Classification number:** 2.6

**Phương pháp đo phổ hấp thụ UV-Vis:** phổ UV-Vis hấp thụ được ghi lại trên máy UV 2450 của Nhật Bản (với tổng dải bước sóng từ 200 đến 1000 nm). Các bước sóng phát hiện từ 405,5 đến 696,5 nm được sử dụng đồng thời để phát hiện phổ.

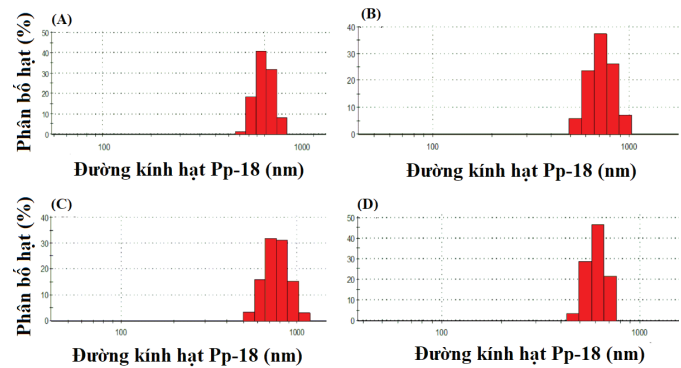
**Phương pháp nghiên cứu khả năng phát huỳnh quang và thời gian sống:** phổ huỳnh quang phân giải theo thời gian và đường cong phân rã huỳnh quang được đo bằng phương pháp đếm đơn photon tương quan thời gian [10], với bước sóng kích thích 300-700 nm. Phổ huỳnh quang được đo trên máy quang phổ huỳnh quang FL322 Horiba. Thời gian tồn tại của huỳnh quang được ước tính thông qua phép tính tích chập [11].

## Kết quả và thảo luận

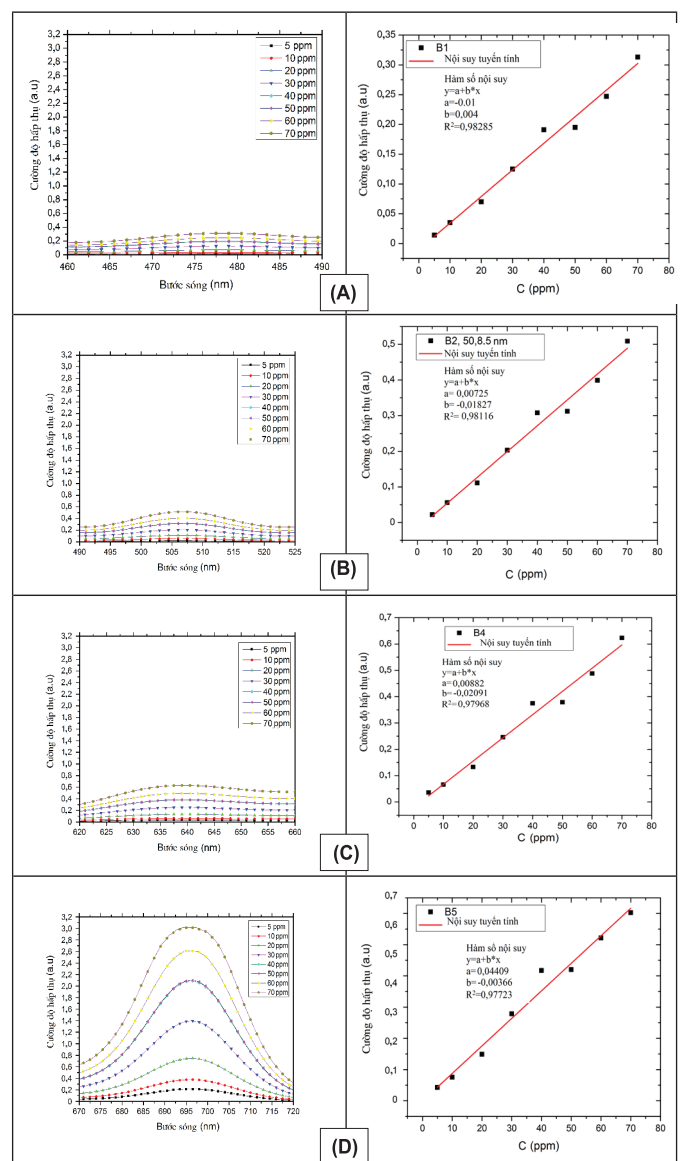
Một trong những đặc điểm cần quan tâm của PS để có thể ứng dụng cho phương pháp PDT là khả năng tan trong nước hoặc dung môi, khả năng phát quang và thời gian sống của nó.

### Nghiên cứu sự phân tán của Pp-18 trong dung dịch

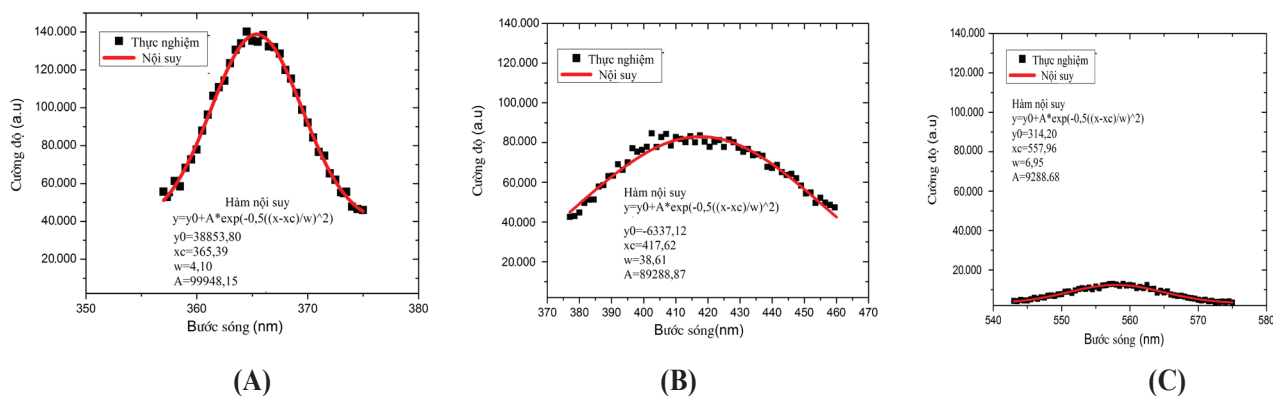
Với mẫu Pp-18 thu được, chúng tôi đã tiến hành đánh giá khả năng phân tán của Pp-18 trong các dung môi nước, ethanol, acetone.



Hình 2. Đồ thị phân bố kích thước hạt của Pp-18 trong nước DI, ở nồng độ khác nhau lần lượt là (A) 80 ppm, (B) 40 ppm, (C) 20 ppm và (D) 10 ppm.



Hình 3. Sự phụ thuộc của nồng độ Pp-18 trong acetone vào cường độ hấp thụ tại các bước sóng 478,5 nm (A), 508,5 nm (B), 642,5 nm (C) và 696,5 nm (D).



Hình 4. Phổ huỳnh quang của Pp-18 trong acetone thực nghiệm với nồng độ 70 ppm và kết quả fitting xác định vị trí đỉnh tại  $X_c=365,39$  nm (A);  $X_c=417,62$  nm (B);  $X_c=557,96$  nm (C).

Nghiên cứu sự phân tán mẫu Pp-18 trong nước, chúng tôi đã xác định sự phân bố của các hạt Pp-18 tại nhiều nồng độ khác nhau (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 và 70 ppm). Mặc dù chúng tôi đã sử dụng phương pháp hỗ trợ siêu âm để phân tán Pp-18, tuy nhiên kết quả thu được là các hạt nhỏ Pp-18 với kích thước từ trên 500 đến 1100 nm, phân bố khác nhau tại các nồng độ khác nhau. Kết quả đo phân bố cho thấy, Pp-18 không tan trong nước (hình 2). Kết quả này có thể do cấu trúc phân tử của Pp-18 gồm các gốc carboxyethyl, ethenyl, dihydro, tetramethyl, porphine, dicarboxylic và anhydride. Trong khi đó, chỉ có gốc hydroxyl ( $\text{OH}^-$ ) là góp phần vào việc phân tán trong nước, tuy nhiên các gốc còn lại chiếm ưu thế hơn nhiều trong cấu trúc của Pp-18, nên có lẽ đây là lý do dẫn tới Pp-18 tạo thành các hạt nhỏ trong nước.

Đối với dung môi  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , khả năng phân tán của Pp-18 tại các bước sóng hấp thụ khác nhau có hệ số  $R^2$  tương ứng là 405,5 ( $R^2=0,88076$ ), 508,5 ( $R^2=0,94009$ ), 640,5 ( $R^2=0,89182$ ) và 696,5 nm ( $R^2=0,81564$ ). Kết quả cho thấy hệ số  $R^2$  có giá trị thấp nhất tại 696,5 nm ( $R^2=0,81564$ ) và cao nhất tại 508,5 nm ( $R^2=0,94009$ ). Có thể thấy, Pp-18 có khả năng phân tán trong  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  và đường chuẩn có độ chính xác cao nhất tại bước sóng 508,5 nm ( $R^2=0,94009$ ) ở nồng độ 70 ppm. Tuy nhiên, hệ số  $R^2$  như trên cho thấy khả năng phân tán của Pp-18 trong  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  chỉ đạt cỡ 94%, do đó hòa tan chưa hoàn toàn.

Nghiên cứu sự phân tán của Pp-18 trong acetone với 8 nồng độ khác nhau tại các bước sóng hấp thụ khác nhau có hệ số  $R^2$  tương ứng tại 478,5 ( $R^2=0,98285$ ), 508,5 ( $R^2=0,98116$ ), 642,5 ( $R^2=0,97968$ ) và 696,5 nm ( $R^2=0,97723$ ) cho thấy hệ số  $R^2$  có giá trị thấp nhất tại 696,5 nm ( $R^2=0,97723$ ) và cao nhất tại 478,5 nm ( $R^2=0,98285$ ). Kết quả cho thấy, Pp-18 có khả năng phân tán tốt trong acetone đạt cỡ 98%, cao hơn mức 94% của  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  và đường chuẩn có độ chính xác cao nhất tại bước sóng 478,5 nm ( $R^2=0,98285$ ) ở nồng độ 70 ppm (hình 3).

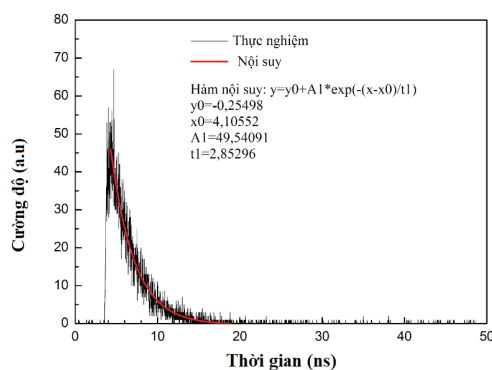
Kết quả trên cho thấy, khả năng phân tán của Pp-18 trong acetone là tốt hơn nhiều so với trong  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  và nước.

### Nghiên cứu khả năng phát huỳnh quang của Pp-18

Phổ phát xạ huỳnh quang được đánh giá thông qua sự kích thích ở dải bước sóng từ 300 đến 700 nm. Sự thay đổi của bước sóng kích thích có ảnh hưởng đến quang phổ của Pp-18. Trong dải bước sóng thử nghiệm, chúng tôi thấy Pp-18 có khả năng phát huỳnh quang xung quanh các bước sóng: 365,39, 417,62 và 557,96 nm, trong đó mạnh nhất ở bước sóng 365,39 nm. Tuy nhiên, để có thể sử dụng được hợp chất này làm chất PS cho phương pháp PDT thì nó cần có khả năng phát quang ở bước sóng dài hơn, chính vì vậy chúng tôi nhằm mục tiêu vào tìm kiếm sự phát quang của Pp-18 tại bước sóng lớn nhất mà hợp chất có được. Kết quả cho thấy, phổ huỳnh quang tốt nhất của Pp-18 đạt được ở bước sóng 557,96 nm. Cường độ tương đối của Pp-18 tại các bước sóng này được thể hiện ở hình 4. Kết quả này của chúng tôi cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của Hoober và cs (1988) [12] cho khả năng phát quang của Pp-18 ở dải sóng 417 và 557 nm.

### Nghiên cứu thời gian sống của Pp-18

Kết quả đo thời gian sống của Pp-18 phân tán trong acetone được trình bày trên hình 5, sử dụng hàm phân bố EXPdecay1 trên cơ sở hàm phân bố này xác định được thời gian sống của Pp-18 trong dung dịch acetone là 2,85 ns với sai số chuẩn 0,057 ns.



Hình 5. Thời gian sống của Pp-18 trong acetone thực nghiệm với nồng độ 70 ppm và kết quả nội suy xác định thời gian sống của Pp-18 là 2,85 ns.

Để có thêm thông tin cho nhận định có thể đề xuất Pp-18 làm nền tảng tiềm năng trong PDT hay không, thời gian tồn tại huỳnh quang của Pp-18 cũng được đo trong các điều kiện thử nghiệm của chúng tôi. Hình 5 thể hiện các kết quả thu được cho sự phân rã huỳnh quang của Pp-18. Động học phân rã hàm mũ đã được quan sát cho thấy sự hiện diện của phân tử bị kích thích trong mẫu. Thời gian sống của Pp-18 thu được cho thấy, đây là khoảng thời gian tồn tại trung bình của một chất phát quang có nguồn gốc tự nhiên: 2,85 ns, phù hợp với nghiên cứu của Correia và cs (2014) [13] về thời gian tồn tại của huỳnh quang quan sát được đối với chlorophyll a dạng đơn phân tử và lưỡng phân tử.

### Kết luận

Pp-18 có khả năng phân tán tốt trong acetone tại bước sóng 478,5 nm ( $R^2=0,98285$ ) ở nồng độ 70 ppm và đạt 98%. Phổ huỳnh quang của Pp-18 trong acetone thực nghiệm với nồng độ 70 ppm thu được ở bước sóng 365,39, 417,62 và 557,96 nm. Thời gian sống của Pp-18 trong dung dịch acetone là 2,85 ns.

### LỜI CẢM ƠN

Nhóm thực hiện đề tài xin trân trọng cảm ơn Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ đã cấp kinh phí để chúng tôi thực hiện và hoàn thành nghiên cứu này.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] P. Meisel, T. Kocher (2005), "Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art", *J. Photochem. Photobiol. B*, **79**, pp.159-170.

[2] T.N. Demidova, M.R. Hamblin (2004), "Photodynamic therapy targeted to pathogens", *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **17**, pp.245-254.

[3] T.S. Mang, T.J. Dougherty, W.R. Potter, D.G. Boyle, S. Somer, J. Moan (1987), "Photobleaching of porphyrins used in photodynamic therapy and implications for therapy", *Photochemistry and Photobiology*, **45**, pp.501-506.

[4] K.M. Kadish, K.M. Smith, R. Guilar (2000), *The Porphyrin Handbook*, vol. 6, Academic Press, 346pp.

[5] R. Bonnett, et al. (2000), *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy - Advanced Chemistry Texts*, Vol. 1, CRC Press, 324pp.

[6] G. Zheng, W.R. Potter, A. Sumlin, T.J. Dougherty, R.K. Pandey (2000), "Photosensitizers related to purpurin-18- N-alkylimides: a comparative *in vivo* tumoricidal ability of ester versus amide functionalities", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **10**(2), pp.123-127.

[7] A.N. Kozyrev, Y. Chen, L.N. Goswami, W.A. Tabaczynski, R.K. Pandey (2006), "Characterization of porphyrins, chlorins, and bacteriochlorins formed via allomerization of bacteriochlorophyll *a*. synthesis of highly stable bacteriopurpurinimides and their metal complexes", *Journal of Organic Chemistry*, **71**, pp.1949-1960.

[8] G. Zheng, et al. (2001), "Synthesis, photophysical properties, tumor uptake, and preliminary *in vivo* photosensitizing efficacy of a homologous series of 3-(1'-alkyloxy)ethyl-3-devinylpurpurin-18-N-alkylimides with variable lipophilicity", *Journal of Medicinal Chemistry*, **44**, pp.1540-1559.

[9] N. Drogat, M. Barrière, R. Granet, V. Sol, P. Krausz (2011), "High yield preparation of purpurin-18 from *Spirulina maxima*", *Dyes and Pigments*, **88**, pp.125-127.

[10] Y. Shimada, T. Tsuchiya, S. Akimoto, T. Tomo, M. Fukuya, K. Tanaka, M. Mimuro (2008), "Spectral properties of the CP43-deletion mutant of *Synechocystis* sp. PCC6803", *Photosynth. Res.*, **98**, pp.303-314.

[11] D.V. O'Connor, D. Phillips (1984), *Time - Correlated Single Photon Counting*, Academic Press, DOI: 10.1016/B978-0-12-524140-3.X5001-1.

[12] J.K. Hooper, T.W. Sery, N. Yamamoto (1988), "Photodynamic sensitizers from chlorophyll: purpurin-18 and chlorin *p6*", *Photochemistry and Photobiology*, **48**(5), pp.579-582.

[13] R.F. Correia, M.I. Viseu, S.M. Andrade (2014), "Aggregation/disaggregation of chlorophyll *a* in model phospholipid-detergent vesicles and micelles", *Photochem. Photobiol. Sci.*, **13**, pp.907-916.

# Ứng dụng bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ (SBR) để xử lý nước thải có tải trọng hữu cơ thấp

Phạm Văn Doanh<sup>1\*</sup>, Nguyễn Bình Minh<sup>2</sup>, Trần Thị Việt Nga<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Kiến trúc Hà Nội

<sup>2</sup>Trường Đại học Xây dựng Hà Nội

Ngày nhận bài 4/8/2021; ngày chuyển phản biện 9/8/2021; ngày nhận phản biện 6/9/2021; ngày chấp nhận đăng 9/9/2021

## Tóm tắt:

Công nghệ xử lý nước thải (XLNT) theo mẻ (Sequencing Batch Reactor - SBR) có nhiều ưu điểm hơn so với các quy trình XLNT khác. Nhiều nghiên cứu cho thấy, bùn hạt hiếu khí có thể thích ứng với các loại nước thải có mức độ tải trọng hữu cơ khác nhau như: nước thải công nghiệp, nước thải nhà máy rượu bia, nước thải từ rỉ rác, nước thải đô thị... Bài báo trình bày kết quả loại bỏ COD,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  (nitơ amôn), T-N (tổng nitơ), T-P (tổng photpho) của việc ứng dụng bùn hạt hiếu khí trên bể phản ứng theo mẻ SBR để XLNT đô thị tại Hà Nội có tải trọng hữu cơ thấp trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nước thải nghiên cứu được lấy từ bể điều hòa của Trạm XLNT Kim Liên có tải trọng hữu cơ (OLR) là 0,4-0,6 kg COD/m<sup>3</sup>.ngày, tương ứng với nồng độ nhu cầu oxy hoá học COD là 150-200 mg/l, thời gian nghiên cứu diễn ra trong 55 ngày. Nghiên cứu được thực hiện trên mô hình bể SBR có đường kính ống 0,11 m, cao 1 m, chiều cao chứa nước là 0,8 m, thể tích làm việc của bể là 2,5 l. Bể SBR làm việc với 6 chu kỳ/ngày, thời gian 1 chu kỳ là 4 giờ, trong 1 chu kỳ: pha nạp nước 1-2 phút, pha sục khí 180 phút, pha nghỉ 20-30 phút, pha xả 10-15 phút. Kết quả cho thấy, công nghệ hoạt động ổn định, hiệu quả xử lý trên 92% COD, 90%  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , 20% T-N và 50% T-P.

**Từ khóa:** bể xử lý theo mẻ SBR, bùn hạt hiếu khí, loại bỏ COD, nước thải đô thị tải trọng thấp.

**Chỉ số phân loại:** 2.7

## Đặt vấn đề

Công nghệ XLNT theo mẻ SBR đã chứng minh có nhiều ưu điểm trong XLNT [1]. Tại Việt Nam, theo báo cáo của Ngân hàng thế giới, năm 2013 có 15/32 nhà máy đang hoạt động áp dụng công nghệ XLNT SBR. Nếu tính theo công suất thì có trên 50% lượng nước thải được xử lý bằng công nghệ này tại các đô thị của Việt Nam. Tuy nhiên, hiệu quả XLNT của các nhà máy tại Việt Nam phần lớn chưa đạt hiệu quả như thiết kế, đặc biệt là xử lý nitơ, photpho [2]. Nguyên nhân các công nghệ XLNT đang áp dụng tại Việt Nam làm việc không hiệu quả là do nước thải đô thị Việt Nam phần lớn được thu gom bằng hệ thống cống chung, từ nhiều nguồn khác nhau, nước mưa xâm nhập vào hệ thống thu gom, bể tự hoại được sử dụng phổ biến trong các hộ gia đình nên nước thải đô thị có tải trọng hữu cơ thấp, tỷ số BOD<sub>5</sub>/T-N thấp. Nuôi cấy và sử dụng bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ bể phản ứng theo mẻ SBR trên thế giới bắt đầu từ những năm 1970 [2] và đã được nghiên cứu sâu trong những năm sau đó với các chất nền khác nhau như: glucose, acetate, ethanol, mật mía, đường, tinh bột, phenol, axit phtalic... Các nghiên cứu cho thấy, bùn hạt hiếu khí có thể ứng dụng rộng rãi với các chất nền khác nhau và các loại nước thải khác nhau. Đồng thời, bùn hạt hiếu khí có thể thích ứng với các loại nước thải có mức độ tải trọng hữu cơ khác nhau. Theo nghiên cứu của Moy và cs (2007) [3], bùn hạt hiếu khí có thể thích ứng với nước thải có OLR 2,5-15 kg COD/m<sup>3</sup>.ngày; bùn hạt hiếu khí có thể thích ứng tốt với nước thải đô thị có tải trọng hữu cơ thấp (OLR 0,3-0,6 kg COD/m<sup>3</sup>.ngày) tại Singapore [4]. So với

bùn hoạt tính thông thường, bùn hạt hiếu khí có cơ cấu tốt, có khả năng duy trì sinh khối cao và có thể xử lý các hợp chất độc hại có trong nước thải [4]. Bùn hạt hiếu khí không chỉ có tác dụng loại bỏ tốt carbon mà còn có khả năng loại bỏ nitơ và photpho nhờ quá trình hoạt động của các vi sinh vật hiếu khí, thiếu khí và kỵ khí có trong bùn hạt hiếu khí [4], vì vậy nó được ứng dụng để XLNT sinh hoạt, nước thải của các nhà máy chế biến thực phẩm, nước thải chăn nuôi, nước thải công nghiệp. Đó là sự đảm bảo tin cậy cho những nghiên cứu ứng dụng bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ SBR để XLNT sinh hoạt có tải trọng hữu cơ thấp. Mỗi cấu trúc bùn hạt hiếu khí là tập hợp các nhóm vi khuẩn khác nhau cần thiết cho quá trình chuyển hóa các hợp chất hữu cơ, thành phần của bùn hạt phụ thuộc vào loại cơ chất.

Tại Việt Nam, đã có một vài đề tài nghiên cứu về khả năng loại bỏ COD và nitơ của bùn hạt hiếu khí đối với nước thải công nghiệp, nước rỉ rác, nước thải chăn nuôi, nước thải lò mổ..., tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đối với nước thải đô thị có tải trọng hữu cơ thấp. Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá hiệu quả xử lý COD,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , T-N và T-P của việc ứng dụng bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ SBR đối với nước thải đô thị có tải trọng hữu cơ thấp.

## Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

### Đối tượng nghiên cứu

Nước thải đô thị có tải trọng hữu cơ thấp: nước thải đô thị dùng cho thí nghiệm được lấy từ bể điều hòa của Trạm XLNT Kim

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

# Application of aerobic granulation in SBR technology to treat low-strength urban wastewater

Van Doanh Pham<sup>1\*</sup>, Binh Minh Nguyen<sup>2</sup>,  
Thi Viet Nga Tran<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hanoi Architectural University

<sup>2</sup>Hanoi University of Civil Engineering

Received 4 August 2021; accepted 9 September 2021

## Abstract:

Sequencing Batch Reactor - SBR is an advanced technology to treat wastewater in Vietnam and around the world. Many studies showed that aerobic granular sludge could adapt to various types of wastewater with different organic loads such as industrial wastewater, winery and brewery wastewaters, landfill wastewater, municipal wastewaters. This paper presents the removal results of COD,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , T-N, T-P by applying aerobic granulation in SBR technology to treat low-strength urban wastewater at Hanoi in the laboratory. Research wastewater is taken from Kim Lien wastewater treatment plant with OLR 0.4-0.6 kg COD/ $\text{m}^3\cdot\text{day}$ , equivalent to COD 150-200 mg/l, and studied for 55 days. Research is processed using the SBR technology with a bubble column of 0.11 m in diameter, 1 m in height, a water storage height of 0.8 m, and a working volume of 2.5 l. The reactor was sequentially operated 6 cycles/day. A cycle time is 4 h, in which: water filling phase 1-2 min, aeration phase 180 min, resting phase 20-30 min, discharge phase 10-15 min. The results showed the stable operation of the SBR technology with COD removal efficiency over 92% COD, 90%  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , 20% T-N, and 50% T-P.

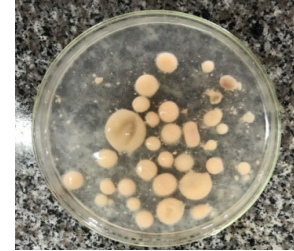
**Keywords:** aerobic granules, COD removal, low-strength urban wastewater, Sequencing Batch Reactor.

**Classification number:** 2.7

Liên (Đống Đa, Hà Nội). Nước thải được lấy từ Trạm xử lý 2 lần một tuần và được đựng trong các can nhựa loại 20 lít, bảo quản ở nhiệt độ phòng trong thời gian 3-4 ngày. Trung bình 5 ngày lấy mẫu phân tích 1 lần, tổng thời gian thí nghiệm là 55 ngày. Đặc điểm, thành phần nước thải đầu vào của thí nghiệm như sau: nồng độ COD 163-212 mg COD/l;  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  14-70 mg N/l; T-N 31-43 mg N/l; T-P 1,5-2,16 mg P/l.

**Bùn hạt:** bùn hạt hiếu khí dùng trong thí nghiệm là nguồn bùn được nuôi cấy thành công trong phòng thí nghiệm của nhóm nghiên cứu (hình 1). Bùn hạt hiếu khí được nhóm nghiên cứu nuôi cấy thành công trong thời gian 4-6 tuần với chất nền là Acetate, có kích thước 3-5 mm, màu nâu, cấu trúc tròn đều và đặc, độ bền của

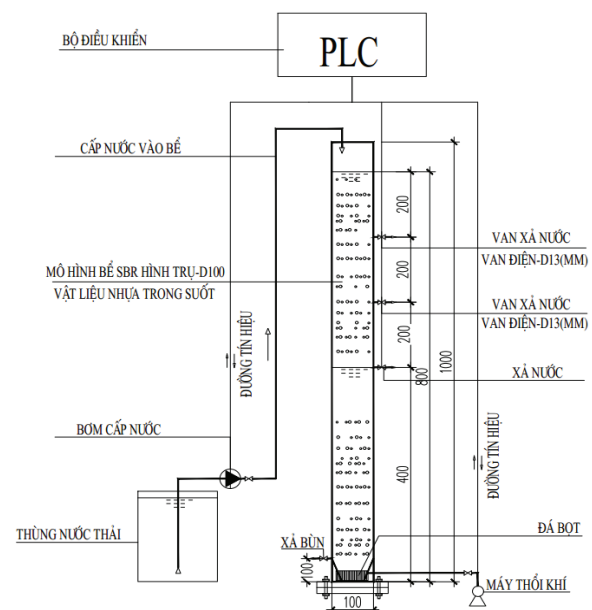
hạt cao, có thể hoạt động ổn định với lưu lượng sục khí 1,5-5 l/phút ở điều kiện nhiệt độ 20-35°C. Nghiên cứu sử dụng 2,5 l dung dịch bùn hạt hiếu khí có nồng độ bùn MLSS 8000 mg/l, MLVSS 7800 mg/l để làm thí nghiệm.



Hình 1. Bùn hạt dùng trong thí nghiệm.

## Phương pháp xây dựng mô hình thí nghiệm

Nghiên cứu được thực hiện trên mô hình bể SBR làm bằng nhựa acrylic trong suốt có đường kính ống 0,11 m, cao 1 m, trong đó chiều cao chứa nước là 0,8 m, thể tích làm việc của bể là 2,5 l. Bể SBR làm việc với 6 chu kỳ/ngày, thời gian 1 chu kỳ là 4 giờ, trong 1 chu kỳ: pha nạp nước 1-2 phút, pha sục khí 180 phút, pha lắng 30-50 phút, pha xả 10-15 phút (hình 2). Không khí được đưa vào bể SBR bằng máy sục khí với bộ khuếch tán khí bằng đá bọt được đặt ở đáy bể, lưu lượng sục khí tăng dần từ 1,5 đến 4,5 l/phút trong thời gian thí nghiệm; trên đường ống dẫn khí lắp đặt bộ van đo lưu lượng sục khí luôn đảm bảo DO từ 2 đến 4 mg/l. Nhiệt độ thí nghiệm là nhiệt độ phòng dao động trong khoảng 27-33°C. Van xả nước được đặt cách đáy bể 0,4 m để thể tích xả khoảng 50% lượng nước sau một chu kỳ hoạt động. Hệ thống kiểm tra pH, DO được đo bằng máy đo cầm tay hàng ngày. Toàn bộ các thiết bị như: bơm cấp nước, máy thổi khí, van xả nước... đều được điều khiển tự động bởi bộ PLC đã được lập trình sẵn theo yêu cầu thí nghiệm.



Hình 2. Sơ đồ công nghệ mô hình bể SBR trong phòng thí nghiệm.

Quá trình vận hành được thực hiện theo 2 bước:

Bước 1: đưa vào bể phản ứng mô hình SBR 2,5 l bùn hạt hiếu khí có nồng độ bùn MLSS 8000 mg/l, MLVSS 7800 mg/l để làm nguồn bùn vi sinh vật cho mô hình và cho mô hình chạy tự động bằng chương trình đã được cài đặt trước trong bộ điều khiển PLC.

Bước 2: tiến hành kiểm tra các thiết bị, van khoá hàng ngày, lấy mẫu định kỳ 5 ngày/lần theo kế hoạch. Chế độ và điều kiện vận hành mô hình được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Chế độ vận hành bể SBR.**

| Ngày thí nghiệm | Tải trọng hữu cơ COD (kg COD/m <sup>3</sup> .ngày) | Nồng độ oxy DO (mg/l) | Nhiệt độ (°C) | Độ pH | Thời gian 1 chu kỳ (phút) |         |       |       |
|-----------------|----------------------------------------------------|-----------------------|---------------|-------|---------------------------|---------|-------|-------|
|                 |                                                    |                       |               |       | Nạp nước                  | Sục khí | Lắng  | Xả    |
| 1-55            | 0,4-0,6                                            | 2,0-4,0               | 25-35         | 6,1-8 | 1-2                       | 180     | 20-30 | 10-15 |

### Phương pháp phân tích

Các thông số được phân tích trong quá trình nghiên cứu bao gồm: COD, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, T-N, T-P, pH, DO, TS (tổng chất rắn), VS (tổng chất rắn bay hơi). Các phương pháp phân tích thông số được thực hiện theo TCVN và được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Phương pháp phân tích các thông số thí nghiệm.**

| Tên chỉ số phân tích         | Đơn vị đo | Phương pháp phân tích                                        | Tần suất phân tích     |
|------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------|------------------------|
| COD                          | mg/l      | Phương pháp 8000, COD dùng cho máy DR890 hoặc TCVN 6491:1999 | 5 ngày 1 lần phân tích |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | mg/l      | Theo chỉ dẫn của thiết bị Method 10031 - Hach                | 5 ngày 1 lần phân tích |
| T-N                          | mg/l      | Theo chỉ dẫn của thiết bị Method 10072 - Hach                | 5 ngày 1 lần phân tích |
| T-P                          | mg/l      | Theo chỉ dẫn của thiết bị Method 8190 - Hach                 | 5 ngày 1 lần phân tích |
| pH                           | -         | Đo bằng sensor, máy pH cầm tay WTW 340i, Đức                 | Đo hàng ngày           |
| DO                           | mg/l      | Đo bằng sensor, máy đo DO cầm tay, Oron, Mỹ                  | Đo hàng ngày           |
| Nhiệt độ                     |           | Nhiệt kế thông thường                                        | Đo hàng ngày           |
| TS                           | mg/l      | Phương pháp trọng lượng, TCVN 6625-2000                      | 5 ngày 1 lần phân tích |
| VS                           | mg/l      | Phương pháp trọng lượng, TCVN 6625-2000                      | 5 ngày 1 lần phân tích |

### Kết quả

#### Hiệu quả loại bỏ COD, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N

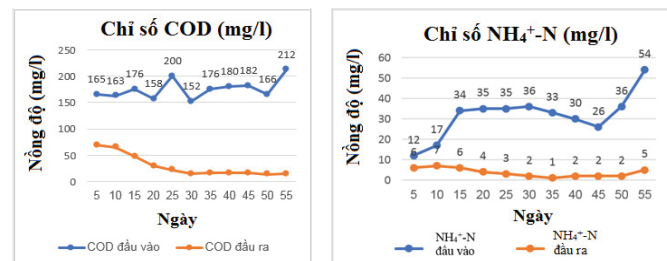
1-5 ngày đầu tiên là giai đoạn khởi động của mô hình, bùn hạt hiếu khí cho vào chưa thích nghi hoàn toàn với môi trường trong bể nên hiệu suất xử lý chưa cao (loại bỏ 57-60% COD, 25-30% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N). Trong các tuần tiếp theo do vi sinh vật trong bùn hạt đã dần thích nghi nên hiệu quả xử lý tăng theo hiệu suất loại bỏ COD (từ 60 lên 90%), NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (từ 45 lên 89%) trong khoảng thời gian 10-25 ngày. Đến giai đoạn tiếp theo, do bùn hạt đã thích nghi hoàn toàn với môi trường thí nghiệm nên hiệu quả xử lý ổn định và luôn duy trì ở mức cao, với hiệu suất loại bỏ trên 92% COD và 90% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N. Điều này có thể lý giải do sự hoạt động của các vi khuẩn trong bể phản ứng SBR đã đạt trạng thái ổn định.

#### Kết quả loại bỏ T-N, T-P

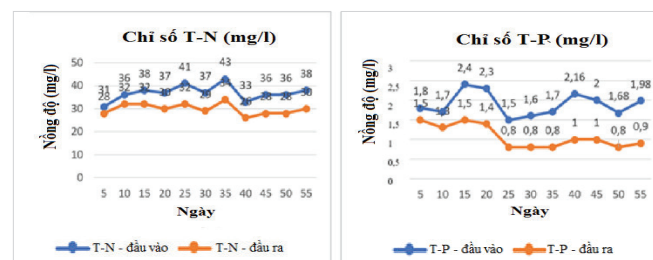
Do trong cấu trúc bùn hạt gồm các vi sinh vật sống ở bề mặt hạt, vi sinh vật thiếu khí và kỵ khí sống ở các lớp dưới bề mặt hạt nên khi các vi sinh vật này hoạt động sẽ tạo ra các quá trình hiếu khí, thiếu khí và

kỵ khí, đây là cơ chế để loại bỏ T-N, T-P trong nước thải. Thí nghiệm bùn hạt hiếu khí XLNT đô thị có tải trọng hữu cơ thấp trên công nghệ SBR cho kết quả xử lý T-N, T-P không cao nếu so sánh với các nghiên cứu khác tương tự trên thế giới [4]. Giai đoạn 1-5 ngày đầu tiên là giai đoạn khởi động của mô hình, bùn hạt hiếu khí cho vào chưa thích nghi hoàn toàn với môi trường trong bể nên hiệu suất xử lý còn thấp (9-10% T-N, 16-23% T-P). Trong các tuần tiếp theo do vi sinh vật trong bùn hạt đã dần thích nghi nên hiệu quả xử lý tăng theo hiệu suất loại bỏ T-N (từ 15 lên 20%), T-P (từ 35 lên 50%) trong khoảng thời gian 10-25 ngày. Hiệu quả xử lý có dao động thay đổi trong khoảng thời gian sau 35 ngày. Tuy nhiên, xu hướng vẫn ổn định và đạt hiệu suất trung bình là 20-21% T-N và 50-52% T-P.

Hiệu quả loại bỏ COD, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N của công nghệ SBR ứng dụng bùn hạt hiếu khí để XLNT đô thị có tải trọng thấp đạt hiệu suất cao và ổn định khi so sánh với các công nghệ XLNT khác đang áp dụng tại Việt Nam. Kết quả khảo sát hiệu quả loại bỏ COD, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N của 15 nhà máy XLNT điển hình với các mô hình công nghệ khác nhau tại Việt Nam dao động từ 60 đến 90% tùy vào công nghệ áp dụng. Tuy nhiên, qua nghiên cứu của nhóm tác giả, công nghệ SBR sử dụng bùn hạt hiếu khí để XLNT đô thị có tải trọng thấp tại Việt Nam cũng có những hạn chế như: hiệu quả loại bỏ T-N và T-P không cao, chỉ đạt mức trung bình hoặc thấp so với các nghiên cứu tương tự trên thế giới, hiệu suất xử lý chỉ đạt 20-21% T-N và 50-52% T-P. Kết quả loại bỏ các chất hữu cơ có trong nước thải được trình bày ở hình 3 và 4.



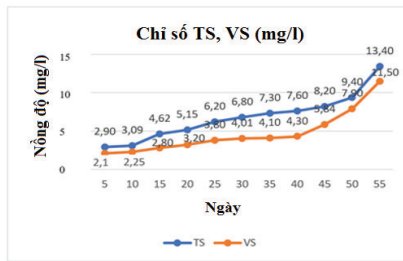
**Hình 3. Kết quả xử lý COD và NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N.**



**Hình 4. Kết quả xử lý T-N và T-P.**

#### Chỉ số TS, VS

Giá trị TS và VS tăng đều trong quá trình làm thí nghiệm, điều đó chứng minh sinh khối vi sinh vật gia tăng. Sinh khối gia tăng sẽ giúp cho hiệu quả XLNT của bùn hạt hiếu khí tăng theo thời gian và đạt đến trạng thái ổn định. Kết quả thí nghiệm cho thấy nồng độ TS, VS tăng dần theo thời gian làm thí nghiệm. Trong giai đoạn 1-2 tuần đầu, các chỉ số TS và VS có tăng dần nhưng chậm, trung bình TS tăng từ 2,9 đến 3,09 mg/l và VS từ 2,1 đến 2,25 mg/l. Tuy nhiên, các tuần tiếp theo có sự gia tăng sinh khối bùn nhanh hơn nên các chỉ số TS tăng từ 4,6 đến 13,4 mg/l và VS tăng từ 2,8 đến 11,5 mg/l (hình 5).



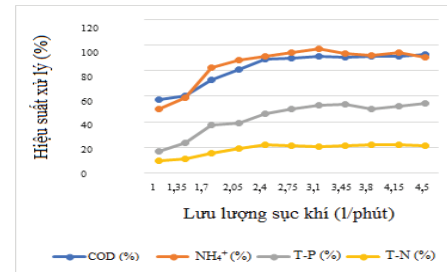
Hình 5. Sự thay đổi nồng độ bùn theo chỉ số TS, VS.

### Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả xử lý

**Thời gian lắng:** có vai trò quan trọng đối với hiệu quả xử lý của trạm XLNT, nó ảnh hưởng trực tiếp đến thời gian của 1 chu kỳ xử lý trong hệ SBR. Khi thời gian lắng càng ngắn, những hạt bùn có khả năng lắng nhanh sẽ được lựa chọn, ngược lại những hạt bùn có khả năng lắng kém sẽ không lắng được và trôi theo dòng nước tại pha xả ra ngoài. Trong 55 ngày thực hiện thí nghiệm, nhóm nghiên cứu đã liên tục điều chỉnh giảm dần thời gian của pha lắng từ 30 xuống 20 phút. Kết quả cho thấy hiệu quả xử lý không giảm và đạt mức ổn định ở thời gian 20 phút. Điều này có thể lý giải là do khi giảm thời gian lắng xuống, các bông bùn lơ lửng sẽ bị đào thải, đây là những bông bùn có khả năng XLNT kém. Những hạt bùn có khả năng lắng tốt hơn được giữ lại, đây là những hạt bùn có khả năng XLNT tốt hơn. Ngoài ra, trong giai đoạn này quá trình hình thành và phát triển của bùn hạt xảy ra mạnh mẽ hơn. Giai đoạn lắng và không cấp thêm nước thải vào được gọi là “giai đoạn đói ăn của vi khuẩn”. Giai đoạn này đóng một vai trò quan trọng đối với sự hình thành các hạt hiếu khí, đồng thời cũng là giai đoạn quan trọng đối với khả năng xử lý hiệu quả của bùn hạt hiếu khí. Sự hình thành hạt hiếu khí được bắt đầu bởi giai đoạn đói. Nó làm cho vi khuẩn kỵ nước hơn, thúc đẩy quá trình tạo hạt từ các bông bùn, đây là cách thức tập hợp của các tế bào chống lại giai đoạn đói thức ăn. Khi bùn hạt tăng trưởng sinh khối thì khả năng loại bỏ các chất hữu cơ có trong nước thải cũng cao hơn. Tuy nhiên, nếu thời gian lắng quá ngắn sẽ dẫn đến rửa trôi thêm nhiều hạt bùn, kéo theo hiệu suất làm việc chung của trạm XLNT giảm xuống, nên việc giảm thời gian lắng chỉ ở một mức độ nhất định. Đối với kết quả thí nghiệm của nhóm nghiên cứu, thời gian lắng tối ưu là 20 phút. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu trên thế giới đã nghiên cứu quá trình XLNT của bùn hạt hiếu khí trên công nghệ SBR với thời gian lắng 15-20 phút, kết quả loại bỏ các chất hữu cơ đạt hiệu quả cao (COD>90%) [4].

**Lưu lượng sục khí:** đây là một trong các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến sự ổn định của bùn hạt hiếu khí. Giai đoạn 1-2 tuần đầu, nhóm nghiên cứu đã vận hành mô hình với lưu lượng sục khí 1-1,5 l/phút, tuy nhiên hiệu suất xử lý không cao (COD<60%,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ <58%, T-N<15% và T-P<20%). Nhóm nghiên cứu đã điều chỉnh tăng dần lưu lượng sục khí về dần mức 1,5-4,5 l/phút, kết quả là hiệu suất xử lý tăng dần và đạt sự ổn định cao trong các tuần tiếp theo (COD 60-92%,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  58-90%, T-N 15-48% và T-P 20-21%). Tuy nhiên, nếu tiếp tục tăng lưu lượng cấp khí vượt 5 l/phút thì hiệu suất xử lý bắt đầu giảm dần. Hiện tượng này có thể được giải thích là do nếu lưu lượng sục khí quá lớn dẫn đến lực cắt tác động lên sự hình thành bùn hạt lớn, làm cho bùn hạt dễ vỡ, cấu trúc bùn hạt phát triển không ổn định. Vì vậy hiệu quả xử lý đạt được không cao. Ngược lại, nếu lưu

lượng cấp khí quá nhỏ sẽ kích thích sự phát triển của các vi sinh vật kỵ khí nên trong bể phản ứng các vi sinh vật hiếu khí không đủ sinh khối cần thiết để XLNT hiệu quả theo mong muốn. Từ kết quả thí nghiệm có thể thấy, hiệu suất xử lý đạt hiệu quả cao khi lưu lượng sục khí dao động từ 1,5 đến 4,5 l/phút. Kết quả này cũng tương đồng với nhiều kết quả nghiên cứu khác trên thế giới [4, 5]. Việc tăng lưu lượng sục khí từ 2,5 lên 3,5 l/phút giúp tăng hiệu quả xử lý COD từ 80 lên trên 90% đối với nước thải đô thị tại Singapore. Mỗi liên hệ giữa lưu lượng sục khí và hiệu quả xử lý được thể hiện ở hình 6.



Hình 6. Mối liên hệ giữa lưu lượng sục khí và hiệu quả xử lý của bùn hạt hiếu khí.

**Nhiệt độ:** trong thời gian 55 ngày thực hiện thí nghiệm, điều kiện thí nghiệm là nhiệt độ phòng luôn biến đổi từ 25 đến 35°C. Qua các phân tích thí nghiệm, nhóm nghiên cứu nhận thấy, khi nhiệt độ dao động hiệu quả xử lý về cơ bản vẫn ổn định, nồng độ bùn và tốc độ lắng vẫn ổn định. Điều này chứng minh nhiệt độ môi trường ít ảnh hưởng đến hiệu quả làm việc của bùn hạt hiếu khí.

### Kết luận

- Hiệu quả loại bỏ COD,  $\text{N-NH}_4^+$  của công nghệ SBR ứng dụng bùn hạt hiếu khí trong nghiên cứu XLNT đô thị tại Việt Nam khá tốt so với bùn hoạt tính thông thường, trung bình COD trên 92%,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  trên 90% khi mô hình đạt trạng thái hoạt động ổn định.

- Kết quả loại bỏ T-N, T-P chỉ ở mức trung bình và thấp (20-21% T-N, 50-52% T-P), điều này cho thấy còn những vấn đề cần khắc phục đối với việc sử dụng bùn hạt hiếu khí để XLNT đô thị tại Việt Nam.

- Hiệu quả của việc ứng dụng bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ SBR để XLNT đô thị có tải trọng thấp có sự ảnh hưởng của các yếu tố: thời gian lắng, lưu lượng sục khí.

- Yếu tố nhiệt độ trong phạm vi 25-35°C không ảnh hưởng nhiều đến hiệu quả loại bỏ COD,  $\text{N-NH}_4^+$ , T-P và T-N.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Mahvi (2018), “Sequencing batch reactor: a promising technology in wastewater treatment”, *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, **2**, pp.79-90.
- [2] Công ty Cổ phần đầu tư xây dựng và thương mại Phú Điền (2019), *Thực trạng các nhà máy XLNT tại Việt Nam*.
- [3] B. Moy, et al. (2007), “COD removal and nitrification of low-strength domestic wastewater in aerobic granular sludge sequencing batch reactors”, *Enzyme and Microbial Technology*, **1**, pp.23-28.
- [4] Sunil S. Adav, et al. (2008), “Aerobic granular sludge: recent advances”, *Biotechnol. Adv.*, **26**, pp.411-423.
- [5] Y. Liu, et al. (2014), “State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment”, *Biotechnology Advances*, **22**, pp.533-563.

# Nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp lipid của hai chủng nấm men *Rhodosporidium toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765

Mai Thị Đàm Linh<sup>1\*</sup>, Đỗ Thị Quỳnh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Mai<sup>2</sup>, Phạm Thanh Hiền<sup>1</sup>, Trần Văn Tuấn<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ KH&CN

<sup>3</sup>Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 1/7/2021; ngày chuyển phản biện 5/7/2021; ngày nhận phản biện 3/8/2021; ngày chấp nhận đăng 5/8/2021

## Tóm tắt:

Nấm men *Rhodosporidium toruloides* có khả năng sinh tổng hợp và tích lũy lipid lên tới hơn 30% trọng lượng khô của tế bào. Đây là nguồn nguyên liệu tiềm năng dùng trong sản xuất diesel sinh học (biodiesel). Trong nghiên cứu này, các tác giả đã tiến hành khảo sát khả năng sinh tổng hợp lipid của 2 chủng nấm men *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765. Kết quả cho thấy, cả 2 chủng đều có khả năng tích lũy lipid đạt khoảng 45% trọng lượng khô của tế bào khi nuôi cấy ở 30°C trong 48 giờ với môi trường nuôi có pH 5,5. Khảo sát ảnh hưởng của một số nguồn cacbon lên khả năng sinh tổng hợp lipid của 2 chủng nấm men này cho thấy, rỉ đường có thể dùng làm nguồn cacbon thay thế cho glucose. Khi nuôi 2 chủng nấm men này trên nguồn cacbon giá rẻ là rỉ đường, khả năng sinh tổng hợp lipid của cả 2 chủng đạt khoảng 44%, tương đương với khi nuôi trên môi trường có nguồn cacbon là glucose.

**Từ khóa:** điều kiện nuôi cấy, nấm men, *Rhodosporidium toruloides*, sinh tổng hợp lipid.

**Chỉ số phân loại:** 2.8

## Đặt vấn đề

Sự gia tăng của giá dầu thô cùng với những ảnh hưởng tiêu cực của nhiên liệu hóa thạch đối với môi trường đã thúc đẩy nhiều nghiên cứu về nhiên liệu sinh học trong những năm gần đây. Một trong những nguồn năng lượng tái tạo nổi bật nhất chính là biodiesel [1]. Nguồn cung cấp biodiesel bao gồm mỡ động vật, dầu thực vật hoặc các vi sinh vật sinh dầu (oleaginous microorganism). Sản xuất biodiesel từ mỡ động vật và dầu thực vật thường cần chi phí cao, đòi hỏi diện tích nuôi trồng lớn. Do đó, việc tìm kiếm các chủng vi sinh vật sinh lipid được đặc biệt quan tâm do chi phí sản xuất thấp, quá trình nuôi cấy đơn giản và có năng suất cao. Lipid tách chiết từ vi sinh vật được sử dụng để chuyển hóa thành dạng biodiesel tinh khiết [1-3].

Do nấm men có cấu tạo đơn bào, sinh trưởng nhanh trên môi trường dinh dưỡng đơn giản nên có nhiều lợi thế trong nghiên cứu sản xuất lipid hơn so với các vi sinh vật sinh lipid khác là nấm sợi và vi tảo [2]. Nấm men *R. toruloides* được chứng minh là có khả năng sinh tổng hợp một lượng lớn lipid và carotenoid, trong đó lượng lipid tích lũy có thể lên đến 30% trọng lượng tế bào ở một số chủng. Số lượng các công trình nghiên cứu về sinh tổng hợp lipid ở *R. toruloides* tăng nhanh trong những năm gần đây, đặc biệt khi công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới, các kỹ thuật về cải biến di truyền và cải biến trao đổi chất ngày càng phát triển [1-3].

Quá trình sinh tổng hợp và tích lũy lipid ở *R. toruloides* phụ thuộc nhiều vào chủng giống, tỷ lệ nguồn cacbon/nitơ, thành phần môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy [4, 5]. Nghiên cứu xác định được các yếu tố thích hợp cho sinh trưởng ở mỗi chủng *R. toruloides* có thể thúc đẩy khả năng tích lũy lipid trong tế bào. Tại Việt Nam, chưa có công trình nào nghiên cứu về khả năng sinh lipid của các chủng nấm men, đặc biệt là từ *R. toruloides*. Các nghiên cứu trong

nước mới chỉ tập trung phân tích đặc điểm sinh học như khả năng sinh carotenoid, sinh tổng hợp sắc tố astaxanthin và nghiên cứu sự đa dạng của loài nấm men này [6, 7]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện sinh trưởng đến khả năng sinh lipid của 2 chủng nấm men *R. toruloides* có nguồn gốc Việt Nam. Các kết quả thu được cho thấy, 2 loài nấm men này có khả năng tích lũy lipid lên đến gần 50% trọng lượng khô của tế bào khi được nuôi cấy ở điều kiện tối ưu về nhiệt độ, thời gian và pH môi trường. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, nguồn phụ phẩm giá rẻ là rỉ đường có thể được sử dụng làm nguồn cacbon thay thế cho đường glucose để nuôi nấm men *R. toruloides* phục vụ thu nhận lipid ở quy mô lớn.

## Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### Vật liệu

Chủng nấm men *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 được cung cấp bởi Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật (<http://vtcc.imbt.vnu.edu.vn>), Viện Vi sinh vật học và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội.

### Phương pháp nghiên cứu

**Nuôi cấy nấm men *R. toruloides*:** bổ sung 2,5 ml dịch huyền phù chủng nấm men *R. toruloides* (OD=1 tương đương khoảng  $5,3 \times 10^3$  CFU/ml) vào bình tam giác 100 ml chứa 50 ml môi trường MM (glucose 5 g,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  2 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  3 g, cao nấm men 2 g,  $\text{NaCl}$  5 g,  $\text{MgSO}_4$  0,1 g, nước cất 1000 ml, pH 5,5). Nấm men được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút.

**Tách chiết và xác định hàm lượng lipid từ sinh khối nấm men:** sử dụng phương pháp tách chiết lipid của Bligh và Dyer (1959) [8] cho tỷ lệ 5 ml dịch nuôi cấy tương ứng. Ly tâm dịch nuôi cấy ở tốc

\*Tác giả liên hệ: Email: [linhmd@vnu.edu.vn](mailto:linhmd@vnu.edu.vn)

# Study on the lipid biosynthesis of two oleaginous yeast strains *Rhodospiridium toruloides* VTCC 20689 and VTCC 20765

Thi Dam Linh Mai<sup>1\*</sup>, Thi Quynh Do<sup>1</sup>,  
Thi Thanh Mai Nguyen<sup>2</sup>, Thanh Hien Pham<sup>1</sup>,  
Van Tuan Tran<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Biology, University of Science,  
Vietnam National University, Hanoi

<sup>2</sup>Centre of Experimental Biology,

National Centre for Technological Progress, MOST

<sup>3</sup>National Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology,  
University of Science, Vietnam National University, Hanoi

Received 1 July 2021; accepted 5 August 2021

## Abstract:

The yeast *Rhodospiridium toruloides* is capable of lipid biosynthesis and accumulation up to more than 30% of dried cell biomass. It is a potential source for biodiesel production. Recent studies have shown that the applications of culture technologies can promote increased lipid accumulation in *R. toruloides*. In this study, the authors investigated the lipid biosynthesis ability of two yeast strains *R. toruloides* VTCC 20689 and VTCC 20765 isolated in Vietnam. The results indicated that both strains have the ability to accumulate lipids up to approximately 45% of the dried biomass of cells when cultured at 30°C for 48 h in the culture medium with pH 5.5. Cultivation of these two yeast strains on some different carbon sources showed that sugarcane molasses can be used as a low-cost carbon source for efficient lipid biosynthesis. When growing both strains on the medium with sugarcane molasses, the lipid biosynthesis reached about 44%, which is equivalent to in the medium with glucose.

**Keywords:** culture conditions, lipid biosynthesis, *Rhodospiridium toruloides*, yeast.

**Classification number:** 2.8

độ 6.000 vòng/phút, trong 10 phút ở 4°C, loại bỏ dịch để thu cặn. Rửa cặn với nước cất vô trùng, sau đó ly tâm lần 2. Lặp lại bước rửa cặn, ly tâm để thu sinh khối. Sau đó, sinh khối được sử dụng để tách chiết lipid theo các bước như sau:

Bước 1: bổ sung 3,75 ml hỗn hợp methanol:chloroform (tỷ lệ 2:1) và trộn đều bằng máy vortex trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.

Bước 2: bổ sung 1,25 ml chloroform, trộn đều bằng máy vortex trong 15 phút ở nhiệt độ phòng.

Bước 3: bổ sung 1,25 ml nước cất, trộn đều bằng máy vortex trong

15 phút ở nhiệt độ phòng.

Sau đó, hỗn hợp được ly tâm ở 3.000 vòng/phút, trong 15 phút ở 4°C. Hỗn hợp sau ly tâm gồm 3 lớp, trong đó lớp thứ nhất và thứ hai chứa xác tế bào và methanol (không chứa lipid), lớp thứ ba chứa hỗn hợp chloroform và lipid được thu hồi. Sấy khô mẫu dịch lỏng thu được ở 70-80°C cho đến khi khối lượng không thay đổi. Hàm lượng lipid thu được tính theo công thức:

$$W = W_2 - W_1$$

trong đó: W: lượng lipid thu được (g);  $W_2$ : khối lượng ống sau khi sấy (g);  $W_1$ : khối lượng ống rỗng trước khi thu dịch lỏng (g).

**Thử nghiệm ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy:** 2,5 ml dịch nuôi nấm men ( $OD_{600\text{ nm}} = 1$ ) được bổ sung vào bình tam giác 100 ml chứa 50 ml môi trường MM. Nấm men được nuôi ở 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút trong 126 giờ. Thu sinh khối nấm men sau 24, 30, 48, 54, 72, 78, 96, 102, 120 và 126 giờ. Thực hiện tách chiết và xác định hàm lượng lipid của các mẫu sinh khối.

**Thử nghiệm ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy:** nấm men được nuôi ở các nhiệt độ khác nhau gồm 25, 30 và 37°C. Môi trường và thời gian nuôi cấy tối ưu dựa vào các thí nghiệm đã thực hiện. Sinh khối tế bào nấm men được thu hồi cho tách chiết và xác định hàm lượng lipid.

**Thử nghiệm ảnh hưởng của pH:** pH của môi trường được xác định bằng máy đo pH. Hai dung dịch NaOH 1 M và HCl 4 M được sử dụng để điều chỉnh pH về các giá trị khác nhau, gồm pH 4,5, 5,5, 6,0, 6,5 và 7,0. Các bình nuôi cấy được nuôi ở 30°C trong máy lắc ổn nhiệt với tốc độ 200 vòng/phút trong thời gian tối ưu đã được xác định trước đó. Sau đó, dịch nuôi được ly tâm để thu sinh khối tế bào phục vụ cho tách chiết và xác định hàm lượng lipid.

**Thử nghiệm ảnh hưởng của nguồn cacbon:** glucose, glycerol, saccharose, lactose, maltose hoặc ri đường (5 g/l) được bổ sung vào môi trường MM (pH 5,5) dưới dạng nguồn cacbon duy nhất. Tiến hành nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C; tốc độ lắc 200 vòng/phút. Sau thời gian nuôi cấy, thu sinh khối để tiến hành tách chiết và xác định hàm lượng lipid.

**Xử lý số liệu:** các thí nghiệm được lặp lại 3 lần độc lập và số liệu được xử lý với phần mềm Microsoft Excel.

## Kết quả và thảo luận

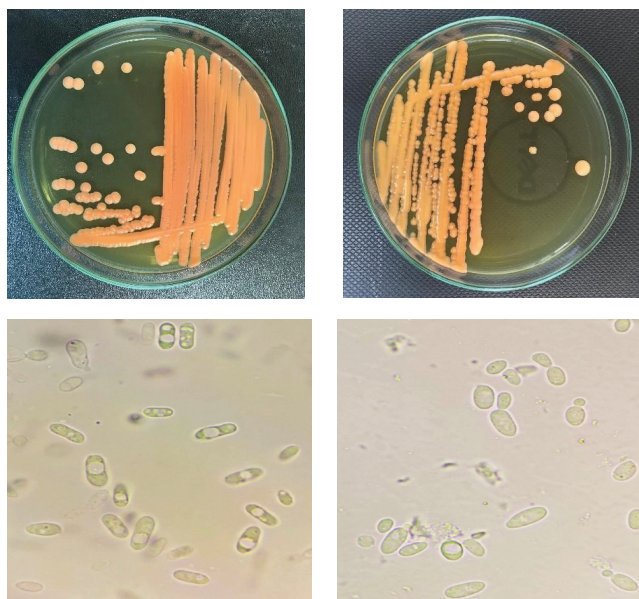
**Đặc điểm hình thái của hai chủng *R. toruloides* dùng trong nghiên cứu**

Chủng nấm men *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 được lưu giữ tại Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật. Tuy nhiên, thông tin liên quan đến đặc điểm hình thái của 2 chủng nấm men này trên cơ sở dữ liệu nguồn gen chưa có. Do đó, việc cung cấp minh chứng về đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của cả 2 chủng dùng trong nghiên cứu là cần thiết. Hai chủng được nuôi trên môi trường thạch YPD (yeast extract potato dextrose) trong 96 giờ ở 30°C để phục vụ phân tích đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào. Chủng *R. toruloides* VTCC 20689 có khuẩn lạc tròn, bề mặt trơn bóng, màu đỏ cam đậm. Chủng *R. toruloides* VTCC 20765 có hình thái tương tự như chủng *R. toruloides* VTCC 20689, nhưng khuẩn lạc có màu đỏ cam nhạt hơn. Khi quan sát dưới kính hiển vi, cả 2 chủng đều có tế bào hình ovan đặc trưng và chuyển thành dạng que ngắn với giọt lipid bên trong tế

bào ở giai đoạn già hóa (hình 1). Các kết quả này cũng tương đồng với các kết quả đã công bố về đặc điểm hình thái của *R. toruloides* [1, 2].

*R. toruloides* VTCC 20689

*R. toruloides* VTCC 20765



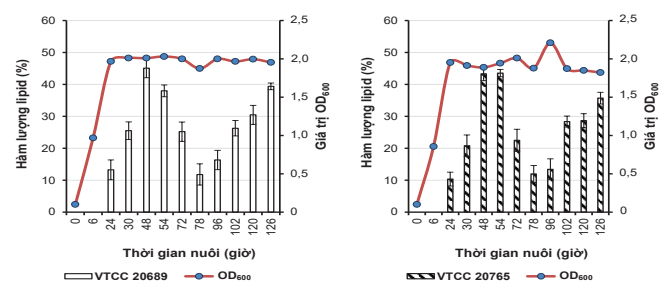
**Hình 1. Đặc điểm hình thái của hai chủng nấm *R. toruloides*.** Khuẩn lạc của chủng VTCC 20689 và VTCC 20765 nuôi trên môi trường YPD. Hình thái tế bào của 2 chủng dưới kính hiển vi (độ phóng đại 1.500 lần) sau 48 giờ nuôi trên môi trường MM.

Mỗi chủng *R. toruloides* có thể có những đặc điểm về sinh trưởng và khả năng tích lũy lipid khác nhau. Các thay đổi về thời gian, nhiệt độ nuôi cấy, nguồn cacbon có thể ảnh hưởng đến sự tích lũy của lipid trong tế bào nấm men. Do đó, việc xác định các điều kiện phù hợp cho sinh trưởng và tích lũy lipid của chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 là có ý nghĩa.

#### Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp lipid của 2 chủng *R. toruloides*

Xác định được thời gian nuôi cấy thích hợp sẽ giúp giảm chi phí thí nghiệm, đồng thời thu được sinh khối tế bào nấm men ở trạng thái tối ưu về tích lũy lipid. Sinh trưởng của hai chủng *R. toruloides* được khảo sát trong khoảng thời gian 0-126 giờ sử dụng phương pháp đo OD tại bước sóng 600 nm. Sau 24 giờ, sinh khối tế bào được thu hồi để tách chiết và xác định hàm lượng lipid. Kết quả cho thấy, 2 chủng *R. toruloides* bắt đầu sinh trưởng mạnh sau 6 đến 24 giờ nuôi và đạt mức sinh trưởng tối đa sau 48 giờ. Hàm lượng lipid tích lũy biến động theo thời gian và đạt mức cao nhất sau 48 giờ nuôi (tương ứng đạt 45,40% ở *R. toruloides* VTCC 20689 và 44,34% ở *R. toruloides* VTCC 20765). Sau một khoảng thời gian giảm xuống thì sự tích lũy lipid tăng trở lại ở thời điểm 126 giờ (đạt 39,38% ở *R. toruloides* VTCC 20689 và 35,69% ở *R. toruloides* VTCC 20765). Tuy nhiên, hàm lượng lipid tích lũy ở thời điểm 126 giờ vẫn thấp hơn ở 48 giờ và giảm mạnh sau 126 giờ nuôi cấy xuống dưới 30% (dữ liệu không chi ra). Theo Uprety và cs (2017) [9], thời gian nuôi cấy để thu lipid ở chủng *R. toruloides* ATCC 10788 là 168 giờ với hàm lượng lipid đạt trên 30%. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của Zheng và cs (2021) [10] cho thấy, thời gian cần để đạt được hàm lượng lipid tương tự ở

*R. toruloides* là 144 giờ. Trong nghiên cứu này, 2 chủng *R. toruloides* nguồn gốc Việt Nam (VTCC 20689, VTCC 20765) có tốc độ sinh trưởng nhanh và thời gian cần để tích lũy hàm lượng lipid cao nhất chỉ sau 48 giờ (hình 2).

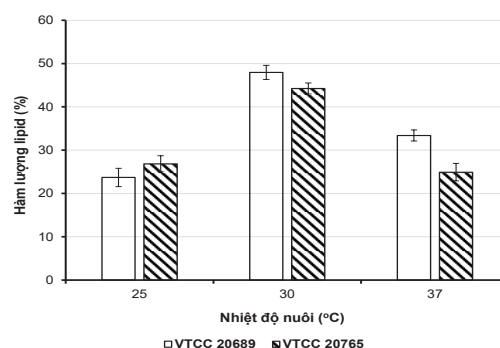


**Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy lên sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid của chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765.**

Kết quả thu được cho thấy, 2 chủng nấm men *R. toruloides* bắt đầu sinh trưởng mạnh sau 6 giờ nuôi cấy. Chủng hình thành hai đỉnh sinh trưởng lần lượt tại 48 và 96 giờ. Từ 102-126 giờ là giai đoạn suy thoái. Hàm lượng tích lũy lipid biến động theo thời gian, đạt cao nhất tại thời điểm nuôi cấy 48 giờ (khoảng 45% đối với *R. toruloides* VTCC 20689 và 44% đối với *R. toruloides* VTCC 20765) và thứ 2 là tại 126 giờ (39,38% với *R. toruloides* VTCC 20689 và 35,69% với *R. toruloides* VTCC 20765).

#### Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến khả năng sinh tổng hợp lipid của 2 chủng *R. toruloides*

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả tiến hành khảo sát các nhiệt độ nuôi cấy khác nhau để tìm ra nhiệt độ thích hợp nhất cho quá trình sinh tổng hợp lipid ở 2 chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765. Kết quả được thể hiện ở hình 3.



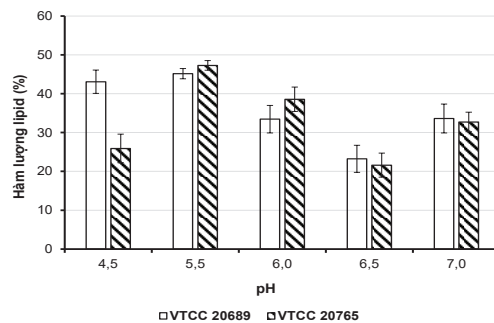
**Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh tổng hợp lipid của chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765.**

Kết quả hình 3 cho thấy, nhiệt độ thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid của cả 2 chủng *R. toruloides* là ở 30°C. Hàm lượng lipid thu được đạt khoảng 45% đối với chủng VTCC 20689 và 44% đối với chủng VTCC 20765. Ở nhiệt độ 25 và 37°C, khả năng sinh tổng hợp lipid của 2 chủng đều giảm mạnh (hàm lượng lipid chỉ đạt khoảng 30%). Theo các tổng hợp của Ageitos và cs (2011) [2], nhiệt độ thích hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid của các chủng nấm men *R. toruloides* thường là 28-30°C, chỉ một số chủng có khả năng tích lũy lipid ở 25°C. Trong nghiên cứu này, 2 chủng *R.*

*toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 đều sinh tổng hợp lipid cao nhất ở nhiệt độ 30°C. Ở nhiệt độ 25 và 37°C, 2 chủng này tích lũy hàm lượng lipid tương đối thấp (dưới 30%).

#### **Ảnh hưởng của pH đến sinh tổng hợp lipid của 2 chủng *R. toruloides***

Thay đổi giá trị pH môi trường nuôi có thể ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp lipid của các chủng nấm men nghiên cứu. Chúng tôi tiến hành kiểm tra các giá trị pH khác nhau của môi trường nuôi cấy gồm pH 4,5, 5,5, 6, 6,5 và 7. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở hình 4.



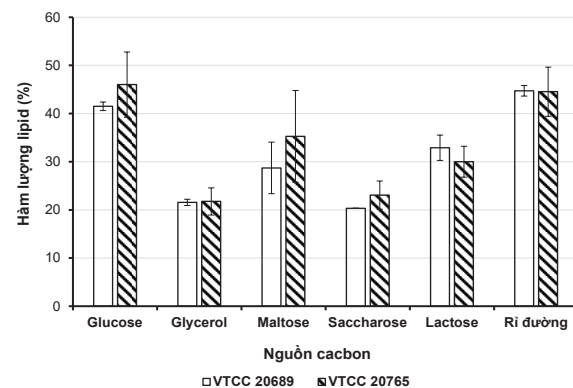
**Hình 4. Sinh tổng hợp lipid ở các giá trị pH khác nhau của 2 chủng *R. toruloides*.**

Kết quả thu được cho thấy, cả 2 chủng nấm men *R. toruloides* đều có khả năng sinh hàm lượng lipid cao ở pH 5,5 (đạt khoảng 45% trọng lượng sinh khối khô đối với chủng VTCC20689 và 44% đối với chủng VTCC 20765). Ở giá trị pH dưới 5 và trên 6, khả năng tích lũy lipid của 2 chủng này giảm đáng kể. Các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng, sự thay đổi giá trị pH môi trường có ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid ở nấm men *R. toruloides*. Nghiên cứu của Dias và cs (2016) [11] cho thấy, pH 4 là tối ưu nhất cho sinh tổng hợp lipid của chủng *R. toruloides* NCYC 921, trong khi pH 5 cho tốc độ sinh trưởng cao nhất. Các nghiên cứu khác cũng cho thấy, pH 5-6 là thích hợp cho quá trình tích lũy lipid ở chủng nấm men *R. toruloides* [2]. Kết quả của nghiên cứu này cũng cho thấy, cả 2 chủng *R. toruloides* đều cho khả năng sinh lipid cao ở pH 5,5 với hàm lượng đạt khoảng 44-45% trọng lượng sinh khối khô. Tại pH dưới 5 và trên 6, khả năng tích lũy lipid của 2 chủng này giảm đáng kể. Do đó có thể kết luận rằng, giá trị pH 5,5 là thích hợp nhất cho nuôi cấy 2 chủng nấm men VTCC 20689 và VTCC 20765.

Như vậy, khi kiểm tra ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy, pH và thời gian nuôi khác nhau của 2 chủng nấm men *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 được phân lập tại Việt Nam cho thấy, 2 chủng này tích lũy lipid cao nhất khi nuôi cấy trên môi trường MM ở nhiệt độ 30°C, pH 5,5 trong 48 giờ. Các đặc điểm này tương tự với nhiều công bố trên thế giới về điều kiện sinh lipid của loài nấm men *R. toruloides* này [2, 11]. Khả năng sinh tổng hợp lipid của 2 chủng nấm men phân lập tại Việt Nam đạt khá cao (khoảng 45%) so với các công bố về khả năng sinh lipid của loài *R. toruloides* [2, 9]. Tuy nhiên, có một điểm khác biệt là 2 chủng nấm men trong nghiên cứu này sinh tổng hợp và tích lũy lipid trong thời gian ngắn hơn (chỉ sau 48 giờ nuôi cấy), trong khi các công bố trên thế giới thường cho thấy, thời gian tích lũy lipid của *R. toruloides* là 72-96 giờ, thậm chí là trên 144 giờ [9, 10]. Đây sẽ là ưu điểm quan trọng khi ứng dụng các chủng nấm men này nhằm thu hồi lipid phục vụ cho sản xuất diesel sinh học.

#### **Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến khả năng tích lũy lipid của hai chủng *R. toruloides***

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả đã tiến hành đánh giá khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid của 2 chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 trên các nguồn cacbon khác nhau, gồm glucose, ri đường, saccharose, maltose, lactose và glycerol. Kết quả được minh họa ở hình 5 cho thấy, cả 2 chủng đều sinh trưởng mạnh ( $OD_{600} > 2$ ) trên môi trường chứa glycerol và saccharose, tuy nhiên hàm lượng lipid tích lũy trong tế bào lại thấp nhất (chỉ đạt khoảng 20%). Ngược lại, trên môi trường với ri đường là nguồn cacbon duy nhất, 2 chủng này sinh trưởng yếu hơn so với môi trường chứa glucose ( $OD_{600}$  chỉ đạt khoảng 1,6-1,7), nhưng cho hàm lượng lipid tích lũy trong tế bào đạt trên 44% đối với cả 2 chủng (tương đương nuôi trên nguồn glucose).



**Hình 5. Sinh tổng hợp lipid của 2 chủng *R. toruloides* trên các nguồn cacbon khác nhau.**

*R. toruloides* được chứng minh là có khả năng sinh trưởng trên nhiều nguồn cacbon khác nhau như glycerol, xylose, arabinose và thậm chí với cả dịch thủy phân lignocellulose, hay tinh bột [12-14]. Mặc dù glucose vẫn là nguồn cacbon tốt nhất cho sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid ở loài nấm men này, nhưng các công bố gần đây cho thấy, nhiều nguồn cacbon khác có thể sử dụng để thay thế glucose trong môi trường nuôi như glycerol, methanol giúp giảm chi phí [2, 13]. Glycerol được xem là cơ chất lý tưởng để thay thế glucose cho nuôi cấy nấm men sinh tổng hợp và tích lũy lipid [7, 15]. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của các tác giả, cả 2 chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 lại sinh tổng hợp lipid với hàm lượng khá thấp trên nguồn cacbon là glycerol (hình 5).

Ri đường là sản phẩm phụ của quá trình sản xuất và tinh luyện đường, chứa hàm lượng cao các chất dinh dưỡng và khoáng chất hỗ trợ tốt cho sự sinh trưởng của nấm men [10, 15, 16]. Đây được coi là phế phụ phẩm của ngành công nghiệp sản xuất đường. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy, 2 chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 sinh trưởng mạnh trên môi trường với nguồn cacbon là ri đường và sinh tổng hợp lipid với hàm lượng cao (tương đương với nguồn cacbon là glucose). Điều này mở ra tiềm năng ứng dụng nguồn cacbon giá rẻ (ri đường) trong nuôi cấy hai chủng nấm men VTCC 20689 và VTCC 20765 để thu nhận lipid quy mô lớn phục vụ cho sản xuất biodiesel trong tương lai.

## Kết luận

Hai chủng nấm men *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 đã được chứng minh là có khả năng sinh tổng hợp lipid với hàm lượng đạt khoảng 45% trọng lượng khô của tế bào. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, cả 2 chủng đều có khả năng tích lũy lipid cao nhất sau 48 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C và pH 5,5. Điều kiện về nuôi cấy sinh lipid của 2 chủng VTCC 20689 và VTCC 20765 cũng tương đương với kết quả đã công bố đối với các chủng *R. toruloides* khác trên thế giới. Kết quả khảo sát sự sinh trưởng và sinh tổng hợp lipid trên các nguồn cacbon khác nhau đã tìm ra nguồn cacbon giá rẻ là rỉ đường, phù hợp để nuôi chủng *R. toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765 cho sinh tổng hợp lượng lớn lipid, tương đương với nuôi cấy trên nguồn glucose.

## LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ (BIOFUND) của Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội đã hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.L. Adrio (2017), "Oleaginous yeasts: promising platforms for the production of oleochemicals and biofuels", *Biotechnology and Bioengineering*, **114**(9), pp.1915-1920.
- [2] J.M. Ageitos, et al. (2011), "Oily yeasts as oleaginous cell factories", *Applied and Microbiology and Biotechnology*, **90**(4), pp.1219-1227.
- [3] X. Meng, et al. (2009), "Biodiesel production from oleaginous microorganisms", *Renewable Energy*, **34**(1), pp.1-5.
- [4] R.R. Bommarreddy, W. Sabra, G. Maheshwari, A.P. Zeng (2015), "Metabolic network analysis and experimental study of lipid production in *Rhodospiridium toruloides* grown on single and mixed substrates", *Microbial Cell Factories*, **14**, pp.36-49.
- [5] J. Xu, W. Du, X. Zhao, D. Liu (2016), "Renewable microbial lipid production from oleaginous yeast: some surfactants greatly improved lipid production of *Rhodospiridium toruloides*", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **32**(7), pp.107-116.
- [6] T.N. Tran, D.H. Ngo, Q.T. Tran, H.C. Nguyen, C.H. Su, D.N. Ngo (2020), "Enhancing astaxanthin biosynthesis by *Rhodospiridium toruloides* mutants and

optimization of medium compositions using response surface methodology", *Processes*, **8**(4), DOI: 10.3390/pr8040497.

[7] T.N. Tran, D.H. Ngo, N.T. Nguyen, D.N. Ngo (2019), "Draft genome sequence data of *Rhodospiridium toruloides* VN1, a strain capable of producing natural astaxanthin", *Data in Brief*, **26**, DOI: 10.1016/j.dib.2019.104443.

[8] E.G. Bligh, W.J. Dyer (1959), "A rapid method for total lipid extraction and purification", *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**(8), pp.911-917.

[9] B.K. Uprety, S.S. Dalli, S.K. Rakshit (2017), "Bioconversion of crude glycerol to microbial lipid using a robust oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* ATCC 10788 capable of growing in the presence of impurities", *Energy Conversion and Management*, **135**, pp.117-128.

[10] X. Zheng, et al. (2021), "Lipid and carotenoid production by the *Rhodospiridium toruloides* mutant in cane molasses", *Bioresource Technology*, **326**, DOI: 10.1016/j.biortech.2021.124816.

[11] C. Dias, et al. (2016), "Effect of medium pH on *Rhodospiridium toruloides* NCYC 921 carotenoid and lipid production evaluated by flow cytometry", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **179**(5), pp.776-787.

[12] Z. Gao, et al. (2016), "Effect of crude glycerol impurities on lipid preparation by *Rhodospiridium toruloides* yeast 32489", *Bioresource Technology*, **218**, pp.373-379.

[13] Q. Fei, et al. (2016), "Enhanced lipid production by *Rhodospiridium toruloides* using different fed-batch feeding strategies with lignocellulosic hydrolysate as the sole carbon source", *Biotechnology for Biofuels*, **9**, DOI: 10.1186/s13068-016-0542-x.

[14] S.S. Tchakouteu, et al. (2015), "Lipid production by yeasts growing on biodiesel-derived crude glycerol: strain selection and impact of substrate concentration on the fermentation efficiency", *Journal of Applied Microbiology*, **118**(4), pp.911-927.

[15] M. Hassanpour, et al. (2020), "Scale-up of two-step acid-catalysed glycerol pretreatment for production of oleaginous yeast biomass from sugarcane bagasse by *Rhodospiridium toruloides*", *Bioresource Technology*, **313**, DOI: 10.1016/j.biortech.2020.123666.

[16] N. Bonturi, et al. (2017), "Microbial oil production in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate without nutrient supplementation by a *Rhodospiridium toruloides* adapted strain", *Process Biochemistry*, **57**, pp.16-25.

# Phân lập và tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu từ trái măng cầu xiêm *Annona muricata*

Đoàn Thị Kiều Tiên<sup>1</sup>, Đỗ Thị Tuyết Nhung<sup>1</sup>, Lê Trí Ân<sup>1</sup>, Trần Hoàng Hiệp<sup>1</sup>,  
Huỳnh Thị Ngọc Mi<sup>2</sup>, Nguyễn Ngọc Thanh<sup>2</sup>, Huỳnh Xuân Phong<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ thực phẩm và Công nghệ sinh học, Trường Đại học Kỹ thuật - Công nghệ Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

Ngày nhận bài 23/3/2021; ngày chuyển phản biện 29/3/2021; ngày nhận phản biện 7/5/2021; ngày chấp nhận đăng 14/5/2021

## Tóm tắt:

Rượu vang là loại thức uống có lợi sức khỏe và đang có xu hướng phát triển ngày càng đa dạng nhờ các chất có hoạt tính sinh học cao, khả năng kháng oxy hóa trong trái cây được giữ nguyên sau khi lên men bởi nấm men. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phân lập, tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu vang măng cầu xiêm. Nghiên cứu đã phân lập được 8 chủng nấm men, trong đó tuyển chọn được 5 chủng nấm men NM1.1, NM1.2, NM2.1, NM3.1 và NM3.2 có khả năng lên men rượu vang măng cầu. Sản phẩm rượu sau lên men sử dụng chủng NM1.1 với điều kiện ban đầu là 22°Brix, pH 4,5, tỷ lệ nấm men bổ sung là 1% (w/v) ở nhiệt độ phòng (28-30°C) trong thời gian 12 ngày cho hàm lượng ethanol là 10% v/v, methanol là 1,304 g/l và SO<sub>2</sub> là 10,9 mg/l, đạt Quy chuẩn Việt Nam QCVN 6-3:2010/BYT.

**Từ khóa:** *Annona muricata*, kháng oxy hóa, măng cầu xiêm, nấm men, rượu vang măng cầu xiêm.

**Chỉ số phân loại:** 2.10

## Giới thiệu

Ngày nay ngành công nghiệp sản xuất rượu vang từ trái cây ngày càng phát triển, do đó nguồn nấm men cần thiết cho sự lên men cũng được quan tâm nhiều hơn. Trên thế giới cũng như ở Việt Nam đã có nhiều nghiên cứu về phân lập và tuyển chọn nguồn nấm men tự nhiên từ trái cây, như dưa hấu [1], khóm, cam [2, 3], thốt nốt [4], trái giắc [5]... Nhiều nghiên cứu cho thấy, việc sử dụng các chủng nấm men được phân lập từ các nguồn trái cây cung cấp để lên men cho chính nguồn trái cây đó có hiệu quả đặc trưng cho từng loại rượu và sản phẩm rượu vang cũng đạt chất lượng theo yêu cầu [1, 2].

Rượu vang trái cây là một thức uống có lợi cho sức khỏe và đang có xu hướng phát triển ngày càng đa dạng. Rượu vang được sản xuất từ nhiều nguồn trái cây khác nhau như nho, cam, chuối, táo... Bên cạnh đó, các loại trái như giắc, cam, nho, chanh hay măng cầu xiêm... cũng chứa nhiều chất có hoạt tính sinh học cao, có khả năng kháng oxy hóa, kháng viêm hay được sử dụng nhiều trong y học dân gian, đã góp phần không nhỏ trong việc lựa chọn nguồn nguyên liệu trái cây lên men, giúp ngành công nghiệp rượu vang ngày càng phát triển.

Măng cầu xiêm có tên khoa học là *Annona muricata*, thuộc họ Annonaceae và được biết với tiếng Anh là Soursop, có nguồn gốc từ Nam Mỹ, phân bố rộng rãi ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu cho thấy sự hiện diện của alkaloid, acetogenin và cyclopeptide trong măng cầu xiêm - là những hợp chất có tầm quan trọng, thu hút nhiều sự quan tâm về mặt dược học của nhiều nhà

khoa học. Măng cầu xiêm được người dân Indonesia sử dụng rộng rãi trong việc điều trị tiểu đường, chống viêm, diệt côn trùng, trị sốt rét, chống ung thư, kháng khuẩn và chống oxy hóa. Chiết xuất ethanol của lá măng cầu xiêm có chứa steroid, alkaloid, flavonoid, phenolic và saponin, đặc biệt có hoạt tính chống oxy hóa bằng cách loại bỏ gốc DPPH với IC<sub>50</sub> là 141,127 g/ml [6]. Lá và thịt măng cầu xiêm có khả năng kháng oxy hóa cao hơn các thành phần khác của cây do có chứa nhiều hợp chất phenol, flavonoid, alkaloid và essential lipid... [7]. Với các đặc tính sinh học vượt trội đã và đang được nghiên cứu hiện nay cho thấy, măng cầu xiêm là nguồn nguyên liệu tiềm năng trong lên men rượu vang đạt chất lượng tốt cho nhu cầu về ẩm thực và sức khỏe của con người.

Nghiên cứu này nhằm phân lập, tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu vang măng cầu, góp phần tạo nên sự đa dạng và phong phú cho ngành sản xuất rượu vang từ trái cây.

## Vật liệu và phương pháp

### Vật liệu

Ba mẫu măng cầu xiêm được thu mua ở ba địa điểm khác nhau thuộc ấp 7, xã Thới Hưng, huyện Cờ Đỏ, TP Cần Thơ. Măng cầu xiêm được chọn phải chín đều nguyên vẹn, tươi, không bị hư hỏng, không sâu bệnh hay dập nát.

### Phương pháp nghiên cứu

**Phân lập nấm men:** măng cầu chín được cắt miếng nhỏ tại 5 vị trí khác nhau (bao gồm phần thịt và vỏ), sau đó được nghiền nhỏ lấy nước. Lấy 2-3 g nước măng cầu nuôi tăng sinh trong môi trường YPD đã được chuẩn bị sẵn ở nhiệt độ phòng (28-30°C). Sau

\*Tác giả liên hệ: Email: hxphong@ctu.edu.vn

# Isolation and selection of yeasts from soursop *Annona muricata* for wine fermentation

Thi Kieu Tien Doan<sup>1</sup>, Thi Tuyet Nhung Do<sup>1</sup>, Tri An Le<sup>1</sup>,  
Hoang Hiep Tran<sup>1</sup>, Thi Ngoc Mi Huynh<sup>2</sup>,  
Ngoc Thanh Nguyen<sup>2</sup>, Xuan Phong Huynh<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Food Technology and Biotechnology Faculty, Can Tho University of Technology

<sup>2</sup>Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University

Received 23 March 2021; accepted 14 May 2021

## Abstract:

Wine is a healthy drink and is becoming more diverse thanks to the substances with high biological activity and fully preserved the antioxidant capacity in the fruit after fermentation by yeast. This study aims to isolate yeasts that are capable of soursop fermentation. There were eight yeast strains isolated, in which five strains of yeasts NM1.1, NM1.2, NM2.1, NM3.1, NM3.2 are capable of fermenting soursop wine. Wine product after fermentation using strain NM1.1 with initial conditions of 22°Brix, pH 4.5, supplemented yeast 1% (w/v) at room temperature (28-30°C), in twelve-day, produced the ethanol content 10% v/v, methanol 1.304 g/l, and SO<sub>2</sub> 10.9 mg/l that meet Vietnamese standards (QCVN 6-3:2010/BYT).

**Keywords:** *Annona muricata*, anti-oxidation, soursop, soursop wine, yeasts.

**Classification number:** 2.10

48 giờ ủ môi trường tăng sinh được pha loãng đến 10<sup>-5</sup> và cấy trải trên môi trường YPD agar, sau đó tiến hành phân lập (tách riêng làm thuần) nấm men. Độ thuần của nấm men phân lập được kiểm tra dưới kính hiển vi x40. Nấm men thuần sau khi được phân lập sẽ được trữ giống trên môi trường YPD agar ở 4°C và trong glycerol 50% (v/v) ở -20°C.

**Tuyển chọn nấm men lên men rượu mãng cầu xiêm:** tuyển chọn các dòng nấm men có hoạt tính lên men mạnh và nhanh các loại đường glucose 1%, saccharose 1% và nước mãng cầu của các chủng nấm men phân lập được. Chủng 1 ml (10<sup>8</sup> tế bào/ml) dịch tăng sinh nấm men lần lượt vào 9 ml dịch quả mãng cầu, 9 ml môi trường phenol red carbohydrate broth chứa 1% đường glucose và 9 ml phenol red carbohydrate broth chứa 1% đường saccharose và ống Durham. Các khảo sát được bố trí ba lần lặp. Xác định khả năng lên men dựa vào chiều cao cột khí CO<sub>2</sub> sinh ra trong ống Durham ở nhiệt độ phòng (28-30°C) sau mỗi 4 giờ lên men trong vòng 48 giờ.

**Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình lên men:** khảo sát ảnh hưởng của giá trị pH và hàm lượng chất khô hòa tan của dịch

quả đến chất lượng sản phẩm: dịch ép mãng cầu được pha loãng với nước cất (dịch ép mãng cầu/nước cất = 1,5/1,0), sau đó bổ sung enzyme pectinase (0,03%) vào và ủ ở 50°C. Sau 2 giờ ủ, dịch ép mãng cầu được lọc lấy phần nước trong và chỉnh về các giá trị pH (4; 4,5; 5) và °Brix (18; 20; 22). Sử dụng acid citric và đường saccharose để điều chỉnh pH và hàm lượng chất khô hòa tan. Dịch mãng cầu sau khi điều chỉnh pH và °Brix, được thanh trùng bằng NaHSO<sub>3</sub> (140 mg/l trong 2 giờ). Chủng 1 ml môi trường nấm men vào 99 ml dịch ép mãng cầu và ủ ở nhiệt độ phòng (28-30°C) với 8 ngày lên men.

**Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men và thời gian lên men đến chất lượng sản phẩm:** thử nghiệm được thực hiện với hàm lượng chất khô hòa tan và giá trị pH được lựa chọn từ thí nghiệm trên với tỷ lệ mật số chủng nấm men lần lượt là 1, 2 và 3%, lên men trong điều kiện nhiệt độ phòng (28-30°C) và thời gian lên men là 8, 10, 12 ngày.

**Thử nghiệm lên men rượu mãng cầu xiêm ở quy mô 1 l:** rượu mãng cầu xiêm được thử nghiệm lên men ở quy mô 1 l với các điều kiện lên men được tuyển chọn ở các thí nghiệm trên và phân tích các chỉ tiêu hóa học sau lên men (hàm lượng ethanol, methanol, acid tổng số, SO<sub>2</sub>, hàm lượng đường tổng trước và sau lên men). Bên cạnh đó, các chỉ tiêu cảm quan về màu sắc, độ trong, mùi vị của sản phẩm cũng được đánh giá.

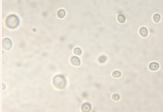
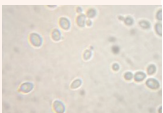
**Phương pháp phân tích số liệu:** số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê bằng chương trình Statgraphics XV và phần mềm Excel 2013.

## Kết quả thảo luận

### Phân lập nấm men

Qua quá trình phân lập từ 3 mẫu mãng cầu xiêm đã thu được 8 chủng nấm men thuần (bảng 1).

**Bảng 1. Đặc điểm của các chủng nấm men phân lập được từ dịch ép mãng cầu.**

| STT | Tên chủng | Đặc điểm khuẩn lạc                     | Đặc điểm tế bào |                 | Hình ảnh tế bào                                                                       |
|-----|-----------|----------------------------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|     |           |                                        | Hình dạng       | Kích thước (µm) |                                                                                       |
| 1   | NM1.1     | Tròn, trắng sữa, sần, bìa sợi          | Cầu             | 3,71x3,71       |  |
| 2   | NM2.1     | Tròn, trắng sữa, sần, bìa sợi          |                 | 4,03x4,02       |                                                                                       |
| 3   | NM1.2     | Tròn, trắng đục, sần, bìa sợi          |                 | 3,96x3,26       |                                                                                       |
| 4   | NM1.3     | Tròn, trắng sữa, trơn láng, bìa nguyên | Ovan            | 3,75x3,41       |  |
| 5   | NM2.2     | Tròn, trắng đục, trơn láng, bìa nguyên |                 | 3,11x2,76       |                                                                                       |
| 6   | NM2.3     | Tròn, trắng sữa, trơn láng, bìa nguyên |                 | 2,76x2,33       |                                                                                       |
| 7   | NM3.1     | Tròn, trắng sữa, trơn láng, bìa nguyên |                 | 4,25x3,97       |                                                                                       |
| 8   | NM3.2     | Tròn, trắng đục, trơn láng, bìa nguyên |                 | 3,93x3,52       |                                                                                       |

Dựa vào đặc điểm hình dạng tế bào được chia thành hai nhóm đặc trưng là tế bào hình cầu và hình ovan với đặc điểm khuẩn lạc tròn, trắng sữa, sần, bìa sợi hoặc trơn láng, bìa nguyên. Kích thước tế bào thay đổi theo từng chủng nấm men, các chủng nấm men có hình dạng tế bào hình ovan (NM1.2, NM1.3, NM2.2, NM2.3, NM3.1, NM3.2) có kích thước trung bình khoảng 2,76-4,25 x 2,33-3,97 ( $\mu\text{m}$ ) chiếm số lượng ưu thế hơn với 6 chủng trong 8 chủng nấm men phân lập được, còn lại là 2 chủng có tế bào hình cầu (NM1.1, NM2.1) với kích thước tế bào trung bình khoảng 3,71-4,03 x 3,71-4,02 ( $\mu\text{m}$ ).

#### Tuyển chọn nấm men lên men rượu mận cầu xiêm

Tất cả các chủng nấm men phân lập được thử khả năng lên men đường glucose 1%, saccharose 1% trong môi trường phenol red carbohydrate broth và dịch ép quả mận cầu. Kết quả thu được sau 48 giờ lên men được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả chiều cao cột khí  $\text{CO}_2$  của các chủng nấm men sau 48 giờ.**

| Tên chủng            | Chiều cao cột khí $\text{CO}_2$ trong chuông Durham (mm) |                   |                    |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |                   |
|----------------------|----------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                      | 4 giờ                                                    | 8 giờ             | 12 giờ             | 16 giờ            | 20 giờ            | 24 giờ            | 28 giờ            | 32 giờ            | 36 giờ            | 40 giờ            | 44 giờ            | 48 giờ            |
| Glucose 1%           | NM1.1                                                    | 2,7 <sup>b</sup>  | 16,0 <sup>c</sup>  | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM1.2                                                    | 1,8 <sup>ab</sup> | 15,5 <sup>bc</sup> | 27,3 <sup>c</sup> | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM1.3                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup>     | 8,3 <sup>a</sup>  | 14,5 <sup>b</sup> | 19,7 <sup>a</sup> | 24,5 <sup>a</sup> | 27,5 <sup>b</sup> | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM2.1                                                    | 5,3 <sup>c</sup>  | 16,5 <sup>c</sup>  | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM2.2                                                    | 2,5 <sup>b</sup>  | 10,5 <sup>c</sup>  | 17,7 <sup>b</sup> | 22,5 <sup>c</sup> | 26,7 <sup>b</sup> | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM2.3                                                    | 1,3 <sup>ab</sup> | 2,0 <sup>b</sup>   | 6,5 <sup>a</sup>  | 12,3 <sup>a</sup> | 18,5 <sup>a</sup> | 24,7 <sup>a</sup> | 26,5 <sup>a</sup> | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM3.1                                                    | 2,8 <sup>b</sup>  | 14,0 <sup>d</sup>  | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
|                      | NM3.2                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 9,3 <sup>c</sup>   | 18 <sup>b</sup>   | 25 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   | 30 <sup>a</sup>   |
| Saccharose 1%        | NM1.1                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 5,5 <sup>c</sup>   | 18 <sup>c</sup>   | 27,5 <sup>d</sup> | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM1.2                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 1,3 <sup>b</sup>   | 4,3 <sup>c</sup>  | 15 <sup>d</sup>   | 27 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM1.3                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup>     | 3,7 <sup>bc</sup> | 7,7 <sup>b</sup>  | 12,3 <sup>c</sup> | 17,5 <sup>c</sup> | 20,5 <sup>c</sup> | 22 <sup>c</sup>   | 24,5 <sup>c</sup> | 26 <sup>c</sup>   | 27,5 <sup>b</sup> |
|                      | NM2.1                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 1,5 <sup>b</sup>   | 7,5 <sup>d</sup>  | 17 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM2.2                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup>     | 3,5 <sup>bc</sup> | 7,5 <sup>b</sup>  | 10 <sup>b</sup>   | 13,5 <sup>b</sup> | 16 <sup>b</sup>   | 18 <sup>b</sup>   | 21,5 <sup>b</sup> | 24,5 <sup>b</sup> | 26,5 <sup>b</sup> |
|                      | NM2.3                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup>     | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup>    | 1,3 <sup>a</sup>  | 2,5 <sup>a</sup>  | 9 <sup>a</sup>    | 14,5 <sup>a</sup> | 18,5 <sup>a</sup> | 22 <sup>a</sup>   | 24 <sup>a</sup>   |
|                      | NM3.1                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 0,5 <sup>a</sup>   | 3,5 <sup>bc</sup> | 13 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM3.2                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 0 <sup>a</sup>     | 2,5 <sup>b</sup>  | 12,5 <sup>c</sup> | 17,5 <sup>d</sup> | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
| Dịch ép mận cầu xiêm | NM1.1                                                    | 1,3 <sup>bc</sup> | 11,0 <sup>d</sup>  | 21 <sup>c</sup>   | 28 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM1.2                                                    | 1,0 <sup>b</sup>  | 6,5 <sup>c</sup>   | 12 <sup>c</sup>   | 20,5 <sup>d</sup> | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM1.3                                                    | 0,0 <sup>a</sup>  | 3,5 <sup>b</sup>   | 8,3 <sup>b</sup>  | 15 <sup>b</sup>   | 20,5 <sup>b</sup> | 22,5 <sup>b</sup> | 24,5 <sup>b</sup> | 26 <sup>b</sup>   | 27,5 <sup>b</sup> | 28 <sup>c</sup>   | 28,5 <sup>c</sup> |
|                      | NM2.1                                                    | 2,3 <sup>d</sup>  | 10,5 <sup>cd</sup> | 17 <sup>d</sup>   | 25 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM2.2                                                    | 1,7 <sup>c</sup>  | 8,3 <sup>d</sup>   | 13,5 <sup>c</sup> | 17 <sup>c</sup>   | 22 <sup>c</sup>   | 23,5 <sup>c</sup> | 25 <sup>b</sup>   | 25,5 <sup>b</sup> | 27 <sup>b</sup>   | 27 <sup>b</sup>   | 27 <sup>b</sup>   |
|                      | NM2.3                                                    | 0,0 <sup>a</sup>  | 0,0 <sup>a</sup>   | 0,5 <sup>a</sup>  | 3,5 <sup>a</sup>  | 6,5 <sup>a</sup>  | 9,3 <sup>a</sup>  | 13 <sup>a</sup>   | 18 <sup>a</sup>   | 22,5 <sup>a</sup> | 24,5 <sup>a</sup> | 24,5 <sup>a</sup> |
|                      | NM3.1                                                    | 1,0 <sup>b</sup>  | 9,7 <sup>c</sup>   | 17 <sup>d</sup>   | 27,5 <sup>d</sup> | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |
|                      | NM3.2                                                    | 0 <sup>a</sup>    | 3,5 <sup>b</sup>   | 13,5 <sup>c</sup> | 21 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>c</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   | 30 <sup>d</sup>   |

Ghi chú: chiều cao tối đa của cột khí trong chuông Durham là 30 mm. Giá trị trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp. Trong cùng một cột, các giá trị có các chữ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%.

Cả 8 chủng nấm men đều có khả năng lên men đường glucose, saccharose và dịch ép mận cầu xiêm. Các chủng nấm men NM1.1, NM1.2, NM2.1, NM2.2 và NM3.1 bắt đầu lên men glucose và dịch ép mận cầu xiêm sau 4 giờ lên men đầu tiên, trong khi đó đường saccharose chưa có hiện tượng được lên men. Các chủng nấm men NM1.1, NM1.2, NM2.1, NM3.1 và NM3.2 có khả năng lên men nhanh và mạnh hơn các chủng còn lại, sau 16 giờ lên men dịch ép mận cầu xiêm chiều cao cột khí  $\text{CO}_2$  lần lượt là 28,0; 20,5; 25,0; 27,5; 21,0 và đạt 30 mm sau 20 giờ lên men. Tuy nhiên, chủng NM2.3 có khả năng lên men thấp nhất trong 8 chủng nấm men phân lập được, chiều cao cột khí  $\text{CO}_2$  trong ống Durham đo được sau 48 giờ lên men dịch ép mận cầu xiêm chỉ đạt 24,5 mm. Theo Đoàn Thị Kiều Tiên và cs (2018) [8] trong nghiên cứu tuyển chọn nấm men chịu nhiệt lên men rượu vang từ trái giắc của tỉnh Kiên Giang đã phân lập được 46 chủng nấm men, trong đó có các chủng nấm men *saccharomyces* sp. KG1.1, AG1.3, DT1.2, DT3.1 có thời gian lên men nhanh nhất, chiều cao cột khí  $\text{CO}_2$  đạt 30 mm chỉ sau 6 giờ lên men và có khả năng lên men rượu vang tốt ở 37°C. Dựa vào khả năng lên men glucose, saccharose và dịch ép mận cầu bằng cách xác định chiều cao cột khí  $\text{CO}_2$  đã tuyển chọn được 5 chủng nấm men NM1.1, NM1.2, NM2.1, NM3.1, NM3.2 cho thử nghiệm lên men rượu mận cầu. Tất cả 5 chủng nấm men được tuyển chọn thử nghiệm lên men rượu mận cầu với thể tích 100 ml, kết quả thu được sau quá trình lên men cho thấy, 2 chủng NM1.1 (11,20% v/v), NM2.1 (10,93% v/v) có hàm lượng ethanol sinh ra cao hơn, có khác biệt ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95% so với các chủng NM1.2 (9,06% v/v), NM3.1 (8,93% v/v) và NM3.2 (8,36% v/v).

#### Ảnh hưởng của chỉ số pH và hàm lượng chất khô hòa tan ban đầu đến chất lượng của sản phẩm

Sử dụng chủng nấm men NM1.1 vào quá trình lên men, hàm lượng chất khô hòa tan ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) và pH của dịch lên men có sự tương tác với nhau và ảnh hưởng đến hàm lượng ethanol sinh ra của sản phẩm được trình bày ở bảng 3, giữa các nghiệm thức có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

**Bảng 3. Ảnh hưởng của pH và hàm lượng chất khô hòa tan đến chất lượng sản phẩm.**

| Nghiệm thức | Giá trị pH trước lên men | Nồng độ chất khô hòa tan trước lên men ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) | Giá trị pH sau lên men | Nồng độ chất khô hòa tan sau lên men ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) | Hàm lượng ethanol (% v/v) |
|-------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 1           | 4,0                      | 18                                                               | 3,4 <sup>a</sup>       | 6,2 <sup>a</sup>                                               | 6,2 <sup>a</sup>          |
| 2           | 4,0                      | 20                                                               | 3,5 <sup>a</sup>       | 7,0 <sup>abc</sup>                                             | 8,3 <sup>b</sup>          |
| 3           | 4,0                      | 22                                                               | 3,6 <sup>bc</sup>      | 7,5 <sup>abc</sup>                                             | 8,9 <sup>b</sup>          |
| 4           | 4,5                      | 18                                                               | 3,5 <sup>b</sup>       | 6,7 <sup>ab</sup>                                              | 6,7 <sup>a</sup>          |
| 5           | 4,5                      | 20                                                               | 3,6 <sup>c</sup>       | 8,6 <sup>bcd</sup>                                             | 8,2 <sup>b</sup>          |
| 6           | 4,5                      | 22                                                               | 3,6 <sup>bc</sup>      | 9,2 <sup>bc</sup>                                              | 10,7 <sup>c</sup>         |
| 7           | 5,0                      | 18                                                               | 3,6 <sup>c</sup>       | 7,3 <sup>abc</sup>                                             | 6,6 <sup>a</sup>          |
| 8           | 5,0                      | 20                                                               | 3,6 <sup>c</sup>       | 7,6 <sup>abc</sup>                                             | 8,0 <sup>b</sup>          |
| 9           | 5,0                      | 22                                                               | 3,6 <sup>c</sup>       | 10,1 <sup>d</sup>                                              | 8,3 <sup>b</sup>          |

Ghi chú: các chữ khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định LSD.

Hàm lượng chất khô hòa tan và pH ban đầu của sản phẩm giảm sau khi quá trình lên men kết thúc. Kết quả cho thấy, độ Brix ban đầu càng cao sinh ra hàm lượng ethanol càng cao khi lên men ở cùng điều kiện pH, thời gian lên men và tỷ lệ nấm men. Ở nghiệm thức (1), (2) và (3) với pH ban đầu 4,0 và độ Brix ban đầu lần lượt là 18, 20 và 22 thì hàm lượng ethanol sinh ra là 6,2; 8,3 và 8,9% v/v. Khi pH ban đầu được tăng lên 4,5 thì hàm lượng ethanol cũng tăng, tuy nhiên khi pH tăng lên 5,0 thì hàm lượng ethanol ở nghiệm thức 7 (6,6% v/v), 8 (8,0% v/v) và 9 (8,3% v/v) giảm hơn so với các nghiệm thức 4 (6,7% v/v), 5 (8,2% v/v) và 6 (10,7% v/v). Trong cùng điều kiện lên men ở 22°Brix; pH 4,5, rượu vang thốt nốt (13,67% v/v) [4] và rượu xương rồng gai (13,5% v/v) [9] có hàm lượng ethanol sinh ra cao hơn rượu mãng cầu xiêm (10,7% v/v). Điều này có thể do sự khác nhau về mật số nấm men, tính chất nguyên liệu và giống nấm men sử dụng.

Từ các kết quả có thể thấy rượu mãng cầu xiêm lên men tốt ở 22°Brix và giá trị pH 4,5 nên các giá trị này được chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.

#### ***Ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men và thời gian lên men đến chất lượng của sản phẩm***

Tỷ lệ nấm men và thời gian lên men ảnh hưởng lớn đến quá trình lên men. Kết quả bảng 4 cho thấy, khi ở cùng thời gian lên men, nếu tỷ lệ nấm men tăng từ 1% lên 2% thì hàm lượng ethanol sinh ra tăng. Tuy nhiên khi tỷ lệ nấm men cao quá (ở mức 3%) thì lượng cơ chất sử dụng càng nhiều, trong môi trường không đủ nồng độ cơ chất cho nấm men sử dụng để sinh trưởng thì thời gian lên men kết thúc sớm nhưng lượng ethanol sinh ra không tăng.

**Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ nấm men và thời gian lên men đến chất lượng sản phẩm.**

| Nghiệm thức | Tỷ lệ nấm men (%) | Thời gian lên men (ngày) | Giá trị pH sau lên men | Nồng độ chất khô hòa tan sau lên men (°Brix) | Hàm lượng ethanol (% v/v) |
|-------------|-------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------------------------|---------------------------|
| 1           | 1                 | 8                        | 3,5 <sup>a</sup>       | 9,7 <sup>b</sup>                             | 7,0 <sup>a</sup>          |
| 2           | 1                 | 10                       | 3,6 <sup>a</sup>       | 7,4 <sup>a</sup>                             | 9,7 <sup>c</sup>          |
| 3           | 1                 | 12                       | 3,6 <sup>a</sup>       | 6,5 <sup>a</sup>                             | 10,6 <sup>c</sup>         |
| 4           | 2                 | 8                        | 3,6 <sup>a</sup>       | 9,6 <sup>b</sup>                             | 8,6 <sup>b</sup>          |
| 5           | 2                 | 10                       | 3,5 <sup>a</sup>       | 7,2 <sup>a</sup>                             | 9,8 <sup>cd</sup>         |
| 6           | 2                 | 12                       | 3,6 <sup>a</sup>       | 6,8 <sup>a</sup>                             | 10,4 <sup>de</sup>        |
| 7           | 3                 | 8                        | 3,5 <sup>a</sup>       | 9,5 <sup>b</sup>                             | 8,7 <sup>b</sup>          |
| 8           | 3                 | 10                       | 3,6 <sup>a</sup>       | 7,1 <sup>a</sup>                             | 9,5 <sup>c</sup>          |
| 9           | 3                 | 12                       | 3,5 <sup>a</sup>       | 7,4 <sup>a</sup>                             | 9,9 <sup>cde</sup>        |

Ghi chú: các chữ khác nhau trên cùng một cột biểu thị sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% theo kiểm định LSD.

Kết quả cho thấy, sau 8 ngày lên men ở nghiệm thức 1 (1% nấm men), 4 (2% nấm men), 3 (3% nấm men) thì hàm lượng ethanol sinh ra lần lượt là 7,0, 8,6 và 8,7% v/v. Hàm lượng ethanol tăng sau 10 ngày lên men và đạt cao nhất ở 12 ngày lên men, lần lượt là 10,6; 10,4 và 9,9 v/v. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu gần đây về rượu vang khóm [2]. Mật số nấm men thích

hợp cho quá trình lên men rượu khóm là  $10^6$  tế bào/ml. Hàm lượng giống ít ( $10^3$  tế bào/ml) thì nguồn carbon được nấm men sử dụng để tăng sinh khối ít, hàm lượng ethanol sinh ra thấp, còn khi lượng giống quá nhiều ( $10^7$  tế bào/ml) sẽ xảy ra sự cạnh tranh chất dinh dưỡng, hàm lượng ethanol sinh ra cũng thấp.

Các kết quả thu được cho thấy, rượu mãng cầu xiêm lên men tốt ở pH là 4,5, 22°Brix với tỷ lệ nấm men là 1% và thời gian lên men là 12 ngày, các điều kiện này được lựa chọn lên men rượu mãng cầu thử nghiệm ở quy mô 1 l.

#### ***Lên men rượu vang mãng cầu xiêm ở quy mô 1 l***

Rượu vang mãng cầu xiêm được lên men theo các điều kiện tối ưu là pH 4,5, 22°Brix, tỷ lệ nấm men là 1% ở nhiệt độ phòng (28-30°C) trong 12 ngày. Rượu sau khi lên men được kiểm tra phân tích các chỉ tiêu hóa học tại Trung tâm Kiểm soát bệnh tật, Sở Y tế TP Cần Thơ (bảng 5).

**Bảng 5. Kết quả phân tích chỉ tiêu hóa học của rượu vang mãng cầu xiêm.**

| Chỉ tiêu                           | Kết quả        | Phương pháp thử     | Mức cho phép | So sánh |
|------------------------------------|----------------|---------------------|--------------|---------|
| Hàm lượng ethanol (ở 20°C)         | 10% v/v        | TCVN 8008:2009      | ≥8,5%        | Đạt     |
| Hàm lượng đường tổng trước lên men | 21,11 g/100 ml | TCVN 4594:1998      | Theo CBNSX   | -       |
| Hàm lượng đường tổng sau lên men   | 0,83 g/100 ml  | TCVN 7044:2009      | Theo CBNSX   | -       |
| Hàm lượng acid tổng                | 0,65%          | AOAC930.35-2012     | Theo CBNSX   | -       |
| Hàm lượng methanol (mg/l cồn 100°) | 1,304 g/l      | FOA-1986 14/8, P301 | ≤10 g/l      | Đạt     |
| Hàm lượng SO <sub>2</sub>          | 10,9 mg/l      | AOAC 892.02-2012    | ≤350 mg/l    | Đạt     |

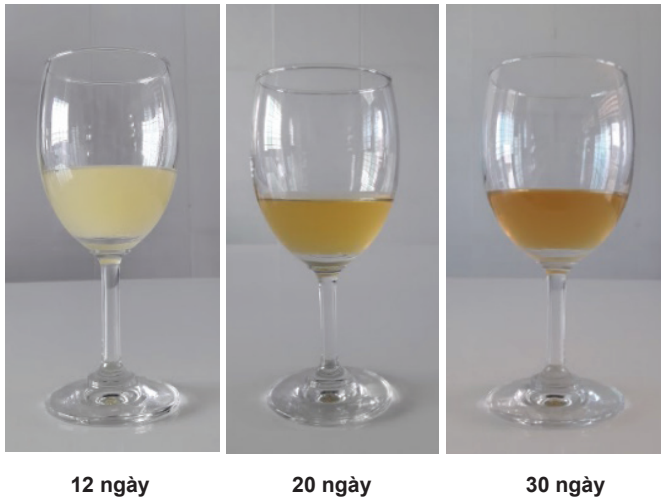
Ghi chú: CBNSX: công bố của nhà sản xuất.

Rượu mãng cầu xiêm sau khi lên men có hàm lượng ethanol (10% v/v), methanol (1.304 g/l 100°) và hàm lượng SO<sub>2</sub> (10,9 mg/l), đạt Quy chuẩn Việt Nam QCVN 6-3:2010/BYT. Nồng độ methanol trong rượu mãng cầu cao hơn rượu vang khóm (<1 g/l) [2] và rượu vang dưa hấu (0,4 g/l) [1] nhưng thấp hơn so với rượu vang giấm (2,534 g/l) [10]. Trong quá trình lên men, đường được nấm men sử dụng để tăng sinh khối và tổng hợp một số sản phẩm (rượu, CO<sub>2</sub>, acid acetic...). Hàm lượng đường giảm từ 25,11 xuống 0,83 g/100 ml sau khi lên men. Nấm men đã sử dụng gần như hoàn toàn lượng đường được bổ sung ban đầu để thực hiện quá trình lên men.

#### ***Đánh giá cảm quan sản phẩm theo thời gian tồn trữ***

Rượu mãng cầu xiêm sau khi lên men cũng được đánh giá cảm quan theo thời gian tồn trữ nhất định nhằm lựa chọn được thời gian tồn trữ thích hợp cho rượu khi đưa vào sử dụng và cho những nghiên cứu xa hơn về thời gian tồn trữ cũng như bảo quản rượu trong tương lai.

Sản phẩm có màu vàng ngà và vẫn đục, mùi ethanol còn nồng và chưa êm dịu, có vị chua mạnh sau 12 ngày lên men. Tiếp tục được bảo quản ở nhiệt độ phòng đến ngày thứ 20 (sau khi đã gạn cặn lần 1) thì sản phẩm trong dần, không còn vẫn đục nhiều và có màu nâu cánh gián nhạt. Đến ngày thứ 30, rượu chuyển sang màu nâu cánh gián đậm, không còn vị chua gắt (hình 4).



Hình 1. Sự thay đổi của rượu vang theo thời gian tồn trữ.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, chất lượng cảm quan về màu sắc, mùi vị, độ trong của sản phẩm tốt hơn sau thời gian tồn trữ dài là 30 ngày so với sản phẩm vừa kết thúc quá trình lên men hay so với sản phẩm sau 20 ngày. Như vậy thời gian tồn trữ có ý nghĩa rất quan trọng đối với chất lượng cảm quan của sản phẩm rượu vang.

### Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập và tuyển chọn được 5 chủng nấm men NM1.1, NM1.2, NM2.1, NM3.1 và NM3.2 có khả năng lên men rượu mãng cầu xiêm. Sử dụng chủng nấm men NM1.1 lên men rượu mãng cầu với điều kiện lên men là 22°Brix, pH 4,5, tỷ lệ nấm men bổ sung là 1% ở nhiệt độ phòng (28-30°C) trong thời gian 12 ngày, hàm lượng ethanol đạt được là 10% v/v. Sản phẩm rượu được tồn trữ ở thời gian 30 ngày cho thấy, không còn vị chua gắt và có màu cánh gián đậm. Nghiên cứu này đã góp phần bổ sung các chủng nấm men có tiềm năng ứng dụng trong lên men rượu vang cũng như phát triển các sản phẩm lên men từ trái cây đặc trưng ở vùng Đồng bằng sông Cửu Long cũng như cả nước.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ngô Thị Phương Dung, Lý Huỳnh Liên Hương, Huỳnh Xuân Phong (2011), “Phân lập, tuyển chọn nấm men và xác định điều kiện ảnh hưởng đến quy trình lên men rượu vang dưa hấu”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **18b**, tr.137-145.
- [2] Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế, Nguyễn Thị Mỹ Tuyền, Nguyễn Phú Cường, Huỳnh Trần Toàn (2013), “Lên men rượu vang khóm (*Ananas comosus*) cầu đúc (Hậu Giang) bằng nấm men phân lập và thuần chủng”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **27**, tr.56-63.
- [3] A. Nasir, S.S. Rahman, M.M. Hossain, N. Choudhury (2017), “Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* from pineapple and orange and study of metal's effectiveness on ethanol production”, *European Journal of Microbiology and Immunology*, **7(1)**, pp.76-91.
- [4] Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Văn Thành, Bùi Thị Thủy Ngân (2011), “Tuyển chọn các dòng nấm men được phân lập từ nước thối nổi”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **18b**, tr.117-126.
- [5] Đoàn Thị Kiều Tiên, Huỳnh Thị Ngọc Mi, Lữ Hằng Nghi, Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long, Hà Thanh Toàn, Ngô Thị Phương Dung (2019), “Đánh giá khả năng duy trì hàm lượng polyphenol và hoạt tính kháng oxy hóa khi lên men rượu vang từ trái giác ở tỉnh Cà Mau sử dụng *Saccharomyces cerevisiae* CM3.2.”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **55(2)**, tr.285-291.
- [6] I. Hasamilal, H. Natsir, N.H. Soekamto (2019), “Phytochemical analysis and antioxidant activity of soursop leaf extract (*Annona muricata* Linn.)”, *Journal of Physics: Conference Series*, **1341**, p.032027.
- [7] C.A. Kingsley, N.O. Paulinus (2017), “Proximate composition, phytochemical analysis, and *in vitro* antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop)”, *Food Science & Nutrition*, **5(5)**, pp.1029-1036.
- [8] Đoàn Thị Kiều Tiên, Huỳnh Thị Hoàng Anh, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong, Hà Thanh Toàn, Ngô Thị Phương Dung (2018), “Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt lên men rượu vang trái giác (*Cayratia trifolia* L.) của tỉnh Kiên Giang”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, **1**, tr.54-62.
- [9] Đinh Hữu Đông (2014), “Nghiên cứu sản xuất rượu vang từ quả xương rồng gai”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP Hồ Chí Minh*, **4**, tr.71-80.
- [10] Đoàn Thị Kiều Tiên, Huỳnh Thị Ngọc Mi, Nguyễn Đức Độ, Hà Thanh Toàn, Ngô Thị Phương Dung (2018), “Khảo sát hàm lượng polyphenol và khả năng kháng oxy hóa của dịch trái giác (*Cayratia trifolia*) trước và sau lên men sử dụng nấm men chịu nhiệt *Saccharomyces cerevisiae* HG1.3)”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **60(8)**, tr.60-64.

# Nghiên cứu phát triển quy trình xác định dư lượng glyphosat bằng phương pháp điện di mao quản và ứng dụng trong phân tích một số loại đồ uống

Nguyễn Mạnh Huy<sup>1\*</sup>, Trần Thị Hà<sup>2</sup>, Vũ Minh Tuấn<sup>3</sup>, Nguyễn Thanh Đàm<sup>3</sup>, Dương Hồng Anh<sup>1,3</sup>, Phạm Hùng Việt<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ môi trường và Phát triển bền vững (CETASD), Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

<sup>2</sup>Trường Đại học Thành Đô

<sup>3</sup>Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ phân tích phục vụ kiểm định môi trường và an toàn thực phẩm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 17/5/2021; ngày chuyển phản biện 21/5/2021; ngày nhận phản biện 25/6/2021; ngày chấp nhận đăng 2/7/2021

## Tóm tắt:

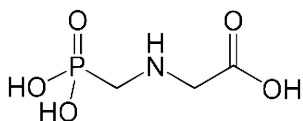
Ngày nay, vấn đề thực phẩm và đồ uống sạch hay phân tích dư lượng các hợp chất độc hại trong thực phẩm, đồ uống được xã hội ngày càng quan tâm. Trong nghiên cứu này, một quy trình phân tích dư lượng glyphosat (N-phosphonomethyl glycine) trong một số loại đồ uống như nước trà và bia đã được phát triển trên cơ sở sử dụng phương pháp điện di mao quản (CE), detector đo độ dẫn không tiếp xúc kết hợp với kỹ thuật chiết pha rắn (SPE). Các điều kiện phân tích đã được tối ưu trên thiết bị CE, bao gồm: dung dịch điện ly nền (BGE) histidin (His)/axit axetic với nồng độ His 1 mM và pH được điều chỉnh đến 2,75 bằng axit axetic; điện thế tách 20 kV, bơm điện hoạt động ở điện thế 20 kV trong 10 s. Quy trình đã thu được kết quả giới hạn phát hiện (LOD) của glyphosat tương đối thấp (0,42 µg/l), độ lặp lại và tái lặp xác định qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của diện tích pic và thời gian di chuyển đều nhỏ hơn 10%, khoảng tuyến tính rộng, giá trị hiệu suất thu hồi của glyphosat trên các nền mẫu đồ uống khác nhau đạt 88,7-96,3%.

**Từ khóa:** bia, detector đo độ dẫn không tiếp xúc, điện di mao quản, glyphosat, nước trà.

**Chỉ số phân loại:** 2.10

## Đặt vấn đề

Glyphosat (hình 1) là hoạt chất chính trong nhiều loại thuốc diệt cỏ, được sử dụng rộng rãi trên toàn thế giới với nhu cầu hàng năm ước tính khoảng 800.000 tấn [1]. Đồng thời, hoạt chất này cũng được đánh giá là chất độc có nguy cơ tiềm tàng tới sức khỏe con người [2].



Hình 1. Công thức cấu tạo glyphosat.

Glyphosat diệt cỏ theo cơ chế ức chế enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphat tổng hợp axit amin thơm thiết yếu cho sự sinh trưởng của cỏ (tyrosin, tryptophan, phenylalanin), ngăn chặn quá trình sinh trưởng và gây chết cỏ [3]. Dựa vào cơ chế này, glyphosat có khả năng diệt được hầu hết các loại cỏ với hiệu quả cao, thời gian tác dụng dài và có tính chọn lọc, không tác động đối với những cây trồng biến đổi gen kháng glyphosat.

Trong quá trình diệt cỏ, glyphosat cũng bị hấp thụ vào cây trồng (chủ yếu qua lá) [3]. Tuy rằng, lượng glyphosat này sẽ bị chuyển hóa và đào thải nhưng vẫn còn một lượng nhỏ được lưu

giữ lại trong cây trồng, gây nên nguy cơ đối với con người khi sử dụng. Bởi vậy, việc nghiên cứu và phát triển quy trình phân tích glyphosat trong thực phẩm hay đồ uống có nguồn gốc từ cây trồng nông nghiệp là cần thiết.

Trong nghiên cứu này, đối tượng được lựa chọn là trà và bia, đây là các loại đồ uống phổ biến nhất thế giới. Trong khi trà có nguồn gốc từ cây trà thì nguyên liệu sản xuất bia cũng có nguồn gốc từ cây trồng nông nghiệp - cây đại mạch. Trên thế giới, một số quốc gia như Trung Quốc và Nhật Bản đã đưa ra giới hạn dư lượng glyphosat tối đa trong các sản phẩm trà thương mại nhỏ hơn 1 mg/kg [4]. Hiện nay chưa có tiêu chuẩn về dư lượng glyphosat tối đa cho phép trong bia, tuy nhiên qua nghiên cứu đã công bố của K. Cook (2019) [5], dư lượng này có thể dao động từ 5,7 đến 49,7 µg/l.

Trên thế giới, nhiều nghiên cứu về phát triển phương pháp phân tích glyphosat đã được công bố: sắc ký khí ghép nối với các loại detector như detector quang kế ngọn lửa (FPD) [6], detector nitơ-phospho (NPD) [7], detector khối phổ (MS) [8]; sắc ký lỏng ghép nối với detector khối phổ hai lần (MS/MS) [9], detector quang phổ hấp thụ phân tử vùng tử ngoại (UV) [10] hay phương pháp CE kết hợp với detector UV [11], detector đo độ dẫn không tiếp xúc (C<sup>4</sup>D) [12]. Theo TVCN 11492:2016 [13], phương pháp sắc ký khí khối phổ được sử

\*Tác giả liên hệ: Email: manhhuy162dhkhtn@gmail.com

# Study on development of an analytical procedure to quantify glyphosate by capillary electrophoresis method and its application for beverage

Manh Huy Nguyen<sup>1\*</sup>, Thi Ha Tran<sup>2</sup>, Minh Tuan Vu<sup>3</sup>,  
Thanh Dam Nguyen<sup>3</sup>, Hong Anh Duong<sup>1,3</sup>, Hung Viet Pham<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for Environmental Technology and Sustainable Development, University of Science, Vietnam National University (VNU), Hanoi

<sup>2</sup>Thanh Do University

<sup>3</sup>Key Laboratory of Analytical Technology for Environmental Quality and Food Safety Control (KLATEFOS), University of Science, VNU, Hanoi

Received 17 May 2021; accepted 2 July 2021

## Abstract:

Nowadays, the issue of fresh food, drinks, and residue analysis of toxic compounds in food and drinks is increasingly interested in society. In this study, an analytical procedure for quantitative analysis of the glyphosate residue in beverages such as tea infusion and beer was developed based on the capillary electrophoresis method with capacitively-coupled contactless conductivity detector combined with sample preparation using solid phase extraction technique. The analytical conditions optimised for capillary electrophoresis equipment included: histidine/acetic acid background electrolyte solution with histidine concentration of 1 mM and pH value was adjusted to 2.75 by acetic acid; a separation voltage was 20 kV was applied and a high voltage injection at 20 kV for 10 seconds was chosen. The optimised analytical procedure has resulted in a low detection limit of glyphosate (0.42 µg/l), the repeatability and reproducibility expressed by the relative standard deviation of the peak area and migration time were both less than 10%, a wide linear range, and the obtained recovery efficiency of glyphosate on different drinks were achieved to values ranging from 88.7 to 96.3%.

**Keywords:** beer, capacitively-coupled contactless conductivity detector, capillary electrophoresis, glyphosate, tea infusion.

**Classification number:** 2.10

dùng để xác định hàm lượng glyphosat trong thực phẩm có nguồn gốc từ thực vật. Trong phương pháp này, glyphosat được dẫn xuất trực tiếp bằng hỗn hợp của trifluoroacetic anhydrit và heptafluorobutanol để giảm độ phân cực và tăng khả năng bay hơi. TCVN 12473:2018 [14] sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao detector UV để phân tích trực tiếp glyphosat trong thuốc bảo vệ thực vật. Tuy nhiên, để có thể phân tích dư lượng glyphosat với một hàm lượng rất nhỏ thì phương pháp này cũng phải dẫn xuất hóa mẫu với các hợp chất mang màu do glyphosat có tính chất quang kém [15-17]. Ngoài hai phương pháp nêu trên, CE được biết đến là phương pháp có khả năng tách chất tốt, vận hành thiết bị đơn giản. Đặc biệt, khi kết hợp sử dụng với detector C<sup>4</sup>D, phương pháp này có thể trực tiếp phân tích glyphosat mà không cần dẫn xuất hóa mẫu [12]. Điều này mang lại những lợi thế lớn bởi việc dẫn xuất hóa mẫu khiến cho quy trình phân tích phức tạp, thời gian chuẩn bị mẫu kéo dài và hiệu suất thu hồi không cao. Do vậy, phương pháp CE với detector C<sup>4</sup>D đã được sử dụng để xây dựng quy trình xác định dư lượng glyphosat và ứng dụng cho phân tích một số loại đồ uống là trà (cụ thể là nước trà) và bia.

Ngoài ra, để phân tích glyphosat với hàm lượng nhỏ (cỡ µg/l) trong nền mẫu phức tạp như các mẫu đồ uống bằng thiết bị CE, nghiên cứu đã sử dụng kỹ thuật SPE là phương pháp để làm sạch và giàu mẫu.

## Thực nghiệm

### Hóa chất, thiết bị

Chất chuẩn glyphosat là loại tinh khiết đạt 99,1±0,1% (CPAChem). Các hóa chất được sử dụng để chuẩn bị BGE bao gồm: His>99,5% (Sigma-Aldrich, Mỹ); axit axetic 100%, lactic >99%, clohydric đặc 37%, xitric >99,5% (Merck, Đức), fomic (Sigma-Aldrich, Mỹ). Các dung môi được sử dụng cho quy trình chiết như MeOH, EtOH, isopropanol (IPA) là loại tinh khiết cho HPLC (Merck, Đức). Nước deion từ máy lọc nước tinh khiết điện trở 18 MΩ (Milipore - Simplicity UV, Pháp). Dung dịch chuẩn gốc của glyphosat 1000 mg/l được chuẩn bị trong nước deion, các dung dịch chuẩn nồng độ thấp hơn được pha loãng từ chuẩn gốc bằng nước deion.

Cột chiết được sử dụng là Oasis - WAX (Mixed - Mode Weak Anion eXchange) 225 mg loại cột ngắn. Màng lọc lỵnon có kích thước lỗ 0,2 và 0,45 µm (Whatman, Anh). Hệ thiết bị cô quay chân không của Hãng BUCHI (Thụy Sĩ). Hệ thiết bị SPE của Supelco (Mỹ).

Nghiên cứu sử dụng hệ thiết bị CE vận hành bằng tay (CE Manual) tự chế của CETASD có khối lượng dưới 9 kg, dùng nguồn điện một chiều 12 V, có thể đặt trong phòng thí nghiệm cũng như mang ra ngoài hiện trường. Hệ sử dụng nguồn cao thế EMCO ±25 kV (XP Power, Mỹ). Detector C<sup>4</sup>D thương phẩm của Hãng eDAQ (Úc) bao gồm: đầu dò ET120 sử dụng cho các mao quản đường kính ngoài nhỏ hơn 380 µm, bộ khuếch đại EA 120 và ghi tín hiệu e-corder 410. Cột mao quản fused-silica

của Hãng Agilent với đường kính trong 50  $\mu\text{m}$ , đường kính ngoài 375  $\mu\text{m}$ , độ dài tổng 70 cm và độ dài hiệu dụng 64 cm.

### **Tối ưu hóa quy trình phân tích glyphosat trên hệ thiết bị CE-C<sup>4</sup>D**

**Nghiên cứu lựa chọn BGE:** để có thể phân tích được trên CE-C<sup>4</sup>D, đầu tiên cần lựa chọn BGE có thành phần và pH thích hợp để đảm bảo chất phân tích nằm dưới dạng mang điện (cation hoặc anion). Glyphosat có 4 giá trị  $pK_a$ , lần lượt là 0,8, 2,2, 5,4 và 10,2. Với tính chất axit - bazơ như vậy, dạng tồn tại trong dung dịch của glyphosat sẽ phụ thuộc mạnh vào pH của BGE: ở  $pH < pK_{a1}$  (0,8), glyphosat nằm dưới dạng cation (do sự proton hóa của nhóm amino trong phân tử);  $pH > pK_{a2}$  (2,2), glyphosat sẽ nằm dưới dạng anion (do sự phân ly của các nhóm chức photphonic và cacboxylic). Việc phân tích dưới dạng anion sẽ thuận lợi hơn do điều kiện để chuyển glyphosat về dạng cation ( $pH < 0,8$ ) không thuận lợi với CE-C<sup>4</sup>D. See và cs (2010) [12] đã sử dụng BGE với thành phần His 12 mM ở pH 6,3 để phân tích glyphosat. Tuy nhiên, ở pH này, ảnh hưởng cản trở của dòng điện di thẩm thấu (EOF) tới sự phân tích các anion là khá lớn và cần phải sử dụng thêm các chất hỗ trợ để điều chỉnh dòng EOF, cụ thể là CTAB. Trong nghiên cứu này, glyphosat cũng được phân tích dưới dạng anion nhưng ở pH thấp hơn (pH 3) để hạn chế ảnh hưởng của EOF. Các BGE với thành phần His (hợp phần bazơ) tiếp tục được lựa chọn, nhưng ở nồng độ thấp hơn (1 mM) do có khả năng phân tách tốt đối với nhóm chức photphat [18]. Việc điều chỉnh pH của BGE tới giá trị mong muốn được thực hiện bằng cách thêm các hợp phần axit hữu cơ mạch ngắn thông thường (fomic, axetic, lactic, xitric) và thu được các BGE tương ứng là His/For, His/Ace, His/Lac và His/Cit. Ngoài ra, các điều kiện khác trong khảo sát được cố định là: dung dịch chuẩn glyphosat có nồng độ 10 mg/l, thời gian bơm mẫu kiểu xi-phông được giữ trong 60 s. Điện thế tách ở các khảo sát ban đầu được đặt là 17,5 kV. Điều kiện phân tích được lựa chọn trên cơ sở cho đường nền ổn định, tín hiệu phân tích của glyphosat lớn, hình dạng sắc nét.

Tiếp theo là khảo sát ảnh hưởng của His trong BGE với các nồng độ được khảo sát là 1, 2, 3, 4, 5 và 8 mM. Sau đó, khảo sát ảnh hưởng của pH trong BGE với các giá trị pH được khảo sát từ 2,5 đến 3,5.

**Nghiên cứu lựa chọn điện thế tách:** điều kiện này được khảo sát với các giá trị điện thế tách thay đổi từ 12,5 tới 22,5 kV.

**Khảo sát điều kiện bơm mẫu:** thay vì sử dụng kỹ thuật bơm mẫu kiểu xi-phông như các khảo sát nêu trên, kỹ thuật bơm điện được khảo sát ở khoảng điện thế bơm 5-20 kV với thời gian giữ cố định là 10 s.

### **Tối ưu quy trình xử lý và làm giàu mẫu bằng phương pháp SPE**

**Quy trình xử lý mẫu sơ bộ:** các mẫu sau khi thu thập về phòng thí nghiệm được xử lý sơ bộ với quy trình riêng biệt trước quá trình chiết. Với các mẫu nước trà, thực hiện cân

chính xác 1 g trà khô vào cốc thủy tinh, thêm 100 ml nước sôi và thực hiện hãm trà trong 10 phút, lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ . Với các mẫu bia, 100 ml mẫu được đem đi rung siêu âm khử bọt khí và lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$ . Quá trình tối ưu các điều kiện SPE được thực hiện trên nền mẫu giả - mẫu trà được pha trong 100 ml nước đun sôi, để nguội có thêm chuẩn glyphosat sao cho nồng độ là 5  $\mu\text{g/l}$ . Sau đó, mẫu cũng được lọc qua màng lọc 0,45  $\mu\text{m}$  trước khi qua cột SPE.

**Quy trình chiết:** cột chiết được hoạt hóa bằng 5 ml MeOH và 5 ml nước deion với tốc độ dòng 1 ml/phút. 100 ml dung dịch mẫu được qua cột với tốc độ dòng 1 ml/phút. Sau đó, rửa cột bằng 5 ml nước deion và 5 ml MeOH, để khô cột khoảng 10 phút. Rửa giải chất phân tích trên cột bằng dung dịch HCl 0,5 M trong MeOH với tốc độ dòng 0,5 ml/phút. Dịch chiết được cô cạn bằng máy cất quay chân không, sau đó tiếp tục được cô tới khô bằng khí  $N_2$ . Mẫu sau khi cô khô được hòa tan trong 1 ml nước deion, lọc qua màng lọc 0,2  $\mu\text{m}$  trước khi tiến hành phân tích trên thiết bị CE-C<sup>4</sup>D.

**Tối ưu quy trình chiết:** các yếu tố được khảo sát bao gồm loại cột chiết, dung môi rửa giải và thể tích dung môi rửa giải. Qua tham khảo các công trình nghiên cứu về phân tích glyphosat [19] và đặc tính của các loại cột SPE, cột Oasis - WAX được lựa chọn làm cột chiết trong nghiên cứu.

Sau đó, các yếu tố khác ảnh hưởng tới quy trình chiết lần lượt được tối ưu. Đầu tiên là lựa chọn loại dung môi rửa giải: dựa vào đặc tính glyphosat và cột WAX, dung môi rửa giải được đề xuất là dung dịch HCl pha trong các dung môi hữu cơ có khả năng solvat hóa cao. Trong nghiên cứu này, các loại dung môi hữu cơ được khảo sát là MeOH, EtOH và IPA. Sau đó, khảo sát thể tích dung môi rửa giải được tiến hành với các thể tích khảo sát trong khoảng 10-50 ml.

### **Đánh giá phương pháp và phân tích mẫu thực**

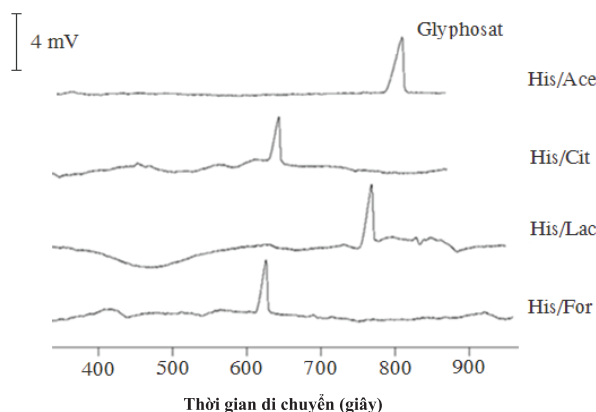
Giá trị LOD và giới hạn định lượng (LOQ) được xác định bằng 3 và 10 lần tỷ lệ tín hiệu/nhiều nền. Khoảng tuyến tính được xác định bằng cách cách đo một dãy dung dịch chuẩn glyphosat có nồng độ tăng dần, khoảng tuyến tính là khoảng nồng độ mà các kết quả đo vẫn còn tuyến tính tốt với nhau (hệ số tương quan tuyến tính  $R^2 \geq 0,99$ ). Độ chụm được đánh giá thông qua độ lặp lại và tái lặp. Độ lặp lại của phương pháp được xác định thông qua giá trị RSD của thời gian di chuyển và diện tích pic khi đo lặp lại 7 lần; độ tái lặp được thực hiện trong 5 ngày liên tục với nồng độ glyphosat là 0,1 mg/l. Độ đúng được xác định bằng hiệu suất thu hồi của mẫu thêm chuẩn glyphosat trên nền mẫu thực với nồng độ 5  $\mu\text{g/l}$ .

Đường chuẩn đo mẫu thực được xây dựng dựa trên khoảng tuyến tính. Mẫu thực là mẫu nước trà tươi (từ lá trà tươi) và 2 mẫu nước trà từ các loại trà thương phẩm bán trên thị trường (trà đen loại túi lọc, trà xanh loại nguyên búp). Các mẫu bia là các loại bia phổ biến trên thị trường. Sau khi tiến hành xử lý và làm giàu, các mẫu này được đo trên thiết bị CE-C<sup>4</sup>D rồi xác định nồng độ qua phương pháp đường chuẩn.

## Kết quả và thảo luận

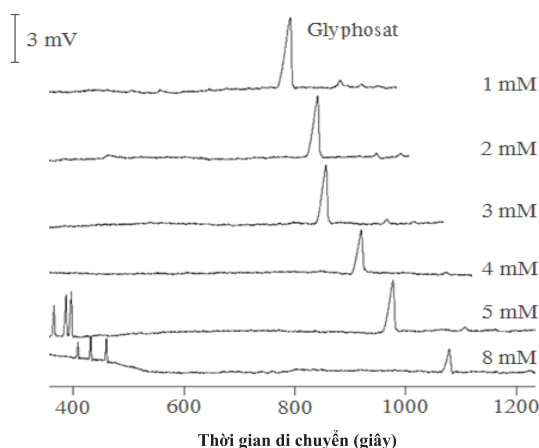
### Tối ưu hóa quy trình phân tích glyphosat trên hệ thiết bị CE-C<sup>4</sup>D

**Lựa chọn BGE:** các BGE là dung dịch đệm His/For, His/Ace, His/Lac và His/Cit với nồng độ His 1 mM ở pH 3. Theo các kết quả thu được ở hình 2, điều kiện đệm His/Ace cho đường nền ổn định và tín hiệu glyphosat lớn nhất, bởi vậy His/Ace được lựa chọn làm BGE.



Hình 2. Điện di đồ khảo sát lựa chọn BGE.

**Khảo sát nồng độ His trong BGE:** sau khi lựa chọn được BGE là đệm His/Ace, ảnh hưởng của nồng độ His được khảo sát thông qua các dung dịch đệm có nồng độ tăng dần là 1, 2, 3, 4, 5 và 8 mM, pH được giữ cố định ở 3.

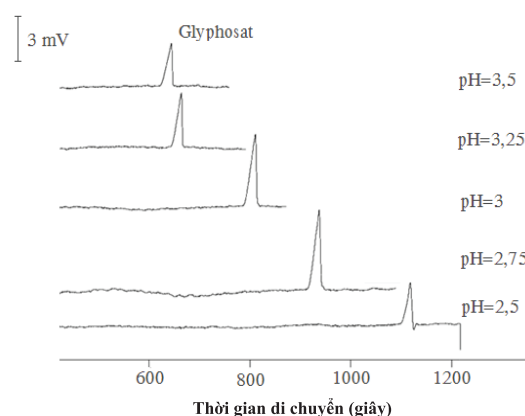


Hình 3. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của nồng độ His.

Tín hiệu glyphosat xuất hiện trên điện di đồ (hình 3) dựa trên nguyên tắc đo sự chênh lệch độ dẫn của glyphosat so với BGE. Bởi vậy, khi nồng độ His tăng dần (1-8 mM), độ dẫn của BGE tăng dần, dẫn tới tín hiệu của glyphosat trong khảo sát có xu hướng giảm. Mặt khác, khi nồng độ His tăng dần cũng làm độ nhớt của BGE tăng lên, tốc độ di chuyển của các ion glyphosat trong mao quản giảm, dẫn tới thời gian di chuyển của ion glyphosat tới detector lâu hơn và thời

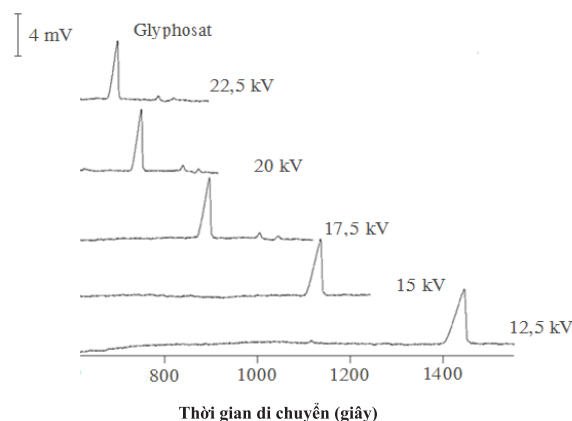
gian phân tích kéo dài hơn. Điều kiện nồng độ His 1 mM cho tín hiệu glyphosat lớn nhất và thời gian phân tích ngắn nên được lựa chọn để tiếp tục khảo sát các yếu tố khác.

**Khảo sát ảnh hưởng của pH BGE:** pH là một trong các yếu tố quan trọng cần được khảo sát, bởi nó ảnh hưởng đến thời gian di chuyển và độ lớn của tín hiệu phân tích trên CE. Các điều kiện pH được khảo sát là 2,5, 2,75, 3, 3,25 và 3,5. Kết quả thu được ở hình 4 cho thấy, theo chiều pH tăng dần (từ 2,5 đến 3,5), nồng độ axit axetic thêm vào để điều chỉnh pH giảm dần, độ nhớt của dung dịch giảm dần dẫn tới thời gian phân tích ngắn hơn. Tuy nhiên, ở điều kiện pH 2,75 là lớn nhất với đường nền ổn định. Bởi vậy, điều kiện pH 2,75 được lựa chọn.



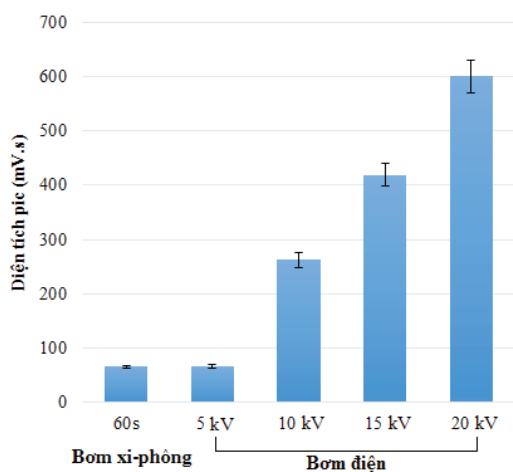
Hình 4. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của pH BGE.

**Khảo sát ảnh hưởng của điện thế tách:** sau khi đã tối ưu BGE là His/Ace 1 mM ở pH 2,75, điều kiện điện thế tách được khảo sát là 12,5, 15, 17,5, 20 và 22,5 kV. Khi điện thế tách tăng dần, điện trường tăng lên dẫn tới ion phân tích di chuyển nhanh hơn, thời gian phân tích ngắn hơn và pic sắc nét hơn (hình 5). Điều kiện điện thế tách 17,5 và 20 kV đều cho tín hiệu phân tích cao, nhưng thời gian phân tích tại 20 kV ngắn hơn nên điều kiện điện thế 20 kV được lựa chọn.



Hình 5. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của điện thế tách.

**Khảo sát ảnh hưởng của bơm mẫu:** mục đích của khảo sát bơm điện là để tăng độ nhạy của kỹ thuật phân tích. Một điện thế xác định được áp vào trong quá trình bơm mẫu, dưới tác dụng của điện thế, trong thời gian ngắn, lượng mẫu đưa vào mao quản sẽ tăng lên, từ đó tăng được tín hiệu của chất phân tích. Các điều kiện được khảo sát bao gồm bơm mẫu kiểu xi-phông trong 60 s và các điều kiện bơm điện tăng dần từ 5, 10, 15 và 20 kV, thời gian áp thế là 10 s. Nhìn vào biểu đồ so sánh diện tích pic thu được (hình 6) có thể thấy, khi tăng điện thế bơm mẫu thì tín hiệu glyphosat tăng dần. Như vậy, trong cùng một thời gian, khi điện thế càng lớn, lượng mẫu đi vào mao quản càng nhiều, tín hiệu thu được càng cao. So sánh diện tích pic khi bơm xi-phông trong thời gian 60 s và bơm điện 10 s ở 20 kV thì tín hiệu thu được đã tăng lên đến 9,2 lần. Bởi vậy, điều kiện bơm mẫu được lựa chọn là bơm điện ở điện thế 20 kV trong 10 s.

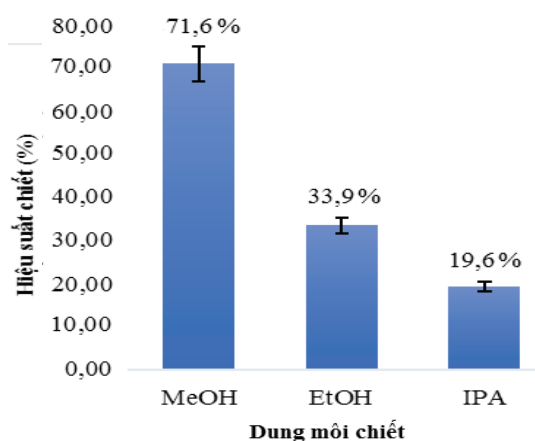


Hình 6. Biểu đồ khảo sát ảnh hưởng của điều kiện bơm mẫu.

#### Tối ưu quy trình xử lý và làm giàu mẫu bằng SPE

**Khảo sát lựa chọn loại dung môi rửa giải:** dung dịch rửa giải là HCl 0,5M trong các dung môi hữu cơ phân cực có khả năng solvat hóa cao. Khi đi qua cột chiết, ion Cl<sup>-</sup> sẽ thay thế và đẩy ion glyphosat ra khỏi pha tĩnh của cột chiết rồi đi ra khỏi cột. Các dung môi khảo sát gồm MeOH, EtOH và IPA với thể tích dung dịch rửa giải cố định là 50 ml.

Khi rửa giải bằng dung dịch HCl 0,5M trong MeOH, EtOH và IPA thu được hiệu suất chiết tương ứng là 71,6, 33,9 và 19,6% (hình 7). Các kết quả hiệu suất chiết này giảm dần theo chiều cấu tạo phân tử các dung môi chiết phức tạp dần, nguyên nhân có thể là do dung môi có cấu trúc phân tử càng phức tạp (như IPA) làm giảm khả năng tương tác của tác nhân rửa giải (HCl) với pha tĩnh của cột chiết. Vì vậy, dung dịch HCl pha trong dung môi MeOH với hiệu suất chiết lớn nhất được sử dụng làm dung môi rửa giải glyphosat.



Hình 7. Biểu đồ khảo sát lựa chọn dung môi rửa giải.

**Khảo sát thể tích dung môi rửa giải:** các điều kiện được khảo sát là thể tích dung dịch rửa giải ở 10, 20, 30, 40 và 50 ml. Kết quả thu được hiệu suất chiết ở các thể tích 10, 20, 30, 40 và 50 ml tương ứng là 92,6, 80,3, 79,9, 74,5 và 71,6%. Từ các kết quả này, thể tích dung dịch rửa giải HCl 0,5 M/MeOH là 10 ml cho hiệu suất chiết cao nhất nên điều kiện này đã được lựa chọn.

#### Đánh giá phương pháp

Kết quả LOD của phương pháp MDL (Method detection limit) và LOQ của phương pháp MQL (Method quantification limit) (bảng 1) với mẫu nước trà thu được đều tốt, nồng độ cỡ ppb, lần lượt là 0,42 và 1,40 µg/l. Theo các tiêu chuẩn về trà [4], giới hạn tối đa cho phép trong mẫu trà là 1 mg/kg và với quy trình phân tích là pha 1 g trà trong 100 ml thì giới hạn này tương ứng với mẫu nước trà là 10 µg/l, giá trị giới hạn này lớn hơn nhiều so với MDL, MQL. Như vậy, từ các kết quả MDL, MQL đã thu được cho thấy, quy trình phân tích đáp ứng được mục tiêu của nghiên cứu là phát hiện và định lượng dư lượng glyphosat trong nước trà - phản ánh ảnh hưởng trực tiếp tới người sử dụng. Các giá trị MDL, MQL này cũng đáp ứng được việc phân tích dư lượng glyphosat trong các mẫu bia (với nồng độ glyphosat tìm thấy dao động trong khoảng 5,7-49,7 µg/l) [5].

Độ chụm của phương pháp được đánh giá thông qua độ lặp lại và tái lặp, các kết quả đo ở nồng độ 0,1 mg/l được trình bày ở bảng 1. Kết quả độ lặp lại của 7 lần đo liên tiếp thông qua RSD theo thời gian di chuyển là 3,7% và theo diện tích pic là 5,6%. Kết quả độ tái lặp trong 5 ngày liên tiếp thông qua RSD theo thời gian di chuyển là 5,6% và theo diện tích pic là 9,6%. Hầu hết, các giá trị độ lặp lại và tái lặp thu được đáp ứng tiêu chuẩn của Hiệp hội các nhà hoá phân tích chính thống (AOAC) về độ chụm [20].

**Bảng 1. LOD, LOQ, độ chụm và khoảng tuyến tính, đường chuẩn của phương pháp phân tích.**

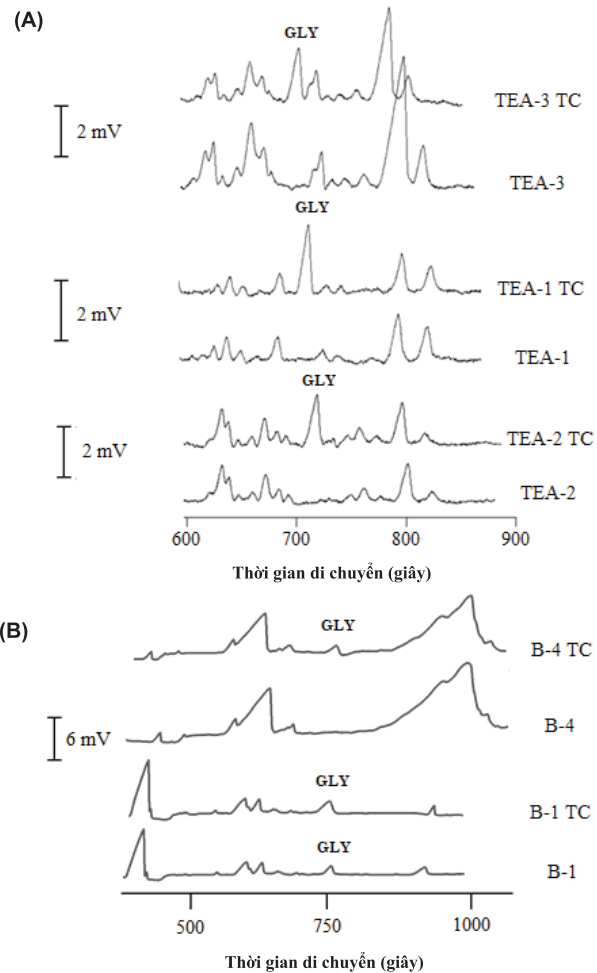
| Chất phân tích                                                |                                                                | Glyphosat |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------|
| Hiệu suất chiết (H%)                                          |                                                                | 92,6±5,19 |
| Hệ số làm giàu thực = (H%×100)/Hệ số làm giàu lý thuyết (lần) |                                                                | 92,6      |
| LOD của phương pháp MDL (µg/l)                                |                                                                | 0,42      |
| LOQ của phương pháp MQL (µg/l)                                |                                                                | 1,40      |
| Độ lặp lại RSD% (n=7)                                         | Thời gian di chuyển                                            | 3,7       |
|                                                               | Diện tích pic tín hiệu                                         | 5,6       |
| Độ tái lập RSD% (n=5)                                         | Thời gian di chuyển                                            | 5,6       |
|                                                               | Diện tích pic tín hiệu                                         | 9,6       |
| Khoảng tuyến tính (µg/l)                                      |                                                                | 1,40-216  |
| Đường chuẩn                                                   | Khoảng đường chuẩn (µg/l)                                      | 2,16-108  |
|                                                               | Phương trình đường chuẩn: $Y = 2,351X + 5,230$ , $R^2 = 0,999$ |           |

Theo bảng 1, kết quả đánh giá khoảng tuyến tính của phương pháp với glyphosat là tương đối tốt, khoảng tuyến tính rộng (1,40-216 µg/l). Dựa trên khoảng tuyến tính, đường chuẩn của glyphosat với 8 điểm chuẩn được xây dựng. Đường chuẩn thu được có hệ số tương quan tuyến tính tốt ( $R^2 > 0,999$ ), đáp ứng được việc xác định glyphosat trong các mẫu nước trà và các mẫu bia.

Các mẫu nước trà bao gồm: nước trà tươi (từ lá trà tươi), nước trà đen (trà đen loại túi lọc) và nước trà xanh (trà xanh loại nguyên búp). Các mẫu bia gồm 5 loại phổ biến trên thị trường. Sau khi được xử lý và làm giàu, các mẫu này được đo trên hệ thiết bị CE-C<sup>4</sup>D. Kết quả phân tích các mẫu thực được thể hiện ở bảng 2 và hình 8. Chỉ có một mẫu bia phát hiện thấy glyphosat ở nồng độ 4,63±0,26 µg/l, các mẫu còn lại đều không phát hiện thấy glyphosat.

**Bảng 2. Kết quả phân tích và hiệu suất thu hồi.**

| Mẫu           | Mã mẫu thực | Kết quả phân tích (µg/l) | Mã mẫu thực thêm chuẩn | Hiệu suất thu hồi (%) |
|---------------|-------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|
| Nước trà tươi | TEA-1       | <MDL                     | TEA-1 TC               | 94,1±5,27             |
| Nước trà xanh | TEA-2       | <MDL                     | TEA-2 TC               | 96,3±5,39             |
| Nước trà đen  | TEA-3       | <MDL                     | TEA-3 TC               | 92,9±5,20             |
| Mẫu bia 1     | B-1         | 4,63±0,26                | B-1 TC                 | 95,6±5,35             |
| Mẫu bia 2     | B-2         | <MDL                     | B-2 TC                 | 94,1±5,27             |
| Mẫu bia 3     | B-3         | <MDL                     | B-3 TC                 | 89,5±5,01             |
| Mẫu bia 4     | B-4         | <MDL                     | B-4 TC                 | 88,7±4,97             |
| Mẫu bia 5     | B-5         | <MDL                     | B-5 TC                 | 90,3±5,07             |

**Hình 8. Điện di đồ kết quả phân tích glyphosat mẫu nước trà (A) và mẫu bia (B).**

Hiệu suất thu hồi của phương pháp được xác định khi phân tích các mẫu nước trà, bia và các mẫu thêm chuẩn 5 µg/l glyphosat vào nền thực. Kết quả hiệu suất thu hồi của glyphosat trong 3 mẫu nước trà và 5 mẫu bia đạt 88,7-96,3% (bảng 2), các kết quả này đã đáp ứng được tiêu chuẩn của AOAC về hiệu suất thu hồi (cho phép từ 70 đến 125%) [20], chứng tỏ phương pháp đạt được yêu cầu về độ đúng.

## Kết luận

Nghiên cứu đã phát triển được phương pháp phân tích dư lượng glyphosat trong mẫu nước trà tươi, một số mẫu nước trà từ các sản phẩm trà thương mại và bia phổ biến trên thị trường, sử dụng kỹ thuật SPE và định tính, định lượng bằng CE-C<sup>4</sup>D. Phương pháp phân tích có LOD thấp (0,42 µg/l), khoảng tuyến tính rộng (1,40-216 µg/l), độ chính xác cao (độ lặp lại và tái lập xác định qua RSD của diện tích pic và thời gian di chuyển đều nhỏ hơn 10%, giá trị hiệu suất thu hồi của glyphosat trên các nền đồ uống khác nhau đạt 88,7-96,3%). Với các kết quả trên, nghiên cứu bước đầu đã xây dựng được quy trình phân tích glyphosat trong một số

loại thức uống phổ biến như nước trà và bia, mở ra hướng phân tích dư lượng glyphosat ở nhiều loại đồ uống khác (cà phê, sữa đậu nành...) trong tương lai.

## LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội thông qua đề tài mã số TN.20.17. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C.M. Benbrook (2016), "Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally", *Environmental Sciences Europe*, **28**(1), DOI: 10.1186/s12302-016-0070-0.
- [2] J.V. Tarazona, et al. (2017), "Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European union assessment and its differences with IARC", *Archives of Toxicology*, **91**(8), pp.2723-2743.
- [3] E. Grossbard, D. Atkinson (1985), *The Herbicide Glyphosate*, Butterworths, 490pp.
- [4] [https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=National%20Food%20Safety%20Standard%20Maximum%20Residue%20Limits%20for%20Pesticides%20in%20Foods%20\\_Beijing\\_China%20-%20Peoples%20Republic%20of\\_11-18-2019](https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=National%20Food%20Safety%20Standard%20Maximum%20Residue%20Limits%20for%20Pesticides%20in%20Foods%20_Beijing_China%20-%20Peoples%20Republic%20of_11-18-2019).
- [5] K. Cook (2019), *Glyphosate in Beer and Wine*, CALPIRG Education Fund, 22pp.
- [6] H. Kataoka, et al. (1996), "Simple and rapid determination of the herbicides glyphosate and glufosinate in river water, soil and carrot samples by gas chromatography with flame photometric detection", *Journal of Chromatography A*, **726**(1-2), pp.253-258.
- [7] J.Y. Hu, et al. (2008), "A simple method for the determination of glyphosate residues in soil by capillary gas chromatography with nitrogen phosphorus", *Journal of Analytical Chemistry*, **63**(4), pp.371-375.
- [8] E. Börjesson, L. Torstensson (2000), "New methods for determination of glyphosate and (aminomethyl) phosphonic acid in water and soil", *Journal of Chromatography A*, **886**(1-2), pp.207-216.
- [9] D. Pupke, et al. (2016), "Optimization of an enrichment and LC-MS/MS method for the analysis of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in saline natural water samples without derivatization", *J. Chromatogr. Sep. Tech.*, **7**(5), DOI: 10.4172/2157-7064.1000338.
- [10] F. Fang, et al. (2011), "Determination of glyphosate by high performance liquid chromatography with o-nitrobenzene sulfonyl chloride as derivatization reagent", *Journal of Instrumental Analysis*, **6**, pp.683-686.
- [11] S. Kodama, et al. (2008), "A fast and simple analysis of glyphosate in tea beverages by capillary electrophoresis with on-line copper (II)-glyphosate complex formation", *Journal of Health Science*, **54**(5), pp.602-606.
- [12] H.H. See, et al. (2010), "Rapid and direct determination of glyphosate, glufosinate, and aminophosphonic acid by online preconcentration CE with contactless conductivity detection", *Electrophoresis*, **31**(3), pp.575-582.
- [13] Bộ Khoa học và Công nghệ (2016), *TCVN 11492:2016 Thực phẩm có nguồn gốc thực vật - Xác định glyphosate và axit aminomethyl phosphonic (AMPA) - Phương pháp sắc ký khí*.
- [14] Bộ Khoa học và Công nghệ (2018), *TCVN 12473:2018 Thuốc bảo vệ thực vật - Xác định hàm lượng hoạt chất glyphosate bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao*.
- [15] M.P.G.D. Llasera, et al. (2005), "Matrix solid-phase dispersion extraction and determination by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection of residues of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in tomato fruit", *Journal of Chromatography A*, **1093**(1-2), pp.139-146.
- [16] M.V. Khrolenko, P.P. Wiczorek (2005), "Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulfonyl chloride", *Journal of Chromatography A*, **1093**(1-2), pp.111-117.
- [17] E.A. Hogendoorn, et al. (1999), "Rapid determination of glyphosate in cereal samples by means of pre-column derivatisation with 9-fluorenylmethyl chloroformate and coupled-column liquid chromatography with fluorescence detection", *Journal of Chromatography A*, **833**(1), pp.67-73.
- [18] Thanh Duc Mai, et al. (2013), "Portable capillary electrophoresis instrument with automated injector and contactless conductivity detection", *Analytical Chemistry*, **85**(4), pp.2333-2339.
- [19] N. Chamkasem, J.D. Vargo (2017), "Development and independent laboratory validation of an analytical method for the direct determination of glyphosate, glufosinate, and aminomethylphosphonic acid in honey by liquid chromatography/tandem mass spectrometry", *Journal of Regulatory Science*, **5**(2), pp.1-9.
- [20] AOAC (2002), *Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, [https://members.aoac.org/AOAC\\_Docs/StandardsDevelopment/SLV\\_Guidelines\\_Dietary\\_Supplements.pdf](https://members.aoac.org/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf).

# 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 (<sup>1,2...</sup>) ở phía trên. Dấu hoa thị (\*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.

## 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 (<sup>1,2,3...</sup>) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với 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 11 - November 2021

**Ứng dụng mô hình học sâu trong xác định các giai đoạn sinh trưởng của cây dưa lưới trồng trong nhà màng.**

Đặng Hoàng Anh Tuấn, Nguyễn Minh Thắng

**Phát triển hệ kính hiển vi huỳnh quang siêu phân giải ứng dụng trong nghiên cứu vi rút.**

Nguyễn Trọng Nghĩa, Nguyễn Thị Bích Ngọc, Trần Hồng Nhung, Nguyễn Đức Toàn, Nghiêm Thị Hà Liên, Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Thanh Thủy, Lê Trà My, Đào Huyền Quỳ, Nguyễn Minh Hiền

**Khảo sát tính chất hoá lý và điện hoá của các hệ điện giải nồng độ cao với muối  $\text{LiBF}_4$  ứng dụng cho pin sạc Li-ion điện thế cao 5 V.**

Phạm Kim Ngân, Lê Minh Kha, Trương Thị Thanh Tuyền, Huỳnh Thị Kim Tuyền, Nguyễn Văn Hoàng, Trần Văn Mẫn, Lê Mỹ Loan Phụng

**Sự biến đổi nồng độ asen trong nước ngầm dọc theo một mặt cắt ở làng Vạn Phúc, Hà Nội.**

Vũ Thị Duyên, Lãng Thế Anh, Phạm Thị Kim Trang, Phạm Hùng Việt, Michael Berg

**Khảo sát sơ bộ sự có mặt của các hợp chất PFOS và PFOA trong nước và trầm tích sông Cầu.**

Trần Hoài Lê, Vũ Đức Thảo, Huỳnh Trung Hải, Hoàng Thị Liên

**Đánh giá thích hợp đất đai trong điều kiện biến đổi khí hậu và nước biển dâng tại tỉnh Thái Bình bằng mô hình tích hợp GIS-ALES.**

Hoàng Quốc Nam, Nguyễn Thị Thủy, Lưu Thế Anh, Nguyễn Ngọc Thành, Nguyễn Đức Thành

**Nghiên cứu thực nghiệm tinh chế tinh dầu hồi trên tháp chưng luyện chân không gián đoạn.**

Nguyễn Thị Thảo, Đỗ Xuân Trường

**Một số đặc điểm của purpurin-18 tổng hợp từ chlorophyll a tách chiết từ tảo *Spirulina*.**

Nguyễn Minh Hiếu, Lê Bình Dương, Mai Anh Tuấn, Nguyễn Thị Bình, Bùi Thị Thanh Phương, Phạm Hương Sơn, Nguyễn Thị Lại

**Ứng dụng bùn hạt hiếu khí trên mô hình công nghệ (SBR) để xử lý nước thải có tải trọng hữu cơ thấp.**

Phạm Văn Doanh, Nguyễn Bình Minh, Trần Thị Việt Nga

**Nghiên cứu khả năng sinh tổng hợp lipid của hai chủng nấm men *Rhodospiridium toruloides* VTCC 20689 và VTCC 20765.**

Mai Thị Đàm Linh, Đỗ Thị Quỳnh, Nguyễn Thị Thanh Mai, Phạm Thanh Hiền, Trần Văn Tuấn

**Phân lập và tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu từ trái măng cầu xiêm *Annona muricata*.**

Đoàn Thị Kiều Tiên, Đỗ Thị Tuyết Nhung, Lê Trí Ân, Trần Hoàng Hiệp, Huỳnh Thị Ngọc Mi, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong

**Nghiên cứu phát triển quy trình xác định dư lượng glyphosat bằng phương pháp điện di mao quản và ứng dụng trong phân tích một số loại đồ uống.**

Nguyễn Mạnh Huy, Trần Thị Hà, Vũ Minh Tuấn, Nguyễn Thanh Đàm, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt

**1 Application of deep learning model in recognition of growth stages of *Cucumis melo* L. in greenhouse.**

Hoang Anh Tuan Dang, Minh Thang Nguyen

**6 Developing super-resolution fluorescent microscopy for virology research.**

Trong Nghia Nguyen, Thi Bich Ngoc Nguyen, Hong Nhung Tran, Duc Toan Nguyen, Thi Ha Lien Nghiem, Thi Thu Thuy Nguyen, Thanh Thuy Nguyen, Tra My Le, Huyen Quyen Dao, Minh Hien Nguyen

**12 Investigating on physical and electrochemical properties of high concentrated electrolytes based on  $\text{LiBF}_4$  salt for 5 V Li-ion rechargeable batteries.**

Kim Ngan Pham, Minh Kha Le, Thi Thanh Tuyen Truong, Thi Kim Tuyen Huynh, Van Hoang Nguyen, Van Man Tran, My Loan Phung Le

**17 Variations of arsenic in groundwater from a transect in Van Phuc village, Hanoi.**

Thi Duyen Vu, The Anh Lang, Thi Kim Trang Pham, Hung Viet Pham, Michael Berg

**23 Preliminary investigation of the presence of PFOS and PFOA in water and sediment in Cau river.**

Hoai Le Tran, Duc Thao Vu, Trung Hai Huynh, Thi Lien Hoang

**28 Land suitability assessment in climate change and sea level rise conditions in Thai Binh province with GIS-ALES integration model.**

Quoc Nam Hoang, Thi Thuy Nguyen, The Anh Luu, Ngoc Thanh Nguyen, Duc Thanh Nguyen

**34 Experimental study on essential anise star oil purification in vacuum batch distillation.**

Thi Thao Nguyen, Xuan Truong Do

**40 Some characteristics of purpurin-18 synthesised from chlorophyll a of *Spirulina*.**

Minh Hieu Nguyen, Binh Duong Le, Anh Tuan Mai, Thi Binh Nguyen, Thi Thanh Phuong Bui, Huong Son Pham, Thi Lai Nguyen

**44 Application of aerobic granulation in SBR technology to treat low-strength urban wastewater.**

Van Doanh Pham, Binh Minh Nguyen, Thi Viet Nga Tran

**48 Study on the lipid biosynthesis of two oleaginous yeast strains *Rhodospiridium toruloides* VTCC 20689 and VTCC 20765.**

Thi Dam Linh Mai, Thi Quynh Do, Thi Thanh Mai Nguyen, Thanh Hien Pham, Van Tuan Tran

**53 Isolation and selection of yeasts from soursop *Annona muricata* for wine fermentation.**

Thi Kieu Tien Doan, Thi Tuyet Nhung Do, Tri An Le, Hoang Hiep Tran, Thi Ngọc Mi Huynh, Ngoc Thanh Nguyen, Xuan Phong Huynh

**58 Study on development of an analytical procedure to quantify glyphosate by capillary electrophoresis method and its application for beverage.**

Manh Huy Nguyen, Thi Ha Tran, Minh Tuan Vu, Thanh Dam Nguyen, Hong Anh Duong, Hung Viet Pham