



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

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

B

Tập 59 - Số 7 - Tháng 7 năm 2017

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

TỔNG BIÊN TẬP

Đặng Ngọc Bảo

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hải Hằng
Nguyễn Thị Hương Giang

TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP

Phạm Thị Minh Nguyệt

TRƯỞNG BAN TRỊ SỰ

Lương Ngọc Quang Hưng

TRÌNH BÀY

Đinh Thị Luận

EDITORIAL COUNCIL

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

EDITOR-IN-CHIEF

Dang Ngoc Bao

DEPUTY EDITORS

Nguyen Thi Hai Hang
Nguyen Thi Huong Giang

HEAD OF EDITORIAL BOARD

Pham Thi Minh Nguyet

HEAD OF ADMINISTRATION

Luong Ngoc Quang Hung

ART DIRECTOR

Dinh Thi Luan

TÒA SOẠN

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

EDITORIAL OFFICE

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

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

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

PUBLICATION LICENCE

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

Ứng dụng phương pháp điện di mao quản nhằm theo dõi sự gia tăng hàm lượng của một số axit hữu cơ mạch ngắn trong biodiesel theo thời gian

Nguyễn Văn Quân, Dương Hồng Anh*, Nguyễn Thúy Ngọc, Phạm Hùng Việt, Phan Thị Kim Trang

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

Ngày nhận bài 3/1/2017; ngày chuyển phản biện 5/1/2017; ngày nhận phản biện 20/2/2017; ngày chấp nhận đăng 10/3/2017

Tóm tắt:

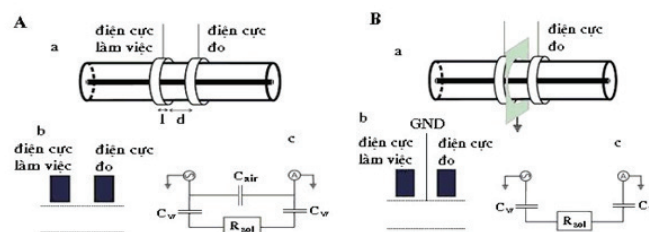
Điện di mao quản (CE) kết hợp với cảm biến đo độ dẫn không tiếp xúc (C^4D) là một kỹ thuật phân tích đơn giản về mặt thiết bị, tiết kiệm về chi phí hóa chất tiêu hao, có khả năng xác định định tính và định lượng đồng thời một số ion trong các nền mẫu lỏng. Bài báo mô tả việc sử dụng hệ CE- C^4D như một công cụ phát hiện các axit hữu cơ mạch ngắn (axit formic, axetic, propionic) ở dạng anion tương ứng để theo dõi sự thay đổi hàm lượng các axit nêu trên trong biodiesel theo thời gian bảo quản nhằm phục vụ cho việc kiểm soát chất lượng biodiesel. Mẫu được xử lý bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng, dịch chiết được phân tích trên hệ CE- C^4D , sử dụng dung dịch điện di nền (BGE) bao gồm 10mM L-histidin (His)/axit 2-(N-mopholino)etansunfonic, pH 5,6 bổ sung cetyltrimetylamoni bromua (CTAB) 0,02mM. Mẫu biodiesel sản xuất từ dầu trẩu không được bổ sung chất chống oxy hóa và được bảo quản ở điều kiện thường. Kết quả cho thấy, sau 20 ngày, hàm lượng axit formic, axetic và propionic trong biodiesel gia tăng trong các khoảng 6,86-33,2 mg/kg, 7,99-16,0 mg/kg và 1,53-5,77 mg/kg tương ứng, làm tăng chỉ số axit của biodiesel từ 0,0169 đến 0,0597 mg KOH/g.

Từ khóa: Axit hữu cơ mạch ngắn, biodiesel, điện di mao quản.

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Điện di mao quản (capillary electrophoresis - CE) là phương pháp tách chất dựa trên khả năng di chuyển khác nhau của các phân tử tích điện trong lòng một mao quản rất hẹp dưới tác dụng của điện trường nhờ dòng chuyển dời có hướng của các điện tích trong điện trường theo một chiều nhất định. Để sử dụng kỹ thuật điện di mao quản, người dùng chỉ cần trang bị một nguồn phát cao thế, cột mao quản và một lượng nhỏ dung dịch đệm và mẫu. Các ion khác nhau trong nền mẫu được phân tách khi đi qua cột mao quản và nhận biết bởi detector (theo nguyên tắc đo điện, đo quang hoặc phổ khối) đặt cuối cột. Detector điện hóa (detector đo thế, đo dòng và đo độ dẫn) là loại detector phổ biến đối với các thiết bị điện di mao quản và ứng dụng được với các chất mang điện; chúng thường được sử dụng cho phân tích các cation, anion vô cơ trong mẫu lỏng. Trong đó, detector đo độ dẫn không tiếp xúc - C^4D (điện cực không tiếp xúc trực tiếp với dung dịch đo) là detector phổ biến nhất bởi đặc tính vận năng và cấu trúc nhỏ gọn (xem hình 1).



Hình 1. Mô hình đo độ dẫn không tiếp xúc và mạch điện tương đương.

A: Không có điện cực nối đất; B: Có điện cực nối đất ngăn cách giữa hai điện cực; a: Sơ đồ khối; b: Dạng mặt cắt; c: Mạch điện tương đương.

Do có cấu tạo không quá cồng kềnh, không đòi hỏi điều kiện ngặt nghèo về áp suất, tiêu tốn ít hóa chất nên chi phí vận hành và bảo dưỡng hệ thiết bị CE cũng ít hơn rất nhiều so với các phương pháp phân tích công cụ có thể phân tích đa chỉ tiêu thông thường (như phổ hấp thụ nguyên tử, sắc ký lỏng hiệu năng cao...). Nhóm nghiên cứu thuộc Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội đã nghiên cứu chế tạo thành công các hệ

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

Application of capillary electrophoresis method for investigating the increase in short chain fatty acid concentrations in biodiesel over time

Van Quan Nguyen, Hong Anh Duong*,
Thuy Ngoc Nguyen,
Hung Viet Pham, Thi Kim Trang Phan

University of Science, Vietnam National University in Hanoi

Received 3 January 2017; accepted 10 March 2017

Abstract:

Capillary electrophoresis (CE) coupled with capacitively-coupled contactless conductivity detector (C⁴D) is considered as an analytical method with some advantages as simple equipment, saving of time and consumable chemicals. This method can be useful for the simultaneous analysis of multi-ions in liquid matrix. This study describes the using of CE-C⁴D system for determination of short chain fatty acids in biodiesel as the corresponding anions in order to monitor the concentration increase of these acids during the storage process of biodiesel. Samples were treated by liquid-liquid extraction, and then the aqueous phases were removed and analysed by CE-C⁴D system. The background electrolyte (BGE) was composed of 10mM L-histidine (His)/2-(N-morpholino)ethanesulfonic (MES) acid, pH 5.6, and 0.02mM cetyltrimethylammonium bromide (CTAB). In the experiment conducted in 20 days, biodiesel was added with no antioxidants and stored under normal conditions. The results showed that the concentrations of formic acid, acetic acid, and propionic acid in biodiesel varied from 6.86-33.2 mg/kg, 7.99-16.0 mg/kg, and 1.53-5.77 mg/kg, respectively, leading to the elevation of acid index from 0.0169 to 0.0597 mg KOH/g.

Keywords: Biodiesel, capillary electrophoresis, short chain fatty acid.

Classification number: 1.4

thiết bị điện di mao quản đi kèm với detector đo độ dẫn không tiếp xúc và phát triển các ứng dụng trong lĩnh vực môi trường như xác định hàm lượng cation, anion vô cơ cơ bản, asen trong nước mặt, nước ngầm, nước mưa...[1].

Một đối tượng ứng dụng tiếp theo được hướng tới của phép xác định bằng CE-C⁴D đó là các ion hữu cơ có kích thước nhỏ, ví dụ dạng ion của các axit hữu cơ mạch ngắn như axit formic, axetic và propionic. Các axit này là sản phẩm chính của quá trình oxy hoá biodiesel trong quá trình bảo quản, cũng là các thành phần chính đóng góp vào tính axit của biodiesel, có thể gây ra sự ăn mòn và đóng cặn động cơ, đặc biệt ở buồng phun nhiên liệu [2]. Hiểu rõ thành phần của các axit hữu cơ mạch ngắn (axit formic, axetic, propionic) có thể tính được chỉ số axit của biodiesel [3, 4] và cung cấp nhiều thông tin hơn trong việc kiểm soát quá trình oxy hoá nhiên liệu nhằm phục vụ công tác bảo quản và quản lý chất lượng biodiesel. Việc xác định hàm lượng của các axit này thông thường được thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký ion [4-7].

Trong bài báo này, chúng tôi sẽ trình bày việc theo dõi sự biến đổi hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn (axit formic, axetic, propionic) trong biodiesel, hay chỉ số axit của biodiesel thông qua việc xác định các axit này bằng hệ CE-C⁴D. Các kết quả phân tích được so sánh với kết quả thu được từ phương pháp thông dụng là HPLC nhằm khẳng định hiệu quả của việc sử dụng phương pháp mới.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất, thiết bị

Toàn bộ hóa chất được sử dụng đều thuộc loại tinh khiết phân tích. CH₃COONa.3H₂O được mua từ Merck (Darmstadt, Đức). HCOONa, ClCH₂COONa, CH₃CH₂COONa, L-Histidin (His), axit 2-(N-morpholino)ethanesulfonic (MES), axit 2-(N-morpholino)propanesulfonic (MOPs), ddTris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) và Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) được mua từ Sigma-Aldrich (Buchs, Thụy Sĩ). Dung dịch điện di nền được sử dụng chứa 10mM His/Mes (pH 5,6), thêm CTAB để điều chỉnh dòng điện di thẩm thấu (EOF). Trước lần phân tích đầu tiên của mỗi ngày, mao quản được ổn định hóa bằng dung dịch NaOH 0,1M trong 10 phút, sau đó là nước deion trong 10 phút và BGE trong 30 phút. Sau mỗi phép đo, mao quản được rửa bằng BGE trong vòng 3 phút.

Phép phân tích được thực hiện trên hệ thiết bị CE-C⁴D 1 kênh tự động tự chế tạo [1], điện thế tách dùng trong quá trình phân tích là +15 kV. Mao quản silica nóng chảy,

đường kính trong 50 μm với chiều dài tổng 60 cm và chiều dài hiệu dụng 50 cm được sử dụng cho việc phân tách các chất phân tích.

Kết quả phân tích trên thiết bị điện di mao quản được so sánh đối chứng với kết quả thu được trên thiết bị HPLC LC20AB (Shimadzu, Nhật Bản), sử dụng detector mảng diot DAD ở 210 nm.

Chuẩn bị mẫu

Mẫu biodiesel khảo sát được sản xuất từ dầu cọ, được chia ra các lọ đựng mẫu, đóng kín và bảo quản ở điều kiện phòng. Theo thời gian (ngày thứ 1, 2, 5, 10, 15 và 20), mẫu biodiesel được lấy ra và phân tích nồng độ các axit hữu cơ mạch ngắn bằng cả hai phương pháp CE và HPLC. Trước hết các anion được chiết từ biodiesel sang dung môi ưa nước bằng cách lấy 5 ml biodiesel cho vào lọ dung tích 15 ml và thêm 1 ml dung môi chiết (BGE pha loãng 10 lần) có chứa nội chuẩn ($\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ viết tắt là IS - Internal Standard) ở nồng độ 19,1 ppm. Lọ được lắc bằng máy lắc (KMC 1300V, Vision Scientific, Hàn Quốc) trong 2 phút, sau đó ly tâm bằng thiết bị ly tâm Mirko 220R, Hettich, Đức với tốc độ 8000 vòng/phút trong 5 phút. Sau khi ly tâm, 800 μl pha ưa nước được tách khỏi pha hữu cơ, đem phân tích trên thiết bị CE-C⁴D và phân tích đối chứng trên thiết bị HPLC.

Tính hàm lượng các axit và chỉ số axit

Nồng độ từng chất phân tích (C_v , mg/l) trong dung dịch chiết được tính theo phương pháp đường chuẩn, khoảng đường chuẩn và các thông số đánh giá phương pháp được trình bày cụ thể trong bảng 1.

Từ nồng độ chất phân tích trong dung dịch chiết (C_v , mg/l) có thể tính được hàm lượng của các chất phân tích trong biodiesel (C_m , mg/kg) theo công thức:

$$C_m = \frac{C_v \cdot V_{\text{aq}}}{V_{\text{bio}} \cdot d_{\text{bio}}} \quad (1)$$

Trong đó, V_{aq} là thể tích dung dịch chiết (ml), V_{bio} là thể tích biodiesel (ml), d_{bio} là khối lượng riêng của biodiesel (kg/l).

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ $V_{\text{bio}}/V_{\text{aq}} = 5$ và $d_{\text{bio}} = 0,84$ kg/l, do đó:

$$C_m = \frac{C_v}{4,2} \quad (2)$$

Chỉ số axit được tính từ hàm lượng của các axit formic, axetic, propionic trong biodiesel như sau:

$$\text{AN} = \left(\frac{C_m, \text{HCOO}^-}{1000 \cdot 45} + \frac{C_m, \text{CH}_3\text{COO}^-}{1000 \cdot 59} + \frac{C_m, \text{C}_2\text{H}_3\text{COO}^-}{1000 \cdot 75} \right) \times 56 \quad (3)$$

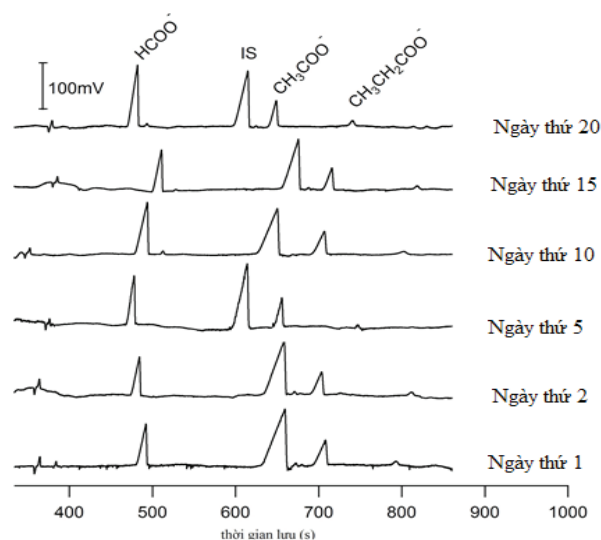
Kết quả

Các thông số về khoảng đường chuẩn, giới hạn phát hiện, độ lặp lại về diện tích và thời gian lưu, hiệu suất thu hồi khi phân tích các ion formiat, axetat, propionat được thể hiện trong bảng 1. Hệ số hồi quy tuyến tính của các đường chuẩn thu được có giá trị rất tốt $R^2 \geq 0,9998$. Các giá trị giới hạn định lượng của thiết bị đối với ba ion trên là 0,22-0,40 mg/l tương ứng với giới hạn định lượng của phương pháp đối với các axit trong biodiesel là 0,01-0,06 mg/kg. Độ lặp lại của diện tích tương đối và thời gian di chuyển được thể hiện dưới dạng độ lệch chuẩn tương đối (RSD) trên nền nước deion và nền biodiesel đều nhỏ hơn 5% khi phân tích lặp lại 5 lần. Hiệu suất thu hồi từ 96,8 đến 109,3% đối với nồng độ các anion.

Bảng 1. Các thông số đường chuẩn, giới hạn phát hiện, độ lặp lại và hiệu suất thu hồi của phương pháp.

STT	HCOO^-	CH_3COO^-	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$
Khoảng đường chuẩn (mg/l)	0,46÷92,05	0,74÷148,16	0,60÷120,10
Hệ số R^2	0,9999	0,9998	0,9999
LOQ thiết bị (mg/l)	0,22	0,40	0,25
LOQ phương pháp (mg/kg)	0,05	0,01	0,06
RSD diện tích (%) (n=5)	3,36	2,79	2,81
RSD thời gian (%) (n=5)	1,95	1,35	3,38
Hiệu suất thu hồi (%)	96,8±4,5	104,3±3,2	109,3±3,5

Hình 2 trình bày các điện di đồ thu được khi phân tích các axit formic, axetic, propionic trong biodiesel theo thời gian ngày thứ 1, 2, 5, 10, 15 và 20, các số liệu chi tiết về hàm lượng từng axit xác định được có trong bảng 2.

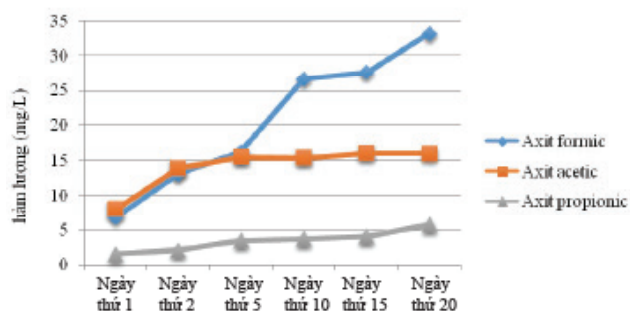


Hình 2. Điện di đồ phân tích sự có mặt của các axit formic, axetic và propionic trong biodiesel theo thời gian.

Bảng 2. Hàm lượng các axit formic, axetic, propionic và chỉ số axit của biodiesel theo thời gian.

Ngày	Axit formic (mg/kg)	Axit axetic (mg/kg)	Axit propionic (mg/kg)	Quy tương đương chỉ số axit (mg KOH/g)
1	6,84	7,99	1,53	0,0169
2	13,0	13,9	2,08	0,0304
5	16,2	15,5	3,45	0,0368
10	26,6	15,4	3,75	0,0496
15	27,6	16,1	4,06	0,0517
20	33,2	16,0	5,77	0,0597

Sự biến thiên nồng độ của từng axit theo thời gian được biểu diễn ở hình 3. Ban đầu các axit formic, axetic và propionic có mặt trong biodiesel ở hàm lượng tương đối nhỏ (6,84 mg/kg, 7,99 mg/kg và 1,53 mg/kg). Theo thời gian hàm lượng các chất này tăng lên, đặc biệt là axit formic (sau 20 ngày tăng từ 6,84 tới 33,2 mg/kg và vẫn tiếp tục xu hướng tăng), trong khi hàm lượng axetic và propionic có xu hướng tăng trong 5-10 ngày đầu, sau đó bắt đầu ổn định. Nguyên nhân là do khi không có mặt chất bảo quản thì quá trình tạo gốc tự do R*, ROO* xảy ra nhanh khi có mặt oxy không khí, điều này dẫn tới quá trình oxy hóa các axit béo và dẫn tới sự tăng nhanh hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn. Sự hình thành các axit béo này làm tăng chỉ số axit của biodiesel từ 0,0169 đến 0,0597 mg KOH/g. Tuy vậy, các giá trị này vẫn đảm bảo tiêu chí về chỉ số axit theo tiêu chuẩn EN 14214 và ASTM D6751 (0,5 mg KOH/g) [3, 4].



Hình 3. Sự biến thiên hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn trong biodiesel theo thời gian.

Như đã trình bày ở trên, kỹ thuật CE-C⁴D xác định các axit hữu cơ mạch ngắn là phương pháp mới, đơn giản về thiết bị, vận hành, chi phí thấp so với phương pháp HPLC truyền thống. Để so sánh đối chứng các mẫu dịch chiết được phân tích cả bằng CE và HPLC, các kết quả chi tiết được trình bày trong bảng 3. Đánh giá sai số giữa kết quả thu được từ hai phương pháp CE và HPLC cho thấy các kết quả phân tích có sai khác nhỏ hơn 11%, đây là sai khác chấp nhận được.

Bảng 3. So sánh kết quả phân tích hàm lượng axit formic, axetic và propionic theo hai phương pháp CE và HPLC.

Ngày	Axit formic (mg/kg)			Axit axetic (mg/kg)			Axit propionic (mg/kg)		
	CE	HPLC	Sai số (%)	CE	HPLC	Sai số (%)	CE	HPLC	Sai số (%)
1	6,84	6,43	6,38	7,99	8,44	-5,33	1,53	-	-
2	13,0	12,7	2,60	13,9	13,5	3,11	2,08	-	-
5	16,2	15,1	7,22	15,5	14,9	3,62	3,45	3,13	10,2
10	26,6	26,0	2,04	15,4	15,7	-1,92	3,75	3,70	1,35
15	27,6	28,1	-1,92	16,1	16,0	0,63	4,06	3,93	3,31
20	33,2	34,1	-2,79	16,0	16,1	-0,74	5,77	6,03	-4,31

Kết luận

Sử dụng kỹ thuật điện di mao quản với detector độ dẫn không tiếp xúc đã xác định được hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn formic, axetic và propionic trong biodiesel, qua đó theo dõi được sự biến đổi hàm lượng các sản phẩm của quá trình oxy hóa biodiesel theo thời gian. Kết quả phân tích đối chứng với phương pháp tiêu chuẩn HPLC cho sai số ở mức độ nhỏ hơn 11% khẳng định khả năng sử dụng kỹ thuật CE-C⁴D trong việc xác định một số chỉ tiêu chất lượng của biodiesel.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu cơ bản mã số 104.04-2013.70. Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ Quỹ Phát triển KH&CN Quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Hong Anh Duong, Thanh Dam Nguyen, Thanh Duc Mai, Jorge Sai, Hung Viet Pham (2016), "Inexpensive and versatile measurement tools using purpose-made capillary electrophoresis devices coupled with contactless conductivity: A view from case study in Vietnam", *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, **1**(3), pp.273-281.
- [2] James Pullen, Khizer Saeed (2012), "An overview of biodiesel oxidation stability", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **16**, pp.5924-5950.
- [3] ASTM D6751-10 (2010), *Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels*, ASTM, USA.
- [4] BS EN 14214:2003 (2004), *Automotive Fuels - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for Diesel Engines - Requirements and Test Methods*, BSI, UK.
- [5] Yi Zhang, Prapisa Thepsithar, Xia Jiang and Joo Hwa Tay (2014), "Simultaneous Determination of Seven Anions of Interest in Raw Jatropha curcas Oil by Ion Chromatography", *Energy Fuels*, **228**(4), pp.2581-2588.
- [6] Niklas Strömberg, Eskil Sahlin (2012), "Determination of the short chain fatty acid pattern in biodiesel using high throughput syringe solvent extraction and ion exclusion chromatography", *Fuel*, **97**, pp.531-535.
- [7] Jyrki Viidanoja (2015), "Determination of short chain carboxylic acids in vegetable oils and fats using ion exclusion chromatography electrospray ionization mass spectrometry", *J. Chromatogr A*, **1383**, pp.96-103.

Tác động của hệ thống hồ chứa lớn đến dòng chảy trên hệ thống sông Hồng

Trịnh Thu Phương¹, Lương Hữu Dũng^{2*}, Lê Tuấn Nghĩa², Trần Đức Thiện²

¹Trung tâm Dự báo Khí tượng Thủy văn Trung ương

²Viện Khoa học Khí tượng Thủy văn và Biến đổi khí hậu

Ngày nhận bài 6/3/2017; ngày chuyển phản biện 15/3/2017; ngày nhận phản biện 10/4/2017; ngày chấp nhận đăng 18/4/2017

Tóm tắt:

Trên lưu vực sông Hồng có rất nhiều hồ chứa đã và đang được xây dựng nhằm khai thác nguồn nước cho các mục đích phòng chống lũ, cấp nước cho nhu cầu sử dụng của các ngành ở thượng và hạ du. Dưới tác động điều tiết của các hồ chứa lớn, chế độ dòng chảy trên sông Hồng đã có sự thay đổi trong cả mùa lũ và mùa cạn. Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu, đánh giá sự thay đổi chế độ dòng chảy tại một số trạm thủy văn chính trên lưu vực sông Hồng.

Từ khóa: Chế độ thủy văn, hệ thống hồ chứa, sông Hồng.

Chỉ số phân loại: 1.5

Impact of large reservoirs system on flow regime in the Red river basin

Thu Phuong Trinh¹, Huu Dung Luong^{2*},
Tuan Nghia Le², Duc Thien Tran²

¹National Center for Hydro - meteorology Forecasting

²Viet Nam Institute of Meteorology, Hydrology and Climate Change

Received 6 March 2017; accepted 18 April 2017

Abstract:

Many reservoirs have been built in Red river basin to exploit water resources for flood control and water supply for different sectors in upstream and downstream. Under the impact of large reservoirs regulation, the flow regime in the Red river has changed in both flood season and dry season. This paper presents the research and evaluation results of changes in flow regime at major hydrological stations in the Red river basin.

Keywords: Hydrological regime, Red river, reservoirs system.

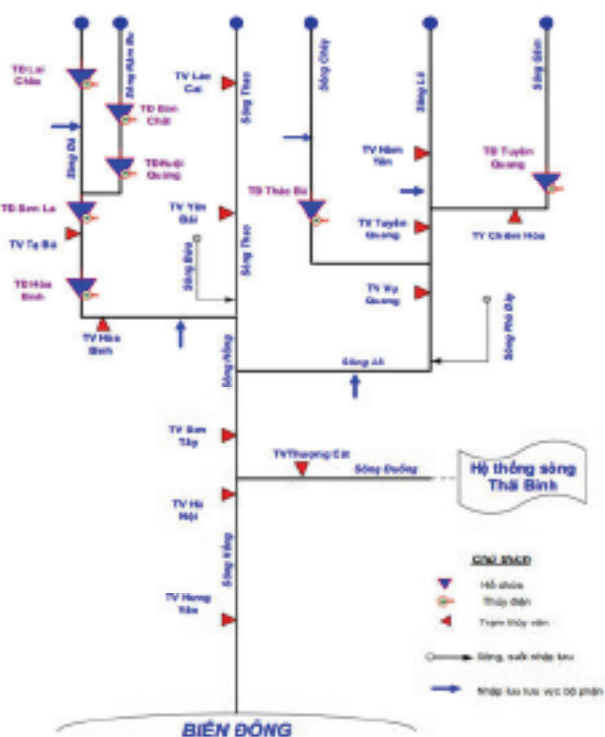
Classification number: 1.5

Hệ thống hồ chứa trên lưu vực sông Hồng

Sông Hồng là hệ thống sông lớn thứ 2 của Việt Nam (chỉ sau sông Mê Công) gồm 3 lưu vực sông chính ở thượng lưu là sông Đà, Thao và Lô. Tổng lượng mưa trung bình nhiều năm trên toàn lưu vực sông Đà khoảng 1990 mm, sông Thao khoảng 1750 mm và sông Lô khoảng 1910 mm [1]. Trên lưu vực tồn tại một số khu vực có một số tâm mưa lớn: Thượng lưu sông Lô có tâm mưa Bắc Quang (tỉnh Hà Giang) với tổng lượng mưa năm từ 4000-4500 mm và tâm mưa Tam Đảo có tổng lượng mưa năm trên 2400 mm; thượng lưu sông Đà vùng núi biên giới Việt - Trung và khu vực núi cao Hoàng Liên Sơn có tổng lượng mưa năm từ 3000-4000 mm [1]. Một số tâm mưa khác với tổng lượng mưa hàng năm trên 2000 mm xuất hiện ở khu vực núi cao Sìn Hồ trên cao nguyên Tà Phình - thượng nguồn sông Nậm Na, vùng núi Phu Luông ở thượng nguồn Ngòi Thia. Nguồn nước khá phong phú và địa hình đồi núi phù hợp cho xây dựng hồ, nên nhiều hồ chứa lớn đã được xây dựng trên lưu vực sông Hồng với mục tiêu khai thác tổng hợp: Phòng chống lũ, cấp nước cho dân sinh, các ngành kinh tế và phát điện. Tính đến cuối thập niên đầu tiên của thế kỷ XXI, trên lưu vực có khoảng 280 hồ chứa có dung tích từ 0,2 triệu m³ trở lên [1, 2], trong đó có 7 hồ chứa thủy điện thuộc loại lớn (có dung tích trên 1 tỷ m³) đang hoạt động là các hồ: Lai Châu (LC), Sơn La (SL) và Hòa Bình (HB) trên sông Đà, cụm hồ Huội Quảng - Bản Chát trên sông Nậm Mu, Thác Bà (TB) trên sông Chảy và Tuyên Quang (TQ) trên sông Gâm (hình 1, bảng 1). Các hồ này theo thời gian đi vào vận hành (năm 1972 với Thác

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

Bà, năm 1989 đối với Hòa Bình, năm 2007 đối với Tuyên Quang, năm 2010 với Sơn La, năm 2013 đối với Bản Chát, năm 2015 đối với Lai Châu và năm 2016 đối với Huội Quảng) đã có vai trò lớn trong phòng chống lũ, cấp và duy trì nước cho dân sinh, thủy điện (vai trò chủ đạo trong cân bằng nguồn năng lượng phục vụ phát triển kinh tế của cả nước) và phát triển kinh tế - xã hội trên lưu vực, đặc biệt là vùng Đồng bằng sông Hồng. Hiện nay, hoạt động của các hồ chứa tuân theo Quy trình vận hành liên hồ chứa trên lưu vực sông Hồng [3] (Quyết định số 1622/QĐ-TTg). Theo đó, trong các tháng mùa lũ (từ tháng 6-10) các hồ có vai trò dành dung tích phòng lũ và tích nước để cấp nước trong mùa cạn (từ tháng 1-5).



Hình 1. Hệ thống hồ chứa lớn trên lưu vực sông Hồng.

Bảng 1. Thông số hồ chính trên lưu vực sông Hồng.

Thông số	Hồ						
	Lai Châu	Sơn La	Hòa Bình	Bản Chát	Huội Quảng	Thác Bà	Tuyên Quang
Mức nước dâng bình thường (m)	295	215	117	475	370	58	120
Mức nước chết (m)	265	115	80	431	368	46	90
Mức nước xả hàng năm (m)						50,3	104
Dung tích hiệu dụng nhiều năm (tỷ m ³)						0,587	0,62
Dung tích hiệu dụng hàng năm (tỷ m ³)	799,7	6,504	6,062	1,702	0,0163	1,573	1,079
N lắp máy (MW)	1200	2400	1920	220	520	120	342
Lưu lượng lớn nhất qua turbine (m ³ /s)	1665	3460	2400	273,3	383	420	750
Hình thức điều tiết	Năm	Năm	Năm	Năm	Ngày đêm	Nhiều năm	Nhiều năm

Tác động của vận hành các hồ chứa lớn đến chế độ dòng chảy hạ lưu sông Hồng

Các số liệu thủy văn và vận hành hồ chứa được thu thập từ Trung tâm Dự báo Khí tượng Thủy văn Trung ương và Viện Khoa học Khí tượng Thủy văn và Biến đổi khí hậu là cơ sở cho các phân tích tác động của vận hành các hồ chứa đến chế độ dòng chảy hạ lưu sông Hồng.

Thay đổi phân phối dòng chảy mùa

Có thể nhận thấy, theo thời gian khi các hồ chứa lớn thượng nguồn đi vào hoạt động đầy đủ, tỷ lệ phân phối dòng chảy tại một số trạm trên lưu vực sông Hồng đã thay đổi (bảng 2). Tỷ lệ dòng chảy trung bình mùa cạn so với dòng chảy năm tăng: Tại trạm Ghềnh Gà, hạ lưu sông Lô, khi có hồ Tuyên Quang, tỷ lệ dòng chảy đã tăng 6,6%. Tại trạm Vụ Quang hạ lưu sông Lô, khi có hồ Thác Bà, tỷ lệ dòng chảy tăng 3,3% và khi có hồ Tuyên Quang tăng 14%. Hạ du sông Hồng: Thời kỳ có hồ Thác Bà bắt đầu hoạt động, tỷ lệ dòng chảy tăng 2,1% tại trạm Sơn Tây, 1,5% tại trạm Hà Nội và 3,8% tại trạm Thượng Cát; khi có thêm hồ Hòa Bình, tỷ lệ dòng chảy tăng 4,2% tại trạm Sơn Tây, 3,5% tại trạm Hà Nội và 8,1% tại trạm Thượng Cát; khi có hồ Tuyên Quang, Sơn La thì tỷ lệ dòng chảy tăng 11,5% tại trạm Sơn Tây, 9,1% tại trạm Hà Nội và 19% tại trạm Thượng Cát. Tỷ lệ dòng chảy trung bình mùa lũ so với dòng chảy năm tại các trạm thủy văn này thay đổi theo tỷ lệ tương ứng xét trong mùa cạn, nhưng với xu hướng giảm.

Bảng 2. Tỷ lệ dòng chảy các mùa trên sông Hồng tại một số trạm.

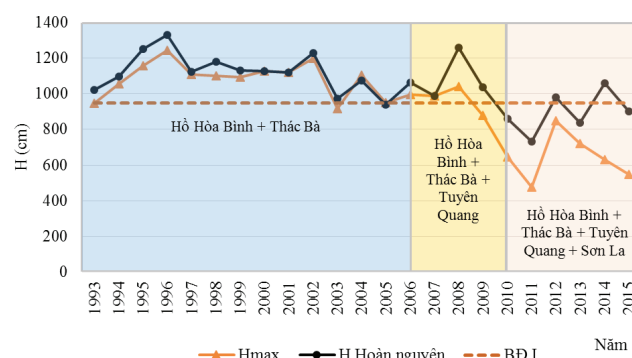
Trạm/sông	Thời kỳ	Tỷ lệ dòng chảy mùa lũ so với cả năm (%)	Tỷ lệ dòng chảy mùa cạn so với cả năm (%)
Ghềnh Gà (sông Lô)	1960-2006	76,0	24,0
	2007-2015	69,4	30,6
Vụ Quang (sông Lô)	1960-1971	74,4	25,6
	1972-2006	71,1	28,9
	2007-2015	60,4	39,6
Hoà Bình (sông Đà)	1960-1988	78,0	22,0
	1989-2015	68,8	31,2
Sơn Tây (sông Hồng)	1960-1971	76,1	23,9
	1972-1988	74,0	26,0
	1989-2006	71,9	28,1
	2007-2015	64,6	35,4
Hà Nội (sông Hồng)	1960-1971	74,4	25,6
	1972-1988	72,9	27,1
	1989-2006	70,9	29,1
	2007-2015	65,3	34,7
Thượng Cát (sông Đuống)	1960-1971	80,9	19,1
	1972-1988	77,1	22,9
	1989-2006	72,8	27,2
	2007-2015	61,9	38,1

Sự biến đổi đặc trưng mực nước lớn nhất năm

Phân tích đỉnh lũ lớn nhất năm thực đo và hoàn nguyên tại Hà Nội từ năm 1993-2015 (bảng 3, hình 2) cho thấy: Trước năm 2007, trong nhiều trận lũ, hồ Hòa Bình và Thác Bà đã cắt giảm đỉnh lũ năm tại Hà Nội từ 0,15-0,97 m. Khi thủy điện Tuyên Quang đi vào vận hành, hệ thống 3 hồ chứa (Hòa Bình, Thác Bà và Tuyên Quang) đã cắt giảm mực nước đỉnh lũ năm tại Hà Nội từ 1,5-2,2 m. Khi hồ Sơn La đi vào hoạt động, hệ thống 4 hồ chứa đã giúp mực nước đỉnh lũ năm tại Hà Nội cắt giảm mạnh (từ 1,1-4,2 m). Sau khi hồ Bản Chát và Lai Châu đi vào vận hành, do các hồ không được quy định nhiệm vụ phòng chống lũ cho hạ du, nên các hồ không tham gia cùng hồ Sơn La và Hòa Bình cắt giảm lũ cho hạ du mà chỉ đảm bảo không gây gia tăng dòng chảy khi các hồ Sơn La và Hòa Bình tham gia cắt lũ [3-5].

Bảng 3. Đỉnh lũ lớn nhất năm thực đo và hoàn nguyên tại Hà Nội từ 1993-2015.

Năm	$H_{\max}$ (cm)	$H_{\text{Hoàn nguyên}}$ (cm)	ΔH (cm)	Hồ chứa tham gia cắt lũ hạ du
1993	946	1024	-78	HB và TB
1994	1057	1098	-41	HB và TB
1995	1157	1254	-97	HB và TB
1996	1243	1330	-87	HB và TB
1997	1109	1124	-15	HB và TB
1998	1100	1180	-80	HB và TB
1999	1095	1130	-35	HB và TB
2000	1129	1129	0	HB và TB
2001	1121	1121	0	HB và TB
2002	1201	1229	-28	HB và TB
2003	917	975	-58	HB và TB
2004	1104	1077	27	HB và TB
2005	952	940	12	HB và TB
2006	997	1065	-68	HB và TB
2007	987	988	-1	HB, TB và TQ
2008	1042	1260	-218	HB, TB và TQ
2009	879	1038	-159	HB, TB và TQ
2010	646	859	-213	SL, HB, TB và TQ
2011	476	732	-256	SL, HB, TB và TQ
2012	848	980	-132	SL, HB, TB và TQ
2013	722	837	-115	SL, HB, TB và TQ
2014	632	1061	-429	SL, HB, TB và TQ
2015	546	901	-355	LC, SL, HB, TB và TQ

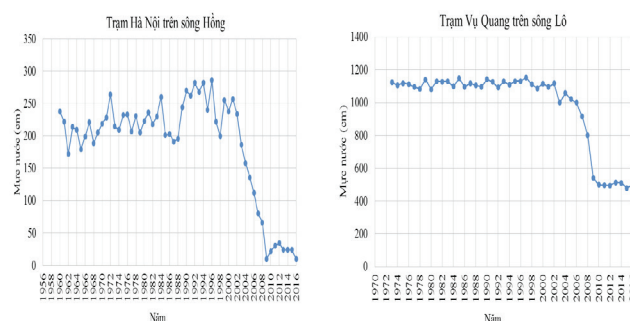


Hình 2. Diễn biến mực nước lớn nhất tại trạm Hà Nội trên sông Hồng.

Từ sau năm 1989, các hồ Hòa Bình, Tuyên Quang, Sơn La đi vào vận hành đã tích nước, cắt giảm lũ cho hạ du. Sau năm 2008 mực nước lũ tại trạm thủy văn Hà Nội hạ lưu sông Hồng đều nhỏ hơn báo động 1, cá biệt năm 2011 trên toàn lưu vực sông Hồng không có lũ lớn, phần lớn các hồ chứa tích nước và trữ lại phần lớn lượng dòng chảy mùa lũ dẫn đến mực nước đỉnh lũ năm tại Hà Nội thấp nhất trong lịch sử vào ngày 4/7 ở mức 4,76 m (xem hình 2).

Đặc trưng mực nước nhỏ nhất năm

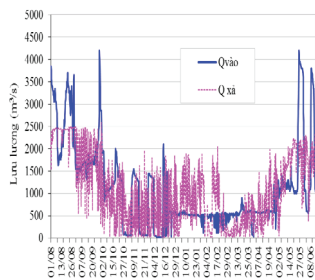
Từ năm 2000, vào mùa cạn mực nước nhỏ nhất trên dòng chính sông Hồng đã liên tục xuống mức rất thấp, năm sau thấp hơn năm trước, thấp nhất ở mức 0,1 m (21/2/2010), đây là con số thấp kỷ lục trong hơn 100 năm qua (hình 3). Trong khoảng 2 thập niên gần đây, mực nước thấp nhất năm tại trạm Hà Nội đã giảm khoảng 1,9 m. Trên sông Lô tại trạm Vụ Quang, mực nước thấp nhất trong chuỗi quan trắc cũng liên tiếp xuất hiện từ năm 2007. Trong khoảng 1 thập niên, mực nước thấp nhất trên sông Lô tại Vụ Quang giảm khoảng 5 m (hình 3).



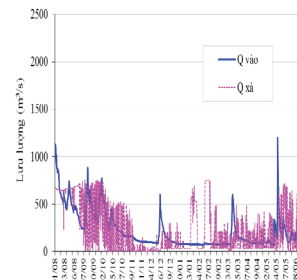
Hình 3. Diễn biến mực nước nhỏ nhất tại trạm Hà Nội và Vụ Quang.

Sự suy giảm mực nước nhỏ nhất, ngoài nguyên nhân do sự bất thường của thời tiết, quá trình khai thác sử dụng nước trên lưu vực diễn ra mạnh mẽ trong thời gian gần

đây (đặc biệt là quá trình khai thác cát), còn do sự điều tiết mạnh của các thủy điện lớn thượng nguồn đáp ứng theo yêu cầu của hệ thống điện [6]. Vào các tháng giữa mùa cạn (tháng 1-3), trong thời kỳ tự nhiên nguồn nước, các sông suối thường ở mức cạn kiệt nhất trong năm, tuy nhiên đây lại là thời kỳ các hồ chứa tích cực tham gia cấp nước phục vụ đồ ăn vụ đông xuân, dẫn đến nguồn nước hạ du sông Hồng trong thời kỳ này sẽ tăng lên nhanh chóng. Giữa đoạn giữa thời kỳ này với thời kỳ cuối mùa cạn, các thủy điện thường tiết kiệm nước, giảm lượng cấp nước xuống hạ du (giảm thiểu phát điện). Hơn nữa, chế độ điều tiết của các thủy điện hoạt động theo điều kiện phù đỉnh, phát điện vào giờ cao điểm (9-21 giờ) và giảm thiểu phát điện vào giờ thấp điểm thời gian còn lại (hình 4 và 5). Chế độ vận hành như vậy đã tạo nên dao động dòng chảy bất thường ở hạ du. Mức nước tại trạm Hà Nội dao động lên xuống rõ rệt từ 0,5-1 m. Đặc biệt có nhiều thời kỳ dài cả 3 hồ (Hòa Bình, Thác Bà và Tuyên Quang) ngừng phát điện, lượng nước ra khỏi các hồ nhỏ hơn nhiều so với dòng chảy đến, ở mức rất thấp chỉ khoảng 5-50 m³/s, dẫn đến gián đoạn dòng chảy sau hệ thống hồ (hình 4 và 5).



Hình 4. Quá trình Q vào hồ, Q xả hồ Hòa Bình từ 1/8/2010-14/6/2011.



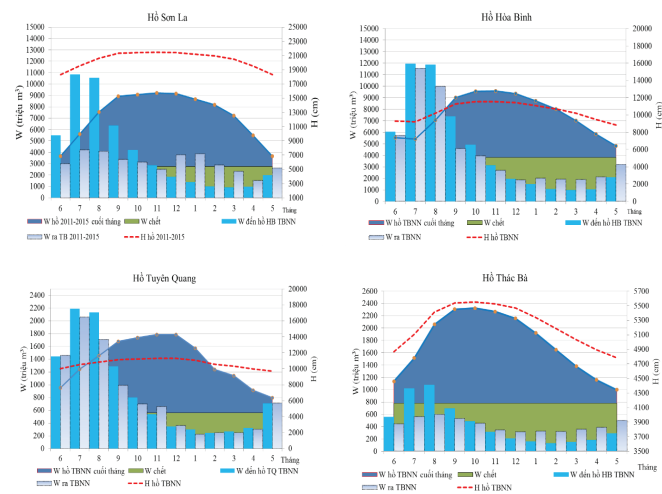
Hình 5. Quá trình Q vào hồ, Q xả hồ Tuyên Quang từ 1/8/2010-14/6/2011.

Dòng chảy hạ du sông Hồng gần như bị đứt dòng và xuất hiện các cực trị thấp nhất dự thường làm ảnh hưởng lớn tới chế độ dòng chảy ở hạ du mà trong điều kiện tự nhiên chưa bao giờ xảy ra. Tuy nhiên, sau khi Quy trình vận hành liên hồ chứa trên sông Hồng được ban hành (năm 2015), các hồ chứa hoạt động phải đảm bảo duy trì dòng chảy tối thiểu của dòng sông, trong 12 giờ hồ Hòa Bình chỉ xả liên tục tối thiểu 214 m³/s, hồ Thác Bà là 61 m³/s, hồ Tuyên Quang là 94 m³/s [3]. Khi đó mức nước thấp nhất tại hạ lưu sông Hồng sẽ ít có khả năng lặp lại giá trị thấp nhất lịch sử đã xuất hiện vào năm 2010.

Thay đổi lượng trữ trên lưu vực sông Hồng

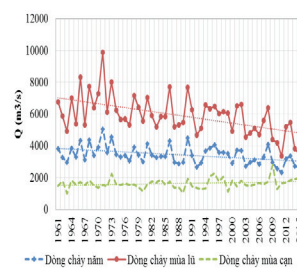
Theo số liệu tính toán từ khi vận hành hồ đến nay, tiến hành phân tích diễn biến dung tích hồ cho thấy, chênh lệch giữa tổng lượng nước đến và ra khỏi lòng hồ Thác Bà (từ 1973-2015) trung bình khoảng 990 triệu m³, hồ Hòa

Bình (từ 1990-2015) khoảng 2,6 tỷ m³, hồ Tuyên Quang (từ 2007-2015) là 0,3-1 tỷ m³, hồ Sơn La (từ 2011-2015) là 0,2-1,1 tỷ m³. Trong những năm hạn hán, thiếu nước nghiêm trọng như năm 1993-1994, 1994-1995, 1998-1999, 2003-2004, 2004-2005, 2009-2010, các hồ chứa lớn đã cung cấp thêm một lượng nước khá lớn cho hạ du sông Hồng. Hồ Hòa Bình trong những năm cạn nhất đã cấp thêm cho hạ du từ 0,5-3,5 tỷ m³, hồ Thác Bà cấp thêm từ 0,2-1,5 tỷ m³, hồ Tuyên Quang khoảng 0,3 tỷ m³ so với nguồn dòng chảy tự nhiên (hình 6).

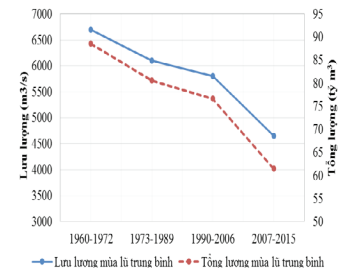


Hình 6. Phân phối lượng dòng chảy đến và dòng chảy ra khỏi các hồ chứa lớn trên sông Hồng.

Hạ lưu sông Hồng tại Sơn Tây, tổng lượng nước mùa lũ có xu thế giảm, đặc biệt giảm mạnh trong những năm gần đây. Trong thời kỳ chưa có hệ thống hồ chứa lớn thượng nguồn (từ 1960-1972) khoảng 90 tỷ m³. Kể từ khi có các hồ Thác Bà, Hòa Bình giảm còn 77 tỷ m³ và khi có thêm Tuyên Quang, Sơn La tổng lượng giảm xuống 62 tỷ m³ (hình 7 và 8).



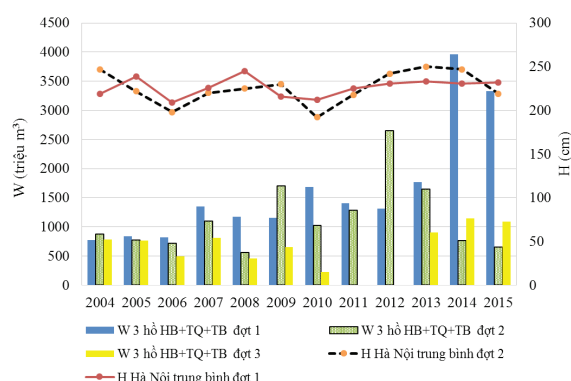
Hình 7. Diễn biến dòng chảy sông Hồng tại Sơn Tây.



Hình 8. Tổng lượng dòng chảy sông Hồng tại Sơn Tây.

Quá trình khai thác sử dụng nước trên lưu vực, cùng sự tham gia vận hành của các hồ theo thời gian đã làm thay đổi quan hệ lưu lượng - mức nước ở hạ lưu sông Hồng

theo xu thế gia tăng lưu lượng ứng với cùng cấp mực nước tương ứng [5-7] đã làm thay đổi yêu cầu khai thác sử dụng ở hạ lưu, đặc biệt là trong nông nghiệp ở vùng Đồng bằng sông Hồng. Để duy trì mực nước tại Hà Nội 2,2-2,3 m đáp ứng yêu cầu lấy nước trong thời kỳ đồ ải vụ đông xuân trên lưu vực sông Hồng [5] cần có lượng dòng chảy trung bình khoảng 2500-3000 m³/s so với khoảng 780-870 m³/s (năm 2004) (hình 9). Tức là các hồ chứa thượng nguồn cần bổ sung một lượng nước rất lớn (gần gấp ba) cho hạ lưu. Điều này có thể ảnh hưởng lớn đến tính chủ động, hiệu quả sản xuất của các nhà máy thủy điện, gây tổn thất lớn về kinh tế - xã hội.



Hình 9. Diễn biến tổng lượng xả 3 hồ Hòa Bình, Tuyên Quang, Thác Bà và mực nước trung bình tại Hà Nội trong các đợt xả nước.

Kết luận

Sự điều tiết của các công trình hồ chứa lớn thượng nguồn sông Hồng là một trong các nguyên nhân đã làm thay đổi phân phối dòng chảy và các đặc trưng mực nước hạ lưu sông Hồng. Dòng chảy trong mùa lũ có xu hướng giảm, mực nước lũ tại trạm thủy văn Hà Nội hạ lưu sông Hồng trong 1 thập niên gần đây hầu như đều nhỏ hơn báo động 1, hệ thống các hồ chứa thượng nguồn đã cắt giảm lũ hạ du từ 1,1-4,2 m. Trong mùa cạn, việc điều hành cấp nước cho hạ du diễn ra khẩn trương trong một số thời kỳ

cao điểm từ tháng 1-2, là thời kỳ đồ ải vụ đông xuân, khi đó hệ thống hồ chứa (đặc biệt là hồ Sơn La và Hòa Bình đóng vai trò chủ chốt) sẽ bổ sung một lượng lớn nước xuống hạ du làm cho mực nước tăng nhanh. Ngoài thời kỳ cấp nước đồ ải, trong các tháng khác của mùa cạn, hệ thống hồ chứa chủ yếu hoạt động điều tiết phát điện theo chế độ phủ đỉnh, thời gian các hồ không xả nước xuống hạ du đã dẫn đến mực nước trên sông xuất hiện liên tiếp mực nước nhỏ nhất lịch sử trong chuỗi quan trắc. Từ năm 2000, với sự thay đổi lớn quan hệ mực nước - lưu lượng trong sông theo xu hướng gia tăng lượng xả để duy trì một mức nước, nên để đảm bảo cao trình đủ để lấy nước trong thời kỳ đồ ải cũng như các thời kỳ cấp nước khác trong mùa cạn, thì các hồ chứa thượng lưu sẽ phải tăng khá lớn lượng dòng chảy cấp về hạ du.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trịnh Thu Phương (2012), *Đề tài nghiên cứu khoa học cấp bộ "Nghiên cứu phương pháp xác định, dự báo tiềm năng nguồn nước mặt phục vụ việc thông báo tiềm năng nguồn nước hàng năm, thử nghiệm ở lưu vực sông Hồng"*.
- [2] Trần Thanh Xuân, Hoàng Minh Tuyền (2013), *Tài nguyên nước Việt Nam và quản lý*, Nhà xuất bản khoa học tự nhiên và công nghệ.
- [3] Thủ tướng Chính phủ (2015), *Quyết định số 1622/QĐ-TTg ngày 17/9/2015 về việc ban hành Quy trình vận hành liên hồ chứa trên lưu vực sông Hồng*.
- [4] Thủ tướng Chính phủ (2007), *Quyết định số 92/2007/QĐ-TTg ngày 21/6/2007 về việc phê duyệt Quy hoạch phòng, chống lũ hệ thống sông Hồng, sông Thái Bình*.
- [5] Hoàng Minh Tuyền, Lương Hữu Dũng (2014), *Báo cáo tổng kết Dự án xây dựng Quy trình vận hành sông Hồng*.
- [6] Hoàng Minh Tuyền (2013), *Đề tài nghiên cứu khoa học cấp bộ "Nghiên cứu diễn biến, xác định các nguyên nhân thay đổi tỷ lệ phân phối dòng chảy sông Hồng sang sông Đuống và đề xuất định hướng giải pháp nhằm đảm bảo tỷ lệ phân phối dòng chảy hợp lý"*.
- [7] Lương Tuấn Anh (2011), *Đề tài nghiên cứu khoa học cấp bộ "Nghiên cứu tác động của việc sử dụng nước phía thượng lưu đến tài nguyên nước lưu vực sông Hồng"*.

Đánh giá độ tinh sạch và hàm lượng của phycocyanin được tách từ *Arthrospira platensis* theo phổ hấp thụ quang học và điện di biến tính

Đậu Thị Nhung¹, Phạm Thị Lương Hằng¹, Trịnh Lê Phương^{2*}

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

²Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 12/5/2017; ngày chuyển phản biện 22/5/2017; ngày nhận phản biện 15/6/2017; ngày chấp nhận đăng 19/6/2017

Tóm tắt:

Phycocyanin, một loại protein có màu xanh lam đặc trưng, được sử dụng như chất nhuộm an toàn trong thực phẩm và hóa mỹ phẩm; ngoài ra, nó có các hoạt tính sinh học có lợi nên còn được ứng dụng trong dược phẩm. Ở Việt Nam, phycocyanin được nghiên cứu tách chiết, tinh sạch chủ yếu từ nguồn tảo xoắn *Spirulina* (*Arthrospira platensis*), nhưng vẫn chưa có các nghiên cứu đánh giá độ tinh sạch cũng như hàm lượng của phycocyanin được tách chiết. Nghiên cứu này áp dụng phương pháp đo chỉ số hấp thụ quang học UV-Vis và điện di biến tính SDS-PAGE để đánh giá chất lượng phycocyanin. Kết quả cho thấy, tinh sạch phycocyanin từ tảo tươi theo 2 bước (tủa bằng ammonium sulfate rồi chạy sắc ký qua cột LH20) cho phycocyanin có độ tinh sạch A_{620}/A_{280} là 1,2, phù hợp cho ngành thực phẩm và hóa mỹ phẩm. Đánh giá hàm lượng phycocyanin trong sản phẩm tảo thương mại cho thấy, sản phẩm của hãng Vinataor trong nước có hàm lượng phycocyanin cao hơn một số sản phẩm thương mại nhập ngoại được đánh giá.

Từ khóa: *Arthrospira platensis*, phycocyanin, SDS-PAGE.

Chỉ số phân loại: 1.6

Tổng quan

Tảo xoắn *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) được dùng rộng rãi như một loại thực phẩm chức năng có nhiều lợi ích cho sức khỏe do có hàm lượng protein cao (50-60% tổng sinh khối khô, chứa đầy đủ các acid amin cần thiết cho cơ thể người và động vật nuôi) và các chất khoáng đa và vi lượng khác [1, 2]. Ngoài cách dùng trực tiếp, một số chất có trong tảo xoắn đã được nghiên cứu và tách chiết để ứng dụng trong những ngành công nghiệp khác nhau. Phycocyanin, một protein có màu xanh lam đặc trưng, được sử dụng như là chất màu tự nhiên an toàn trong các ngành công nghiệp thực phẩm, hóa mỹ phẩm [3]. Ngoài ra, nó còn có tác dụng chống viêm, chống oxy hóa, chống ung thư, ức chế phát triển các khối u nên phycocyanin là một chất tiềm năng để điều chế thuốc và thực phẩm chức năng giúp tăng cường sức khỏe con người [4-6]. Tính chất phát huỳnh quang của phycocyanin cũng được ứng dụng trong sản xuất các kit miễn dịch, làm marker huỳnh quang [3].

Phycocyanin có cấu trúc hình elip dẹt được cấu thành từ tiểu đơn vị α (kích thước 12.000-18.500 Da) và β (kích thước 14.000-20.000 Da) và ở dạng hexamer tự nhiên ($\alpha\beta$)₆. Tuy nhiên, nó có tồn tại dạng trimer ($\alpha\beta$)₃ và dimer (α

β)₂ [7]. Phycocyanin có bước sóng hấp thụ cực đại ở 620 nm, do đó chỉ số A_{620}/A_{280} được sử dụng để đánh giá độ tinh sạch của phycocyanin.

Ở Việt Nam, một số nhóm đã nghiên cứu tách chiết phycocyanin từ tảo xoắn *Spirulina*, tuy nhiên, hàm lượng và độ tinh sạch của phycocyanin mới được đánh giá sơ bộ và cũng không có chất chuẩn so sánh, làm giảm khả năng ứng dụng của các sản phẩm tách chiết. Do đó, nghiên cứu này có mục tiêu khảo sát một số phương pháp xác định định tính cũng như định lượng phycocyanin và áp dụng chúng để đánh giá hàm lượng của phycocyanin tách chiết trong các sản phẩm tảo thương mại.

Nguyên liệu và phương pháp

Nguyên liệu

Arthrospira platensis được nuôi tại Phòng Vi tảo, Trung tâm Khoa học sự sống, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội do Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội cung cấp.

Sản phẩm thương mại trong nước: *Spirulina* Vinataor (*Arthrospira platensis* tươi) của Công ty THHH công nghệ sinh học Vina Tảo spirulina, Việt Nam.

* Tác giả liên hệ: Tel: 0989777130; Email: violetph2009@gmail.com

Qualitative and quantitative assessment of phycocyanin extracted from *Spirulina* (*Arthrospira* sp.) through absorption spectroscopy and denaturation electrophoresis SDS-PAGE

Thi Nhung Dau¹, Thi Luong Hang Pham¹,
Le Phuong Trinh^{2*}

¹Faculty of Biology, VNU University of Science

²Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology (KLEPT), VNU University of Science

Received 12 May 2017; accepted 19 June 2017

Abstract:

The phycocyanin, a blue colour characterised protein, is widely used as a natural dye in food and cosmetic industries, and in pharmacy industry due to its beneficial bioactivities. In Vietnam, phycocyanin has been extracted and purified mainly from blue - green algae (*Arthrospira platensis*), but no studies have evaluated the purity as well as the amount of phycocyanin extracted. In this study, absorption spectroscopy at UV-Vis and denaturation electrophoresis SDS-PAGE were used to evaluate phycocyanin in crude extracts and purified samples. The obtained results showed that purifying phycocyanin from fresh biomass *A. platensis* in 2 steps (precipitated with ammonium sulfate following by LH20 column chromatography) gave the purity (expressed by $A_{620/280}$ of 1.2) which is suitable for applications in food and cosmetics. Evaluation of phycocyanin contents in commercial *Spirulina* products showed that a domestic product, namely Vinataor had a higher phycocyanin content than some imported commercial products.

Keywords: *Arthrospira platensis*, phycocyanin, SDS-PAGE.

Classification number: 1.6

Sản phẩm thương mại nhập ngoại: Viên nén tảo xoắn khô của hãng Japan Algae Co, Ltd, Nhật và GeoVitalis, Đức.

Nuôi thu sinh khối

Spirulina platensis được nuôi lắ thu sinh khối trong môi trường Zarrouk, ở nhiệt độ phòng, điều kiện chiếu sáng: Tối là 12/12 h. Sau 14 ngày, sinh khối tảo được thu hồi bằng ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút trong 20 phút

ở nhiệt độ phòng và rửa với nước cất 2 lần. Sau đó, sinh khối tươi được đông khô và bảo quản ở -20°C.

Tách chiết phycocyanin từ sinh khối tảo tươi

Phycocyanin được tách chiết từ sinh khối tảo theo phương pháp đông lạnh/rã đông. Đầu tiên, tảo tươi được hòa tan bằng đệm natri phosphate 0,1 M, pH 7 với tỷ lệ 1/25 (w/v), tương đương với 25 ml đệm hoà tan 1 g tảo. Sau đó, hỗn hợp được làm đông lạnh ở -20°C trong 24 h, rồi rã đông ở nhiệt độ phòng. Bước đông lạnh/rã đông được thực hiện hai lần. Hỗn hợp được ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C, dịch nổi có màu xanh lam chứa phycocyanin được thu lại.

Tinh sạch phycocyanin bằng tủa ammonium sulfate

Phycocyanin trong dịch màu xanh bước đầu được tinh sạch bằng tủa với ammonium sulfate bão hòa ở nồng độ 25%, rồi 50%. Đầu tiên, hỗn hợp được ủ với ammonium sulfate bão hòa ở nồng độ 25% trong 5 h ở 4°C, rồi được ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C. Phần dịch nổi thu lại và được ủ với ammonium sulfate bão hòa ở nồng độ 50% qua đêm ở 4°C. Tủa protein thu được sau khi ly tâm với tốc độ 12.000 vòng/phút trong 30 phút ở 4°C được rửa lại với natri acetate 0,1 M, pH 7. Dịch nổi được tiếp tục tủa lần hai bằng ammonium sulfate bão hòa với nồng độ 50%. Tủa màu xanh lam thu được sau khi ly tâm được hòa tan trong đệm natri phosphate 50 mM, pH 7 và bảo quản ở 4°C.

Tinh sạch phycocyanin bằng sắc ký cột LH20

Một lượng 10 g sephedex LH20 (amershambiosciences, Thụy Điển) với kích thước hạt là 18-111 µm được ngâm để trương nở trong nước cất khử trùng ở nhiệt độ 4°C qua đêm. Hỗn hợp gel được cho lên cột và lắng từ từ, tránh tạo bọt khí trong khoảng 30 phút. Sau khi cột gel đã nhồi xong, một lượng mẫu chứa phycocyanin pha loãng với nước cất khử trùng được cho lên cột và chạy qua cột theo trọng lực. Phân đoạn chạy qua cột có màu xanh được thu lại.

Định tính và định lượng phycocyanin bằng đo hấp thụ quang học

Độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa phycocyanin ở các bước sóng 280 nm, 620 nm và 652 nm được đo bằng máy Nanodrop 1000 (Thermo Scientific). Trong đó, 280 nm là bước sóng hấp thụ cực đại của các protein, 620 nm là bước sóng hấp thụ đặc trưng của phycocyanin, còn 652 nm là bước sóng hấp thụ đặc trưng của allophycocyanin. Nồng độ và độ tinh sạch phycocyanin trong mẫu được tính theo công thức [8]:

$$C-PC \text{ (mg/ml)} = 10 \cdot [A_{620} - 0,474 \times A_{652}] / 5,34$$

$$\text{Độ tinh sạch} = A_{620} / A_{280}$$

Trong đó A_{280} , A_{620} , A_{652} là số đo hấp thụ quang học ở các bước sóng 280 nm, 620 nm, 652 nm của mẫu có chiều dài 1 mm.

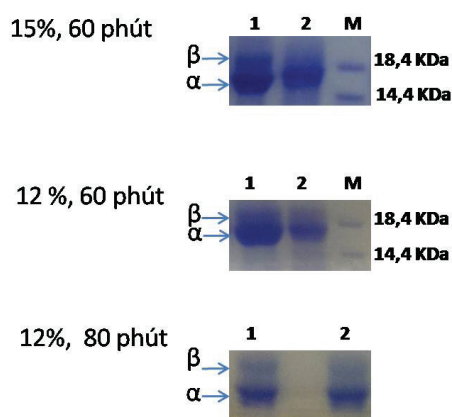
Điện di biến tính SDS-PAGE

Một lượng mẫu (50-100 μ g protein) được trộn với đệm mẫu có chứa SDS và β -mercaptoethanol, biến tính ở 95°C trong 10 phút, rồi đặt lại ngay lên đá. Mẫu đã xử lý được điện di kiểm tra lên giếng của bản gel polyacrylamide, chuẩn bị với hỗn hợp acrylamide/bis acrylamide là 29:1 với phần gel cô là 4%, gel tách là 12%. Điện di chạy trong đệm tris-glycine, ở hiệu điện thế 120 V trong 1,5 đến 2 h. Băng protein được nhuộm bằng Coomassie Brilliant Blue (CBB) 0,25%.

Kết quả và thảo luận

Xác định kích thước của phycocyanin dựa trên điện di SDS-PAGE

Các nghiên cứu trước đây đã xác định protein phycocyanin được cấu thành từ hai tiểu phần α và β có khối lượng phân tử là 17,6 và 18,2 KDa, như vậy ở điều kiện biến tính, điện di cho hai băng protein của hai tiểu phần. Thử nghiệm với các bản gel polyacrylamide có tỷ lệ của gel tách là 12% hoặc 15% và điều kiện điện di khác nhau đã cho thấy sử dụng bản gel 12%, chạy ở hiệu điện thế 120 V trong 80 phút cho 2 băng protein của phycocyanin là rõ nét nhất (hình 1).



Hình 1. Điện di biến tính trên gel polyacrylamid (SDS-PAGE) ở các điều kiện khác nhau của mẫu [Giếng 1: Mẫu tinh sạch sau khi rửa với ammonium sulfate; Giếng 2: Mẫu tinh sạch sau khi rửa với ammonium sulfate và chạy sắc ký cột LH20; M: Thang chuẩn protein (Thermo Scientific)].

Dựa vào trình tự của các tiểu phần α (162 axit amin, CAA70296) và β (172 axit amin, CAA70295), khối lượng phân tử được tính toán lý thuyết là 17,6 KDa và 18,2 KDa.

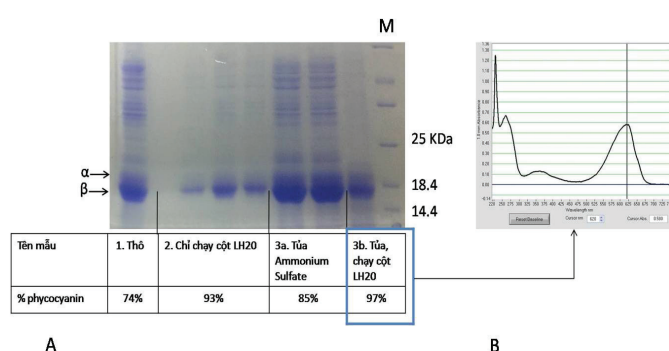
Trên thực nghiệm, khối lượng phân tử của hai tiểu phần có thể được tính toán dựa vào khoảng cách di chuyển tương đối (Rf) với thang chuẩn marker chạy cùng trên bản gel bằng phần mềm ImageJ. Theo đó, kích thước của 2 tiểu phần α và β được xác định tương đối là 19 KDa và 21 KDa trên bản gel 12% và 15,5 KDa, và 19 KDa ở bản gel 15%. Cũng đã có nhiều công bố (bảng 1) đưa ra những con số khác nhau về kích thước các tiểu phần α và β của loài *Arthrospira platensis* [6, 8-10]. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa các kết quả nghiên cứu thực nghiệm cũng như tính toán lý thuyết là tương đối nhỏ, có thể giải thích là do điều kiện điện di và phương pháp phân tích hình ảnh khác nhau.

Bảng 1. Kích thước tiểu phần α và β của phycocyanin trong các công bố khác nhau.

Nghiên cứu	α	β	% gel tách
Tính toán lý thuyết	17,6	18,2	
Patel, et al. 2005 [8]	17,0	24,0	15,0
Kumar, et al. 2014 [9]	16,0	17,0	7,5
Kamble, et al. 2013 [6]	17,0	19,0	12,0
Song, et al. 2013 [10]	17,0	21,0	15,0
Trong nghiên cứu này	15,5	19,0	15,0
	19,0	21,0	12,0

Phương pháp tinh sạch phycocyanin

Trong nghiên cứu này, phycocyanin sau khi tách chiết theo phương pháp làm đông/rã đông từ sinh khối tảo xoắn được tinh sạch theo 2 bước chính: Tủa với ammonium sulfate bão hòa nồng độ 25%, 50%, rồi tinh sạch qua cột sắc ký lọc gel LH20. Mẫu tinh sạch thu được có màu xanh lam đặc trưng của phycocyanin và cho phổ hấp thụ UV-Vis với ba vùng hấp thụ cực đại là 230, 260 và 620 nm (hình 2B). Hai vùng đầu là đặc trưng cho các phân tử acid nucleic, còn bước sóng 620 nm đặc trưng của phycocyanin. Mật độ quang (độ hấp thụ) tại bước sóng 280, 620 và 652 nm được sử dụng để tính độ tinh sạch của mẫu và tỷ lệ thu hồi phycocyanin qua mỗi bước tinh sạch (bảng 2). Kết quả so sánh cho thấy, mẫu tinh sạch theo 2 bước có độ tinh sạch cao hơn so với mẫu chỉ tinh sạch 1 bước với cột sắc ký LH20 mà không rửa ammonium sulfate (A_{620}/A_{280} : 1,2 và 1,1, tương ứng). Tuy nhiên, quá trình rửa protein với ammonium sulfate có hiệu suất thu hồi phycocyanin thấp, khoảng 60%, trong khi tinh sạch qua cột LH20 là 80-90%.



Hình 2. Điện di biến tính protein các mẫu tinh sạch phycocyanin từ mẫu thô [A: Điện di SDS-PAGE của mẫu thô và các mẫu tinh sạch phycocyanin; M: Thang chuẩn protein (Thermo Scientific); B: Phổ hấp thụ UV-Vis của mẫu tinh sạch theo 2 bước gồm tủa ammonium sulfate và chạy cột sắc ký LH20].

Bên cạnh đo quang phổ hấp thụ, hàm lượng và độ tinh sạch của mẫu thô và các sản phẩm tinh sạch còn tiến hành đánh giá bằng điện di biến tính SDS-PAGE. Ảnh điện di cho thấy, dịch chiết mẫu thô và các sản phẩm tinh sạch đều có xuất hiện băng protein đặc trưng của 2 tiểu phần α và β của phycocyanin (hình 2A). Tuy nhiên, băng của tiểu phần β không rõ nét ở các phân đoạn tinh sạch bằng cách chỉ chạy cột sắc ký LH20 mà không tủa bằng ammonium sulfate (hình 2A, mẫu 2). Và mẫu thu được sau khi tủa ammonium sulfate có nhiều băng phụ hơn so với mẫu tinh sạch sau khi chạy sắc ký LH20 (hình 2A, mẫu 3a).

Bảng 2. Độ tinh sạch và hiệu suất thu hồi phycocyanin.

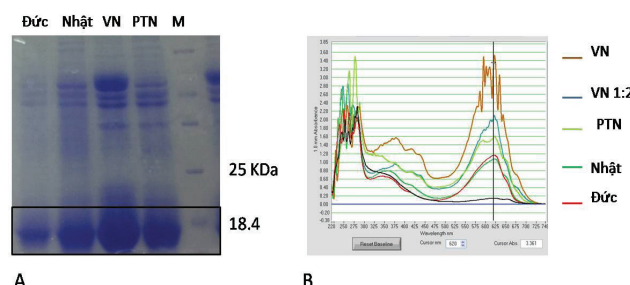
Tên mẫu	Độ tinh sạch A_{620}/A_{280}	Hiệu suất thu hồi (%)
1. Mẫu thô	1,06	100
2. Chỉ chạy cột LH20	1,12	> 80
3.a Tủa bằng ammonium sulfate	1,20	~60
3.b Tủa bằng ammonium sulfate rồi chạy qua cột LH20	1,20	>50

Sử dụng phần mềm phân tích hình ảnh ImageJ xác định được độ tinh sạch của các mẫu chứa phycocyanin dựa trên tỷ lệ % của 2 băng tiểu phần α và β trên tổng các băng protein của mẫu ở bản gel điện di biến tính. Kết quả cho thấy, mẫu được tinh sạch theo cách 2 bước (tủa ammonium sulfate rồi chạy cột sắc ký LH20) có độ tinh sạch cao nhất đạt 97% phycocyanin (hình 2A, mẫu 3b), so với cách tinh sạch chỉ chạy với cột sắc ký LH20, 93%. Kết quả thu được dựa trên bản gel phù hợp với kết quả tính toán theo phổ hấp thụ UV-Vis.

Đánh giá hàm lượng của phycocyanin ở các sản phẩm tảo xoắn thương mại

Phycocyanin là chất có khả năng chống viêm, chống oxy hóa, do đó hàm lượng phycocyanin là một chỉ tiêu quan trọng trong các sản phẩm tảo xoắn thương mại. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã áp dụng phương pháp tách chiết làm đông/rã đông, phương pháp đo quang phổ hấp thụ và điện di SDS-PAGE để đánh giá hàm lượng phycocyanin trong 1 g sinh khối khô tảo xoắn thương mại Vinataor trong nước (được ký hiệu mẫu là VN) và ngoại nhập (có xuất xứ từ Đức và Nhật), và từ sinh khối tảo khô nuôi trong phòng thí nghiệm (PTN) (như đã nêu ở phần nguyên liệu). Trong đó, mẫu VN và PTN, sinh khối tảo tươi được làm khô theo phương pháp đông khô.

Theo bản gel, sản phẩm tách phycocyanin ở các sản phẩm tảo xoắn thương mại trong nước (VN) và ngoại nhập (Đức, Nhật) cũng cho 2 băng tương ứng với tiểu phần α và β của phycocyanin có kích thước tính toán khoảng 15,5 KDa và 19 KDa (hình 3A). Hàm lượng của phycocyanin trong mẫu tách có thể được phản ánh dựa trên độ sáng của các băng điện di α và β này. Theo tính toán của ImageJ, lượng phycocyanin trong 1 g tảo khô theo thứ tự giảm dần như sau: VN, PTN Nhật, Đức.



Hình 3. So sánh hàm lượng phycocyanin trong các sản phẩm tảo Spirulina thương mại [A: Điện di biến tính SDS-PAGE; B: Phổ hấp thụ UV-Vis; VN: Sản phẩm thương mại Vinataor trong nước; Đức, Nhật: Sản phẩm ngoại nhập từ Đức, Nhật; PTN: Mẫu phycocyanin tách từ sinh khối tảo nuôi trong phòng thí nghiệm; M: Thang chuẩn protein (Thermo Scientific)].

Dựa vào số đo phổ hấp thụ UV-Vis của các mẫu phycocyanin tách cho thấy, hàm lượng phycocyanin của sản phẩm thương mại Vinataor trong nước (VN) là cao nhất: 78,2 mg trong 1 g tảo xoắn khô, tức 7,8% sinh khối, sau đó đến sản phẩm thương mại nhập ngoại Japan Algae Co. Ltd (Nhật): 59,8 mg/g (tức 6%) và GeoVitalis (Đức): 41,4 mg/g (tức 4,1%). Hàm lượng phycocyanin của mẫu trong phòng thí nghiệm (PTN) thu được là 57,5 mg/g (tức 5,75%). Kết quả này là phù hợp với kết quả thu được từ điện di SDS-PAGE.

Phương pháp tách chiết có ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng phycocyanin thu được, trong đó phương pháp đông lạnh/rã đông được sử dụng phổ biến nhất, vì quy trình đơn giản, không cần hoá chất trong tách chiết và ly giải được lượng phycocyanin nhiều nhất. Sarada và cộng sự (1999) đã sử dụng phương pháp này để tách chiết phycocyanin từ sinh khối khô thu được hàm lượng 19 mg/100 g (1,9% sinh khối) [11]. Nghiên cứu của Song và cộng sự (2013) sử dụng phương pháp nghiền ở áp suất cao cùng với xử lý enzyme lysozyme chỉ thu được 20-25 mg/g từ tảo khô (2-2,5% sinh khối) [10].

Ngoài ra, hàm lượng phycocyanin trong các sản phẩm thương mại phụ thuộc rất nhiều vào quá trình làm khô tảo xoắn. Một số công bố quốc tế đã báo cáo phương pháp làm khô có thể làm giảm 50% hàm lượng phycocyanin [11-13]. Nghiên cứu của Morist và cộng sự (2001) làm khô *A. platensis* theo phương pháp phun khô và đông khô thu được hàm lượng phycocyanin tương ứng là 1,4%, 4,0% [12]. Hoặc nghiên cứu của Oliveira và cộng sự (2008) xác định phycocyanin trong sinh khối tươi tự nhiên là 16%, sau làm khô chỉ còn là 10-12% tùy thuộc vào các phương pháp làm khô [13].

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả có thực hiện so sánh hàm lượng phycocyanin tách từ sinh khối khô và sinh khối tươi của sản phẩm thương mại Vinataor, và nhận thấy hàm lượng phycocyanin tách từ sinh khối khô mất đi một nửa so với từ sinh khối tươi (kết quả chi tiết không chỉ ra ở đây).

Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá độ tinh sạch, xác định hàm lượng phycocyanin trong các phân đoạn tinh sạch cũng như trong các sản phẩm thương mại bằng phương pháp điện di biến tính và đo phổ hấp thụ quang học UV-Vis. Tinh sạch theo 2 bước (đầu tiên là tủa với ammonium sulfate, rồi chạy cột LH20) cho mẫu có độ tinh sạch là 1,2, phù hợp với tiêu chuẩn sử dụng phycocyanin dùng cho các ngành nhuộm, thực phẩm. Trong các sản phẩm thương mại, sản phẩm Vinataor trong nước có hàm lượng phycocyanin là cao nhất, cao hơn cả sản phẩm ngoại nhập (của Nhật, Đức).

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ từ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội thông qua Đề tài TN.16.26.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.P. Dubacq, A.P. Phuc, J.C. Dillon (1995), "Nutritional Value of the Alga, *Spirulina*", *World Rev. Nutr. Diet*, **77**, pp.32-46.
- [2] P.D. Karkos, S.C. Leong, C.D. Karkos, N. Sivaji, D.A. Assimakopoulos (2011), "*Spirulina* in Clinical Practice: Evidence-Based Human Applications", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2011**, pp.1-4.
- [3] M. Kuddus, P. Singh, G. Thomas and A. Al-Hazimi (2013), "Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin", *BioMed Research International*, **2013**, pp.1-9.
- [4] R. González, S. Rodríguez, C. Romay, O. Ancheta, A. González, J. Armesto, D. Ramirez, N. Merino (1999), "Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats", *Pharmacol Res.*, **39**(1), pp.55-59.
- [5] C. Romay, R. González, N. Ledón, D. Ramirez, V. Rimbau (2003), "C-phycocyanin: A biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects", *Curr. Protein Pept Sci.*, **4**(3), pp.207-216.
- [6] S.P. Kamble, R.B. Gaikar, R.B. Padalia and K.D. Shinde (2013), "Extraction and purification of C-phycocyanin from dry *Spirulina* powder and evaluating its antioxidant, anticoagulation and prevention of DNA damage activity", *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **3**(08), pp.149-153.
- [7] R.G. Fisher, N.E. Woods, H.E. Fuchs and R.M. Sweet (1980), "Three-Dimensional Structures of C-Phycocyanin and B-Phycocerythrin at 5-Å Resolution", *The Journal of Biological Chemistry*, **255**(11), pp.5082-5089.
- [8] A. Patel, S. Mishra, R. Pawar, P.K. Ghosh (2005), "Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat", *Protein Expression and Purification*, **40**, pp.248-255.
- [9] D. Kumar, D.W. Dhar, S. Pabbi, N. Kumar, S. Walia (2014), "Extraction and purification of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* (CCC540)", *Indian J. Plant Physiol.*, **19**, pp.184-188.
- [10] W. Song, C. Zhao and S. Wang (2013), "A Large-Scale Preparation Method of High Purity C-Phycocyanin", *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, **3**(4), pp.294-297.
- [11] R.M.G.P. Sarada, M.G. Pillai, G.A. Ravishankar (1999), "Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin", *Process biochemistry*, **34**(8), pp.795-801.
- [12] A. Morist, J.L. Montesinos, J.A. Cusidó, F. Gòdia (2001), "Recovery and treatment of cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food", *Process Biochemistry*, **37**(5), pp.535-547.
- [13] E.G. Oliveira, G.S. Rosa, M.A. Moraes, L.A.A. Pinto (2008), "Phycocyanin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer", *Journal of Food Process Engineering*, **31**, pp.34-50.

Đóng góp dẫn liệu mới về đặc điểm sinh học, sinh thái của loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) ở Việt Nam

Ngô Đức Phương¹, Nguyễn Thị Thúy Vân¹, Bùi Văn Hường²,
Nguyễn Văn Đạt², Nguyễn Thị Vân Anh³, Bùi Văn Thanh^{3*}

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, VNU

²Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, VAST

³Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, VAST

Ngày nhận bài 24/5/2017; ngày chuyển phản biện 29/5/2017; ngày nhận phản biện 23/6/2017; ngày chấp nhận đăng 30/6/2017

Tóm tắt:

Chi *Berberis* L. được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền trên thế giới và ở Việt Nam. Thân, rễ của loài này chứa nhiều hợp chất *alkaloid*, trong đó chủ yếu là *berberin*. Ở Việt Nam, số lượng cá thể loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) ngoài tự nhiên đang bị suy giảm mạnh và được đưa vào Sách đỏ Việt Nam (2007) với cấp đánh giá “nguy cấp EN”. Hiện mới xác định được loài Hoàng liên ba gai có phân bố tự nhiên tại huyện Bát Xát và Sa Pa, tỉnh Lào Cai. Nhằm xây dựng sở dữ liệu cho việc bảo tồn và sử dụng hợp lý loài Hoàng liên ba gai ở Việt Nam, bài báo này bổ sung chi tiết đặc điểm hình thái loài, xác định mật độ loài Hoàng liên ba gai, đánh giá một số nhân tố sinh thái như độ cao, nhiệt độ, độ ẩm, cường độ ánh sáng, tổ thành loài... nơi có loài Hoàng liên ba gai sinh sống.

Từ khóa: Cây thuốc, đặc điểm sinh học, đặc điểm sinh thái, Hoàng liên ba gai.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Chi *Berberis* L. có một vị trí quan trọng trong nền y học cổ truyền thế giới về giá trị sử dụng làm thuốc chữa bệnh [1, 2]. Đây là chi lớn nhất trong họ Hoàng liên gai (Berberidaceae) với khoảng 500 loài phân bố chủ yếu ở vùng nhiệt đới phía bắc [3, 4]. Ở Việt Nam, theo Nguyễn Tiến Bân, Phạm Hoàng Hộ, chi Hoàng liên gai (*Berberis* L.) có 2 loài phân bố ở các tỉnh vùng núi phía Bắc [5, 6]. Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) là một trong hai loài thuộc chi *Berberis* L., đây là một vị thuốc được sử dụng từ lâu đời trong các bài thuốc đông y dùng để chữa các bệnh như viêm ruột, tiêu chảy, lỵ, viêm ngứa ngoài da, mụn nhọt,... Thân và rễ Hoàng liên ba gai chứa nhiều hợp chất *alkaloid*, trong đó chủ yếu là *berberin* [1, 2].

Hiện nay, số lượng cá thể loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) ngoài tự nhiên bị suy giảm mạnh do bị khai thác quá mức. Loài này đã được đưa vào danh sách các loài thực vật nguy cấp trong Sách đỏ Việt Nam (2007) với cấp đánh giá "nguy cấp EN" [7]. Mặc dù loài này bị khai thác mạnh và được đánh giá là có tiềm năng ứng dụng cao nhưng ở Việt Nam mới chỉ có một số tài liệu cây thuốc liệt kê mà chưa có các công bố cụ thể

về đặc điểm sinh học, sinh thái cũng như các thử nghiệm hoạt tính sinh học. Trước tình hình trên, bên cạnh việc nghiên cứu giá trị y dược học thì việc nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái của loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) là rất cần thiết, phục vụ cho công tác bảo tồn và phát triển loài cây này trong tương lai.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp kế thừa: Kế thừa các tài liệu nghiên cứu về đặc điểm sinh học, sinh thái, tri thức sử dụng của người dân bản địa có liên quan đến cây Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) và các thông số khí hậu tại các khu vực nghiên cứu.

Phương pháp điều tra phỏng vấn: Phỏng vấn người dân địa phương kết hợp với điều tra theo tuyến để xác định các khu vực có thể có loài Hoàng liên ba gai phân bố; thu thập thông tin từ những người thường xuyên khai thác để bán cũng như thông tin từ chính quyền địa phương để đánh giá mức độ khai thác từ trước đến nay [8].

Phương pháp nghiên cứu sinh học: Sử dụng các phương pháp nghiên cứu thực vật học của Nguyễn Nghĩa Thìn [9]; các phương pháp nghiên cứu thực vật dân tộc

*Tác giả liên hệ: Email: thanhbv2001@gmail.com

A contribution to the biological and ecological characteristics of *Berberis wallichiana* DC. in Vietnam

Duc Phuong Ngo¹, Thi Thuy Van Nguyen¹,
Van Huong Bui², Van Dat Nguyen²,
Thi Van Anh Nguyen³, Van Thanh Bui^{3*}

¹The University of Science, VNU

²Vietnam National Museum of Nature, VAST

³Institute of Ecology and Biological Resources, VAST

Received 24 May 2017; accepted 30 June 2017

Abstract:

Berberis L. genus is widely used in traditional medicine throughout the world as well as in Vietnam. Their stem and root contain many alkaloid compounds, of which berberine makes up the majority. In Vietnam, *Berberis wallichiana* DC. is being threatened in the wild with a sharp decline and has been listed in the Vietnam Red Data Book (2007) as “endangered-EN”. We have identified the *Berberis wallichiana* DC. natural distribution in Bat Xat and Sa Pa District, Lao Cai Province. The article describes in detail the morphological characteristics and density of this species and also assesses some ecological factors such as distribution height, temperature, humidity, light intensity, species composition... at places where *Berberis wallichiana* DC. exists in nature.

Keywords: *Berberis wallichiana*, biological characteristics, ecological characteristics, medicinal plant.

Classification number: 1.6

học, cây thuốc của Nguyễn Bá Ngãi [8]... Đặc điểm hình thái được đo đếm trực tiếp với 130 cá thể, 300 lá, 35 hoa, 3.200 quả, 3.300 hạt... Sự sinh trưởng, phát triển và các đặc điểm sinh học được xác định bằng việc theo dõi tăng trưởng theo chiều cao của từng cá thể/năm, theo dõi mùa hoa - quả, số lượng quả, hạt/cây, thời gian nảy mầm trong tự nhiên. Nghiên cứu mật độ dựa vào ô tiêu chuẩn (OTC), tùy điều kiện cụ thể để lập các OTC 20x20 m hoặc 10x10 m đối với cây trưởng thành và 5x5 m đối với cây tái sinh (tổng số 72 OTC).

Phương pháp nghiên cứu sinh thái: Xác định một số yếu tố sinh thái - môi trường như độ cao, cường độ ánh sáng, độ ẩm, lượng mưa, nhiệt độ trung bình ngày, trung bình năm... sử dụng các thiết bị như GPS, nhiệt - ẩm kế, Lux kế và kết hợp các số liệu khí tượng thủy văn tại địa phương; xác định các loài thực vật chủ yếu cùng sinh sống với loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) [10, 11]. Các theo dõi được thực hiện trong năm 2016 với 4 đợt (mỗi đợt 5 ngày) đại diện cho các mùa trong năm.

Kết quả nghiên cứu

Đặc điểm hình thái loài Hoàng liên ba gai

Hoàng liên ba gai là cây bụi, cao 0,5-2(-3) m. Thân nhẵn có màu nâu xám, vỏ già thường nứt dọc; gai dài 1-2(-2,5) cm, chia 3 nhánh, mọc dưới cụm lá.

Lá đơn, nguyên, mọc vòng 2-6 lá. Phiến lá thuôn rộng, dài, dai, kích thước cỡ 5,0-6,5(-8,5) x 1,8-2,2(-2,5) cm, mặt trên màu xanh bóng, mặt dưới có màu xanh lục hơi vàng, mép lá có 6-8 răng cưa thưa, cứng; gân lông chim với 6-8 cặp. Cuống lá dài 0,4-0,5 cm.

Hoa nhỏ, mọc tập trung thành chùm từ 18-38 hoa. Cuống hoa dài 1,5-2,5 cm; Đài hoa màu vàng, xếp thành 2 vòng. Cánh hoa hình elip dạng trứng ngược, với 6 cánh xếp thành 2 vòng. Nhị 6, bao phấn mở bằng 2 nắp; bầu thượng, 1 ô; noãn 1-2.

Mỗi chùm quả mang từ 6 đến 30 quả, tập trung nhiều nhất là khoảng 20-25 quả/chùm. Quả mọng, hình bầu dục, kích thước khoảng 0,85-1,0 x 0,45-0,6 cm; khi chín có màu tím đậm. Vòi nhụy tồn tại, cuống quả dài 1,82-3,45 cm. Mỗi quả mang 1-2 hạt, kích thước hạt 0,58-0,60 x 0,32-0,38 cm; trọng lượng 1.000 hạt là 36,4 g (độ ẩm 48,24% - hạt tươi). Các dẫn liệu về đặc điểm hình thái này có nhiều khác biệt so với các tài liệu trước đây [1-3, 6, 7] đặc biệt về kích thước lá, quả, hạt, số lượng quả, hạt/cụm.

Qua quá trình theo dõi và đo đếm ở thời điểm quả già và chín cho thấy quá trình chín của quả kéo dài, rải rác từ tháng 10 đến tháng 2 năm sau.



Hình 1. Đặc điểm hình thái loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.).

Bảng 1. Các chỉ tiêu đặc điểm hình thái của loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.).

Chỉ tiêu theo dõi	Kích thước/số lượng	Chỉ tiêu theo dõi	Kích thước/số lượng
Chiều dài phiến lá	5,65±1,72 cm	Chiều dài quả	0,94±0,05 cm
Chiều rộng phiến lá	2,03±0,94 cm	Chiều rộng quả	0,55±0,04 cm
Chiều dài cuống lá	0,45±0,10 cm	Chiều dài hạt	0,65±0,05 cm
Số lá trung bình/cụm	3,94±1,79 lá	Chiều rộng hạt	0,35±0,03 cm
Số hoa trung bình/chùm	27,29±8,78 hoa	Tỷ lệ hạt/quả	1,17±0,29
Số quả trung bình/chùm	15,91±6,61 quả	Trọng lượng 1.000 quả tươi	105,32±5,68 g
Chiều dài cuống quả	2,56±0,89 cm	Trọng lượng 1.000 hạt (độ ẩm 48,24%)	36,40±2,30 g

Mật độ và tái sinh của loài Hoàng liên ba gai

Mật độ loài được xác định tại hai khu vực phân bố ở huyện Bát Xát và Sa Pa, tỉnh Lào Cai. Kết quả đánh giá 20 OTC kích thước 20x20 m và 22 OTC kích thước 10x10 m đối với cây trưởng thành, cây có chiều cao từ 0,5 m trở lên và 30 OTC kích thước 5x5 m đối với cây tái sinh và cây dưới 0,5 m được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Mật độ cá thể loài Hoàng liên ba gai.

TT	Kích thước ô tiêu chuẩn	Số cá thể trung bình	Số cá thể/ha
1	20x20 m	13,4±6,85	335,00
2	10x10 m	3,86±1,88	386,36
3	5x5 m	47,67±27,46	19.066,67

Mật độ cây tái sinh và cây thấp dưới 0,5 m là rất lớn, tới trên 19.000 cá thể/ha nhưng số cá thể trưởng thành hoặc có chiều cao trên 0,5 m chỉ có 335-385 cá thể/ha. Thực tế cho thấy, hạt của loài Hoàng liên ba gai có tỷ lệ nảy mầm cao, lượng hạt lớn nên khi gặp điều kiện thuận lợi có thể nảy mầm và hình thành cây con rất nhiều; tuy nhiên tại các khu vực phân bố loài này có điều kiện thời tiết biến động lớn về cường độ ánh sáng, độ ẩm, nhiệt độ... do đó sau một thời gian nhất định, phần lớn cây tái sinh bị khô và chết; Một nguyên nhân khác là do cây tái sinh dễ bị tác động từ các loài động vật, côn trùng hoặc các yếu tố vật lý khác, do đó chỉ có một tỷ lệ rất nhỏ cây sinh trưởng và trưởng thành được.

Đặc điểm sinh thái loài Hoàng liên ba gai

Qua điều tra, nghiên cứu mới chỉ phát hiện loài Hoàng liên ba gai có phân bố tại huyện Bát Xát và huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai. Tại nơi đây, các yếu tố tự nhiên như lượng mưa, nhiệt độ, độ ẩm, kiểu đất có mối quan hệ ảnh hưởng chặt chẽ đến sự phân bố của loài.

Cây thường mọc dưới tán rừng thưa và vách núi đá vôi, trảng cây bụi hoặc khe suối cạn ven núi đá; đây là những nơi đất có lượng mùn ít, nghèo dinh dưỡng, độ cao từ 1.700-2.500 m. Những nơi này thường có độ ẩm, nhiệt độ và cường độ ánh sáng biến thiên mạnh.

Nhiệt độ trung bình năm là 15-16°C, vào mùa đông, hầu như năm nào ở điểm phân bố tại huyện Bát Xát (có độ cao 2.200-2.500 m) cũng có băng tuyết; vào mùa hè, nhiệt độ có thể lên tới 30-32°C. Tại điểm phân bố ở huyện Sa Pa, thời điểm khô nhất, độ ẩm có thể xuống 30% (thường xảy ra trong khoảng tháng 2, tháng 3 hàng năm) nhưng vào mùa mưa ẩm, ở cả hai điểm phân bố, độ ẩm rất cao, thậm chí có thể bão hòa (100%). Về cường độ ánh sáng cũng có sự biến thiên rất lớn. Cường độ ánh sáng biến thiên mạnh từ 0,26.10³ lx vào ngày có mù dày đặc và lên đến 112,9.10³ lx khi trời nắng gắt, không có mây (số liệu đo trong khoảng thời gian từ 11-13 h),

Bảng 3. Đặc điểm tự nhiên tại khu vực Hoàng liên ba gai phân bố.

Độ cao (m)	1.700-2.500
Nhiệt độ trung bình (°C) [11]	15-16 (-5-32)
Độ ẩm không khí trung bình (%) [11]	>80 (30-100)
Lượng mưa trung bình (mm/năm) [11]	1.800-2.800
Cường độ ánh sáng (lx)	0,26.10 ³ -112,9.10 ³

Mối quan hệ giữa các loài thực vật với loài Hoàng liên ba gai

Tại các địa điểm nghiên cứu, Hoàng liên ba gai thường hiện diện ở các khu rừng có thành phần quần xã thực vật đơn giản. Các loài phân bố thường là các loài điển hình, đặc trưng cho các vùng đỉnh núi đá vôi phía Bắc. Tầng cây gỗ gồm các loài như: Tổng quán sù (*Alnus nepalensis*), Chân chim (*Schefflera* sp.), Chẹo (*Engelhardia* sp.)... Tầng cây bụi gồm các loài chính như: Ngũ sắc, Đùm đùm... có chiều cao trung bình 1-2 m. Tầng thảm tươi chủ yếu là các loài: Cỏ lào tím, Cỏ lá tre, Rau răm, Khoai nước, Thông đất, Dương xỉ... có phân bố thưa.

Bảng 4. Các loài thực vật chủ yếu tại khu vực Hoàng liên ba gai phân bố.

STT	Dạng sống	Tên loài		Tên họ
		Tên Việt Nam	Tên Khoa học	
1	Cây gỗ	Tổng quán sù	<i>Alnus nepalensis</i>	Betulaceae
2		Chân chim	<i>Schefflera</i> sp.	Araliaceae
3		Chẹo	<i>Engelhardia</i> sp.	Juglandaceae
4		Kháo nhậm	<i>Machilus odoratissima</i>	Lauraceae
5	Cây bụi	Ngũ sắc	<i>Ageratum conyzoides</i>	Asteraceae
6		Đùm không dôi	<i>Rubus etropicus</i>	Rosaceae
7		Gối hạc	<i>Leea indica</i>	Leeaceae
8		Mua	<i>Melastoma</i> sp.	Melastomataceae
9		Thành ngạnh	<i>Cratogeomys formosum</i>	Hypericaceae
10		Dương xỉ	<i>Pteris</i> sp.	Pteridoideae
11		Thông đất	<i>Lycopodiella cernua</i>	Lycopodiaceae
12	Thảm tươi	Cỏ lào tím	<i>Eupatorium coelestinum</i>	Asteraceae
13		Cỏ lá tre	<i>Lophatherum gracile</i>	Poaceae
14		Rau răm	<i>Polygonum</i> sp.	Polygonaceae
15		Khoai nước	<i>Colocasia esculenta</i>	Araceae

Kết luận

Qua quá trình điều tra và nghiên cứu các mẫu vật thu được tại tỉnh Lào Cai, xin rút ra các kết luận sau:

Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) là cây bụi, có chiều cao từ 0,5-2(-3) m. Lá đơn, nguyên, mọc vòng 2-6 lá, mặt trên màu xanh bóng, mặt dưới màu xanh lục hơi vàng nhạt, kích thước 5,0-6,5(-8,5) x 1,8-2,2(-2,5) cm, mép lá có răng cưa nhọn. Hoa nhỏ, màu vàng, mọc tập trung thành chùm từ 18 đến 38 hoa; mỗi chùm quả mang từ 6 đến 30 quả, tập trung nhiều nhất là khoảng 20-25 quả/chùm. Quả mọng, hình bầu dục, kích thước khoảng 0,85-1,0 x 0,45-0,6 cm, cuống quả dài 1,82-3,45 cm. Mỗi quả

mang 1-2 hạt, kích thước hạt 0,58-0,60 x 0,32-0,38 cm; trọng lượng 1.000 hạt là 36,4 g (độ ẩm 48,24%).

Cây tái sinh chủ yếu từ hạt, mật độ cây tái sinh và cây nhỏ dưới 0,5 m là 19.067 cá thể/ha; mật độ cây trưởng thành và từ 0,5 m trở lên là 335-385 cá thể/ha.

Hoàng liên ba gai thường mọc dưới tán rừng thưa hay các trống cây bụi trên núi đá vôi, nơi đất có lượng mùn ít, nghèo dinh dưỡng, độ cao 1.700-2.500 m, nhiệt độ trung bình khoảng 15-16°C, độ ẩm không khí trên 80%, lượng mưa 1.800-2.800 mm/năm, cường độ ánh sáng từ 0,26.10³ lx đến 112,9.10³ lx.

Thành phần loài thực vật nơi Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) phân bố tương đối đơn giản, loài cây này mọc chủ yếu với những cây bụi vàng thảm tươi, tầng cây gỗ chiếm tỷ lệ rất thấp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam (đề tài mã số VAST.DLT.04/15-16) và Quỹ Phát triển KH&CN Quốc gia - NAFOSTED (mã số 106-NN.03-2016.49). Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội.
- [2] Đỗ Tất Lợi (2000), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội.
- [3] Nguyễn Tiến Bân (1997), *Cẩm nang tra cứu và nhận biết các họ thực vật hạt kín ở Việt Nam*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- [4] Flora of China Editorial Committee (2001), *Flora of China*, Vol.19.
- [5] Nguyễn Tiến Bân (chủ biên) (2003), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam, tập 2*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- [6] Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam, tập 1*, NXB Trẻ, TP Hồ Chí Minh.
- [7] Bộ KH&CN, Viện KH&CN Việt Nam (2007), *Sách đỏ Việt Nam*, phần II. Thực vật, NXB Khoa học tự nhiên và công nghệ.
- [8] Nguyễn Bá Ngãi (1999), *Phương pháp đánh giá nông thôn*, Bài giảng chuyên đề lâm nghiệp xã hội, Trường Đại học Lâm nghiệp, Hà Nội.
- [9] Nguyễn Nghĩa Thìn (1997), *Cẩm nang nghiên cứu đa dạng sinh vật*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
- [10] Hoàng Chung (2009), *Các phương pháp nghiên cứu quần xã thực vật*, NXB Giáo dục.
- [11] Đỗ Thị Vân Hương (2014), *Nghiên cứu đánh giá tài nguyên sinh khí hậu vùng Đông bắc Việt Nam cho phát triển một số cây trồng nông lâm nghiệp có giá trị kinh tế*, Luận án tiến sĩ Địa lý, Viện Địa lý, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam.

Nghiên cứu hoàn thiện quy trình tái sinh cây và thiết kế vector mang gen *AGPopt* tổng hợp nhân tạo để chuyển vào cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz)

Đỗ Hải Lan^{1,2}, Lê Văn Sơn¹, Lê Trần Bình^{1*}

¹Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

²Trường Đại học Tây Bắc

Ngày nhận bài 5/4/2017; ngày chuyển phản biện 7/4/2017; ngày nhận phản biện 3/5/2017; ngày chấp nhận đăng 12/5/2017

Tóm tắt:

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là cây có giá trị trong an ninh lương thực và công nghiệp. Cải tạo giống sắn bằng công nghệ sinh học có ý nghĩa lớn đối với khoa học và thực tiễn. Quy trình chuyển gen nhằm vào *AGPopt* tổng hợp nhân tạo để gia tăng hàm lượng tinh bột là mục tiêu lâu dài của nghiên cứu này. Quy trình tái sinh cây sắn thông qua phôi soma từ đỉnh chồi và thùy lá non của 2 giống sắn KM140 và KM94 đã được tối ưu trên môi trường MS bổ sung picloram 12 mg/l và tái sinh trên môi trường BAP 0,3 mg/l. Phôi soma sơ cấp của sắn được lựa chọn để chuyển gen. Cấu trúc gen *AGPopt* được tổng hợp nhân tạo dựa trên protein glgC của vi khuẩn *E. coli* K12 (mã số AKD93525.1), thêm đột biến G336D, tối ưu hoá mã di truyền cho phù hợp với thực vật và gắn chuỗi peptide tín hiệu (gồm 57 amino acid), đuôi c-myc (11 amino acid) và trình tự KDEL (4 amino acid). Gen *AGPopt* tổng hợp nhân tạo đã được thiết kế hoàn chỉnh vào vector pBI121 và đã được đánh giá trên cây thuốc lá mô hình. Kết quả tạo 32 dòng cây thuốc lá chuyển gen được kiểm tra dương tính bằng PCR, đều mang gen *AGPopt* bằng lai Southern, tạo được protein AGPase bằng Western blot, có hoạt tính AGPase trong lá tăng từ 121 (L6) đến 153% (L7) và có hàm lượng tinh bột tăng từ 140,05 (L2) đến 168,99% (L7) so với đối chứng. Cấu trúc gen *AGPopt* này đã được sử dụng chuyển vào cây sắn KM94 thông qua phôi soma nhờ *A. tumefaciens*, bước đầu thu được 6 dòng cây hoàn chỉnh, trong đó 5/6 dòng được xác định có mặt gen *AGPopt*. Các dòng sắn chuyển gen này đang được đánh giá tiếp tục.

Từ khóa: *AGPopt* tổng hợp nhân tạo, cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz), chuyển gen, phôi soma, tăng sinh tinh bột.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz) được trồng ở châu Phi, châu Á và châu Mỹ, đáp ứng nhu cầu lương thực cho 800 triệu người. Củ sắn có hàm lượng chất khô chiếm 20%, trong đó 80% là tinh bột, được sử dụng chủ yếu làm lương thực, thức ăn chăn nuôi, tinh bột công nghiệp, nguyên liệu cho sản xuất đường, nhiên liệu sinh học [1]. Ở nước ta sản phẩm từ sắn đã trở thành mặt hàng xuất khẩu có giá trị, đạt kim ngạch 1,32 tỷ USD trong năm 2015. Tuy nhiên, năng suất sắn của Việt Nam chỉ đạt 19,15 tấn/ha, ở mức trung bình của thế giới [2]. Để phát triển cây sắn bền vững, cần thiết phải cải tạo giống sắn để không chỉ thu được lợi nhuận cao mà còn duy trì được độ phì nhiêu của đất.

Hiện nay, trong công tác chọn tạo giống cây trồng, công nghệ gen đã trở thành công cụ hiệu quả để cải biến di truyền, nhất là những cây được nhân giống vô tính là chủ yếu như cây sắn. Trên thế giới, nghiên cứu tạo cây

sắn chuyển gen đã được bắt đầu từ 25 năm trước và đến nay đã có những thành tựu, đặc biệt trong hướng cải tiến chất lượng củ như giảm hàm lượng cyanogen, giảm tỷ lệ amylose trong tinh bột, tăng hàm lượng protein, β -caroten, sắt, vitamin, tinh bột... Việc ứng dụng công nghệ chuyển gen nhằm tác động vào quá trình tổng hợp/thủy phân tinh bột để tăng khả năng tích lũy tinh bột ở cơ quan dự trữ, hướng đến nâng cao năng suất cây sắn là mục tiêu dài hạn của hướng nghiên cứu này.

ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) là enzyme điều hoà quá trình tổng hợp tinh bột ở bước chuyển glucose-1-phosphate thành ADP-glucose, nguyên liệu để tạo thành tinh bột [3]. Trong quá trình nghiên cứu, người ta đã phát hiện ra AGPase của gen *glgC* ở vi khuẩn *E. coli* có hoạt tính cao hơn hàng trăm lần so với ở thực vật [4]. Khi AGPase *E. coli* mang đột biến điểm G336D thay thế glycine ở vị trí 336 bằng axit aspartic có thể hoạt động hiệu quả mà không cần chất hoạt hóa fructose-1,6-bis

*Tác giả liên hệ: Email: le-tran.binh@usth.edu.vn

Study on completing a regeneration system and constructing a synthetic *AGPopt* vector for transformation into cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

Hai Lan Do^{1,2}, Van Son Le¹, Tran Binh Le^{1*}

¹Institute of Biotechnology, VAST

²Tay Bac University

Received 5 April 2017; accepted 12 May 2017

Abstract:

Cassava is a high value crop for food security and industry. Improving cassava using biotechnology is providing important scientific and practical values. The longterm objective of this study is to create *AGPopt* transgenic cassava plants for enhancing the starch synthesis. A plant regeneration protocol of the KM140 and KM94 cassava varieties via somatic embryos from shoots and young leaf lobes was optimized on MS supplemented with 12 mg/l picloram for induction of somatic embryogenesis, and germinated on MS supplemented with 0.3 mg/l BAP. The *AGPopt* gene is synthesized using data from glgC protein of *E. coli* K12 (code AKD93525.1) with 1527 bps, added with the G336D mutation, their genetic codes optimized in compliance with plants, the 5' head attached with the 171 bps fragment encoding for the signal peptide (57 amino acids), the 3' end attached the c-myc (11 amino acids), and the KDEL (4 amino acids) sequence. The synthetic *AGPopt* has been constructed into the pBI121 vector for transformation. Using tobacco as the model plant, the transformation of *AGPopt* vector has created 32 transgenic tobacco lines which are proved to be positive by PCR; also positive by Southern blot; positive for AGPase protein expression by Western blot; increasing leaf AGPase activity (from 121 to 153%), and also starch content (from 140.05 to 168.99%). This has successfully proved that the *AGPopt* vector has been used for transformation into KM94 cassava via somatic embryos and resulted in 6 plant lines, 5 of which have been proved to be positive for the *AGPopt* gene. Further analyses of the transgenic cassava lines have been implemented.

Keywords: Cassava (*Manihot esculenta* Crantz), enhancing starch synthesis, genetic transformation, somatic embryo, synthetic *AGPopt*.

Classification number: 1.6

phosphate, có ái lực cao hơn với cơ chất (ATP và Glucose-1-phosphate) và giảm ái lực với chất ức chế AMP [5]. Vì vậy, việc hoàn thiện quy trình nuôi cấy mô tái sinh cây sắn và tổng hợp gen nhân tạo *AGPopt* mã hóa AGPase dựa trên gen AGPase ở vi khuẩn và mang đột biến mong muốn đóng vai trò vô cùng quan trọng phục vụ việc chuyển gen *AGPopt* vào cây sắn, góp phần tạo tiền đề cho cải biến năng suất và chất lượng một số giống sắn đang được trồng phổ biến ở nước ta.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Giống cây thuốc lá K326 do Viện Kinh tế kỹ thuật thuốc lá (Tổng công ty Thuốc lá Thăng Long) cung cấp, được sử dụng để biểu hiện protein enzyme tái tổ hợp AGPase.

Hai giống sắn KM94 và KM140 có nguồn gốc từ Trung tâm Tài nguyên thực vật (Viện Khoa học nông nghiệp Việt Nam) được sử dụng làm vật liệu cho tái sinh cây và tạo cây sắn chuyển gen.

Các vector pBI121, pUCIDT-AMP và các chủng vi khuẩn *E. coli* DH5α, *A. tumefaciens* CV58/pGV2260, EHA105 và LBA4404 được lưu giữ tại Phòng Công nghệ tế bào thực vật (Viện Công nghệ sinh học). Gen nhân tạo *AGPopt* được nhóm nghiên cứu đề tài thiết kế và đặt tổng hợp tại hãng Integrated DNA Technologies (Mỹ).

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nuôi cấy mô và tái sinh cây sắn:

Cây sắn 12-14 ngày tuổi, hình thành từ chồi ngủ của mẫu cây trên môi trường MS, được sử dụng làm vật liệu cho nuôi cấy mô, tái sinh cây và chuyển gen.

Các loại vật liệu đỉnh chồi, cuống lá, đoạn thân non mang chồi ngủ, đoạn thân non không mang chồi ngủ (dài 1,5 cm) và thùy lá non (kích thước 1-2 mm), thùy lá trưởng thành (2×2 mm) được nuôi cấy tạo phôi soma và kích thích phôi nảy mầm trên môi trường MS theo phương pháp được mô tả bởi [6] và [7].

Tổng hợp gen nhân tạo AGPopt mã hóa AGPase và thiết kế vector chuyển gen mang gen AGPopt:

Dựa trên cấu trúc của protein glgC (mã số AKD93525.1) của vi khuẩn *E. coli* K12 đã được công bố trên GenBank, suy diễn thành trình tự gen có mã bộ ba phù hợp biểu hiện trong hệ thống thực vật và thêm đột biến tại vị trí G336D. Bổ sung thêm trình tự protein tín hiệu vào đầu 5' và được gắn với đuôi c-myc và KDEL vào đầu 3'. Gen mã hóa AGPase nhân tạo, ký hiệu là *AGPopt* được đặt

tổng hợp tại hãng Integrated DNA Technologies (Mỹ) và được nhân dòng trong vector pUCIDT-AMP.

Dùng vector pBI121 thay gen *gus* bằng gen *AGPopt*. Biến nạp vector tái tổ hợp vào *A. tumefaciens* bằng phương pháp xung điện.

Phương pháp chuyển gen và đánh giá gen chuyển ở cây thuốc lá và cây sắn:

Chuyển gen *AGPopt* vào cây thuốc lá mô hình được tiến hành theo thường quy của phòng thí nghiệm. Các dòng thuốc lá chuyển gen được phân tích bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu G336F/G336KDEL R, kỹ thuật lai Southern, kỹ thuật lai Western. Tiếp theo các dòng dương tính trên được phân tích cây chuyển gen bằng phương pháp hóa sinh xác định hàm lượng tinh bột trong lá; xác định hoạt tính của enzyme AGPase bằng phương pháp quang phổ thông qua đo hấp thụ tại bước sóng 340 nm của NADPH theo phương pháp của Konstantin [8].

Đối với cây sắn, phôi soma được sử dụng để chuyển

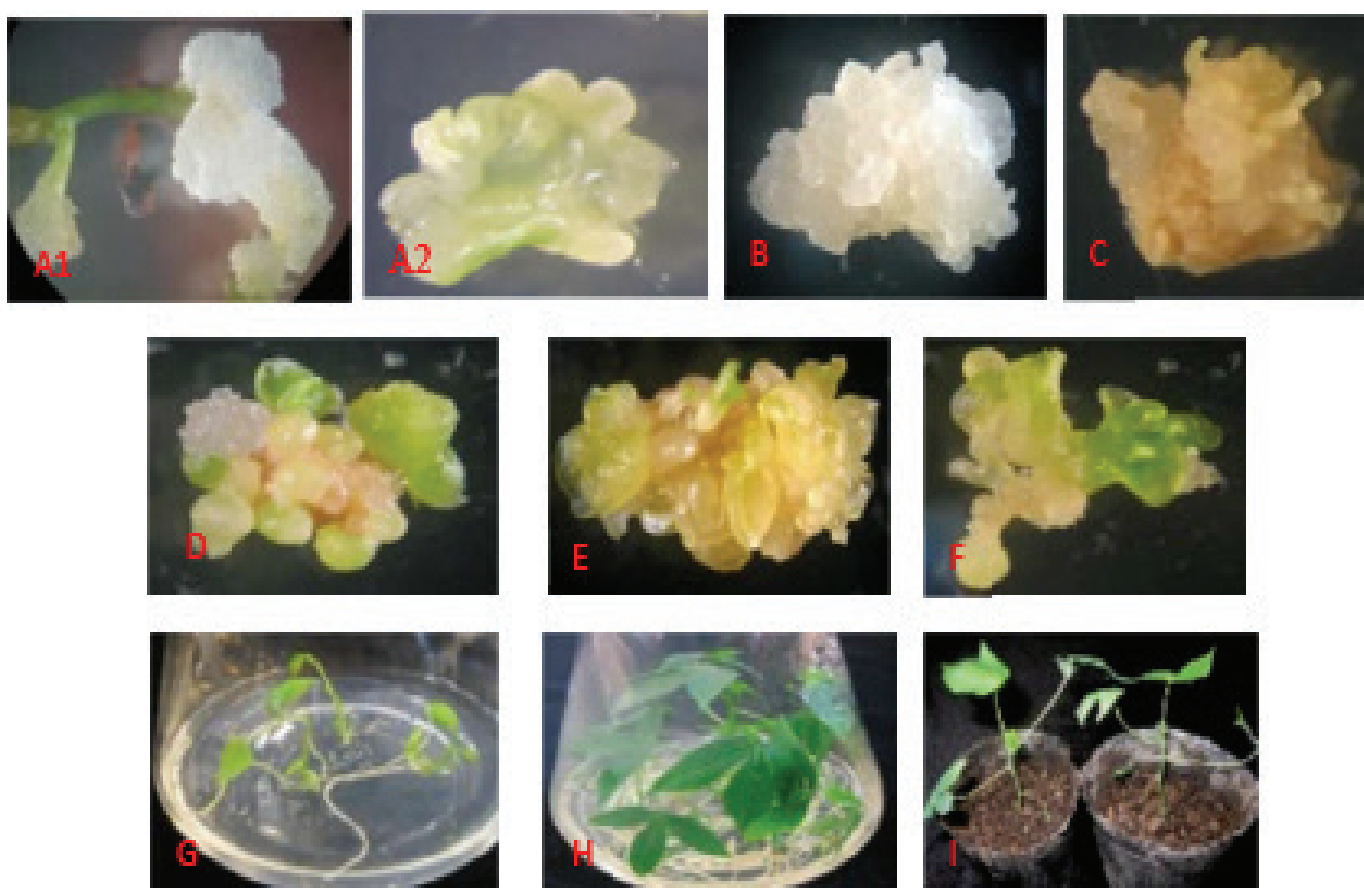
gen thông qua lây nhiễm với huyền phù vi khuẩn bằng phương pháp lắc (50 v/p) và siêu âm. Sự hiện diện của gen chuyển trong các dòng sản tái sinh được xác định thông qua PCR.

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm IRRISTAT. Phân tích trình tự nucleotide của gen và trình tự amino acid của protein bằng công cụ Clustal Omega được phát triển bởi EMBL-EBI (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) và phần mềm BioEdit.

Kết quả

Kết quả xây dựng quy trình nuôi cấy mô và tái sinh cây sắn phục vụ chuyển gen

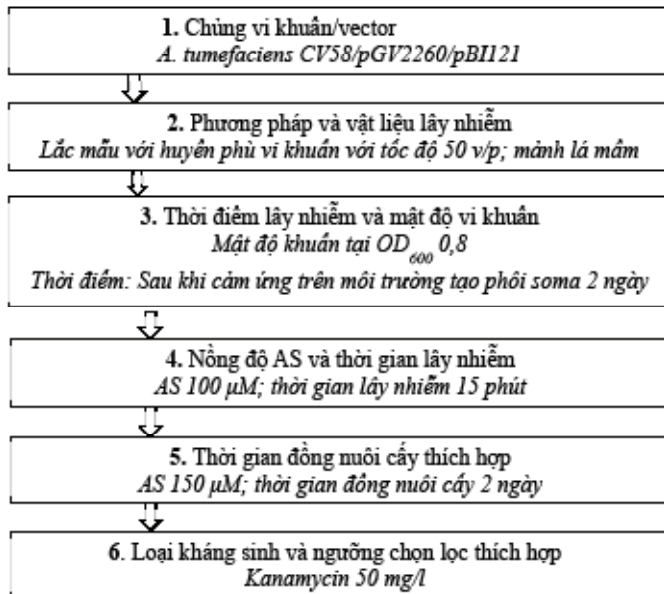
Với nguyên liệu ban đầu là đỉnh chồi và thủy lá non thông qua 3 bước gồm cảm ứng tạo phôi soma trên môi trường MS chứa 12 mg/l picloram, sau đó cho phôi soma nảy mầm trên môi trường MS chứa 0,3 mg/l BAP và tạo rễ trên môi trường không có chất điều hòa sinh trưởng (hình 1).



Hình 1. Tái sinh cây sắn qua các giai đoạn khác nhau. A1 - Mô sẹo phát sinh từ đỉnh chồi; A2 - Mô sẹo phát sinh từ lá non; B, C - Mô sẹo đang phân hoá phôi; D, E, F - Phôi soma đang nảy mầm; G - Phôi soma tái sinh thành cây con; H - Cây trên môi trường ra rễ; I - Cây trồng trên bầu đất.

Kết quả tối ưu hóa quy trình chuyển gen vào cây sắn

Hình 2 mô tả quy trình chuyển gen vào cây sắn thông qua phôi soma và vi khuẩn *A. tumefaciens* mang gen đích.



Hình 2. Sơ đồ chuyển gen vào cây sắn thông qua *A. tumefaciens*.

Kết quả thiết kế vector AGPopt mang gen mã hóa AGPase

Tổng hợp gen AGPopt nhân tạo:

Dựa trên cấu trúc của protein glgC (mã số AKD93525.1) của vi khuẩn *E. coli* K12 đã được công bố trên GenBank, trình tự DNA suy diễn đã được tạo ra và đồng thời các bộ ba mã hoá acid amin đã được tối ưu phù hợp biểu hiện trong thực vật. Hơn nữa, trình tự này đã được đột biến để vị trí amino acid 336 glycine (G) được thay thế bởi aspartic acid (D) - hình 3. Trình tự nucleotide của gen đã tối ưu được đặt tên là AGPopt.

glgC	GGTAGCCACGGGATGACCTTAACTCACTGGTTCCGGG	GGTTCGTGATCCCGTTCC	1029
glgC	.G..H..H..G..M..T..L..N..H..L..V..H..G..C..V..I..H..G..H..	.G..C..V..I..H..G..H..	262
AGPopt	GGAGTCATGGCATGACATGAACTCCCTTGTCCAGCG	GGTTCGTGATCCCGATCA	1200
AGPopt	.G..H..H..G..M..T..L..N..H..L..V..H..G..C..V..I..H..G..H..	.G..C..V..I..H..G..H..	420

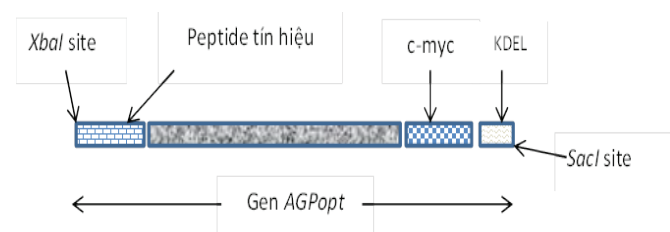
Hình 3. Vị trí đột biến 336 của gen AGPopt nhân tạo.

Khi so sánh trình tự nucleotide của 2 gen, chỉ có 63% đồng nhất giữa trình tự gen tổng hợp AGPase với gen glgC ở *E. coli*. Sự khác biệt với *E. coli* xuất phát từ sự không đồng nhất về bộ ba mã hóa giữa sinh vật nhân sơ và sinh vật nhân thực và tính thoái hoá của mã di truyền trong đó

một amino acid có thể được mã hóa bởi nhiều bộ ba mã hóa khác nhau.

Để phục vụ cho chuyển gen vào cây trồng, ngoài đột biến G336D gen AGPopt cần phải chứa thêm một số cấu trúc phù hợp cho biểu hiện và phân tích biểu hiện trong thực vật bao gồm: Peptide tín hiệu dẫn gồm 57 amino acid gắn vào đầu 5', trình tự nhận biết (c-myc) gồm 11 amino acid và peptide ở đầu 3' giúp cho protein vận chuyển trong quá trình tổng hợp (KDEL).

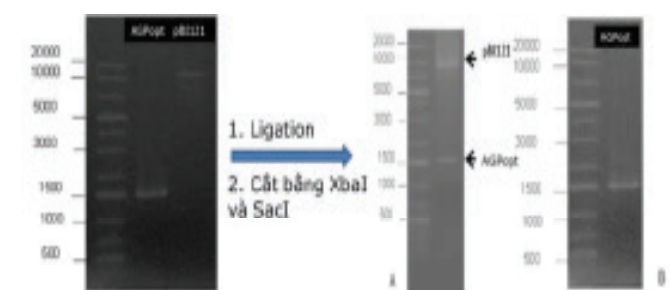
Gen AGPopt sau khi thiết kế có kích thước 1527 bp (hình 4) được tổng hợp nhân tạo, được nhân dòng trong vector pUCIDT-AMP tại hãng Integrated DNA Technologies (Mỹ).



Hình 4. Sơ đồ cấu trúc gen AGPopt tổng hợp nhân tạo.

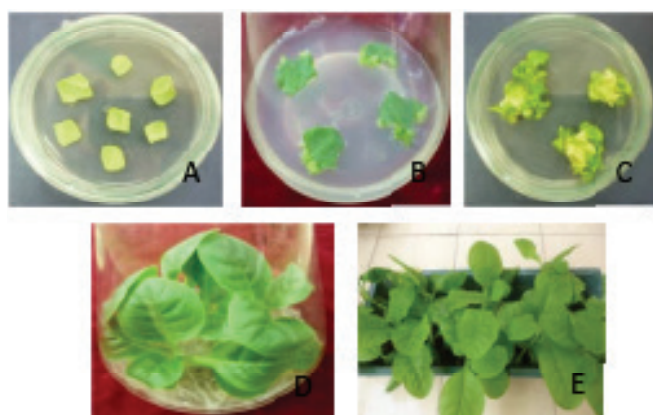
Thiết kế vector chuyển gen chứa AGPopt tổng hợp nhân tạo:

Dựa vào vector chuyển gen pBI121 để tạo ra vector chuyển gen pBI121/AGPopt bằng cách thay thế gen gus bởi gen AGPopt. Kết quả thực nghiệm trên hình 5 chứng minh vector chuyển gen chứa AGPopt đã được thiết kế thành công.



Bảng 1. Hiệu quả chuyển gen *AGPopt* vào cây thuốc lá K326.

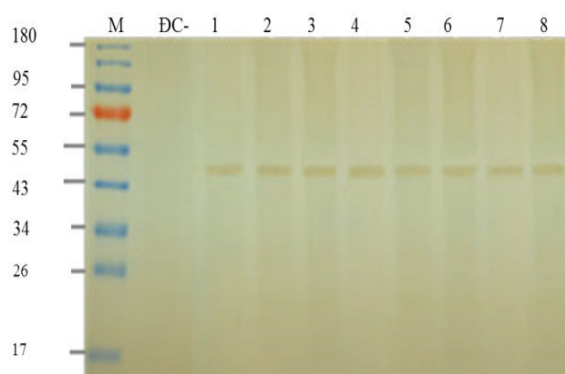
	Số mảnh lá lây nhiễm	Số mảnh lá tạo mô sẹo	Số chồi được tạo thành	Số chồi tạo thành rễ
Lần 1	100	82	17	10
Lần 2	100	87	18	13
Lần 3	100	79	23	16
Tổng	300	248	58	39



Hình 6. Chuyển vi khuẩn *A. tumefaciens* mang vector *pBI121/AGPopt* vào cây thuốc lá K326. A- Mảnh mô thuốc lá K326 được biến nạp với *A. tumefaciens/pBI121/AGPopt*; B, C - Tạo đa chồi trên môi trường chọn lọc; D - Tạo cây hoàn chỉnh; E - Ra cây.

Kết quả đánh giá khả năng biểu hiện của gen *AGPopt* trong cây thuốc lá:

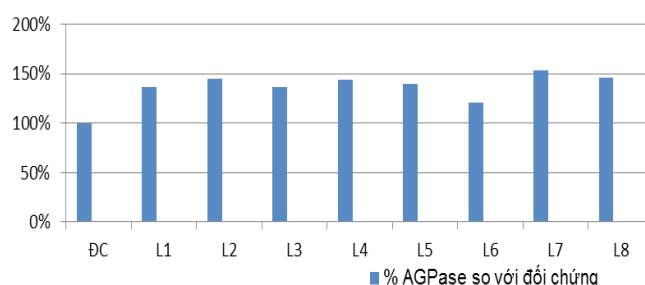
Kết quả lai Western cho phép khẳng định gen *AGPopt* đã hoạt động và protein tái tổ hợp AGPase đã được biểu hiện trong 8 dòng thuốc lá chuyển gen (hình 7).



Hình 7. Kết quả lai Western kiểm tra sự biểu hiện của gen *AGPopt* trong các dòng thuốc lá chuyển gen K326/*pBI121/AGPopt*. DC-: Đối chứng âm cây không chuyển gen; M: Marker protein (Thermo Scientific); 1-8: Các dòng thuốc lá K326 chuyển gen *AGPopt*.

Đánh giá sự biểu hiện của gen *AGPopt* qua hoạt tính của AGPase:

Kết quả (hình 8) cho thấy các dòng thuốc lá chuyển gen *AGPopt* phân tích đều có hoạt tính AGPase trong lá tăng so với đối chứng từ 121-153%. Trong 8 dòng thuốc lá chuyển gen phân tích (L1-L8), dòng L7 có hoạt tính AGPase cao nhất (153% so với đối chứng), L2, L3, L8 có độ tăng hoạt tính AGPase so với đối chứng tương đương nhau (144-145%), L1 và L3 đều tăng 137% so với đối chứng, L6 tăng ít nhất (121%).



Hình 8. Hoạt tính enzyme AGPase trong lá các dòng thuốc lá chuyển gen *AGPopt* so với dòng đối chứng không chuyển gen. DC: Cây thuốc lá K326 không chuyển gen; L1-L8: các dòng thuốc lá chuyển gen *AGPopt*. Đơn vị tính: % (so với đối chứng).

Hàm lượng tinh bột trong cây thuốc lá chuyển gen *AGPopt*:

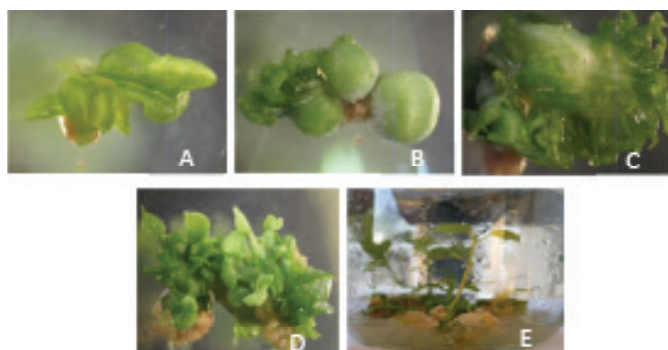
Cả 8 dòng K326/*AGPopt* có hàm lượng tinh bột cao hơn cây đối chứng (bảng 2), trong đó L4, L7 thuộc nhóm có hàm lượng cao nhất (223,94 mg/g và 228,34 mg/g), tăng 165,74-168,99% so với đối chứng, dòng L2 có hàm lượng 189,24 mg/g, tăng so với đối chứng thấp nhất (140,05%).

Bảng 2. Hàm lượng tinh bột trong lá của cây thuốc lá K326/*pBI121/AGPopt* (mg/g khối lượng tươi).

Các dòng thuốc lá	Hàm lượng tinh bột (mg/g)	% so với đối chứng
ĐC	135,12	100
L1	204,16	151,10
L2	189,24	140,05
L3	211,62	156,62
L4	223,94	165,74
L5	199,15	147,39
L6	200,45	148,35
L7	228,34	168,99
L8	210,23	155,59

Chuyển gen *AGPopt* tổng hợp nhân tạo vào cây sắn

Hình 9 minh họa kết quả chuyển gen *AGPopt* vào cây sắn KM94 theo quy trình chuyển gen mô tả ở phần trên.



Hình 9. Tái sinh cây từ phôi soma của giống sắn KM94 chuyển gen nhân tạo *AGPopt* mã hóa AGPase. A - Phôi soma sơ cấp; B - Phôi thứ cấp hình thành từ phôi chuyển gen sau 30 ngày nuôi cấy trong môi trường CIM; C - Phôi chuyển gen 60 ngày trong môi trường tái sinh; D - Chồi được tái sinh từ phôi thứ cấp; E - Rễ được tái sinh từ phôi thứ cấp.

Với 1018 mẫu qua 6 lô thí nghiệm, số mẫu tạo phôi thứ cấp là 69, chiếm tỷ lệ 6,78%; trong số đó chỉ có 4 mẫu tạo chồi với tổng số chồi thu được là 6; tất cả 6 chồi đều tạo rễ. Kết quả thu được 6 dòng cây hoàn chỉnh (bảng 3).

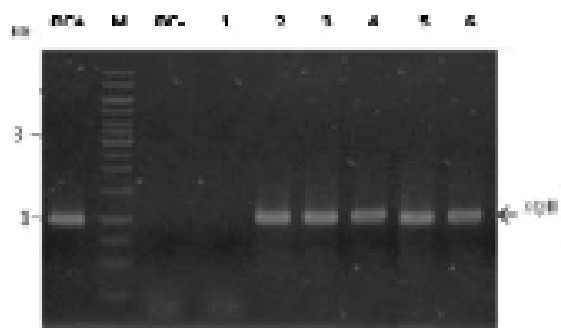
Bảng 3. Khả năng tạo chồi và ra rễ của các mẫu sắn KM94/*AGPopt*.

Lô thí nghiệm	Số lượng mảnh mô lấy nhiễm	Số mảnh mô tạo phôi thứ cấp	Số mảnh mô tạo chồi	Số chồi hình thành	Tỷ lệ số chồi ra rễ/tổng số chồi	Số cây hoàn chỉnh	Số cây dương tính PCR
1	180	14	1	2	100%	2	2
2	141	11	0	0	0	0	0
3	175	10	1	2	100%	2	1
4	163	10	0	0	0	0	0
5	155	13	1	1	100%	1	1
6	204	11	1	1	100%	1	1

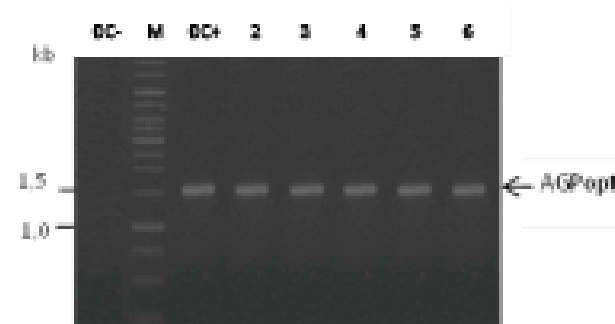
Kiểm tra các dòng sắn chuyển gen bằng PCR:

Để kiểm tra sự có mặt và hoạt động của cấu trúc gen chuyển, phản ứng PCR nhân gen kháng kanamycin sử dụng cặp mồi *nptII*_F/R được thực hiện. Kết quả, với các cây sắn kiểm tra, 5/6 cây sắn chuyển gen đã xuất hiện băng có kích thước gần 1 kb là kích thước của gen *nptII* (hình 10A). Dựa vào kết quả này, 5 cây dương tính với cặp mồi *nptII*_F/R (từ 2-6) được kiểm tra sự có mặt của

gen *AGPopt* bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu G336F/G336KDEL R (hình 10B).



Hình 10A. Kết quả điện di sản phẩm PCR nhân gen mã hóa *nptII* từ các cây sắn KM94 chuyển gen. M: Thang DNA chuẩn 1 kb; (ĐC+): Sản phẩm PCR nhân gen mã hóa *nptII* từ vector pBI121+AGPase; (ĐC-): Sản phẩm PCR nhân gen mã hóa *nptII* từ cây sắn KM94 không chuyển gen; 1-6: Sản phẩm PCR nhân gen mã hóa *nptII* từ các cây sắn KM94 chuyển gen (KM94/pBI121/AGPopt/1-6).



Hình 10B. Kết quả điện di sản phẩm PCR các cây sắn KM94 chuyển gen *AGPopt* với cặp mồi đặc hiệu G336F/G336KDEL R. M: Thang DNA chuẩn 1 kb; (ĐC+): vector pBI121/AGPopt; (ĐC-): DNA tổng số từ cây sắn KM94 không chuyển gen; 2-6: Các cây sắn KM94 chuyển gen *AGPopt* 2-6 (dương tính với *nptII*) dương tính với cặp mồi đặc hiệu.

Bàn luận

Đỉnh chồi và lá non là 2 loại vật liệu khởi đầu được tối ưu tách từ cây *in vitro* 10-14 ngày tuổi, đây là 2 loại mô có khả năng phân chia mạnh nhưng chưa phân hóa sâu sắc, vì vậy, khả năng phản phân hóa quay trở lại trạng thái ban đầu rất cao, dễ dàng chuyển hóa thành phôi soma khi gặp môi trường phù hợp [9-12]. Đôi khi phôi hữu tính cũng được sử dụng làm vật liệu tái sinh. Hiệu quả trong phát sinh phôi soma và tái sinh cây theo quy trình này tạo tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng trong nhân giống và chuyển gen vào cây sắn, phù hợp với các nghiên cứu trước

đây [9, 10] đã xác định rằng phôi soma có thể được cảm ứng và cây được tạo ra từ mẫu lá chưa hoàn chỉnh trên môi trường Murashige và Skoog [13] bổ sung auxin. Cây tái sinh theo cách này là dạng vô tính của vật liệu gốc trường thành, giữ nguyên tất cả các tính trạng của các tế bào mầm có được.

Các báo cáo ban đầu về cây biến đổi gen xác nhận rằng, cây chuyển gen có thể được tạo ra bởi gây nhiễm *A. tumefaciens* vào mảnh lá mầm [6] hoặc súng bắn gen vào các phôi soma đã hình thành lá mầm [14, 15]. Hiệu quả chuyển gen vào cây trồng nói chung và cây sắn nói riêng phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, như kiểu di truyền của cây, độ khỏe của mẫu, loại vector, chủng vi khuẩn *A. tumefaciens*, nồng độ vi khuẩn, thời gian cảm ứng, thời gian nhiễm khuẩn, thao tác xử lý mẫu trước khi chuyển gen. Hiệu quả chuyển gen trong nghiên cứu này đạt 0,90%, tương tự với kết quả của Schöpke [16]. Chúng tôi nhận thấy rằng, kết quả của việc đánh giá này cũng chỉ mang tính tương đối vì có nhiều công trình nghiên cứu cho thấy sau hơn một chu kỳ phát sinh phôi soma, mô dương tính với *gus* biến mất. Hầu hết kết quả này có thể được giải thích bởi sự thật là chỉ có tế bào biểu bì mới được chuyển gen và nó cũng chỉ ra rằng trong phát sinh phôi soma thứ cấp của sắn, phôi phát sinh từ lớp tế bào sâu hơn [9, 17]. Tuy nhiên, đây cũng là cơ sở để xác định quy trình chuyển gen đích AGPase vào cây sắn KM94.

Để tăng biểu hiện enzyme AGPase ở cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz), tổng hợp gen *AGPopt* mã hóa AGPase dựa trên trình tự gen suy đoán từ protein glgC ở *E. coli* chủng K12 đã được tiến hành. Ở vi khuẩn, gen này mã hóa cho một enzyme dài 431 amino acid. Dựa trên trình tự amino acid từ *E. coli*, chúng tôi gây đột biến G336D (kết quả thay glycine (G) bởi aspartic acid (D)) và trình tự DNA được tổng hợp theo bộ ba codon tương ứng ở thực vật. Theo công bố của Ihemere [5], 2 đột biến ở vị trí 296 và 336 trên gen glgC của vi khuẩn *E. coli* để thay thế Gly336 bởi Asp và Lys296 bởi Glu. Vị trí đột biến đặc hiệu Gly336 thành Asp loại bỏ điều hòa ngược bởi FBP, làm giảm hoạt tính AGPase so với không đột biến [18]. Vị trí đột biến đặc hiệu thứ 2 Lys296 thành Glu cần thiết để tăng cường hoạt tính của AGPase. Đột biến kép K296E/G336D (Lys296Glu/Gly336Asp) của AGPase vi khuẩn làm giảm điều hòa allosteric khi có mặt trong cây và có hoạt tính tương tự enzyme vi khuẩn ban đầu [18].

Ngoài ra, bổ sung một đoạn nucleotide mã hóa cho chuỗi peptide tín hiệu dẫn protein vào lục lạp có nguồn gốc từ gen *rbcS* mã hóa tiểu phần nhỏ của enzyme ribulose

1,5-bisphosphate carboxylase ở *Arabidopsis* ở đầu 5', đồng thời bộ ba kết thúc (stop codon) để gắn thêm một đoạn DNA mã hóa cho đuôi c-myc và KDEL. Hai vị trí nhận biết của enzyme giới hạn *XbaI* và *SacI* được thêm vào đầu 5' và 3' của gen, theo thứ tự tương ứng. Một trình tự mã hóa cho đuôi c-myc/KDEL cùng khung đọc (frame) tiếp nối sau codon mã hóa cuối cùng của gen. Tóm lại, gen *AGPopt* đã được tổng hợp cho bước tiếp theo tạo dòng vào vector biểu hiện.

Sau các phản ứng cắt vector chuyển gen pBI121, vector tách dòng *pUCIDT-AMP:AGPopt* bởi các enzyme cắt *XbaI* và *SacI* và ghép nối bởi T4 ligase, vector chuyển gen *pBI121/AGPopt* đã được tạo thành, sẵn sàng cho biến nạp vào cây đích. Trong nghiên cứu của Ihemere [5], pBI121 cũng được sử dụng làm vector chuyển gen, tuy nhiên promoter được sử dụng thay thế cho CaMV 35S là 1 đoạn gen chứa promoter patatin Class I 1,0 kb [19], theo sau là một peptide chuyển (400 bp) (TP) vào lục lạp (của cây đậu) [20] gắn với đầu 5' của gen *glgC* của *E. coli* 900 bp chứa đột biến G336D [21].

Để kiểm tra khả năng xâm nhập của gen *AGPopt* và sự hoạt động trong cây đích, vector mang gen *AGPopt* được chuyển vào cây mô hình (cây thuốc lá K326) thông qua vi khuẩn *A. tumefaciens*. Lựa chọn ngẫu nhiên 8/32 dòng thuốc lá dương tính với cặp mồi đặc hiệu để kiểm tra bằng western blot cho thấy 8/8 cây đều có mặt của protein tái tổ hợp, chứng tỏ sự có mặt và hoạt động của gen *AGPopt*. 8 dòng này tiếp tục được kiểm tra hoạt tính của enzyme AGPase, kết quả cho thấy hoạt tính enzyme của cả 8 dòng đều tăng so với đối chứng từ 121-153%, trong đó L7 có hoạt tính tăng mạnh nhất. Đồng thời với kiểm tra hoạt tính enzyme AGPase, 8 dòng này được kiểm tra hàm lượng tinh bột, kết quả cho thấy hàm lượng tinh bột của 8/8 dòng đều tăng so với đối chứng, trong đó dòng có hoạt tính enzyme tăng mạnh nhất cũng là dòng có hàm lượng tinh bột tăng cao nhất (168,99%). Tuy nhiên, hoạt tính enzyme AGPase và hàm lượng tinh bột không phải tỷ lệ thuận với nhau, điều này thể hiện trên kết quả kiểm tra, cụ thể dòng L6 có hoạt tính enzyme tăng thấp nhất (121%) nhưng dòng L2 lại có hàm lượng tinh bột tăng thấp nhất (140,05%) so với đối chứng.

Quy trình chuyển gen *gus* vào cây sắn là cơ sở để chuyển gen đích *AGPopt* vào cây sắn. Chủng *A. tumefaciens* CV58/pGV2260 chứa vector *pBI121/AGPopt* mã hóa AGPase được điều khiển bởi promoter 35S theo sau là một đoạn peptid tín hiệu được chuyển vào giống sắn KM94. Nghiên cứu gần đây của Ihemere [5] cũng sử dụng vector

pBI121 nhưng được điều khiển bởi promoter patatin Class I vào giống sắn TMS 71173. Trong nghiên cứu này, với số lượng mẫu chuyển gen là 1018 cho 6 lô thí nghiệm, các phôi soma trưởng thành khỏe mạnh với lá mầm đã phát triển được lựa chọn. Các mảnh lá mầm sau khi lây nhiễm với huyền phù khuẩn trong 15 phút được đồng nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 12 mg/l picloram chứa chất dẫn dụ acetosyringone (AS) với nồng độ 100 mM. Sau 2 ngày đồng nuôi cấy, các mảnh mô được chuyển sang môi trường CIM mới chứa 500 mg/l cefotaxim và kanamycin 50 mg/l (chọn lọc *nptII*). Sau 1-2 tuần, mảnh mô bắt đầu xuất hiện các phôi soma tại các mép của mảnh mô, được cấy duy trì trên môi trường CIM chọn lọc. Kết quả cho thấy số mẫu tạo phôi thứ cấp là 69, chiếm tỷ lệ 6,78%. Trong khi đó, Ithemere phát hiện trong 26 phôi kháng kháng sinh paromomycin trên tổng số 872 phôi soma nghiên cứu (chiếm tỷ lệ 2,98%) [8]. Sau khi lây nhiễm từ 3 đến 4 tuần, các cụm phôi (mảnh mầm) được chuyển lên môi trường MS bổ sung BAP 0,3 mg/l, chọn lọc bằng kanamycin 50 mg/l để tái sinh cây (tạo chồi). Ithemere [5] đã sử dụng paromomycin làm kháng sinh chọn lọc. Sau 3-4 tuần, chồi xuất hiện từ các cụm phôi. Số chồi xuất hiện dao động 1-2 chồi trên một cụm (mảnh mầm). Trong 69 mẫu tạo phôi thứ cấp, có 4 mẫu tạo thành tổng số 6 chồi. 100% số chồi đều tạo rễ khi chuyển sang môi trường cảm ứng ra rễ, vì vậy có 6 cây hoàn chỉnh được tạo thành. Sau khi đánh giá sơ bộ bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu *nptII* và *G336F/G336KDEL R* kết quả cho thấy 5/6 cây tạo thành mang gen *AGPopt*. Trong 26 phôi tạo thành sau chọn lọc, Ithemere (2006) xác định có 5 dòng mang gen chuyển nhờ kỹ thuật PCR. Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu sử dụng *A. tumefaciens* để đưa trực tiếp gen vào cấu trúc của phôi được tạo ra bởi các thùy lá. Điều này có thể xảy ra bằng cách chuyển trực tiếp vào mẫu thùy lá để tạo ra phôi chuyển gen sơ cấp, hoặc bằng cách đồng nuôi cấy với phôi thứ cấp vốn được nhân lên nhanh chóng từ tái sinh phôi đầu tiên. Nuôi cấy tiếp theo trên môi trường chọn lọc đảm bảo chỉ tăng sinh mô chuyển gen, sau đó phục hồi phôi trưởng thành và nảy mầm để tạo cây hoàn chỉnh [22, 23].

Như vậy, nghiên cứu đã thực hiện và hoàn thiện quy trình tái sinh *in vitro* các dòng sắn thương mại tại Việt Nam; tổng hợp được gen nhân tạo *AGPopt* mã hóa AGPase; thiết kế được vector biểu hiện thực vật mang gen mã hóa AGPase và kiểm tra hoạt động của gen trên cây thuốc lá; xây dựng được quy trình chuyển gen chỉ thị chọn lọc *gus* vào cây sắn KM94, dựa vào đó chuyển gen *AGPopt* tổng hợp nhân tạo vào cây sắn KM94, bước đầu xác định được

sự có mặt của gen *AGPopt* trong cây sắn KM94.

Nghiên cứu là công trình đầu tiên ở Việt Nam công bố về các nghiên cứu tái sinh và chuyển gen qua phôi soma trên đối tượng cây sắn đang được canh tác ở Việt Nam. Kết quả này là cơ sở khoa học và thực tiễn cho các nghiên cứu nhân nhanh và chọn tạo dòng sắn có sản lượng tinh bột được cải thiện.

Kết luận

1. Quy trình tái sinh cây sắn thông qua phôi soma từ đỉnh chồi và thùy lá non của 2 giống sắn KM140 và KM94 ở Việt Nam đã được tối ưu trên môi trường MS bổ sung picloram 12 mg/l và tái sinh trên môi trường BAP 0,3 mg/l. Từ đó quy trình chuyển gen thông qua *A. tumefaciens* vào cây sắn được xây dựng với phôi soma đạt hiệu quả chuyển gen 0,90%.

2. Thông qua tối ưu hoá mã di truyền, bổ sung đột biến thay thế G336D, gắn với trình tự đoạn mã hóa peptide tín hiệu và bổ sung đuôi c-myc, KDEL, trình tự nhận biết enzyme *XbaI* và *SacI* trên cơ sở gen *glgC* của *E. coli* K12, gen *AGPopt* được tổng hợp nhân tạo gồm 1527 bp và thiết kế với vector pBI121 thành vector chuyển gen.

3. Gen *AGPopt* được chứng minh có khả năng làm tăng hoạt tính của enzyme AGPase và hàm lượng tinh bột ở lá của cây thuốc lá mô hình.

4. Cấu trúc gen *AGPopt* đã được sử dụng chuyển vào cây sắn KM94 thông qua phôi soma nhờ *A. tumefaciens*, tạo 6 cây hoàn chỉnh. Bước đầu kiểm tra được sự có mặt của gen *AGPopt* trong cây sắn chuyển gen: 5/6 cây có mặt gen *nptII* và *AGPopt*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.E. Abraham (1996), "Dry extraction of starch from cassava tubers. In: G.T. Kurup, M.S. Palaniswami, V.P. Pottty, G. Padmaja, S. Kabeerathumma, S.V. Pillai (eds) *Tropical Tuber Crops: problems, prospects and future strategies*", Science Publisher INC., Lebanon, New Hampshire.
- [2] Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2016), *Diện tích, năng suất, sản lượng sắn của Việt Nam năm 2016*, Báo cáo thường niên.
- [3] B.B. Buchanan, W. Gruissem, L.J. Russell (2002), "Biochemistry and Molecular Biology of Plant", *Printed United State of America*, pp.637-643.
- [4] A.A. Iglesias, G.F. Barry, C. Meyer, L. Bloksberg, P.A. Nakata, T. Greene, M.J. Laughlin, T.W. Okita, G.M. Kishore, J. Preiss (1993), "Expression of the potato tuber ADP-glucose pyrophosphorylase in *Escherichia coli*", *Biology Chemistry*, **268**, pp.1081-1086.
- [5] U. Ithemere, A. Diana, L. Susan, S. Richard (2006), "Genetic modification of cassava for enhanced starch production", *Plant Biotechnology Journal*, **4(4)**, pp.453-465.
- [6] H.Q. Li, C. Sautter, I. Potrykus, J. Puonti-Kaerlas (1996), "Genetic transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz)", *Nature Biotechnology*, **14**, pp.736-740.

- [7] P. Zhang, S. Phansiri, J. Puonti-Kaerlas (2001), "Improvement of cassava shoot organogenesis by the use of silver nitrate *in vitro*", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **67**, pp.47-54.
- [8] K. Konstantin, M. Shalini, T.A. Belay (2016), "Extraction and Assays of ADP-glucose Pyrophosphorylase, Soluble Starch Synthase and Granule Bound Starch Synthase from Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grains", *Bio-protocol*, **6(18)**, p.e1920.
- [9] J.A. Stamp, G.G. Henshaw (1987), "Secondary somatic embryogenesis and plant regeneration in cassava", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **10**, pp.227-233.
- [10] L. Szabados, R. Hoyos, W. Roca (1987), "In vitro somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava", *Plant Cell Reports*, **6**, pp.248-251.
- [11] C.J.J.M. Raemakers, C.M. Schavemaker, E. Jacobsen, R.G.F. Visser (1993), "Improvements of cyclic somatic embryogenesis of cassava", *Plant Cell Reports*, **12**, pp.226-229.
- [12] T.C. Narayanaswamy, N.M. Ramaswamy, R. Sree (1995), "Somatic embryogenesis and plant regeneration in cassava. In: The Cassava Biotechnology Network", *Proceeding of the Second International Scientific Meeting*, Bogor, Indonesia, pp.24-329.
- [13] T. Murashige, F. Skoog (1962), "A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco cultures", *Physiologia Plantarum*, **15**, pp.473-497.
- [14] P. Zhang, I. Potrykus, J. Puonti-Kaerlas (2000), "Efficient production of transgenic cassava using negative and positive selection", *Transgenic Research*, **9**, pp.405-415.
- [15] N.J. Taylor, P. Chavarriaga, K. Raemakers, D. Siritunga, P. Zhang (2004), "Development and application of transgenic technologies in cassava", *Plant Molecular Biology*, **56**, pp.671-688.
- [16] C. Schöpke, N. Taylor, R. Carcamo, D.K. Konan, P. Marmey, G.G. Henshaw, R.N. Beachy, C.M. Fauquet (1996), "Regeneration of transgenic cassava plants (*Manihot esculenta* Crantz) from micro-bombarded embryogenic suspension cultures", *Nature Biotechnology*, **14(6)**, pp.731-735.
- [17] C.J.J.M. Raemakes, E. Sofiari, E. Kanju, E. Jacobsen, R.G.F. Visser (1995), "NAA-induced somatic embryogenesis in casava. In: Cassava Biotechnology Network (ed.)", *Proceedings Second International Scientific Meeting*, Bogor, Indonesia, pp.355-363.
- [18] A. Kumar, P. Ghosh, Y.M. Lee, M.A. Hill, J. Preiss (1989), "Biosynthesis of bacterial glycogen: determination of the amino acid changes that alter the regulatory properties of a mutant *E. coli* ADP-glucose synthase", *Journal of Biology Chemistry*, **264**, pp.10464-10471.
- [19] S.Y. Kim, G.D. May, W.D. Park (1994), "Nuclear protein factors binding to a class I patatin promoter region are tuber-specific and sucrose-inducible", *Plant Molecular Biology*, **26**, pp.603-615.
- [20] S. Anderson, S.M. Smith (1986), "Synthesis of the small subunit of ribulose-bisphosphate carboxylase from genes cloned into plasmids containing the SP6 promoter", *Biochem Journal*, **240**, pp.709-715.
- [21] P.A. Baecker, C.E. Furlong, J. Preiss (1983), "Biosynthesis of bacterial glycogen: primary structure of *Escherichia coli* ADP-glucose synthetase as deduced from the nucleotide sequence of the *glgC* gene", *Journal of Biological Chemistry*, **258**, pp.5084-5088.
- [22] R. Sarria, E. Torres, F. Angel, P. Chavarriaga, W.M. Roca (2000), "Transgenic plants of cassava (*Manihot esculenta*) with resistance to Basta obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation", *Plant Cell Reports*, **19**, pp.339-344.
- [23] D. Siritunga, R.T. Sayre (2003), "Generation of cyanogen-free transgenic cassava", *Planta*, **217**, pp.367-373.

HealthDL - Một hệ thống thu thập, lưu trữ dữ liệu y tế lớn

Phan Tân^{1*}, Trần Việt Trung¹, Nguyễn Hữu Đức¹, Nguyễn Thanh Tùng^{2,3}

¹*Viện Công nghệ thông tin và Truyền thông, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội*

²*Khoa Quốc tế, Đại học Quốc gia Hà Nội*

³*Trường Đại học Nguyễn Tất Thành*

Ngày nhận bài 29/5/2017; ngày chuyển phản biện 1/6/2017; ngày nhận phản biện 26/6/2017; ngày chấp nhận đăng 30/6/2017

Tóm tắt:

Hiện nay, ứng dụng công nghệ lưu trữ lớn, khai phá dữ liệu trong lĩnh vực y tế để chẩn đoán, phòng ngừa và điều trị bệnh nhằm can thiệp nâng cao tình trạng sức khỏe con người là hướng nghiên cứu có nhu cầu thực tiễn. Trong nghiên cứu này, các tác giả giới thiệu HealthDL - Một hệ thống thu thập và lưu trữ dữ liệu y tế. HealthDL có kiến trúc phân tán, xây dựng từ các thành phần khả mở cho dữ liệu lớn, gia tăng liên tục theo thời gian thực. Hệ thống tối ưu cho dữ liệu nhận về từ các thiết bị y sinh và dữ liệu thông tin lịch sử bệnh án đến từ hàng triệu thiết bị phân tán về mặt địa lý. Các thử nghiệm, đánh giá trên hệ thống thực bằng các công cụ đánh giá tiêu chuẩn với dữ liệu mô phỏng cho kết quả tốt.

Từ khóa: Cơ sở dữ liệu phân tán, dịch tễ học, dữ liệu lớn, thời gian thực.

Chỉ số phân loại: 2.2

HealthDL - A system for collecting and storing big data in the medical field

Tan Phan^{1*}, Viet Trung Tran¹, Huu Duc Nguyen¹, Thanh Tung Nguyen^{2,3}

¹*School of Information and Communication Technology, HUST*

²*VNU - International School (VNU-IS)*

³*Nguyen Tat Thanh University*

Received 29 May 2017; accepted 30 June 2017

Abstract:

At present, applications of large storage technology and data mining in the medical field to diagnose, prevent, and treat diseases with the purpose of improving human health are preferred the practical researches. In this study, we would like to introduce HealthDL: A system for collecting and storing medical data. HealthDL has a dispersal architecture, is built from open components for large data, and continuously increases in real time. An optimal system retrieves database from biomedical devices and medical record database coming from millions of geographically dispersed devices. Tests and evaluations on the real system using standard assessment tools with simulated database show good results.

Keywords: Big data, dispersed database, epidemiology, real time.

Classification number: 2.2

Mở đầu

Hiện nay, ứng dụng công nghệ lưu trữ lớn, khai phá dữ liệu trong lĩnh vực y tế để chẩn đoán, phòng ngừa và điều trị bệnh nhằm can thiệp nâng cao sức khỏe con người là hướng nghiên cứu có nhu cầu thực tiễn, được quan tâm tích cực bởi cộng đồng các nhà nghiên cứu. Tại Việt Nam, các thiết bị y sinh (thiết bị đo thông số tim mạch, huyết áp...) được sử dụng rộng rãi để giám sát người bệnh theo thời gian thực. Các thiết bị này đưa ra các thông số đo có tính liên tục, cập nhật theo chu kỳ 1 lần/s. Hiện nay, nguồn dữ liệu này chưa được lưu trữ tập trung vì những thách thức liên quan đến độ lớn của dữ liệu đến từ hàng triệu thiết bị đo, liên tục và phân tán rộng về mặt địa lý.

Bên cạnh nguồn dữ liệu từ các thiết bị y sinh, hiện trạng các hồ sơ bệnh án cũng đang được lưu trữ một cách rải rác, không có sự chia sẻ. Do đó, các bác sỹ, trung tâm y tế khác nhau gặp nhiều khó khăn để tìm kiếm thông tin lịch sử bệnh tật của bệnh nhân để đưa ra phác đồ điều trị hợp lý. Vì vậy, việc lưu trữ các bệnh án tập trung cũng là một nhu cầu cấp thiết để phục vụ công tác phân tích, chẩn đoán.

Theo Ercan và Lane (2014) [1], trong những hệ thống bệnh án điện tử (Electronic Health Record - EHR) truyền

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

thông, data được lưu trữ dưới dạng bản ghi trong bảng cơ sở dữ liệu quan hệ. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, sự mở rộng ngày càng tăng của lượng thông tin trong các dịch vụ chăm sóc sức khỏe đã dẫn đến một nút thắt nghẽn cổ chai trong việc lưu trữ, truy xuất và đặt ra những thách thức về tính sẵn sàng cao đối với việc sử dụng mô hình cơ sở dữ liệu truyền thống. Hơn nữa trong nghiên cứu của Andreu-Perez và cs (2015) [2], các tác giả đã chỉ ra rằng sự đa dạng của dữ liệu y tế ngày càng tăng với sự phát triển của công nghệ, dữ liệu từ sensor, mobile, các dữ liệu ảnh... đòi hỏi phải nghiên cứu tìm kiếm một cách thức tổ chức lưu trữ dữ liệu y tế phù hợp. Nghiên cứu của Ercan và Lane (2014), Dobre và Xhafa (2015) [1, 3] đã chỉ ra những yêu cầu thiết yếu của EHR và đề xuất sử dụng mô hình dữ liệu phi quan hệ (NoSQL [4]) cho bài toán lưu trữ và xử lý dữ liệu lớn về y tế. Tuy nhiên những nghiên cứu này chỉ đưa ra gợi ý hướng tiếp cận chung, không đưa ra thiết kế tổng thể về thu thập, lưu trữ EHR, không thử nghiệm, cài đặt và đánh giá hiệu năng của hệ thống. Nghiên cứu cũng thống nhất rằng cơ sở dữ liệu khoá - giá trị (một dạng của NoSQL) có thể là một giải pháp tốt cho dữ liệu đơn giản, truy xuất thông qua khoá, các giá trị là đồng nhất về cấu trúc, không có cập nhật hay truy xuất dựa trên cấu trúc của giá trị dữ liệu. Ví dụ như thông số an sinh xã hội của khách hàng, thông tin số bảo hiểm y tế. Cơ sở dữ liệu hướng văn bản (một dạng của NoSQL) là một giải pháp cho việc lưu trữ hồ sơ bệnh án y tế, bao gồm hồ sơ bệnh nhân, báo cáo nghiên cứu, báo cáo phòng thí nghiệm, hồ sơ bệnh viện, các báo cáo bản chụp X quang, bản chụp cắt lớp... Các tác giả Ercan và Lane (2014) [1] đề xuất sử dụng Dynamo Amazon [5], một dịch vụ lưu trữ dữ liệu điện toán đám mây của Amazon để lưu trữ luồng dữ liệu liên tục từ các thiết bị y sinh. Kiến trúc Dynamo Amazon dựa trên hàm băm nhất quán cho cơ chế mở rộng, sử dụng nút ảo để phân tán dữ liệu đồng đều trên các nút máy chủ vật lý, sử dụng vector clock [6] để giải quyết xung đột giữa các phiên bản dữ liệu sau quá trình ghi tương tranh đồng thời.

HealthDL là một hệ thống tổng thể, ngoài thành phần lưu trữ dữ liệu theo mô hình NoSQL như các nghiên cứu liên quan, HealthDL tích hợp hệ thống hàng chờ thông điệp phân tán để thu thập luồng dữ liệu đến từ các thiết bị

y sinh phân tán về mặt địa lý. HealthDL được xây dựng và triển khai thực nghiệm, đánh giá hiệu năng lưu trữ trên môi trường phân tán.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi giới thiệu HealthDL - Một hệ thống phân tán, thu thập và lưu trữ dữ liệu y tế tối ưu cho dữ liệu nhận về từ các thiết bị y sinh và dữ liệu thông tin lịch sử bệnh án. Xây dựng HealthDL là một bài toán nghiên cứu về dữ liệu lớn, gia tăng liên tục theo thời gian thực và đến từ hàng triệu thiết bị phân tán về mặt địa lý. HealthDL cho phép thống kê, tìm kiếm và phân tích dữ liệu. HealthDL hỗ trợ công việc của một chuyên viên dịch tễ học trong công tác thu thập, phân tích dữ liệu và phòng đoán bệnh.

Đặc trưng dữ liệu y tế

Dữ liệu y tế trong nghiên cứu này được phân thành 2 nhóm: Dữ liệu thu thập từ các thiết bị y sinh và dữ liệu thông tin bệnh án. Phần dưới đây mô tả đặc trưng nguồn dữ liệu đầu vào cho hệ thống HealthDL.

Dữ liệu y sinh

Các thiết bị y sinh như máy đo nhịp tim, huyết áp gửi thông số đo khoảng 540 bytes/s. Trung bình mỗi bệnh nhân đo 2 tiếng/ngày, như vậy số lượng gói dữ liệu sinh ra trong 1 tháng ứng với 1.000 bệnh nhân là 216.000.000 gói dữ liệu. Mỗi gói trung bình 540 bytes, xét trên 1.000 bệnh nhân với các máy đo độc lập, lượng dữ liệu thu thập được tương ứng là 116 Gigabytes về thông số bệnh nhân trong một tháng.

Dữ liệu bệnh án

Xét dữ liệu bệnh án tìm hiểu trên 4 nhóm bệnh, gồm: Bệnh tăng huyết áp (kích thước bản ghi 800-1.000 bytes); bệnh lao phổi (kích thước bản ghi 400-600 bytes); bệnh hen phế quản (kích thước bản ghi 500-700 bytes); bệnh đái tháo đường (kích thước bản ghi 800-1.000 bytes). Đặc điểm của dữ liệu bệnh án là cấu trúc dữ liệu rất linh hoạt. Đối với bệnh nhân đái tháo đường, một văn bản bệnh án sẽ có khoảng 150 trường dữ liệu riêng biệt với cấu trúc chia nhỏ từ 4 đến 5 tầng (bảng 1). Đối với bệnh nhân tăng huyết áp, một văn bản bệnh án sẽ có khoảng 75 trường dữ liệu riêng biệt với cấu trúc chia nhỏ đến 4-5 tầng.

Bảng 1. Một phần bệnh án đái tháo đường (ĐTĐ).

II. HỎI BỆNH

A. Bệnh sử: Lưu ý: Tuổi xuất hiện < 30 tuổi → ĐTĐ typ 2; Nếu là nữ có thai hay không?

B. Tiền sử:

❖ Tiền sử bản thân

- Bản thân có mắc bệnh ĐTĐ, hoặc tăng huyết áp (THA), huyết áp $\geq 140/90$ mmHg hoặc đang điều trị THA?
Không ☐ **Có** ☐ Bệnh gì:.....
- Có thừa cân béo phì (chiều cao, cân nặng, BMI) kèm theo lối sống ít vận động
Không ☐ **Có** ☐
- Bố hoặc mẹ có mắc ĐTĐ?
Không ☐ **Có** ☐
- Phụ nữ có hội chứng buồng trứng đa nang
Không ☐ **Có** ☐
- Phụ nữ đã sinh con ≥ 4 kg hoặc được chẩn đoán ĐTĐ thai kỳ?
Không ☐ **Có** ☐
- Có rối loạn Lipid HDL-C < 0,9 mmol/lit hoặc Triglycerid $\geq 2,82$ mmol/lit
Không ☐ **Có** ☐
- Người có rối loạn đường máu lúc đói hoặc rối loạn dung nạp glucose hoặc HBA_{1c} $\geq 5,7\%$
Không ☐ **Có** ☐
- Có gai đen ở nếp cổ (gợi ý tình trạng kháng insulin)
Không ☐ **Có** ☐
- Người trên 45 tuổi nên sàng lọc ĐTĐ (nên xét nghiệm 3 năm 1 lần)
 ≥ 45 tuổi ☐ **< 45 tuổi** ☐
- Có mắc bệnh tuyến tụy: Viêm tụy, sỏi tụy, ung thư tụy, bệnh cushing?
Không ☐ **Có** ☐
- Có dùng thuốc hoặc hóa chất gì không? Corticoid, lợi tiểu, chen beta giao cảm
Không ☐ **Có** ☐

Như vậy có thể thấy, nguồn dữ liệu y tế trong hệ thống HealthDL mang đặc trưng của dữ liệu lớn. Cụ thể:

Kích thước lớn: Xét trên 1.000 bệnh nhân với các máy đo độc lập, lượng dữ liệu thu thập được tương ứng là 116 Gigabytes về thông số bệnh nhân trong một tháng. Như vậy, khi số bệnh nhân tăng lên và thời gian đo kéo dài, lượng dữ liệu cần thu thập là vô cùng lớn.

Tốc độ lớn: Các thiết bị y sinh tạo ra dữ liệu liên tục với tốc độ cao (tần suất 1 bản ghi dữ liệu/s) đòi hỏi hệ thống lưu trữ cần đảm bảo tính sẵn sàng cao, đáp ứng tương tranh đồng thời giữa các tiến trình ghi dữ liệu và các tiến trình đọc, xử lý dữ liệu theo thời gian thực.

Tính đa dạng: Các bệnh án là dữ liệu bán cấu trúc có lược đồ không đồng nhất. Việc lưu trữ dữ liệu này đòi hỏi hệ quản trị cơ sở dữ liệu phải có lược đồ dữ liệu linh hoạt, điều mà các hệ quản trị cơ sở dữ liệu quan hệ truyền thống không đáp ứng được.

Mang lại giá trị lớn: Dữ liệu y tế được lưu trữ và khai thác mang lại hiệu quả cao trong việc chẩn đoán, điều trị bệnh, góp phần cải thiện chất lượng khám chữa bệnh và giảm chi phí xét nghiệm.

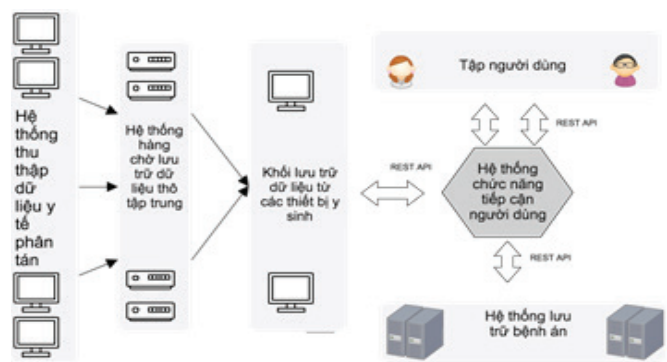
Mô hình hệ thống

Chúng tôi xây dựng HealthDL là hệ thống có kiến trúc tổng thể chia làm 4 phần chính, gồm: 1) Khối các thiết bị y sinh đo các thông số cần thiết từ người bệnh; 2) Khối tiếp nhận và chuyển tiếp dữ liệu; 3) Khối lưu trữ dữ liệu

từ các thiết bị y sinh; 4) Khối lưu trữ bệnh án. So với các mô hình truyền thống, HealthDL xây dựng trên các thành phần phân tán, có tính khả mở, tối ưu hoá cho luồng dữ liệu lớn.

Đầu vào của hệ thống có 2 luồng chính: Dữ liệu đầu vào từ các thiết bị y sinh (dữ liệu này sẽ được đưa qua một hàng chờ rồi lưu trữ vào cơ sở dữ liệu); dữ liệu đầu vào bệnh án, lưu trữ vào cơ sở dữ liệu chuyên biệt tối ưu hoá cho dữ liệu bệnh án có cấu trúc linh hoạt.

Mô hình tổng thể của hệ thống được mô tả như hình 1. Trong bài báo này, chúng tôi không trình bày về các thiết bị y sinh mà chỉ đi vào các thành phần chính của 3 khối còn lại với nhiệm vụ thu thập và tổ chức lưu trữ dữ liệu phân tán. Mục tiêu của hệ thống là đảm bảo hiệu năng, khả năng mở rộng cao với dữ liệu vào theo luồng và dữ liệu có cấu trúc linh hoạt, nguồn dữ liệu phân tán rộng về mặt địa lý.



Hình 1. Thiết kế tổng quan HealthDL.

Công nghệ đề xuất

Apache Kafka cho hàng chờ thông điệp

Apache Kafka [7] là hệ thống truyền thông điệp phân tán, độ tin cậy cao, dễ dàng mở rộng và có thông lượng cao. Apache Kafka cung cấp cơ chế offset (có thể hiểu tương tự như chỉ số của một mảng) để lấy thông điệp một cách linh hoạt, cho phép các ứng dụng xử lý có thể xử lý lại dữ liệu nếu việc xử lý trước đó bị lỗi. Ngoài ra, cơ chế “đăng ký” theo dõi cho phép việc lấy thông điệp ra gần như tức thời ngay khi dữ liệu đi vào hàng chờ. Apache Kafka được thiết kế hỗ trợ tốt cho việc thu thập dữ liệu theo thời gian thực. Với các tính chất này, Apache Kafka là lựa chọn phù hợp cho khối thu thập dữ liệu trong HealthDL.

Apache Kafka là hệ thống lưu trữ thông điệp được phát triển tại LinkedIn với những đặc điểm chính sau:

Tốc độ nhanh: Với một máy đơn cài đặt Apache Kafka có thể xử lý số lượng dữ liệu từ việc đọc và ghi lên tới

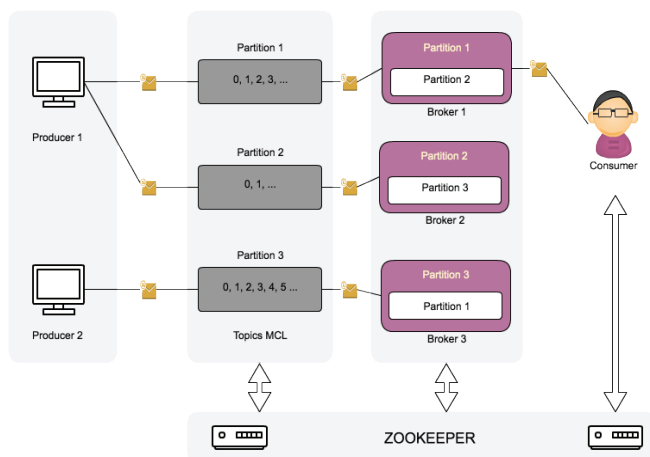
hàng trăm megabytes/s từ hàng ngàn máy khách.

Khả năng mở rộng: Apache Kafka được thiết kế cho phép dễ dàng được mở rộng và trong suốt với người dùng (nghĩa là không có thời gian chết - ngừng hoạt động trong khi thêm một nút mới vào cụm). Khi Apache Kafka chạy trên một cụm, luồng dữ liệu sẽ được phân chia và được vận chuyển tới các nút trong cụm, do đó cho phép trung chuyển các dữ liệu có khối lượng lớn hơn nhiều so với sức chứa của một máy đơn.

Độ tin cậy: Dữ liệu vào hàng chờ sẽ được lưu trữ trên ổ đĩa và được sao chép tới các nút khác trong cụm để ngăn ngừa việc mất dữ liệu, như vậy Apache Kafka đảm bảo tính chịu lỗi cao.

Khi so sánh với các hệ thống truyền thông điệp truyền thống lâu đời như RabbitMQ [8] cho thấy Apache Kafka có lượng dữ liệu đọc và ghi cao hơn nhiều so với RabbitMQ. Ngược lại, lượng tài nguyên mà Apache Kafka chiếm dụng lại ít hơn nhiều. Do đó, Apache Kafka thích hợp hơn cho các ứng dụng xử lý theo thời gian thực với lượng dữ liệu lớn.

Một số khái niệm cần nắm rõ khi vận hành Apache Kafka: 1) Topic: Là “chủ đề”, thông thường các dữ liệu liên quan hoặc tương tự được nhóm trong các chủ đề. Mỗi chủ đề có thể được coi là một nguồn dữ liệu riêng biệt; 2) Broker: Apache Kafka chạy trên một cụm bao gồm một hoặc nhiều máy (nút), mỗi nút được gọi là một broker; 3) Partition: Mỗi topic sẽ được phân chia thành nhiều phân mảnh (partition), các partition sẽ là đơn vị cho phép sao lưu để phục hồi đến các broker khác; 4) Producer: Thành phần sinh dữ liệu, ghi dữ liệu tới broker; 5) Consumer: Thành phần “tiêu thụ” dữ liệu, đọc dữ liệu từ các broker.



Hình 2. Mô hình truyền thông điệp phân tán Apache Kafka.

Hình 2 mô tả kiến trúc của Apache Kafka khi chạy trên một cụm với 3 broker, với một topic tên là MCL được chia thành 3 partition, mỗi partition sẽ có một bản sao chép ở một broker khác để phục vụ cơ chế sao lưu, khắc phục lỗi.

Mỗi partition sẽ có 1 broker làm vai trò trưởng nhóm (leader), những broker còn lại có lưu trữ partition đó được gọi là nút theo dõi (follower), chỉ có nhiệm vụ sao lưu dữ liệu. Mỗi partition được cấu hình tham số nhân bản (replication factor). Trong hình 2, replication factor = 2, nghĩa là mỗi partition sẽ được lưu trữ trên 2 broker.

Zookeeper [9] là thành phần cung cấp các dịch vụ lỗi cho các hệ thống phân tán như: Dịch vụ quản lý cấu hình hệ thống, bầu trưởng nhóm (leader election), định danh (naming). Zookeeper được Apache Kafka bầu tự động leader cho các partition, quản lý danh sách các nút máy chủ đang hoạt động, quản lý danh sách các topic.

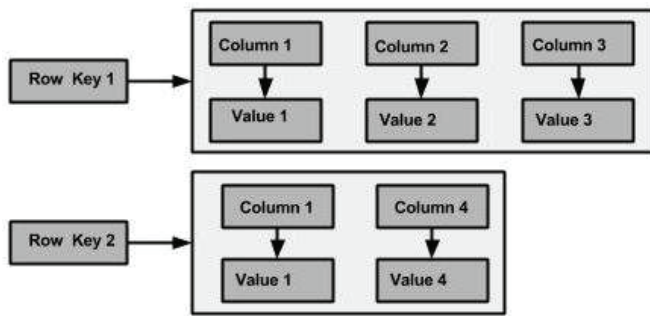
Cơ sở dữ liệu Cassandra cho lưu trữ dữ liệu từ thiết bị y sinh

Cassandra [10] là một cơ sở dữ liệu hướng cột, phân tán (một mô hình dữ liệu NoSQL) có khả năng mở rộng cao (highly scalable), được thiết kế để có thể quản lý một lượng rất lớn dữ liệu có cấu trúc. Cassandra đảm bảo tính sẵn sàng cao với thiết kế có khả năng chịu lỗi, các nút máy chủ trong cụm Cassandra là đồng nhất theo thiết kế ngang hàng (peer-to-peer [11]), không có bất cứ thành phần nào trong hệ thống là điểm hỏng thất cổ chai (bottle-neck). Cassandra có một số đặc điểm chính sau:

Tính khả mở và có thể co giãn được: Cassandra có tính khả mở cao, nó cho phép thêm vào hệ thống các máy chủ để đáp ứng với nhu cầu tải từ phía ứng dụng, đồng thời cũng cho phép rút bớt ra, tháo khỏi hệ thống các máy chủ để giảm điện năng tiêu thụ, thay thế phục hồi, sửa lỗi mà không phải tạm dừng và khởi động lại hệ thống.

Kiến trúc luôn sẵn sàng: Cassandra không có điểm hỏng hóc đơn lẻ, có cơ chế cho phép hệ thống hoạt động liên tục, đáp ứng các ứng dụng thương mại quan trọng mà không chấp nhận hỏng hóc.

Mô hình dữ liệu linh hoạt: Cassandra là một hệ cơ sở dữ liệu hướng cột với mô hình dữ liệu linh hoạt cho phép lưu trữ các dữ liệu có cấu trúc, bán cấu trúc và phi cấu trúc (hình 3). Cassandra có thể tiếp nhận dữ liệu với cấu trúc động mà không cần định nghĩa trước lược đồ dữ liệu như trong cơ sở dữ liệu quan hệ.



Hình 3. Mô hình dữ liệu hướng cột của Cassandra (Row key 1: Bản ghi dữ liệu với khoá là "key 1"; Column 1: Định nghĩa thuộc tính của cột thứ nhất; Value 1: Giá trị của thuộc tính thứ nhất tương ứng với mỗi bản ghi dữ liệu).

Để dàng phân tán dữ liệu: Cassandra thiết kế theo mô hình phân tán dữ liệu của Dynamo Amazon [5] sử dụng hàm băm nhất quán (consistent-hashing [12]) để phân tán dữ liệu. Điều này cho phép tối ưu quá trình di chuyển dữ liệu khi cấu hình hệ thống thay đổi. Các nút máy chủ thêm vào hay rút ra không làm ảnh hưởng đến việc phân bố lại toàn bộ không gian dữ liệu.

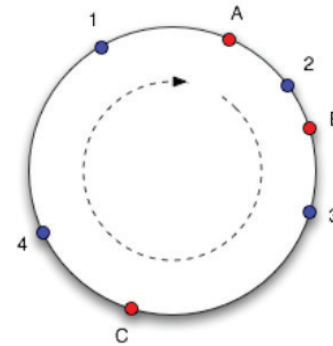
Cho phép ghi dữ liệu nhanh, thông lượng lớn: Cassandra mặc dù được thiết kế chạy trên các máy tính phổ thông có cấu hình thấp nhưng vẫn cho phép đáp ứng hiệu năng cao với các thao tác đọc, ghi dữ liệu thông lượng lớn, có thể lưu trữ hàng trăm terabyte dữ liệu.

Thiết kế của Cassandra không có điểm chết tập trung nào. Cassandra có thiết kế dựa trên kiến trúc mạng ngang hàng, tất cả các nút máy chủ trong hệ thống đều có vai trò như nhau và không có nút máy chủ nào đóng vai trò là máy chủ trung tâm mà việc hỏng hóc của máy chủ này có thể kéo theo đánh sập hoàn toàn hệ thống như các kiến trúc chủ - khách truyền thống. Các nút máy chủ của Cassandra là độc lập. Mỗi nút đều có thể xử lý các thao tác ghi và đọc dữ liệu, không phân biệt là dữ liệu được lưu trữ một cách vật lý trên máy chủ nào trong hệ thống. Khi một nút trong hệ thống bị hỏng hóc và dừng hoạt động, các thao tác đọc ghi dữ liệu có thể được xử lý bởi các nút khác trong hệ thống. Quá trình này hoàn toàn trong suốt với ứng dụng, cho phép ẩn đi hỏng hóc của hệ thống đối với các ứng dụng đó.

Trong Cassandra, mỗi đối tượng dữ liệu có thể được nhân bản và lưu giữ trên nhiều máy chủ. Nếu một trong các máy chủ lưu một phiên bản dữ liệu bị lỗi hoặc không phải là phiên bản được cập nhật dữ liệu mới nhất, Cassandra có cơ chế đồng bộ để luôn đảm bảo các thao tác đọc sẽ luôn trả về dữ liệu mới nhất. Cơ chế này được thực thi trong quá trình đọc dữ liệu (read repair) thay vì đồng bộ ngay trong thao tác ghi dữ liệu, điều này cho phép tăng hiệu

năng đối với thao tác ghi dữ liệu.

Cassandra sử dụng cơ chế hàm băm nhất quán phân tán (distributed consistent hashing [12]) tổ chức các nút máy chủ thành cụm theo định dạng vòng tròn và dữ liệu được phân tán theo vòng tròn này theo hàm băm nhất quán (hình 4).



Hình 4. Bảng băm nhất quán biểu diễn dưới dạng vòng tròn địa chỉ.

Cơ sở dữ liệu MongoDB để lưu trữ dữ liệu bệnh án

MongoDB [13] là cơ sở dữ liệu hướng văn bản, dưới đây là các khái niệm khi làm việc với MongoDB:

Document: Document hay văn bản là đơn vị dữ liệu trong MongoDB. Document có cấu trúc tương tự như kiểu dữ liệu JSON [14], bao gồm các cặp khoá - giá trị, các giá trị có thể bao hàm các trường khoá - giá trị con. Document có thể hiểu giống như các bản ghi dữ liệu trong cơ sở dữ liệu quan hệ, tuy nhiên sự khác biệt là các cặp khoá - giá trị trong các văn bản có thể không giống nhau ở mỗi document. Do vậy, các document là linh hoạt về mặt cấu trúc. Mỗi văn bản có một định danh id là duy nhất trong mỗi collection.

Collection: Collection là nhóm các tài liệu (document), tương đương với một bảng (table) trong cơ sở dữ liệu quan hệ. Các collection không có ràng buộc quan hệ tham chiếu lẫn nhau như các bảng trong hệ quản trị cơ sở dữ liệu quan hệ.

Database: Database là cơ sở dữ liệu, mỗi database gồm nhiều collection. Một máy chủ MongoDB có thể tạo nhiều cơ sở dữ liệu.

Các tính năng quan trọng của MongoDB:

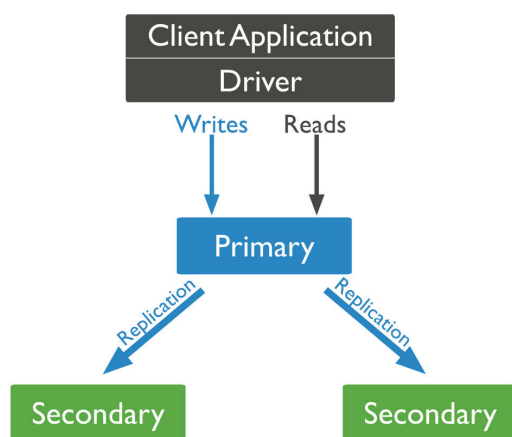
Mô hình dữ liệu linh hoạt: Mô hình dữ liệu hướng văn bản của MongoDB cho phép dễ dàng lưu trữ và kết hợp dữ liệu có cấu trúc động mà không làm giảm đi việc kiểm soát ràng buộc về kiểu, miền giá trị của dữ liệu.

Tính khả mở cao, cho phép triển khai trên nhiều trung tâm dữ liệu: MongoDB có thể mở rộng trên một trung tâm dữ liệu hoặc triển khai phân tán trên nhiều trung tâm dữ liệu phân tán về mặt địa lý.

Tính sẵn sàng cao: Người quản trị hệ thống có thể dễ dàng tăng hoặc giảm số lượng máy chủ tham gia vào hệ cơ sở dữ liệu ở bất cứ thời điểm nào, không cần phải tạm dừng và khởi động lại hệ thống.

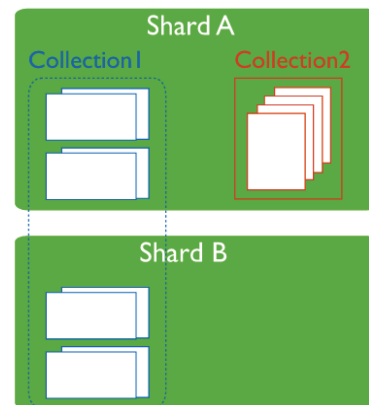
Nhiều tính năng tích hợp đi kèm hệ sinh thái sử dụng MongoDB: Các tính năng phân tích dữ liệu, trình diễn dữ liệu, đánh chỉ mục, xử lý dữ liệu đồ thị, dữ liệu không gian đều có thể dễ dàng tích hợp với cơ sở dữ liệu MongoDB thông qua các trình điều khiển kết nối chuẩn hoá và được hỗ trợ mạnh mẽ.

Nhân bản: Nhân bản là một tính năng vô cùng quan trọng của MongoDB và được khuyến cáo sử dụng khi cài đặt MongoDB cho môi trường thực tế (ứng dụng thực, dữ liệu thực). Kỹ thuật nhân bản tức là sao một đối tượng dữ liệu ra một nhóm các máy chủ khác nhau. Trong nhóm các máy chủ này sẽ có một máy chủ là máy chủ nhân bản chính và các máy còn lại là máy chủ nhân bản thứ cấp (phụ). Máy chủ nhân bản chính đóng vai trò là tổng quản, nơi mà mọi thao tác ghi, cập nhật đối tượng dữ liệu cần phải thông qua máy chủ đó. Các máy chủ thứ cấp có thể được sử dụng cho việc đọc dữ liệu để cân bằng tải. MongoDB có chế độ chuyển đổi dự phòng (failover) tự động nếu máy chủ nhân bản chính bị lỗi thì một trong các máy chủ thứ cấp sẽ được bầu làm máy chủ chính thay thế để đảm bảo các thao tác ghi dữ liệu luôn được thực thi thành công (hình 5).



Hình 5. Nhân bản trong MongoDB (Client Application: Ứng dụng phía người dùng; Writes: Tác vụ ghi dữ liệu; Reads: Tác vụ đọc dữ liệu; Primary: Máy chủ nhân bản chính; Secondary: Máy chủ nhân bản thứ cấp; Replication: Quá trình nhân bản dữ liệu).

Sharding: Khi kích thước của dữ liệu gia tăng, một máy tính đơn lẻ không thể đủ để lưu dữ liệu cũng như cung cấp các xử lý đọc và ghi thông thường. Sharding là một kỹ thuật cho phép các văn bản trong MongoDB được phân tán ra trên nhiều máy chủ. Việc phân tán dữ liệu này có ý nghĩa quan trọng góp phần mở rộng khả năng lưu trữ và xử lý của hệ thống, đồng thời tăng khả năng chịu lỗi. Song song với việc tự động hoá phân tán dữ liệu, nếu một máy chủ dữ liệu nào đó bị gặp lỗi thì hệ thống có cơ chế tự động định tuyến lại các thao tác đọc ghi trên máy chủ bị lỗi qua các máy chủ khác. Hình 6 giải thích việc collection A được chia ra ở 2 shard A và B trong khi collection B chỉ nằm ở 1 shard A.



Hình 6. Kỹ thuật phân mảnh dữ liệu sharding trong MongoDB (Shard: Một khối lưu trữ dữ liệu độc lập; Collection: Tập hợp những văn bản có tính tương đồng về cấu trúc).

Với thiết kế dạng dữ liệu hướng văn bản, MongoDB là cơ sở dữ liệu thích hợp nhất để lưu trữ thông tin bệnh án gồm nhiều trường thông tin, các trường không đồng nhất giữa các bệnh án khác nhau hoặc các bệnh án của các bệnh khác nhau. Cấu trúc hướng văn bản của MongoDB cho phép người dùng có thể tạo các chỉ mục trên các thuộc tính của văn bản để tìm kiếm nhanh, điều này là khác biệt của MongoDB so với Cassandra. Đây là lý do để chúng tôi lựa chọn MongoDB thay cho Cassandra trong lưu trữ thông tin bệnh án.

Đánh giá thực nghiệm

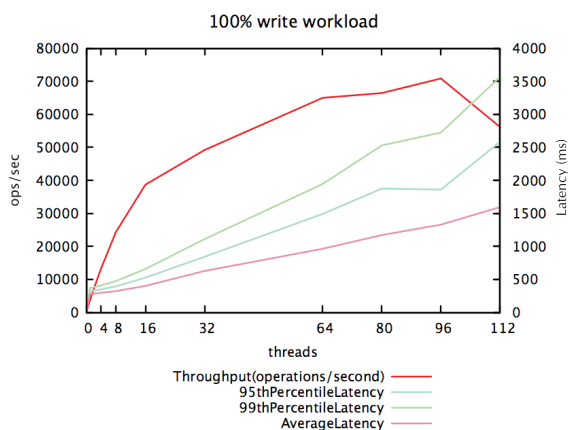
Trong phần này, chúng tôi đánh giá hiệu năng của hệ thống HealthDL trong các thao tác đọc, ghi dữ liệu trên môi trường phân tán, khi gia tăng các kết nối tương tranh đồng thời. Chúng tôi đã cài đặt và tiến hành chạy đánh giá MongoDB và Cassandra với 2 công cụ đánh giá tiêu chuẩn là YCSB [15] và Cassandra-stress [16]. Hai công cụ này

đo số thao tác vào ra trung bình có thể thực thi trong 1 s với khối dữ liệu vào ra được cung cấp sẵn.

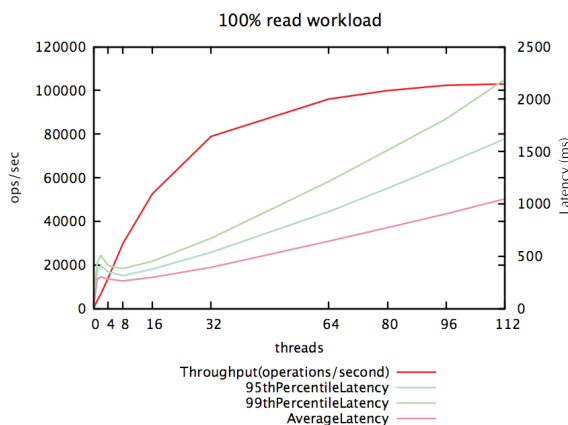
Đánh giá thành phần lưu trữ thông tin bệnh án MongoDB

MongoDB được cài đặt trên môi trường ảo hoá sử dụng docker-compose, cụm máy tính gồm 30 nút ảo chia sẻ cấu hình: 2 CPU (Haswell 2.3 G), 1 SSD (Intel 800 GB SATA 6 Gb/s), RAM (128 GB).

Kết quả đối với kịch bản chỉ đọc và chỉ ghi cho hiệu năng cao với tốc độ đạt từ 70.000 đến 100.000 bản ghi/s, độ trễ là 1 đến 1,5 s với số lượng client kết nối tới lên đến 100 client tương tranh đồng thời (hình 7A và 7B).



Hình 7A. Kịch bản ghi dữ liệu MongoDB.

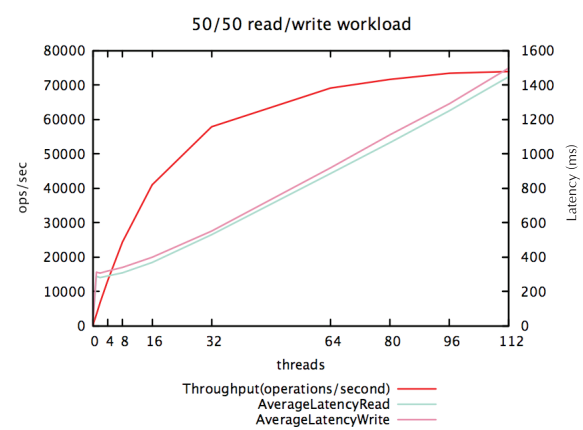


Hình 7B. Kịch bản đọc dữ liệu MongoDB.

Trong đó: 100% write workload: Kịch bản chỉ ghi; 100% read workload: Kịch bản chỉ đọc; Ops/sec: Số tác vụ thực thi thành công trong 1 s; Theads: Số lượng kết nối đến hệ thống; Throughput: Giải nghĩa như ops/sec; 95thPercentileLatency: Độ trễ của 5% tác vụ có độ trễ cao nhất; 99thPercentileLatency: Độ trễ của 1% tác vụ có độ trễ cao nhất; AverageLatency: Độ trễ trung bình.

Trong hình 7A và 7B, đường kẻ màu tím mô tả độ trễ trung bình, đường kẻ màu xanh dương mô tả độ trễ trung bình của 5% các tác vụ có độ trễ cao nhất, đường kẻ màu xanh lá mô tả độ trễ trung bình của 1% các tác vụ có độ trễ cao nhất. Từ biểu đồ kết quả cho thấy, chỉ 1% các tác vụ có độ trễ cao nhất là 3,5 s.

Với kịch bản các tác vụ đọc và ghi là tỷ lệ 50/50 (vừa đọc vừa ghi) cũng cho kết quả tốt, với tốc độ trung bình 70.000 bản ghi/s, độ trễ trung bình là 1,4 s (hình 8). Trong hình 8, đường kẻ màu xanh dương mô tả độ trễ trung bình của các tác vụ đọc, đường kẻ màu tím mô tả độ trễ trung bình của các tác vụ ghi. Từ kết quả này cho thấy rằng, độ trễ của hai dạng tác vụ này không quá chênh lệch với nhau.



Hình 8. Kịch bản đọc ghi đồng thời MongoDB (50/50 read/write workload: Kịch bản đọc ghi đồng thời; Ops/sec: Số tác vụ thực thi thành công trong 1 s; Theads: Số lượng kết nối đến hệ thống; Throughput: Giải nghĩa như ops/sec; AverageLatencyRead: Độ trễ trung bình của tác vụ đọc dữ liệu; AverageLatencyWrite: Độ trễ trung bình của tác vụ ghi dữ liệu).

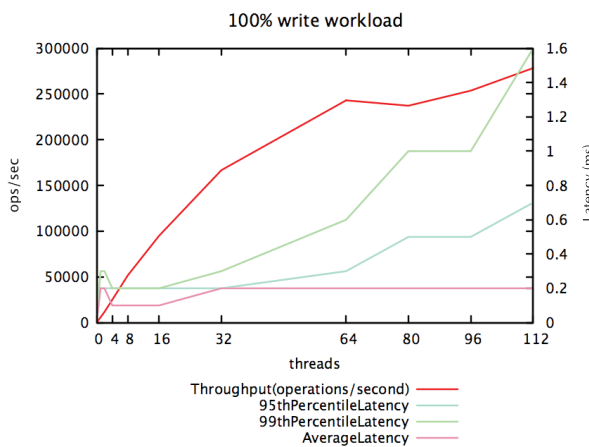
Mặc dù khi xây dựng một cụm MongoDB phân tán ảo bằng docker-compose, các nút sẽ không sử dụng được trọn vẹn tài nguyên phần cứng tốt nhất, nhưng kết quả trả về rất khả quan đối với yêu cầu của việc nhập liệu, lưu trữ và chia sẻ bệnh án.

Đánh giá thành phần lưu trữ dữ liệu từ thiết bị y sinh Cassandra

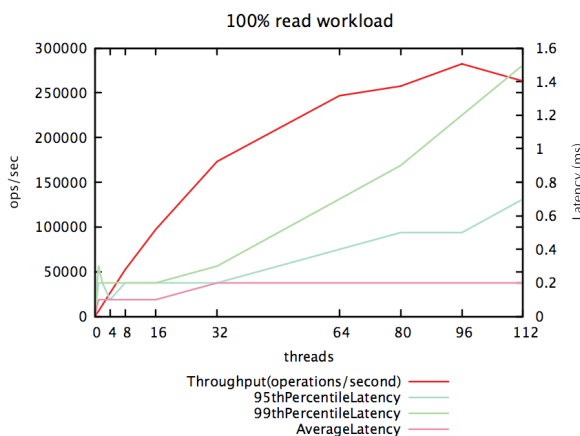
Cassandra được cài đặt trên 3 máy chủ riêng biệt với cấu hình mỗi máy như sau: 2 CPU (Haswell 2.3 G), 1 SSD (Intel 800 GB SATA 6 Gb/s), RAM (128 GB). Kịch bản thử nghiệm đo số lượng các thao tác đọc, ghi/s và độ trễ trung bình. Các thử nghiệm qua gia tăng số lượng các tiến trình client thực thi các thao tác đọc, ghi dữ liệu tương tranh đồng thời.

Trong thử nghiệm các tiến trình tương tranh chỉ thực thi các thao tác ghi (hình 9A), các tiến trình tương tranh chỉ thực thi các thao tác đọc (hình 9B), Cassandra đáp ứng hiệu năng cao với số thao tác xử lý từ 250.000 đến 300.000 bản ghi/s. Độ trễ trung bình từ 0,2 đến 0,3 ms. Với kịch bản đọc, ghi tương tranh (hình 10) Cassandra vẫn đáp ứng được số thao tác từ 250.000 đến 300.000 bản ghi/s.

Đường kẻ màu tím mô tả độ trễ trung bình, đường kẻ màu xanh dương mô tả độ trễ trung bình của 5% các tác vụ có độ trễ cao nhất, đường kẻ màu xanh lá mô tả độ trễ trung bình của 1% các tác vụ có độ trễ cao nhất. Từ kết quả nhận thấy rằng, chỉ có 1% các tác vụ có độ trễ cao nhất là 1,6 ms.

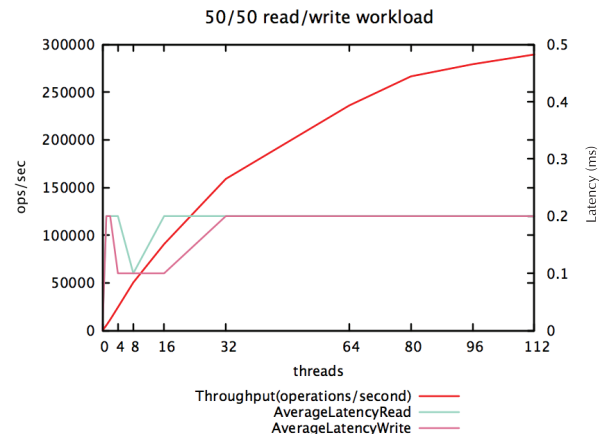


Hình 9A. Gia tăng thao tác tương tranh chỉ ghi.



Hình 9B. Gia tăng thao tác tương tranh chỉ đọc.

Trong đó: 100% write workload: Kịch bản chỉ ghi; 100% read workload: Kịch bản chỉ đọc; Ops/sec: Số tác vụ thực thi thành công trong 1 s; Theads: Số lượng kết nối đến hệ thống; Throughput: Giải nghĩa như ops/sec; 95thPercentileLatency: Độ trễ của 5% tác vụ có độ trễ cao nhất; 99thPercentileLatency: Độ trễ của 1% tác vụ có độ trễ cao nhất; AverageLatency: Độ trễ trung bình.



Hình 10. Đọc ghi tương tranh đồng thời trên Cassandra (50/50 read/write workload: Kịch bản đọc ghi đồng thời; Ops/sec: Số tác vụ thực thi thành công trong 1 s; Theads: Số lượng kết nối đến hệ thống; Throughput: Giải nghĩa như ops/sec; AverageLatencyRead: Độ trễ trung bình của tác vụ đọc dữ liệu; AverageLatencyWrite: Độ trễ trung bình của tác vụ ghi dữ liệu).

Các kết quả thử nghiệm với MongoDB và Cassandra trên môi trường tương tranh cho thấy, các thành phần đáp ứng hiệu năng cao ngay cả trong điều kiện đọc ghi tương tranh đồng thời. Về hiệu năng, Cassandra cho hiệu năng cao hơn về số thao tác/s, phù hợp với lưu trữ các dữ liệu đến từ thiết bị y sinh thời gian thực.

Kết luận

Trong bài báo này, chúng tôi giới thiệu HealthDL, hệ thống thu thập và lưu trữ dữ liệu lớn cho y tế. Kết quả đánh giá hiệu năng của thành phần lưu trữ trên môi trường thử nghiệm chứng minh khả năng đáp ứng tốt với các yêu cầu nghiệp vụ đọc ghi dữ liệu tương tranh đồng thời. Về thiết kế tổng thể, hệ thống cấu thành từ các thành phần phân tán, có tính khả mở cao, hỗ trợ mô hình dữ liệu linh hoạt. Trong tương lai, chúng tôi sẽ triển khai hệ thống trong thực tiễn và tiến hành tích hợp với thành phần phân tích dữ liệu y tế phân tán.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin cảm ơn Chương trình KH&CN cấp nhà nước phục vụ phát triển bền vững vùng Tây Bắc đã tài trợ nghiên cứu thông qua đề tài “Ứng dụng và triển khai hệ thống phần mềm tích hợp và kết nối các thiết bị điện tử y sinh và mạng truyền thông hỗ trợ theo dõi sức khỏe và dịch tễ cộng đồng khu vực Tây Bắc” (mã số KHCN-TB.06C/13-18).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Ercan, M. Lane (2014), "An evaluation of NoSQL databases for EHR systems", *Proceedings of the 25th Australasian Conference on Information Systems*, pp.8-10.
- [2] J. Andreu-Perez, C.C.Y. Poon, R.D. Merrifield, S.T.C. Wong, G.Z. Yang (2015), "Big data for health", *IEEE J. Biomed. Heal. informatics*, **19(4)**, pp.1193-1208.
- [3] C. Dobre, F. Xhafa (2015), "NoSQL technologies for real time (patient) monitoring", *Advanced Technological Solutions for E-Health and Dementia Patient Monitoring*, pp.183-210.
- [4] K. Grolinger, W.A. Higashino, A. Tiwari, M.A. Capretz (2013), "Data management in cloud environments: NoSQL and NewSQL data stores", *J. of Cloud Comput.: Adv. Syst. Appl.*, **2**, pp.2-22.
- [5] G. Decandia, D. Hastorun, M. Jampani, G. Kakulapati, A. Lakshman, A. Pilchin, S. Sivasubramanian, P. Vosshall, W. Vogels (2007), "Dynamo: Amazon's highly available key-value store", *ACM SIGOPS Oper. Syst. Rev.*, **41(6)**, pp.205-220.
- [6] D.S. Parker, G.J. Popek, G. Rudisin, A. Stoughton, B.J. Walker, E. Walton, J.M. Chow, D. Edwards, S. Kiser, C. Kline (1983), "Detection of Mutual Inconsistency in Distributed Systems", *IEEE Trans. Softw. Eng.*, **SE-9(3)**, pp.240-247.
- [7] N. Garg (2013), *Apache Kafka*, Packt Publishing Ltd.
- [8] A. Videla, J.J.W. Williams (2012), *RabbitMQ in action*, Manning.
- [9] P. Hunt, M. Konar, F.P. Junqueira, B. Reed (2010), "ZooKeeper: Wait-free coordination for Internet-scale systems", *USENIX Annual Technical Conference*, **8**, p.9.
- [10] A. Lakshman, P. Malik (2010), "Cassandra: A decentralized structured storage system", *ACM SIGOPS Oper. Syst. Rev.*, **44(2)**, pp.35-40.
- [11] S. Androutsellis-Theotokis, D. Spinellis (2004), "A survey of peer-to-peer content distribution technologies", *ACM Comput. Surv.*, **36(4)**, pp.335-371.
- [12] D. Karger, E. Lehman, T. Leighton, M. Levine, D. Lewin, R. Panigrahy (1997), "Consistent Hashing and Random Trees: Distributed caching protocols for Relieving hot Spots on the world wide web", *Proceedings of the twenty-ninth annual ACM symposium on Theory of computing*, pp.654-663.
- [13] K. Chodorow (2013), *MongoDB: The definitive guide*, O'Reilly Media, Inc.
- [14] T. Bray (2014), "The javascript object notation (JSON) data interchange format", *Standards Track*, pp.1-16.
- [15] B.F. Cooper, A. Silberstein, E. Tam, R. Ramakrishnan, R. Sears (2010), "Benchmarking Cloud Serving Systems with YCSB", *Proceeding of the 1st ACM symposium on cloud computing*.
- [16] Cassandra Stress, Available, http://docs.datastax.com/en/cassandra/2.1/cassandra/tools/toolsCStress_t.html.

Nghiên cứu sử dụng thép chịu thời tiết ở Việt Nam

Shinichi Miura¹, Masatsugu Murase¹, Đặng Đăng Tùng², Lê Quý Thủy^{3*}, Nguyễn Văn Thịnh³

¹Tập đoàn thép JFE, Nhật Bản

²Trường Đại học Bách khoa thành phố Hồ Chí Minh

³Viện Khoa học và Công nghệ Giao thông Vận tải

Ngày nhận bài 1/3/2017; ngày chuyển phản biện 3/3/2017; ngày nhận phản biện 30/3/2017; ngày chấp nhận đăng 10/4/2017

Tóm tắt:

Giảm chi phí vòng đời của kết cấu là một yêu cầu quan trọng đối với công trình cơ sở hạ tầng ở các nước trên thế giới, đặc biệt là ở Việt Nam - nơi mà việc phát triển cơ sở hạ tầng đang được đẩy mạnh. Trong xây dựng cơ sở hạ tầng, thép chịu thời tiết có thể được sử dụng cho kết cấu cầu. Thép chịu thời tiết là loại thép không cần sơn, vì vậy nó làm giảm chi phí vòng đời, gồm có chi phí ban đầu (chi phí sơn ban đầu) và chi phí bảo trì (chi phí sơn lại). Để đánh giá khả năng ứng dụng của thép chịu thời tiết và sử dụng trong xây dựng cầu ở Việt Nam, các chuyên gia Nhật Bản và Việt Nam đã tiến hành các thí nghiệm về loại vật liệu này (bao gồm việc đo đạc các thông số môi trường và thí nghiệm phơi mẫu) tại vị trí các công trình cầu thực tế.

Dựa trên kết quả đo đạc môi trường và thử nghiệm phơi mẫu, bài báo đề xuất các tiêu chí áp dụng thép chịu thời tiết và đưa ra những đánh giá về khả năng ứng dụng của thép chịu thời tiết cũng như việc giảm chi phí vòng đời kết cấu cầu thép bằng cách sử dụng thép chịu thời tiết tại Việt Nam trong tương lai.

Từ khóa: Độ ẩm tương đối, mất mát do ăn mòn, muối trong không khí, thép chịu thời tiết, thử nghiệm phơi mẫu.

Chỉ số phân loại: 2.3

Mở đầu

Thép chịu thời tiết là thép hợp kim thấp có chứa lượng nhỏ các nguyên tố hợp kim như đồng, niken, crôm... Dưới điều kiện khí quyển thích hợp, có thể sử dụng thép chịu thời tiết mà không cần sơn bởi tốc độ ăn mòn của nó rất nhỏ, không đáng kể.

Thép chịu thời tiết đã được sử dụng rộng rãi tại nhiều quốc gia như Hoa Kỳ, Nhật Bản, châu Âu [1]. Nói chung, kết cấu thép cần phải được bảo vệ để chống ăn mòn như yêu cầu phải sơn để ngăn chặn sự ăn mòn trong môi trường khí quyển. Tuy nhiên, trong trường hợp phải sơn, cần phải chi phí sơn ban đầu và chi phí sơn lại (chi phí bảo trì). Ngược lại, khi thép chịu thời tiết được sử dụng cho các kết cấu thép, chi phí vòng đời sẽ giảm do không cần tốn chi phí sơn ban đầu và chi phí sơn lại như thép thông thường.

Trong việc sử dụng thép chịu thời tiết vào các kết cấu thép, điều quan trọng là xác định được khả năng sử dụng của nó trong điều kiện môi trường thực tế. Ở Nhật Bản, đã có những nghiên cứu cho thấy, thép chịu thời tiết có thể được sử dụng ở những nơi mà lượng muối NaCl trong không khí không vượt quá 0,05 mg/dm³/ngày (mdd), hoặc ở các khu vực mà khoảng cách từ bờ biển được xác định đối với mỗi vùng [2]. Ngoài ra, báo cáo gần đây ước

lượng rằng, thép chịu thời tiết có thể được áp dụng nếu sự tổn thất do ăn mòn ở năm đầu tiên dưới 0,03 mm sau thí nghiệm phơi mẫu [3].

Cho đến nay, một số kết quả thí nghiệm phơi mẫu của thép chịu thời tiết và nghiên cứu cầu thép chịu thời tiết ở Việt Nam đã được công bố [4-8]. Các kết quả thí nghiệm phơi mẫu khác của thép cacbon thông thường cũng đã được công bố [9]. Tuy nhiên, chưa có công trình nào nghiên cứu đầy đủ về khả năng sử dụng thực tế của thép chịu thời tiết ở Việt Nam. Do vậy, trong bài báo này, dựa trên các kết quả thí nghiệm phơi mẫu thực tế và hiểu biết về khả năng sử dụng của thép chịu thời tiết ở Nhật Bản, các tác giả đề xuất tiêu chí áp dụng của thép chịu thời tiết tại các vùng khác nhau ở Việt Nam.

Nội dung nghiên cứu

Để có cơ sở ứng dụng thép chịu thời tiết ở Việt Nam, các tác giả đã tiến hành đo đạc các yếu tố về môi trường và thông số liên quan đến các mẫu phơi kiểu Wappen.

Phương pháp thử nghiệm phơi mẫu Wappen đã được phát triển rất thành công ở Nhật Bản. Phương pháp này có thể thu nhận được các kết quả thử nghiệm tiếp xúc phản ánh sự ăn mòn do môi trường thực tế một cách trực tiếp tại vị trí của mỗi cây cầu. Phương pháp này thực hiện bằng

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

The proposal of applications of weathering steel in Vietnam

Shinichi Miura¹, Masatsugu Murase¹,
Dang Tung Dang², Quy Thuy Le^{3*},
Van Thanh Nguyen³

¹JFE Steel Group, Japan

²Hochiminh City University of Technology

³Institute of Transport Science and Technology

Received 1 March 2017; accepted 10 April 2017

Abstract:

Reducing the life cycle cost of structures is a major challenge in Vietnam, where infrastructure development is underway. In the construction of infrastructure, weathering steels are able to be used for structures without painting, so weathering steels decrease the life cycle cost including initial cost (initial paint cost) and maintenance cost (repaint cost). On the other hand, it is necessary to judge the applicability of weathering steels at the construction site to use effectively weathering steels in the steel structures. Therefore, the authors proposed the criteria of applying weathering steels based on the results of environmental measurement and exposure test. As a result, the applicability of weathering steels could be determined. In the future, the life cycle cost will be decreased by applying weathering steels to steel structures in Vietnam.

Keywords: Air borne salt, corrosion loss, exposure test, relative humidity, weathering steel.

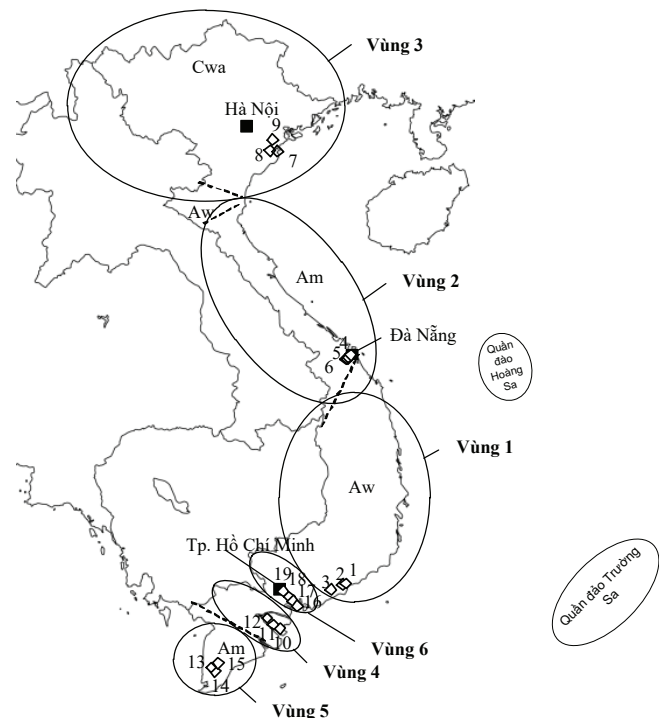
Classification number: 2.3

cách đặt các mẫu thép thí nghiệm trên các dầm của cây cầu trong thực tế. Do đặc điểm về môi trường ăn mòn phía dưới và mặt bên của dầm cầu khác nhau, nên cần đặt các mẫu phơi ở phía cạnh bên và phía dưới của dầm cầu.

Khi thử nghiệm, cần xem xét đặc trưng của khí hậu và địa lý ở Việt Nam. Nhiệt độ và độ ẩm tương đối tại các vùng lãnh thổ ở Việt Nam có khác biệt lớn do địa hình trải dài từ Bắc vào Nam, với điều kiện khí hậu nhiệt đới gió mùa khác nhau. Vì vậy, để điều tra ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm tương đối đến sự ăn mòn thép chịu thời tiết, các vùng miền từ Bắc đến Nam của Việt Nam được phân bố theo điều kiện môi trường thực tế (xem hình 1). Mặt khác, cần thiết xem xét sự ảnh hưởng của muối trong không khí

đến đặc tính ăn mòn, bởi vì Việt Nam có bờ biển trải dài. Hơn nữa, để điều tra sự ảnh hưởng của muối trong không khí đến đặc tính ăn mòn, các tác giả đã lựa chọn một số địa điểm thí nghiệm phơi mẫu với khoảng cách khác nhau từ bờ biển tại mỗi vùng.

Nhiệt độ, độ ẩm tương đối và lượng muối trong không khí được đo trong vòng một năm. Nhiệt độ và độ ẩm tương đối được đo bởi máy đo nhiệt ẩm (Ondotori, của Tập đoàn T&D). Lượng muối trong không khí được đo bởi phương pháp Dry Gauze theo tiêu chuẩn JIS Z 2382. Sau khi thử nghiệm ngoài trời 1 và 3 năm, mẫu thử được gỡ. Gỉ hình thành trên mẫu thử được làm sạch và trọng lượng mẫu được đo bằng cân điện tử. Sự tổn thất chiều dày được đánh giá từ diện tích bề mặt và sự thay đổi trọng lượng trước và sau thí nghiệm phơi mẫu. Tổn thất chiều dày trung bình của mẫu gắn với mặt cạnh và mặt dưới dầm cầu cũng được xác định và đánh giá.



Hình 1. Các vùng lãnh thổ và các khu vực phơi mẫu thí nghiệm.

Kết quả

Kết quả đo các yếu tố môi trường

Bảng 1 giới thiệu kết quả đo các yếu tố về môi trường trên mỗi vị trí thí nghiệm phơi mẫu. Trong các vùng 1, 4, 5, 6 ở phía Nam, nhiệt độ trung bình là khoảng 28 đến 29,5°C và độ ẩm tương đối trung bình khoảng 70 đến 80%. Trong vùng 2 ở miền Trung, nhiệt độ trung bình khoảng

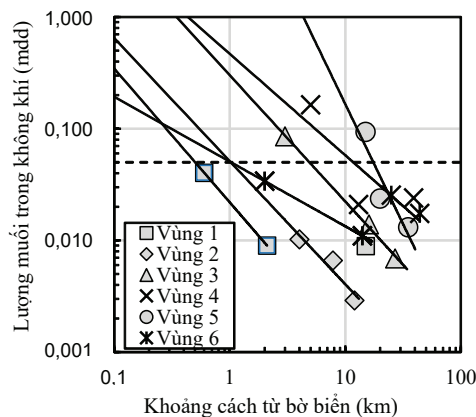
27 đến 28°C và độ ẩm tương đối trung bình khoảng 75 đến 80%. Trong vùng 3 phía Bắc, nhiệt độ trung bình khoảng 24 đến 26°C và độ ẩm tương đối trung bình khoảng 75 đến 80%. Vùng 3 có nhiệt độ thấp hơn và độ ẩm tương đối cao hơn so với các vùng khác. Điều đó thể hiện xu hướng rằng, ở Việt Nam nhiệt độ giảm và độ ẩm tương đối tăng từ phía Nam ra phía Bắc.

Bảng 1. Kết quả đo các yếu tố về môi trường trên mỗi vị trí thí nghiệm phơi mẫu.

Vùng	TT	Vị trí thí nghiệm	Khoảng cách từ bờ biển (km)	Lượng muối trong không khí (mdd)	Nhiệt độ trung bình (°C)	Độ ẩm tương đối trung bình (%)	Thời gian ẩm (giờ)	Phân loại theo Köppen-Geiger	Vĩ độ	Kinh độ
1	1	Cầu Phú Hải	0,6	0,040	27,8	78,2	4300	Aw	10°56'	108°08'
	2	Cầu Cà Ty	2,1	0,009	29,2	70,8	1922	Aw	10°56'	108°05'
	3	Cầu Sông Phan	15	0,009	28,3	78,4	4309	Aw	10°51'	107°49'
2	4	Cầu Đồ Xù	4	0,010	27,8	79,0	4765	Am	16°01'	108°13'
	5	Cầu Đồ	7,8	0,007	27,6	78,1	4520	Am	16°00'	108°11'
	6	Cầu Tuy Loan	12	0,003	27,8	75,1	2975	Am	15°59'	108°04'
3	7	Cầu Diêm Điền	3	0,086	24,6	84,5	6222	Cwa	20°33'	106°34'
	8	Cầu Vô Hối	16	0,014	24,5	85,2	6433	Cwa	20°33'	106°26'
	9	Cầu Xe	27	0,007	25,9	83,6	5871	Cwa	20°47'	106°28'
4	10	Cầu Bến Chứa	5	0,164	27,8	81,2	5178	Aw	9°44'	106°31'
	11	Cầu số 7	13	0,021	28,5	73,8	2449	Aw	9°44'	106°28'
	12	Cầu Bà Sĩ	39	0,024	28,4	74,3	2773	Aw	9°56'	106°17'
5	13	Cầu Vàm Đình	15	0,094	28,7	73,0	2326	Am	8°55'	104°56'
	14	Cầu Cạn Già	20	0,024	29,2	73,5	2317	Am	8°49'	105°01'
	15	Cầu Phan Ngạc Hiền	35	0,013	29,1	72,2	2659	Am	9°10'	105°09'
6	16	Cầu Hà Thanh	2	0,034	29,1	75,9	3151	Aw	10°24'	106°34'
	17	Cầu Dân Xứ	14	0,011	28,5	73,3	2378	Aw	10°30'	106°52'
	18	Cầu An Nghĩa	25	0,026	29,4	69,6	1764	Aw	10°35'	106°50'
	19	Cầu Kỵ Hà	44	0,017	28,6	75,1	3309	Aw	10°45'	106°46'

Mối quan hệ giữa việc giảm ăn mòn của năm đầu tiên hoặc lượng muối trong không khí và khoảng cách từ bờ biển

Để khái quát các chỉ tiêu về khả năng sử dụng của thép chịu thời tiết ở Việt Nam, các tác giả đã đánh giá khoảng cách từ bờ biển, nơi mà lượng muối NaCl trong không khí là 0,05 mdd hoặc thấp hơn, hoặc nơi mà sự mất mát ăn mòn của năm thứ nhất là 0,03 mm hoặc thấp hơn.

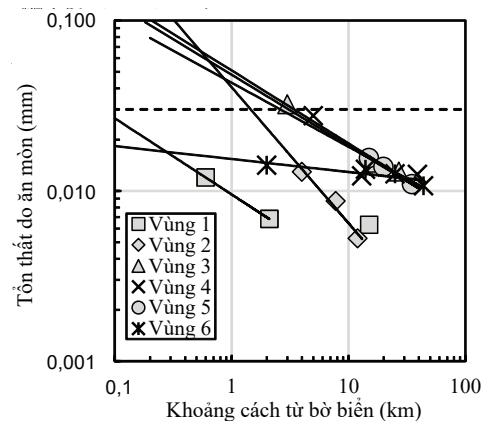


Hình 2. Mối liên hệ giữa khoảng cách từ bờ biển và lượng muối trong không khí.

Hình 2 thể hiện mối quan hệ giữa khoảng cách từ bờ biển và lượng muối trong không khí. Ở mỗi vùng, lượng muối trong không khí giảm khi khoảng cách từ bờ biển tăng. Xu hướng này tương tự với kết quả của thí nghiệm phơi mẫu ở Nhật Bản [10]. Các tác giả đã điều chỉnh

phù hợp hồi quy tuyến tính trên kết quả này và đánh giá khoảng cách từ bờ biển, nơi mà lượng muối trong không khí là 0,05 mdd hoặc thấp hơn ở mỗi vùng.

- 1) Vùng 1: $\geq 0,5$ km (từ hai vị trí thí nghiệm phơi mẫu ở Phú Hải và Cà Ty)
- 2) Vùng 2: $\geq 0,9$ km
- 3) Vùng 3: $\geq 4,9$ km
- 4) Vùng 4: $\geq 11,7$ km
- 5) Vùng 5: $\geq 17,5$ km
- 6) Vùng 6: $\geq 1,0$ km (từ hai vị trí thí nghiệm phơi mẫu ở Hà Thanh và Dân Xứ)



Hình 3. Mối liên hệ giữa khoảng cách từ bờ biển và tổn thất do ăn mòn của năm thứ nhất.

Hình 3 thể hiện mối quan hệ giữa khoảng cách từ bờ biển và sự tổn thất do ăn mòn của năm thứ nhất. Ở mỗi vùng, sự tổn thất do ăn mòn của năm thứ nhất giảm khi khoảng cách từ bờ biển tăng. Xu hướng này tương tự với kết quả của thí nghiệm phơi mẫu ở Nhật Bản [11]. Từ kết quả này, các tác giả đã điều chỉnh phù hợp hồi quy tuyến tính và đánh giá khoảng cách từ bờ biển, nơi mà sự tổn thất do ăn mòn của năm thứ nhất là 0,03 mm hoặc thấp hơn trong mỗi vùng.

- 1) Vùng 1: $\geq 0,1$ km (từ hai vị trí thí nghiệm phơi mẫu ở Phú Hải và Cà Ty)
- 2) Vùng 2: $\geq 1,5$ km
- 3) Vùng 3: $\geq 3,4$ km
- 4) Vùng 4: $\geq 2,6$ km
- 5) Vùng 5: $\geq 3,1$ km
- 6) Vùng 6: $\geq 1,2$ km (từ hai vị trí thí nghiệm phơi mẫu ở An Nghĩa và Kỳ Hà)

Dựa vào các kết quả trên, khoảng cách từ bờ biển mà thép chịu thời tiết có thể được sử dụng ở Việt Nam đã được nhóm nghiên cứu làm rõ. Các kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Trước hết, chúng tôi đã tập trung vào việc phân tích lượng muối trong không khí thu được theo kết quả thí nghiệm phụ thuộc vào khoảng cách lớn hơn từ bờ biển, khoảng cách từ bờ biển có thể áp dụng cho thép chịu thời tiết được quyết định theo hướng an toàn hơn so với kết quả thí nghiệm. Các vùng 1, 2, 3, 4, 5 và 6 được xem xét là có thể áp dụng 1,0 km, 2,0 km, 10,0 km, 20 km, 25 km hoặc xa hơn từ bờ biển.

Bảng 2. Khoảng cách từ bờ biển mà thép chịu thời tiết có thể được áp dụng ở Việt Nam.

	Khoảng cách từ bờ biển, nơi mà lượng muối trong không khí là 0,05 mdd	Khoảng cách từ bờ biển, nơi mà tổn thất do ăn mòn của năm thứ nhất là 0,03 mm	Khoảng cách từ bờ biển được ước lượng có thể sử dụng thép chịu thời tiết mà không cần sơn
Vùng 1	0,5 km ^{*1}	0,1 km ^{*1}	≥1,0 km
Vùng 2	0,9 km	1,5 km	≥2,0 km
Vùng 3	4,9 km	3,4 km	≥10,0 km
Vùng 4	11,7 km	2,6 km	≥20,0 km
Vùng 5	17,5 km	3,1 km	≥25,0 km
Vùng 6	1,0 km ^{*2}	1,2 km ^{*3}	≥2,0 km

*1: Được rút ra từ cầu Phú Hải và cầu Cà Ty

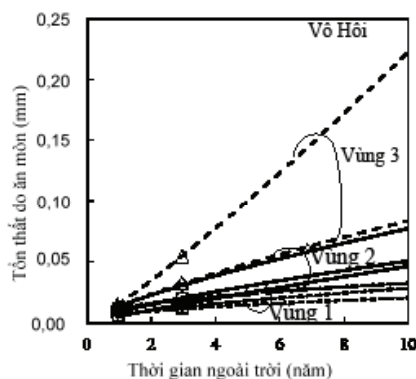
*2: Được rút ra từ cầu Hà Thanh và cầu Dân Xây

*3: Được rút ra từ cầu An Nghĩa và cầu Kỳ Hà

Sự phụ thuộc vào thời gian của ăn mòn

Sự phụ thuộc vào thời gian của mất mát do ăn mòn đối với thép chịu thời tiết được tính theo phương trình sau [11]: $y = Ax^B$, trong đó, y là sự mất mát ăn mòn, x là khoảng thời gian thử nghiệm, A và B là các hệ số. Do đó, các tác giả cũng tính toán các kết quả này với $y = Ax^B$. Các đường xấp xỉ được thể hiện trên hình 4.

Tại vị trí thí nghiệm phơi mẫu của vùng 1, vùng 2 và vùng 3 (ngoại trừ Vô Hối), mất mát ăn mòn tăng và tốc độ ăn mòn giảm theo thời gian. Ngược lại, ở Vô Hối trong vùng 3, tốc độ ăn mòn tăng theo thời gian.



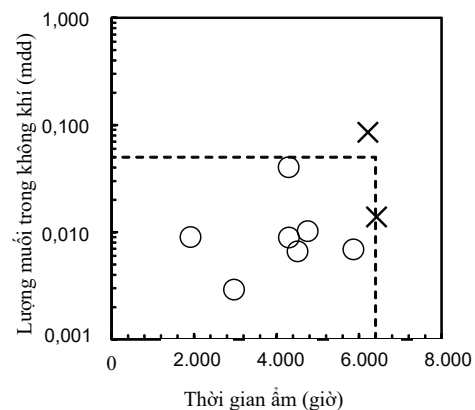
Hình 4. Sự thay đổi mất mát ăn mòn theo thời gian.

Vô Hối là nơi có độ ẩm tương đối cao hơn và khoảng thời gian ẩm dài hơn so với các vùng khác. Do đó, tốc độ ăn mòn có thể không giảm theo thời gian. Trong các vùng mà độ ẩm tương đối vượt quá 85%, việc sử dụng thép chịu thời tiết được đánh giá là khó khăn.

Điều kiện sử dụng của thép chịu thời tiết đối với lượng muối trong không khí và thời gian ẩm

Về khả năng sử dụng của thép chịu thời tiết: Khả năng này được xem xét dựa trên lượng muối trong không khí và thời gian ẩm, là những thông số môi trường được cho là ảnh hưởng đáng kể đến sự tổn thất do ăn mòn.

Hình 5 thể hiện mối quan hệ giữa lượng muối trong không khí, thời gian ẩm và khả năng áp dụng của thép chịu thời tiết. Vòng tròn thể hiện điều kiện có thể sử dụng, bởi sự tổn thất do ăn mòn của năm thứ nhất là 0,03 mm hoặc thấp hơn và tốc độ ăn mòn giảm theo thời gian sau thí nghiệm phơi mẫu trong một vài năm. X thể hiện điều kiện không thể sử dụng do sự mất mát ăn mòn của năm thứ nhất nhiều hơn 0,03 mm hoặc tốc độ ăn mòn không tăng theo thời gian khi thử nghiệm ngoài trời trong nhiều năm được tiến hành. Hình 5 cho thấy, thép chịu thời tiết có thể được sử dụng mà không cần sơn khi lượng muối trong không khí là 0,05 mdd hoặc thấp hơn và thời gian ẩm là 6.400 giờ hoặc thấp hơn (độ ẩm tương đối là 85% hoặc thấp hơn).



Hình 5. Điều kiện có thể áp dụng của thép chịu thời tiết đối với lượng muối trong không khí và thời gian ẩm.

Kết luận

Việc đo các thông số môi trường và các thí nghiệm phơi mẫu đã được thực hiện tại Việt Nam nhằm làm rõ các tiêu chí sử dụng của thép chịu thời tiết ở các vùng khác nhau. Các kết quả có thể được tổng hợp như sau:

Từ lượng muối trong không khí và sự mất mát ăn mòn của năm thứ nhất, các tác giả đã ước đoán khoảng cách từ bờ biển, nơi mà thép chịu thời tiết có khả năng được sử dụng mà không cần sơn. Khoảng cách có thể áp dụng từ

bờ biển là 1,0 km trong vùng 1; 2,0 km trong vùng 2; 10 km trong vùng 3; 20 km trong vùng 4; 25 km trong vùng 5 và 2,0 km trong vùng 6.

Thép chịu thời tiết có thể được sử dụng mà không cần sơn khi lượng muối trong không khí dưới 0,05 mdd và thời gian ẩm dưới 6.400 giờ (độ ẩm tương đối dưới 85%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C. Miki and A. Ichikawa (2004), *Recent Bridge Engineering*, SUURIKOUGAKUSHA Co., Ltd, Japan, pp.30-42 (in Japanese).
- [2] Japan Road Association - JARA (2008), *Specifications for Highway Bridges Part II Steel Bridges: Examination of Durability*, Maruzen Co. Ltd., Japan, pp.81-86.
- [3] Japan Society of Steel Construction - JSSC (2006), "Potential and New Technologies of Weathering Steel Bridges", *JSSC Technical Report*, pp.181-184.
- [4] Đặng Đăng Tùng, Trần Duy Khanh, S. Miura, I. Kage, T. Okamoto, E. Iwasaki (2013), "Đánh giá ứng dụng thép chịu thời tiết trong điều kiện khí hậu ở Việt Nam", *Tạp chí Giao thông Vận tải*, **12**, tr.14-17.
- [5] Miura, S. Kage, I. Murase, M. Okamoto, T. Dang, and E. Iwasaki (2016), "Evaluation of applicability of weathering steel by exposure tests in Vietnam", *Proc., the 14th East Asia - Pacific Conf. on Structural Engineering and Construction*, Ho Chi Minh City University of Technology and Construction Publishing House, Vietnam, pp.1847-1854.
- [6] <http://ascelibrary.org/journal/ciegag>.
- [7] Nguyễn Thị Tuyết Trinh (2013), "Đánh giá ứng dụng thép chịu thời tiết qua kết quả thử nghiệm ban đầu ở Việt Nam", *Tạp chí Giao thông Vận tải*, **12**, tr.30-31.
- [8] Nguyễn Thị Tuyết Trinh (2014), "Kết quả điều tra tình trạng sử dụng của thép chịu thời tiết áp dụng cho cầu Chợ Thượng", *Tạp chí Giao thông Vận tải*, **5**, tr.16-19.
- [9] T.H.L. Le, T.S. Pham and L.H. Hoang (2007), "Results of studying atmospheric corrosion in Vietnam 1995-2005", *Science and Technology of Advanced Materials*, **8**, pp.552-558.
- [10] Public Works Research Institute - PWRI (1993), "Điều tra toàn quốc về muối clorua trong không khí - Mối quan hệ giữa sự phân bố địa lý của muối clorua trong không khí và gió", *Thông báo kỹ thuật của PWRI* (tiếng Nhật).
- [11] Public Works Research Institute - PWRI (1992), *Báo cáo ứng dụng thép chịu thời tiết cho cầu* (tiếng Nhật).

Ảnh hưởng của các thông số công nghệ cơ bản trong dập tạo hình chi tiết từ cặp phôi dạng tấm sử dụng chất lỏng áp suất cao

Đỗ Văn Vũ*, Nguyễn Đức Minh, Trần Anh Quân, Đinh Văn Duy

Viện Máy và Dụng cụ Công nghiệp, Bộ Công thương

Ngày nhận bài 17/4/2017; ngày chuyển phản biện 20/4/2017; ngày nhận phản biện 8/5/2017; ngày chấp nhận đăng 15/5/2017

Tóm tắt:

Công nghệ dập tạo hình chi tiết từ cặp phôi dạng tấm bằng chất lỏng áp suất cao (dập thủy tĩnh cặp phôi) là một hướng nghiên cứu mới trong dập tạo hình thủy lực. Công nghệ này cho phép dập các chi tiết rỗng có hình dạng phức tạp chỉ sau một chu trình tạo hình, giúp nâng cao năng suất so với dập tấm đơn (được 2 chi tiết sau một lần dập với cặp phôi không hàn), tạo hình được các chi tiết rỗng đa hướng trong không gian, từ các vật liệu khó biến dạng... Do vậy, nó được ứng dụng rất hiệu quả để tạo hình các chi tiết cho các ngành công nghiệp mũi nhọn như: Ôtô, hàng không, hàng tiêu dùng...

Từ khóa: Cặp phôi tấm, dập bằng chất lỏng, dập thủy tĩnh chi tiết cầu.

Chỉ số phân loại: 2.3

The effect of fundamental technological parameters on the hydroforming of sheet metal pairs

Van Vu Do*, Duc Minh Nguyen,
Anh Quan Tran, Van Duy Dinh

Industrial Machinery and Instruments Holding, Ministry of Industry and Trade

Received 17 April 2017; accepted 15 May 2017

Abstract:

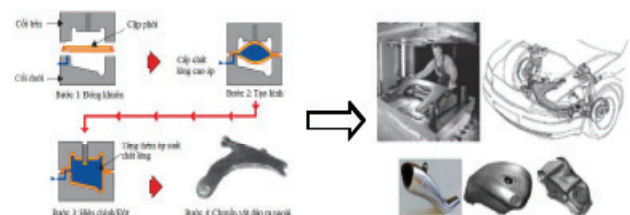
Hydroforming of sheet metal pairs is a new trend in forming hollow sophisticated parts via just one process with a higher output (doubled for unweld pairs), multi-directional parts, and/or parts from hard-to-process metals. The above-mentioned technology is supposed to dominate automobile, aerospace, and even consuming goods industries in developed countries. Initial achievements by Industrial Machineries and Instruments Holding on this field of study are discussed in this paper.

Keywords: Hydroforming, hydrostatic forming of spherical parts, sheet metal pairs.

Classification number: 2.3

Đặt vấn đề

Nội địa hóa các chi tiết trong các lĩnh vực như công nghiệp ô tô, xe máy, hàng tiêu dùng... đang là vấn đề đặt ra đối với các nhà sản xuất hiện nay ở Việt Nam. Công nghệ chế tạo các chi tiết từ cặp phôi dạng tấm sử dụng chất lỏng áp suất cao (Hydroforming of Sheet metal Pairs - HSP) để chế tạo một số chi tiết trong các lĩnh vực nêu trên đã và đang được nghiên cứu - triển khai tại các quốc gia có nền công nghiệp phát triển [1]. Công nghệ HSP sử dụng nguồn chất lỏng áp suất cao cấp vào giữa hai phôi (cặp phôi tấm ban đầu), áp suất chất lỏng sẽ tác dụng đồng thời lên hai phôi làm biến dạng dẻo phôi theo biên dạng của lòng cối. Chất lỏng là môi trường truyền áp suất thủy tĩnh, đóng vai trò như chày (chày mềm) trong công nghệ dập vuốt truyền thống để tạo hình chi tiết. Chất lỏng được sử dụng có thể là nước, dầu, emunxi. Sử dụng công nghệ này so với công nghệ dập tạo hình truyền thống (chày cứng - cối cứng) có những ưu điểm là có khả năng chế tạo được các chi tiết rỗng có hình dạng phức tạp, hai nửa chi tiết có chiều dày - vật liệu khác nhau...



Hình 1. Sơ đồ công nghệ và một số chi tiết được sản xuất bằng công nghệ HSP.

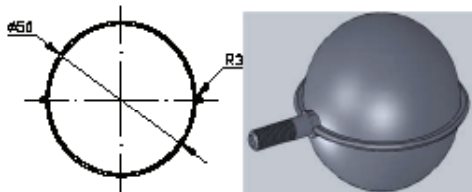
*Tác giả liên hệ: vuimiholding@gmail.com

Để có thể từng bước làm chủ công nghệ này nhằm nhanh chóng ứng dụng vào sản xuất trong nước, cần phải có các nghiên cứu về xây dựng hệ thống thiết bị, các thông số công nghệ ảnh hưởng trong quá trình HSP. Những nội dung này đã được các nhà khoa học từng bước thực hiện thông qua các đề tài nghiên cứu các cấp [2-4]. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thông số công nghệ chính là: Áp suất lòng cối (áp suất tạo hình p_{th} , áp suất hiệu chỉnh p_{hc}), lực chặn (Q_{ch}) đến chất lượng tạo hình (khả năng tạo hình, mức độ biến mỏng) và đặc trưng hình học của sản phẩm (chiều sâu tương đối H_c). Nhóm nghiên cứu sử dụng phương pháp mô phỏng số để xác định giới hạn tham số thực nghiệm và phương pháp thực nghiệm trên thiết bị do Viện Máy và Dụng cụ Công nghiệp (Viện IMI) xây dựng để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố công nghệ này trong quá trình tạo hình.

Nội dung nghiên cứu

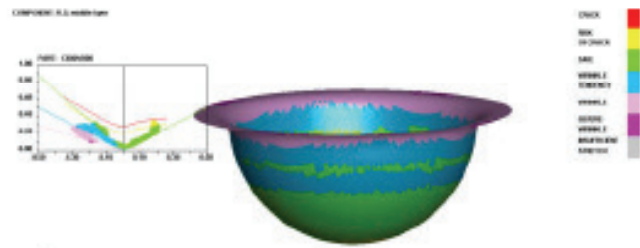
Vật liệu thí nghiệm: Thép tấm có mác DC04, chiều dày $s = 0,8$ mm.

Đối tượng nghiên cứu: Dập tạo hình chi tiết dạng cầu. Với các chi tiết có hình dạng phức tạp khi nghiên cứu thường đưa về các chi tiết đối xứng như dạng hình trụ, dạng cầu, hình hộp để nghiên cứu. Trong công nghệ dập truyền thống, chế tạo các chi tiết dạng cầu (hoặc côn phần thân) từ phôi tấm thường gặp khó khăn, vì ban đầu chày sẽ tiếp xúc với phôi tại một điểm là đỉnh của chày lúc đó khe hở giữa chày và cối sẽ bằng bán kính của hình cầu, do đó phần vật liệu giữa đỉnh chày và cối sẽ không được chặn, dẫn đến sản phẩm dễ bị nhăn, rách. Dạng cầu là chi tiết điển hình, nghiên cứu công nghệ sử dụng nguồn chất lỏng cao áp để tạo hình chi tiết dạng cầu từ cặp phôi tấm hàn sẽ thuận tiện cho quá trình nghiên cứu, so sánh, nhận xét, khảo sát, đánh giá kết quả, có thể áp dụng cho các dạng chi tiết tương tự khác.



Hình 2. Chi tiết thực nghiệm.

Mô phỏng số bằng phần mềm Dynaform xác định miền giá trị lực chặn tạo hình thành công: $Q_{ch} = (79,5 \div 148)$ kN tương ứng với các giá trị áp suất hiệu chỉnh $p_{hc} = (350 \div 386)$ bar. Đây là các giá trị làm căn cứ để tiến hành thực nghiệm các tham số Q_{ch} và p_{hc} đầu vào:



Hình 3. Sản phẩm mô phỏng tại $Q_{ch} = 190$ kN, áp suất hiệu chỉnh $p_{hc} = 133$ bar.

Chiều sâu tương đối khảo sát tại tâm chi tiết hình cầu: $H_c = h_c/d = 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,3; 0,35; 0,4; 0,45; 0,5$.

Hệ thống thiết bị thực nghiệm: Xây dựng hệ thống thực nghiệm nhằm mục đích là để khảo sát, xác định ảnh hưởng của thông số công nghệ: Lực chặn Q_{ch} , áp suất lòng cối đến chiều sâu tương đối H_c , mức độ biến mỏng ϵ . Các thành phần của hệ thống thực nghiệm sẽ được xây dựng, thiết kế, lựa chọn dựa trên điều kiện về thiết bị sẵn có tại phòng thí nghiệm của Viện IMI và các đơn vị phối hợp trong nước, khoảng giá trị các thông số được xác định thông qua mô phỏng số, tính toán lý thuyết và kích thước hình học của chi tiết (chiều sâu tạo hình). Hình 4 là hệ thống thực nghiệm được xây dựng và kết nối hoàn chỉnh.



Hình 4. Hệ thống thiết bị thực nghiệm.

Kết quả nghiên cứu và bàn luận

Ảnh hưởng của lực chặn Q_{ch} trong quá trình dập tạo hình

Để đánh giá ảnh hưởng của lực chặn Q_{ch} đến quá trình tạo hình thì giá trị lực chặn được điều chỉnh bằng phương pháp thay đổi áp suất trong xilanh chặn (p_{xlch}). Các giá trị lực chặn ban đầu được xác định căn cứ vào miền lực chặn được xác định từ mô phỏng số và bằng phương pháp thử sai. Từ kết quả thực nghiệm, bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm cực tiểu bình phương sai số, xây dựng được các phương trình quan hệ trong miền lực chặn tạo hình thành công ($Q_{ch} = 79,83 \div 148,25$ kN) đối với quá trình dập tạo hình chi tiết cầu:

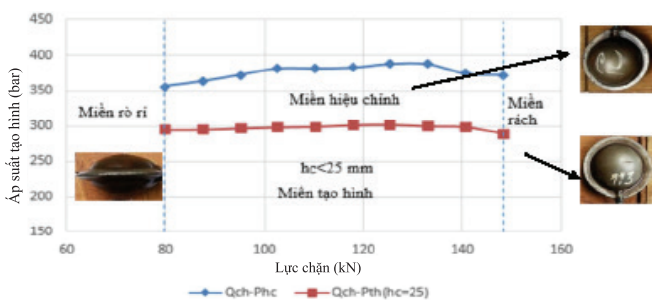
Phương trình quan hệ giữa lực chặn Q_{ch} và áp suất hiệu chỉnh p_{hc} :

$$p_{hc} = -0,0075Q_{ch}^2 + 1,7192Q_{ch} + 208,85 \text{ với } R^2 = 0,696 \quad (1)$$

Phương trình quan hệ giữa lực chặn Q_{ch} và áp suất tạo hình p_{th} đạt chiều sâu $h_c = 25$ mm:

$$p_{th} = -0,0181Q_{ch}^2 + 4,3713Q_{ch} + 120,9 \text{ với } R^2 = 0,9265 \quad (2)$$

Phương trình (2) có $R^2 > 0,8$ thể hiện tương quan chặt, còn phương trình (1) có $0,4 < R^2 < 0,8$ là tương quan trung bình. Xây dựng đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa lực chặn và áp suất lòng cối đạt chiều sâu $h_c = 25$ mm, áp suất hiệu chỉnh p_{hc} :



Hình 5. Miền làm việc của lực chặn và áp suất tạo hình trong HSP chi tiết cầu từ phôi tấm hàn.

Đồ thị cho thấy, các miền làm việc trong quá trình tạo hình chi tiết cầu từ cặp phôi tấm hàn như sau:

Miền rò rỉ: Tương ứng với các giá trị lực chặn nhỏ thì cối bị rò rỉ, không tạo hình đủ chiều sâu chi tiết, chi tiết không được dập tạo hình thành công. Ở giai đoạn ban đầu với p_{th} nhỏ thì quá trình tạo hình vẫn diễn ra, đến khi áp lực lòng cối lớn hơn giá trị lực chặn thì hai nửa cối sẽ bị đẩy tách nhau; quá trình tạo hình sẽ kết thúc khi liên kết hàn giữa hai phôi bị phá hủy, gây ra hiện tượng rò rỉ, mất áp; lực chặn không đủ để làm kín khi áp suất tạo hình tăng, do đó p_{th} tại thời điểm rò rỉ không đủ lớn để làm biến dạng dẻo phôi đạt chiều sâu $h_c = 25$ mm. Điểm đặc biệt là sản phẩm thực nghiệm hoàn toàn không bị nhăn phần vành khi lực chặn nhỏ như trong công nghệ gia công áp lực (GCAL) truyền thống, điều này có thể giải thích là do cơ chế làm kín của mỗi hàn, khi hai phôi bị đẩy tách rời nhau, chất lỏng tạo hình cũng đồng thời tác dụng lên vành chặn, có tác dụng như là lực chặn chống nhăn, nhiệm vụ làm kín là do liên kết hàn đảm nhiệm, do đó vành sản phẩm không bị nhăn khi lực chặn nhỏ.

Miền tạo hình: Các giá trị áp suất và lực chặn nằm trong miền này thì chi tiết đang trong quá trình tạo hình, chiều sâu đo được tại tâm chi tiết chưa đạt $h_c = 25$ mm.

Miền hiệu chỉnh: Với những giá trị lực chặn nằm trong

miền này ($Q_{ch} = 79,83 \div 148,25$ kN) khi áp suất lòng cối được bơm vào, chi tiết được tạo hình đủ chiều sâu, tuy nhiên vẫn cần phải tiếp tục tăng áp suất để phôi được áp sát vào lòng cối, các giá trị áp suất tương ứng với lực chặn nằm trong miền này được gọi là giá trị áp suất hiệu chỉnh p_{hc} .

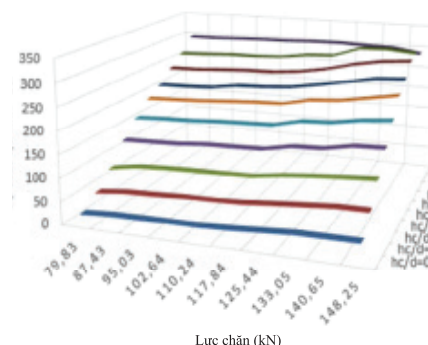
Miền phá hủy: Với các giá trị lực chặn lớn, sản phẩm dập bị rách phần đỉnh, quá trình tạo hình không thành công. Nguyên nhân là do lực chặn lớn làm tăng ma sát, gây cản trở quá trình kéo kim loại phần vành phôi vào lòng cối, khi áp suất tạo hình tăng, phần đỉnh phôi dưới tác dụng của ứng suất kéo theo hai hướng, phôi sẽ bị biến mỏng mảnh liệt và phá hủy khi chưa đạt chiều sâu $h_c = 25$ mm.

Kết quả thực nghiệm về ảnh hưởng của lực chặn trong quá trình dập tạo hình chi tiết từ cặp phôi tấm bằng chất lỏng áp suất cao đã chỉ ra: Lực chặn quyết định đến kết quả tạo hình, với lực chặn nhỏ cối bị rò rỉ, lực chặn lớn phôi sẽ bị rách phần đỉnh, do đó cần phải xác định lực chặn phù hợp để có được kết quả tạo hình đạt chất lượng. Từ phương trình (1) và (2) sẽ cho phép xác định các giá trị áp suất tạo hình cần thiết để đạt chiều sâu tương đối $h_c = 0,5$ và giá trị áp suất hiệu chỉnh dập chi tiết đạt chất lượng trong miền lực chặn tạo hình thành công.

Quan hệ áp suất tạo hình p_{th} và lực chặn Q_{ch} với chiều sâu tương đối H_c

Mối quan hệ giữa các thông số này trong quá trình tạo hình được xác định sẽ giúp các nhà thiết kế có cơ sở lựa chọn các thông số và hình dạng hình học hợp lý trong quá trình thiết kế sản phẩm và khuôn mẫu. Từ kết quả thực nghiệm quá trình tạo hình, được ghi nhận bởi phần mềm DASYLab, kết hợp với các công cụ khảo sát của phần mềm, đã xác định được miền giá trị của áp suất tạo hình và lực chặn tương ứng với mỗi giá trị của chiều sâu H_c .

Chúng tôi đã tiến hành xây dựng đồ thị quan hệ giữa áp suất lòng cối p_{th} tương ứng với các giá trị lực chặn Q_{ch} - chiều sâu tương đối H_c trong khoảng lực chặn tạo hình thành công $Q_{ch} = 79,83 \div 148,25$ kN (hình 6).



Hình 6. Đồ thị 3D biểu diễn mối quan hệ p_{th} - H_c - Q_{ch}

Từ kết quả khảo sát và đồ thị hình 6 cho thấy:

Với cùng một giá trị chiều sâu tương đối H_c , nếu lực chặn tăng $Q_{ch} = 79,83 \div 133,05$ kN ($p_{xch} = 21 \div 35$ bar) thì áp suất tạo hình cần thiết sẽ phải tăng tương ứng. Nguyên nhân là do lực chặn tăng đồng nghĩa với trở lực kéo phôi vào lòng cối tăng, do đó áp suất tạo hình cần thiết sẽ phải tăng lên để đảm bảo khả năng biến dạng của phôi đạt chiều sâu tương đối H_c .

Trong khoảng lực chặn lớn $Q_{ch} = 140,65 \div 148,25$ kN ($p_{xch} = 37 \div 39$ bar), áp suất tạo hình tăng tương ứng với mỗi giá trị chiều sâu tương đối cố định trong khoảng $H_c = 0,1 \div 0,4$, từ giá trị $H_c = 0,45 \div 0,5$ thì áp suất tạo hình bắt đầu giảm, có điều này là vì ở giai đoạn đầu, lực chặn lớn nên phôi khó kéo vào lòng cối khi áp suất chất lỏng tăng dẫn đến mức độ biến mỏng tăng, ở giai đoạn chiều sâu tương đối H_c lớn thì phôi đã bị biến mỏng mãnh liệt, do đó áp suất cần thiết để tạo hình trong giai đoạn này sẽ có xu hướng giảm.

Sử dụng phương pháp quy hoạch cực tiểu bình phương sai số, chúng tôi đã xây dựng được phương trình quan hệ giữa áp suất tạo hình p_{th} , độ sâu tương đối H_c trong miền giá trị lực chặn $Q_{ch} = 79,83 \div 148,25$ kN.

Phương trình quan hệ:

$$-Q_{ch} = 79,83 \text{ kN}; H_c = 1E-06 p_{th21}^2 + 0,0012 p_{th21} + 0,0374 \text{ với } R^2 = 0,9964 \quad (3)$$

$$-Q_{ch} = 87,43 \text{ kN}; H_c = 1E-06 p_{th23}^2 + 0,0012 p_{th23} + 0,0281 \text{ với } R^2 = 0,9975 \quad (4)$$

$$-Q_{ch} = 95,03 \text{ kN}; H_c = 2E-06 p_{th25}^2 + 0,0012 p_{th25} + 0,0267 \text{ với } R^2 = 0,998 \quad (5)$$

$$-Q_{ch} = 102,64 \text{ kN}; H_c = 2E-06 p_{th27}^2 + 0,001 p_{th27} + 0,0298 \text{ với } R^2 = 0,998 \quad (6)$$

$$-Q_{ch} = 110,24 \text{ kN}; H_c = 2E-06 p_{th29}^2 + 0,001 p_{th29} + 0,0316 \text{ với } R^2 = 0,9975 \quad (7)$$

$$-Q_{ch} = 117,84 \text{ kN}; H_c = 2E-06 p_{th31}^2 + 0,001 p_{th31} + 0,0292 \text{ với } R^2 = 0,998 \quad (8)$$

$$-Q_{ch} = 125,44 \text{ kN}; H_c = 3E-06 p_{th33}^2 + 0,0006 p_{th33} + 0,04 \text{ với } R^2 = 0,9959 \quad (9)$$

$$-Q_{ch} = 133,05 \text{ kN}; H_c = 2E-06 p_{th35}^2 + 0,0007 p_{th35} + 0,0311 \text{ với } R^2 = 0,9866 \quad (10)$$

$$-Q_{ch} = 140,65 \text{ kN}; H_c = 3E-06 p_{th37}^2 + 0,0005 p_{th37} + 0,0416 \text{ với } R^2 = 0,9766 \quad (11)$$

$$-Q_{ch} = 148,25 \text{ kN}; H_c = 3E-06 p_{th39}^2 + 0,0003 p_{th39} + 0,0474 \text{ với } R^2 = 0,9545 \quad (12)$$

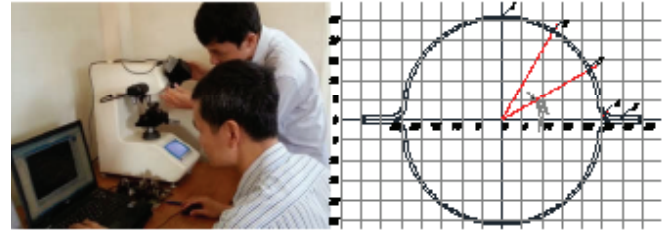
Các phương trình trên đều có hệ số tương quan $R^2 > 0,8$, vì vậy đây là quan hệ có mối tương quan chặt.

Kết luận: Các phương trình (3÷12) biểu diễn mối quan hệ giữa áp suất tạo hình và chiều sâu tương đối H_c trong miền lực chặn tạo hình thành công, từ phương trình cho phép xác định được áp suất tạo hình tương ứng với chiều sâu tương đối cần thiết.

Ảnh hưởng của Q_{ch} và p_{hc} đến mức độ biến mỏng ε của sản phẩm dập

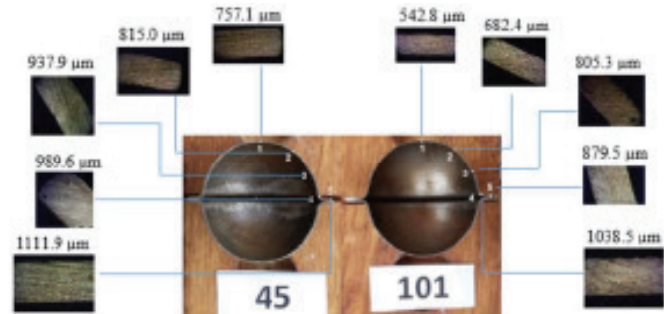
Mức độ biến mỏng của sản phẩm dập được chế tạo bằng GCAL là rất quan trọng đối với các nhà kỹ thuật. Mức độ biến mỏng (biến mỏng - biến dày) ảnh hưởng lớn

đến độ bền trong trạng thái làm việc của chi tiết (ví dụ: Chi tiết giá đỡ động cơ, giá treo tam giác của xe ô tô...). Chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của lực chặn Q_{ch} và áp suất hiệu chỉnh p_{hc} tương ứng đến mức độ biến mỏng cũng như xác định phân bố của chúng trên sản phẩm dập chi tiết cầu từ cặp phôi tấm hàn bằng công nghệ HSP trong miền tạo hình thành công $Q_{ch} = 79,83 \div 148,25$ kN.



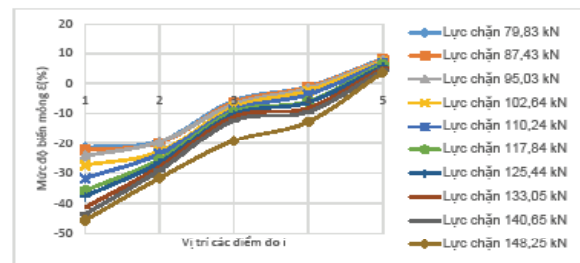
Hình 7. Vị trí đo mẫu.

Vì chi tiết là dạng hình cầu, đối xứng qua tâm nên chỉ tiến hành khảo sát trên 1/4 chi tiết thực nghiệm, các vị trí đo được biểu diễn trên hình 7. Mẫu thí nghiệm được cắt trên máy cắt dây CNC, sau đó được xử lý bề mặt cắt bằng phương pháp mài để đảm bảo phản quang khi đo trên máy, sau đó tiến hành đo trên máy đo FM7000 của hãng Future Tech (hình 8).



Hình 8. Mẫu đo 45 tại $Q_{ch} = 95,03$ kN và mẫu 101 tại $Q_{ch} = 148,25$ kN.

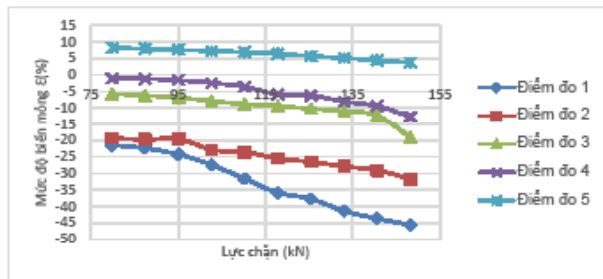
Từ số liệu đo [4], nhóm nghiên cứu tiến hành xây dựng đồ thị phân bố biến mỏng tại các điểm đo (hình 9) và đồ thị mức độ biến mỏng tại các vị trí đo khi thay đổi lực chặn (hình 10).



Hình 9. Phân bố mức độ biến mỏng theo các điểm đo khi Q_{ch} thay đổi.

Đồ thị hình 9 đã chỉ ra phân bố biến mỏng trên thành chi tiết dập, với mỗi giá trị lực chặn, chi tiết dập bị biến mỏng nhiều nhất tại phần đỉnh (điểm đo 1) và chiều dày tăng dần đến phần vành chi tiết (điểm 5).

Tại đỉnh chi tiết (điểm 1), biến mỏng lớn nhất $\varepsilon_{1bmmax} = -45,6\%$ tại giá trị lực chặn $Q_{ch} = 148,25$ kN tương ứng $p_{hc} = 372,33$ bar, biến mỏng nhỏ nhất $\varepsilon_{1bmmin} = -21,5\%$ tại giá trị lực chặn $Q_{ch} = 79,83$ kN tương ứng $p_{hc} = 356,37$ bar, biến mỏng là do thành phần ứng suất kéo hướng trục σ_z khi áp suất lòng cối tăng lên gây ra. Kết quả trên cho thấy, sử dụng lực chặn hợp lý không những giảm biến mỏng mà còn có thể giảm được năng lượng tiêu hao của thiết bị tạo lực chặn (máy dập), nâng cao tuổi thọ lòng khuôn. Chi tiết bị biến dày tại điểm 5, biến dày lớn nhất tại điểm này là $\varepsilon_{5bdmax} = 8,2\%$ ứng với lực chặn $Q_{ch} = 79,83$ kN tương ứng $p_{hc} = 356,37$ bar và biến dày nhỏ nhất là $\varepsilon_{5bdmin} = 3,7\%$ tại $Q_{ch} = 148,25$ kN tương ứng $p_{hc} = 372,33$ bar. Có điều này là do khi áp suất tạo hình tăng, phôi bị kéo vào lòng cối, trên phần vành chịu ứng suất nén theo phương tiếp tuyến σ_θ gây ra hiện tượng biến dày và biến dày giảm dần khi lực chặn tăng.



Hình 10. Đồ thị biểu diễn mức độ biến mỏng tại các điểm đo khi lực chặn thay đổi.

Đồ thị hình 10 cho thấy ảnh hưởng của lực chặn đến mức độ biến mỏng: Lực chặn tăng sẽ làm tăng mức độ biến mỏng trên thân chi tiết và làm giảm biến dày phần vành, do đó có thể sử dụng lực chặn trong dập tạo hình chi tiết từ cặp phôi tấm hàn để điều khiển mức độ biến mỏng (đồng chảy kim loại vào cối) trên thân chi tiết dập.

Sử dụng phương pháp quy hoạch cực tiểu bình phương sai số, xây dựng được phương trình biểu diễn mối quan hệ giữa Q_{ch} với $\varepsilon(\%)$ tương ứng với mỗi p_{hc} tại các vị trí đo [4] trong miền lực chặn tạo hình thành công $Q_{ch} = 79,83 \div 148,25$ kN:

$$-\varepsilon_1 = -0,0002Q_{ch}^2 - 0,3324Q_{ch} + 8,0165 \text{ với } R^2 = 0,9869 \quad (13)$$

$$-\varepsilon_2 = -0,002Q_{ch}^2 + 0,2816Q_{ch} - 10,832 \text{ với } R^2 = 0,9873 \quad (14)$$

$$-\varepsilon_3 = -0,0027Q_{ch}^2 + 0,4614Q_{ch} - 26,066 \text{ với } R^2 = 0,8988 \quad (15)$$

$$-\varepsilon_4 = -0,0008Q_{ch}^2 - 0,0116Q_{ch} - 13,05 \text{ với } R^2 = 0,978 \quad (16)$$

$$-\varepsilon_5 = -0,0006Q_{ch}^2 + 0,0628Q_{ch} + 6,7487 \text{ với } R^2 = 0,9989 \quad (17)$$

Các phương trình trên đều có hệ số tương quan $R^2 > 0,8$, vì vậy đây là quan hệ có mối tương quan chặt.

Như vậy, chi tiết cầu được dập tạo hình từ cặp phôi hàn bằng công nghệ HSP bị biến mỏng nhiều nhất ở phần đỉnh và biến dày phần vành, khác với dập vuốt truyền thống là biến mỏng lớn nhất ở phần thân. Các phương trình từ (13) đến (17) cho phép xác định giá trị mức độ biến mỏng tại các vị trí tương ứng trong miền lực chặn dập tạo hình thành công.

Kết luận

Bằng phương pháp mô phỏng số để xác định giá trị khảo sát ban đầu và bằng thực nghiệm, nhóm nghiên cứu đã xác định được ảnh hưởng của các thông số công nghệ quan trọng là lực chặn và áp suất lòng cối trong quá trình tạo hình. Thực nghiệm cho thấy, lực chặn quyết định đến khả năng tạo hình (thành công hoặc không), lực chặn và áp suất hiệu chỉnh ảnh hưởng đến chất lượng tạo hình (chiều sâu tương đối, mức độ biến mỏng). Chi tiết cầu được tạo hình bằng công nghệ HSP so với công nghệ dập vuốt truyền thống cho thấy những ưu điểm nổi bật là sản phẩm dập không bị nhăn trên phần thân và vành, không cần chế tạo chày, chế tạo được chi tiết hoàn chỉnh sau một chu trình tạo hình, chất lượng bề mặt tốt hơn. Từ kết quả nghiên cứu thu được giúp các nhà kỹ thuật nắm bắt được các quy luật tác động, xác định được ảnh hưởng của các thông số công nghệ chính trong quá trình tạo hình theo công nghệ HSP, lựa chọn bộ thông số công nghệ hợp lý, tạo điều kiện đưa ra các quyết định nhanh chóng và chính xác khi tính toán, thiết kế để có thể ứng dụng công nghệ này trong thực tiễn chế tạo ra các sản phẩm đạt yêu cầu kỹ thuật, giảm thời gian và chi phí chuẩn bị sản xuất và sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Phạm Văn Nghệ (2006), *Công nghệ dập thủy tĩnh*, Nhà xuất bản Bách khoa - Hà Nội.

[2] Viện Máy và Dụng cụ Công nghiệp (2011), *Nghiên cứu công nghệ, thiết kế chế tạo hệ thống khuôn dập cặp chi tiết dạng tấm mỏng bằng nguồn chất lỏng áp suất cao*, Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ Công thương.

[3] Viện Máy và Dụng cụ Công nghiệp (2014), *Nghiên cứu ảnh hưởng của các thông số công nghệ cơ bản trong quá trình dập tạo hình vật liệu tấm sử dụng chày chất lỏng cao áp*, Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ Công thương.

[4] Đình Văn Duy (2016), *Nghiên cứu công nghệ dập tạo hình đồng thời cặp chi tiết dạng tấm mỏng bằng nguồn chất lỏng áp suất cao*, Luận án Tiến sỹ kỹ thuật, Viện Máy và Dụng cụ Công nghiệp.

Nghiên cứu tính toán lực cản tác động lên tào cáp khi luồn cáp vào ống gen trong thi công dầm cầu bê tông cốt thép dự ứng lực

Nguyễn Xuân Khang, Nguyễn Chí Minh*

Viện Khoa học và Công nghệ Giao thông Vận tải

Ngày nhận bài 22/5/2017; ngày chuyển phản biện 25/5/2017; ngày nhận phản biện 21/6/2017; ngày chấp nhận đăng 26/6/2017

Tóm tắt:

Bài báo trình bày phương pháp tính toán lực cản giữa tào cáp dự ứng lực với thành ống gen và giữa các tào cáp trong cùng một bó cáp khi luồn tào cáp vào ống gen. Kết quả nghiên cứu là cơ sở cho công tác thiết kế cũng như việc lựa chọn máy luồn cáp phục vụ thi công dầm cầu bê tông dự ứng lực.

Từ khoá: Máy luồn cáp dự ứng lực, tào cáp dự ứng lực.

Chỉ số phân loại: 2.3

Research on calculating the drag impact on prestressing steel strand when pushing strands into the duct in the construction of girders

Xuan Khang Nguyen, Chi Minh Nguyen*

Institute of Transport Science and Technology

Received 22 May 2017; accepted 26 June 2017

Abstract:

This article presents the method of calculating the resistance between the prestressing steel strand and the duct wall, and between the strands of the same cable bundle when threading the cable into the duct. Research result is the basis for the design as well as the selection of strand pushing machines for the construction of prestressed concrete girders.

Keywords: Prestressing steel strand, strand pushing machine.

Classification number: 2.3

Đặt vấn đề

Kết cấu bê tông dự ứng lực (DƯL) hiện đang được áp dụng rộng rãi trong các công trình xây dựng hạ tầng giao thông, thủy lợi, công nghiệp... Đặc biệt, trong các công trình cầu bê tông ngày nay hầu như đều sử dụng dầm dạng kết cấu bê tông DƯL kéo căng sau.

Trong quy trình thi công cầu kiện bê tông cốt thép DƯL nói chung và các dầm cầu bê tông cốt thép DƯL kéo căng sau nói riêng có công đoạn không thể thiếu là luồn các tào cáp DƯL (thép DƯL) vào trong lòng các ống gen đã đặt sẵn bên trong cầu kiện [1]. Đây là một trong những công đoạn mất nhiều thời gian và công sức, đặc biệt đối với các dầm hộp liên tục vượt khẩu độ lớn thi công theo công nghệ hiện đại như đúc hẫng, lắp hẫng hoặc dây văng có nhiều tào cáp trong một bó với chiều dài lớn (từ 70 tới 150 m với cầu đúc hẫng, lớn hơn 200 m với cầu dây văng) thì việc luồn bằng tay là không thể, khi đó công đoạn luồn tào cáp DƯL phải được thực hiện bằng các thiết bị chuyên dùng.

Để lựa chọn được loại thiết bị luồn tào cáp phù hợp cũng như làm cơ sở cho việc thiết kế máy luồn cáp, một trong những thông số quan trọng cần phải nghiên cứu tính toán là lực cản ma sát tác động lên tào cáp khi luồn vào trong ống gen, từ đó tính toán được lực đẩy cần thiết của máy.

Nội dung nghiên cứu

Các tào cáp DƯL (Strand) cần phải được luồn vào trong ống gen bằng tole sóng mạ kẽm (Corrugated Metal Duct) hoặc polyethylene (Corrugated Plastic Duct) đặt sẵn bên trong dầm cầu bê tông DƯL. Tùy vào từng loại dầm cầu mà

*Tác giả liên hệ: Email: chiminh73@gmail.com

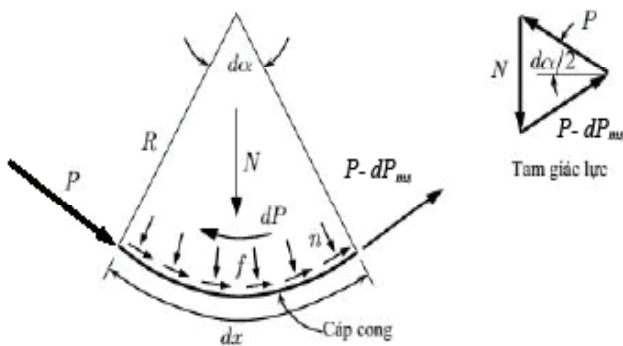
mỗi ống gen có chứa các bó cáp gồm 1 tao cáp DUL hoặc 2, 4, 7, 12, 19, 22 đến 31 tao cáp..., thậm chí tới 49 tao cáp. Trong quá trình đẩy tao cáp vào trong ống gen, lực đẩy của máy truyền lên tao cáp DUL phải thắng được lực cản ma sát giữa tao cáp với thành ống gen và lực cản ma sát giữa các tao cáp trong cùng một bó cáp với nhau.

Lực ma sát này thường được phân biệt do ba nhóm nguyên nhân: Do sự chuyển hướng quỹ đạo cáp theo chủ định của người thiết kế dầm cầu và sự thay đổi góc không mong muốn của cáp dọc theo chiều dài; do trọng lượng bản thân cáp; do các nguyên nhân ngẫu nhiên khác như ma sát do các tao cáp trong cùng một ống gen bị xoắn vặn vào nhau, do đầu tao cáp đang luôn gặp phải vật cản lọt vào trong ống gen...

Để tính toán các thành phần lực cản trên, qua nghiên cứu các tài liệu của nước ngoài [2-5], nhóm nghiên cứu đưa ra các mô hình và cách tính như sau:

Xét lực ma sát do sự chuyển hướng quỹ đạo và sự thay đổi góc của tao cáp

Tương ứng hai thành phần lực cản ma sát do sự chuyển hướng quỹ đạo cáp theo chủ định của người thiết kế và do sự thay đổi góc không mong muốn của cáp dọc theo chiều dài thường được gọi là lực do “ma sát cong” (Curvature Frictional) và lực do “ma sát lắc” (Wobble Frictional).



Hình 1. Lực do “ma sát cong”.

Khi máy đẩy tao cáp DUL với lực đẩy là P, ta xét nếu trên chiều dài dx cáp DUL đổi hướng một góc là $d\alpha$ thì sự đổi hướng này sẽ sinh ra một lực vuông góc với tiếp tuyến của cáp là N được tính như sau (hình 1):

$$N = 2P \sin\left(\frac{d\alpha}{2}\right)$$

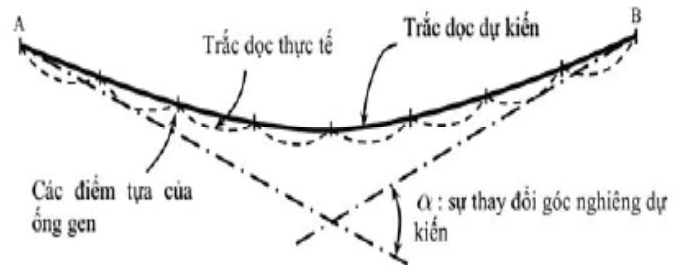
Nếu hệ số ma sát giữa tao cáp và ống gen là μ thì lực do “ma sát cong” trên chiều dài dx sẽ là:

$$dP_{msc} = \mu N = \mu \cdot 2P \sin\left(\frac{d\alpha}{2}\right)$$

Do góc lệch thường nhỏ nên $\sin\left(\frac{d\alpha}{2}\right) \approx \frac{d\alpha}{2}$, khi đó lực

do “ma sát cong” ứng với góc chuyển hướng $d\alpha$ là:

$$dP_{msc} = \mu \cdot P \cdot d\alpha \quad (1)$$



Hình 2. Lực do “ma sát lắc”.

Độ lớn của lực do “ma sát lắc” phụ thuộc vào độ cứng của ống gen, đường kính ống (ống càng rộng thì lực ma sát càng nhỏ), khoảng cách giữa các điểm gối tựa hoặc treo của ống, kiểu cáp, kiểu ống và phương pháp thi công. Lực do “ma sát lắc” trên chiều dài dx của cáp là (hình 2):

$$dP_{msl} = k \cdot P \cdot dx \quad (2)$$

Do đó, tổng lực “ma sát cong” và “ma sát lắc” trên chiều dài dx theo (1) và (2) là:

$$dP_{ms} = \mu \cdot P \cdot d\alpha + k \cdot P \cdot dx \quad (3)$$

Tổng lực ma sát do “ma sát cong” và “ma sát lắc” trên chiều dài đoạn dầm AB = L (m) là:

$$\int_{P_A}^{P_B} \frac{dP_{ms}}{P} = \mu \int_0^{\alpha} d\alpha + k \int_0^L dx \quad (4)$$

Kết quả của việc giải phương trình (4) ta được:

$$P_{ms} = P \cdot [1 - e^{-(\mu \cdot \alpha + k \cdot L)}] \quad (5)$$

Trong đó: P là lực đẩy của máy truyền lên tao cáp DUL; P_{ms} là tổng lực ma sát từ “ma sát cong” và “ma sát lắc” trong tao cáp DUL giữa hai đầu dầm cầu; L là chiều dài tao cáp luôn trong ống gen giữa hai đầu dầm (m); μ là hệ số ma sát giữa tao cáp với ống gen; α là tổng góc thay đổi góc nghiêng của tao cáp giữa hai đầu dầm cầu (rad); k là hệ số “ma sát lắc” trên đơn vị chiều dài tao cáp DUL (m^{-1}).

Hệ số ma sát μ phụ thuộc vào các đặc trưng bề mặt của cáp DUL và ống gen, giá trị của μ có thể thay đổi từ 0,05 đến 0,50. Giá trị của đại lượng này được cung cấp trong các tiêu chuẩn thiết kế. Hệ số “ma sát lắc” k phụ thuộc vào hệ số ma sát và độ cứng của ống và có thể thay đổi từ 0,003/m đến 0,0066/m. Hệ số ma sát tăng khi bán kính cong giảm,

khi lực kéo tăng và có sự rỉ bề mặt. Các bảng 1, 2, 3 lần lượt cung cấp các giá trị hệ số ma sát được khuyến nghị trong các tiêu chuẩn ACI, CEB-FIP và 22 TCN 272:05.

Bảng 1. Phạm vi của hệ số ma sát được ACI khuyến nghị.

Dạng cáp DUL	Hệ số μ	Hệ số k (theo mét)
Cáp sợi đơn	0,15-0,25	0,0033-0,0049
Tạo cáp 7 sợi	0,15-0,25	0,0016-0,0066
Thanh cường độ cao	0,08-0,30	0,0003-0,0020
Cáp nằm trong ống gen kim loại - tạo 7 sợi	0,15-0,25	0,00066
Cáp bọc mờ, không dính bám - tạo 7 sợi	0,05-0,15	0,0010-0,0066
Cáp bọc matit - sợi và tạo 7 sợi	0,05-0,15	0,0033-0,0066

Bảng 2. Các giá trị hệ số ma sát đại diện do CEB-FIP khuyến nghị cho cáp DUL có bán kính cong lớn hơn 6 m.

Dạng cáp DUL	Hệ số μ	Hệ số k (theo mét)
Cáp nằm trong ống gen (cáp có vỏ bọc)	0,50	0,0050
Cáp nằm trong các ống bọc bằng kim loại	0,20	0,0020
Các sợi kéo nguội	0,20	0,0020
Tạo cáp (thường gồm 7 sợi xoắn bên vào nhau)	0,25	0,0025
Các sợi tròn trơn, các sợi có gờ	0,30	0,0030

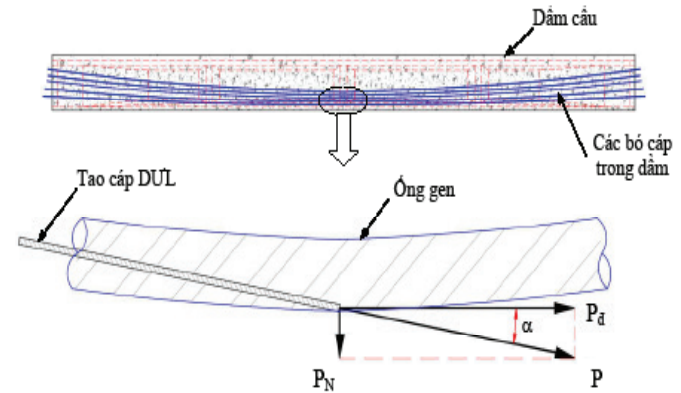
Bảng 3. Các giá trị hệ số ma sát do 22 TCN 272:05 khuyến nghị.

Dạng cáp DUL	Loại ống gen	Hệ số μ	Hệ số k (theo mét)
Sợi hay tạo	Ống thép mạ cứng hay nửa cứng	0,15-0,25	$6,6 \times 10^{-7}$
	Vật liệu polyethylene	0,23	$6,6 \times 10^{-7}$
	Các ống chuyển hướng bằng thép cứng cho bó thép ngoài	0,25	$6,6 \times 10^{-7}$
Thanh cường độ cao	Ống thép mạ	0,30	$6,6 \times 10^{-7}$

Xét lực ma sát do trọng lượng bản thân của tạo cáp

Các ống gen chứa tạo cáp trong dầm cầu bê tông DUL thường có hình dạng võng xuống (trắc dọc cáp thường

được bố trí theo dạng parabol dựa trên biểu đồ mô men uốn) để sau khi kéo căng các bó cáp DUL thì dầm có xu hướng võng lên tạo ra độ võng theo yêu cầu.



Hình 3. Bố trí ống gen trong dầm (trên) và mô hình tính lực cản ma sát khi luồn cáp.

Độ võng của ống gen tùy thuộc vào từng loại dầm, kích thước dầm (chiều cao, chiều dài nhịp), tải trọng và vị trí từng bó cáp trên dầm. Việc luồn các tạo cáp này vào trong ống gen càng gặp bất lợi khi độ võng của ống gen càng lớn, lúc này góc nghiêng của tạo cáp so với phương nằm ngang càng lớn.

Ta xét một tạo cáp DUL được máy đẩy vào trong ống gen với góc nghiêng α so với phương ngang, lực đẩy của máy truyền lên tạo cáp là P.

Tại đầu tạo cáp khi đó lực đẩy được phân thành 2 thành phần (hình 3):

+ Thành phần nằm ngang P_d có tác dụng đẩy tạo cáp vào trong ống gen.

+ Thành phần thẳng đứng P_N có tác dụng làm gia tăng áp lực của tạo cáp lên thành ống gen. P_N cùng với trọng lượng G của tạo cáp tạo ra lực ma sát giữa tạo cáp với ống gen.

$$\text{Ta có: } P_d = P \cdot \cos \alpha, P_N = P \cdot \sin \alpha$$

Khi đó lực ma sát giữa tạo cáp và ống gen trong trường hợp này là:

$$F_{ms} = (G + P_N) \cdot \mu = (G + P \cdot \sin \alpha) \cdot \mu \quad (6)$$

Trong đó:

+ G - Trọng lượng một tạo cáp luồn trong ống gen (kg):

$$G = L \cdot \gamma \quad (7)$$

Với L là chiều dài tạo cáp luồn trong ống gen (m); γ là trọng lượng một mét chiều dài tạo cáp (kg/m).

- + μ - Hệ số ma sát giữa tao cáp với ống gen.
- + α - Góc nghiêng của tao cáp đẩy so với phương ngang.

Xét lực ma sát do nguyên nhân ngẫu nhiên khác

Khi thi công đẩy nhiều tao cáp vào trong một ống gen (bó nhiều tao cáp) có thể gặp trường hợp ngẫu nhiên không mong muốn như tao cáp đang đẩy bị vặn xoắn với các tao cáp đã được luồn vào từ trước (điều này rất dễ gặp khi luồn những tao cáp cuối của bó có nhiều tao cáp), đầu tao cáp đang đẩy gặp phải vật cản lọt vào ống gen trong quá trình đổ bê tông hoặc mép ống gen bị quần lên trong lòng ống... Khi đó lực đẩy tao cáp phải đủ lớn để ngoài việc khắc phục lực ma sát còn phải đẩy tao cáp vượt được các chướng ngại ngẫu nhiên không mong muốn gặp phải như đã nêu.

Giá trị lực ma sát giữa tao cáp với ống gen là tổng lực ma sát do “ma sát cong” và “ma sát lắt” P_{ms} tính theo biểu thức (5) và lực ma sát giữa tao cáp và ống gen do trọng lượng tao cáp F_{ms} tính theo (6). Nhưng việc xác định chính xác lực cần thiết để đẩy tao cáp vượt các chướng ngại ngẫu nhiên không mong muốn bằng tính toán là rất khó. Vì vậy qua nghiên cứu tham khảo các tài liệu và thiết bị hiện có trên thế giới cũng như kinh nghiệm thi công tại Việt Nam thì nhận thấy việc lựa chọn lực đẩy cáp thiết kế cho máy được tính theo giá trị lực ma sát giữa tao cáp với ống gen sau đó tăng thêm 20 đến 30%.

Lực đẩy của máy tính theo giá trị lực ma sát giữa tao cáp với ống gen là:

$$P = (P_{ms} + F_{ms}) \quad (8)$$

Thay (5) và (6) vào (8) ta được:

$$P = P \cdot [1 - e^{-(\mu \cdot \alpha + k \cdot L)}] + (G + P \cdot \sin \alpha) \cdot \mu$$

$$\Leftrightarrow P = \frac{G \cdot \mu}{e^{-(\mu \cdot \alpha + k \cdot L)} - \mu \cdot \sin \alpha} \quad (9)$$

Trong đó: P là lực đẩy của máy truyền lên tao cáp DUL; L là chiều dài tao cáp cáp luồn trong ống gen (giữa hai đầu dầm) [m]; G là trọng lượng một tao cáp luồn trong ống gen (kg); μ là hệ số ma sát giữa tao cáp với ống gen (tham khảo bảng 1, 2 và 3); k là hệ số “ma sát lắt” trên đơn vị chiều dài tao cáp DUL (tham khảo bảng 1, 2 và 3); α là góc nghiêng của tao cáp đẩy so với phương ngang.

Qua khảo sát các dầm cầu bê tông DUL đã, đang và sắp thi công ta có các thông số đầu vào cho việc tính toán như sau:

- Đường kính tao cáp lớn nhất: $d_c = 15,2$ mm (theo tiêu chuẩn ASTM A416) loại không vỏ bọc có $\gamma = 1,102$ kg/m.
- Chiều dài tối đa tao cáp luồn trong ống gen: $L = 200$ m (đối với các bó cáp có chiều dài lớn hơn 200 m thì tiến hành luồn từ hai đầu vào).

- Hệ số ma sát giữa tao cáp với ống gen trong dầm cầu thường sử dụng ống gen bằng tole sóng mạ kẽm hoặc polyethylene ($\mu = 0,25$).

- Hệ số “ma sát lắt” trên đơn vị chiều dài tao cáp DUL với tao cáp 7 sợi ($k = 0,0066$ /m).

- Góc nghiêng của tao cáp đẩy so với phương ngang: Theo 22TCN 272:05 (Tiêu chuẩn thiết kế cầu) [6] thì với các dầm cầu bê tông DUL thường có α từ 0 đến 30° tùy theo độ võng của từng bó cáp, để tính toán ta lấy $\alpha = 30^\circ = 0,5236$ rad.

Thay các giá trị trên vào (7) và (9) ta tính được:

$$P = 355,56 \text{ kG}$$

Lực cần thiết để đẩy tao cáp vượt các chướng ngại ngẫu nhiên không mong muốn ta lấy bằng 30% lực ma sát như đã tính. Khi đó lực đẩy tao cáp cần thiết của máy là:

$$P_{dm} = 1,3; P = 462,23 \text{ kG}$$

Căn cứ vào giá trị lực đẩy cần thiết như vừa tính, ta có thể lựa chọn được máy luồn cáp phù hợp hoặc làm cơ sở cho việc tính toán thiết kế máy mới.

Kết luận

Việc sử dụng thiết bị cơ giới hóa, tự động hóa phục vụ công tác thi công dầm cầu bê tông DUL là xu hướng hiện nay trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Máy luồn cáp là một trong những thiết bị rất hữu ích trong thi công dầm cầu bê tông DUL, giúp tăng năng suất, đảm bảo chất lượng công trình và giảm sức lao động của con người. Một trong những thông số quan trọng để lựa chọn được máy phù hợp là trị số lực cản tác động lên tao cáp trong khi luồn vào trong ống gen. Kết quả của nghiên cứu này là cơ sở quan trọng cho việc tính lực đẩy cần thiết của máy, từ đó giúp cho việc thiết kế, lựa chọn máy phù hợp với từng điều kiện thi công cụ thể, nhằm mang lại hiệu quả kinh tế - kỹ thuật cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Bộ GTVT (1998), *Tiêu chuẩn ngành 22TCN 247:98 - Quy trình thi công và nghiệm thu dầm cầu bê tông DUL*.
- [2] Amlan K. Sengupta and Devdas Menon (2001), *Prestressed Concrete Structure*, Indian Institute of Technology Madras.
- [3] Gail S. Kelley (2000), “Prestress Losses in Post - Tensioned Structures”, *PTI Technical Notes*, Issue 10, pp.1-3.
- [4] Modjeski and Masters (2003), *Comprehensive Design Example for Prestressed Concrete Girder Superstructure Bridge with Commentary*, Task order DTFH61-02-T-63032.
- [5] U.S. Department of Transportation, Federal Highway Administration (2013), *Prestress Manual-Post Tensioning Tendon Installation and Grouting Manual*, Report No. FHWA-NHI-13-026.
- [6] Bộ GTVT (2005), *Tiêu chuẩn ngành 22TCN 272:05 - Tiêu chuẩn thiết kế cầu*.

Nghiên cứu mạ niken-volfram compozit định hướng thay thế lớp mạ crôm cứng

Nguyễn Văn Chiến¹, Nguyễn Văn Tú^{2*}

¹Khoa Công nghệ hóa học, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Viện Hóa học - Vật liệu, Viện Khoa học và Công nghệ Quân sự

Ngày nhận bài 28/3/2017; ngày chuyển phản biện 18/4/2017; ngày nhận phản biện 5/5/2017; ngày chấp nhận đăng 9/5/2017

Tóm tắt:

Thời gian gần đây, lớp mạ hợp kim niken-volfram (Ni-W) phát triển và có tiềm năng thay thế cho lớp mạ crôm cứng để ứng dụng trong kỹ thuật. Nghiên cứu này khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện, công nghệ mạ đến tính chất cơ lý, thành phần hóa học của lớp mạ Ni-W. Các kết quả phân tích SEM-EDS đã chỉ ra, lớp mạ Ni-W có thành phần W từ 4,5 đến 14,2% và hàm lượng W phụ thuộc vào mật độ dòng. Khi hàm lượng W trong hợp kim khoảng 10,3-14,2%, độ cứng hợp kim đạt 880 kG/mm² và có thể ứng dụng thay thế lớp mạ crôm cứng.

Từ khóa: Hợp kim Ni-W, mạ Ni-W, Ni-W compozit.

Chỉ số phân loại: 2.5

Study on nickel-tungsten composite plating oriented to replace hard chromium plating layers

Van Chien Nguyen¹, Van Tu Nguyen^{2*}

¹Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry

²Institute of Chemistry - Materials, Institute of Military Science and Technology

Received 28 March 2017; accepted 9 May 2017

Abstract:

Nowadays, nickel-tungsten plating process has a high potential of alternating the electroplating of hard chromium in engineering applications. In this work, mechanical properties and chemical composition of the Ni-W coating have been investigated. The results show that the electrodeposits have the W contents of 4.5, 8.6, 10.7, 14.2, and 10.3% at the current densities of 0.1, 0.2, 0.3, 0.5, and 1.0 A/dm², respectively. Moreover, the alloys with the W contents of 10.3-14.2% exhibit the hardness about 880 kG/mm².

Keywords: Ni-W alloy, Ni-W composite, Ni-W plating.

Classification number: 2.5

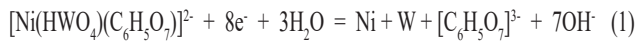
Mở đầu

Lớp mạ crôm có nhiều ưu điểm về tính chống ăn mòn, chịu mài mòn và ma sát. Lớp mạ crôm cứng có cấu tạo và tổ chức khác với crôm đúc, có độ cứng và chịu mài mòn rất cao, dùng để mạ phục hồi những chi tiết bị mài mòn như xi lanh, pittông, chi tiết máy, khuôn ép nhựa... [1, 2]. Công nghệ mạ crôm truyền thống là từ dung dịch mạ có axit crômíc (Cr(VI)) và ion sunfat. Tuy nhiên, do việc sử dụng hóa chất trên cơ sở hợp chất Cr(VI) gây độc (tác nhân gây ung thư) nên tại nhiều nước công nghiệp phát triển hiện nay người ta đưa ra các quy định hạn chế hoặc cấm sử dụng hợp chất Cr(VI) để cromat hóa cho lớp mạ kẽm, nhôm hoặc hợp kim, cũng như dung dịch mạ crôm. Vì vậy, việc thay thế hoặc sử dụng hạn chế hợp chất Cr(VI) trong các dung dịch mạ crôm hoặc sử dụng các lớp mạ có tính chất thay thế lớp mạ từ dung dịch chứa Cr(VI), hoặc mạ crôm từ dung dịch Cr(III) đang thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu trong nước và quốc tế [3-10]. Những nghiên cứu gần đây chỉ ra các lớp mạ hợp kim niken-volfram, coban-volfram có các tính chất cơ lý, hiệu quả bảo vệ chống ăn mòn tương đương lớp mạ crôm cứng, đặc biệt đối với các chi tiết làm việc ở điều kiện chịu ma sát và nhiệt độ cao [11-15]. Đối với mạ hợp kim Ni-W, các nghiên cứu cho thấy dung dịch amonicitrat [3] dễ sử dụng, hiệu quả và có nhiều đặc tính ưu việt khác. Cơ chế tạo hợp kim Ni-W compozit trong dung dịch phức chứa muối citrat đã được các tác giả trước đây nghiên cứu [3, 8] và giải thích theo cơ chế sau:

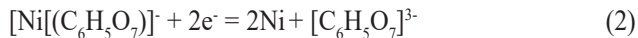
Trong dung dịch, các anion WO_4^{2-} (volframát) và $C_6H_5O_7^{3-}$ (citrat) tạo thành tổ hợp phức dạng:

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenvantu882008@yahoo.com

$H^+ + WO_4^{2-} + C_6H_5O_7^{3-} \rightarrow [(HWO_4)(C_6H_5O_7)]^{4-}$ hoặc kết hợp với Ni^{2+} thành $[(Ni)(HWO_4)(C_6H_5O_7)]^{2-}$ và phản ứng phóng điện từ phức này, tạo kết tủa đồng thời Ni-W.



Ngoài ra, đối với Ni^{2+} , có thể phóng điện trực tiếp từ phức $Ni(C_6H_5O_7)_2$, tạo kết tủa Ni kim loại.



Do vậy, thành phần hợp kim Ni-W, tính chất lớp mạ sẽ phụ thuộc rất lớn vào điện thế xảy ra trên điện cực, hay trực tiếp là mật độ dòng điện.

Trong bài báo này, bước đầu chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu dung dịch mạ hợp kim Ni-W từ dung dịch muối citrat, khảo sát ảnh hưởng của mật độ dòng đến thành phần hóa học và tính chất cơ lý, định hướng thay thế lớp mạ crom cứng truyền thống.

Thực nghiệm

Hóa chất, thiết bị

Các hóa chất sử dụng bao gồm: $NiSO_4 \cdot 6H_2O$, Na_2WO_4 , $Na_3C_6H_5O_7$, $(NH_4)_2SO_4$, HCl, NH_4OH (loại tinh khiết phân tích PA).

Các thiết bị bao gồm: Dụng cụ thủy tinh, thiết bị gia nhiệt, chỉnh lưu.

Dung dịch mạ hợp kim Ni-W được lựa chọn khảo sát có thành phần là: 60-80 g/l $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ + 50 g/l Na_2WO_4 + 60-80 g/l $Na_3C_6H_5O_7$ (natri citrat) + 60 g/l $(NH_4)_2SO_4$. Chỉnh pH = 6 đến 7 bằng axit HCl loãng, chạy điện ở mật độ dòng catot 0,01-0,05 A/dm², thời gian 90-120 phút, nhiệt độ 65°C.

Chuẩn bị mẫu đo và chế độ mạ

Đối với mẫu đo ảnh SEM, phân tích EDS, XRD được mạ trên vật liệu đồng đỏ có diện tích khả kiến 2 cm², thời gian mạ 30 phút, ở các chế độ mật độ dòng khác nhau.

Đối với mẫu đo độ cứng, độ mài mòn được mạ trên mẫu chuẩn làm bằng vật liệu thép 9XC, tổng hai mặt mạ (3163,55 mm²), được mạ trong thời gian 90 và 60 phút, tương ứng ở mật độ dòng 0,1 A/dm² và 0,3 A/dm². Riêng mẫu mạ crom cứng được mạ trong dung dịch và chế độ như sau: CrO_3 250 g/l, H_2SO_4 2,5 g/l, Cr^{3+} khoảng 3-5 g/l, nhiệt độ 55°C, mật độ dòng 30 A/dm², thời gian 30 phút, chi tiết mẫu chuẩn tương tự mẫu mạ hợp kim Ni-W.

Các mẫu trước khi mạ được đánh bóng qua giấy giáp số mịn, chủng loại 400, 600, 1500 và 2000 (Nhật Bản).

Phương pháp nghiên cứu

Các phương pháp phân tích hóa lý hiện đại được sử

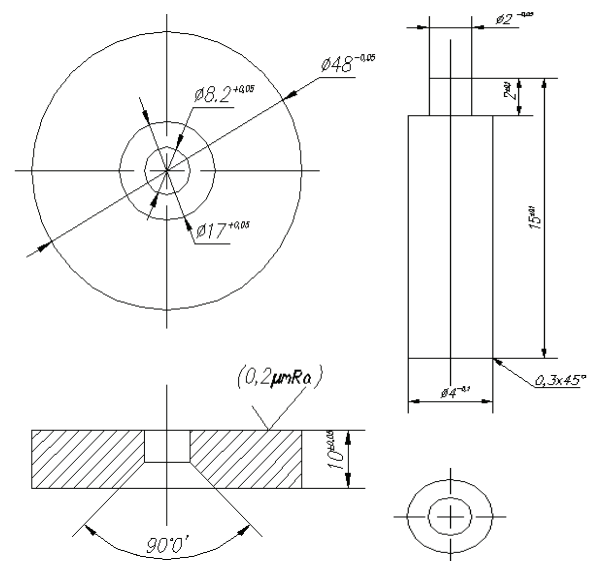
dụng để phân tích đánh giá chất lượng lớp mạ Ni-W composit. Dưới đây giới thiệu sơ lược các phương pháp đo và thiết bị đo sử dụng đánh giá, phân tích chất lượng lớp mạ.

Chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM), kết hợp phân tích phổ tán xạ năng lượng tia X (EDS) được phân tích trên thiết bị JSM 6610 LA-Jeol (Nhật Bản) tại Viện Hóa học - Vật liệu. Các mẫu xác định thành phần bằng phương pháp EDS đều được phân tích ở 3 vùng khác nhau trên bề mặt, thành phần của mẫu là giá trị trung bình của 3 số liệu đo.

Mẫu phân tích Ronghen (RXD) được đo trên thiết bị X'Pert Pro tại Viện Hóa học - Vật liệu, Viện Khoa học và Công nghệ Quân sự.

Mẫu đo chịu mài mòn, đo theo tiêu chuẩn ASTM-G77:2010, đo khả năng chịu mài mòn trượt của vật liệu sử dụng mẫu xoay tròn.

Chốt là thép 9XC được nung ở nhiệt độ (870±5°C), sau đó tôi trong dầu đạt độ cứng 62-64 HRC và ram thấp ở nhiệt độ 170±5°C đạt độ cứng 61-63 HRC. Đĩa làm bằng thép 9XC.



Hình 1. Chốt và đĩa đo độ mài mòn.

Cường độ mòn của vật liệu được tính theo công thức:

$$\text{Cường độ mòn} = \frac{V}{NS}$$

$$\text{Với: } V \text{ là thể tích mài mòn } (V = \frac{M-m}{\gamma})$$

trong đó M là khối lượng mẫu trước khi thử (g); m là khối lượng mẫu sau khi thử (g); γ là tỷ trọng mẫu thử (g/cm³);

N: Tải trọng (N);

S: Quãng đường trượt ($S = n \times 2 \times \pi \times R$ (mm)), trong đó n là tổng số vòng quay (lần); R là bán kính trượt (mm).

Mẫu được đo trên thiết bị TE 97 Friction and Wear Demonstrator (Anh) của Phòng thí nghiệm vật liệu kỹ thuật cao thuộc Viện Cơ khí năng lượng và mỏ. Mẫu được đo ở điều kiện tải trọng sử dụng 20 N, tốc độ quay 10 vòng/phút.

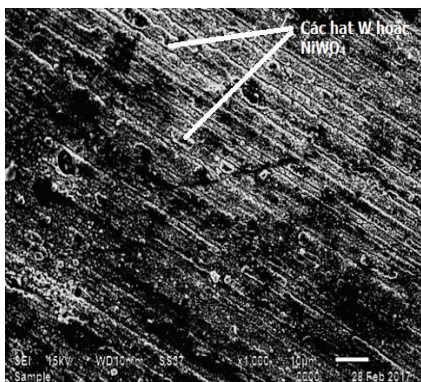
Độ cứng của lớp mạ được xác định theo phương pháp Vicker - được coi là phương pháp chuẩn đo độ cứng kim loại. Các tính toán của phương pháp thử Vicker không phụ thuộc kích cỡ của đầu thử. Đầu thử có thể sử dụng cho mọi loại vật liệu. Phép thử sử dụng một mũi thử kim cương hình chóp 4 cạnh có kích thước tiêu chuẩn, góc giữa các mặt phẳng đối diện là $136^\circ (\pm 3^\circ)$.

Mũi thử được ấn vào vật liệu dưới tác dụng của các tải trọng 100 N. Lớp mạ được xác định độ cứng trên thiết bị đo Struers tại Học viện Kỹ thuật quân sự.

Kết quả và thảo luận

Phân tích ảnh SEM-EDS

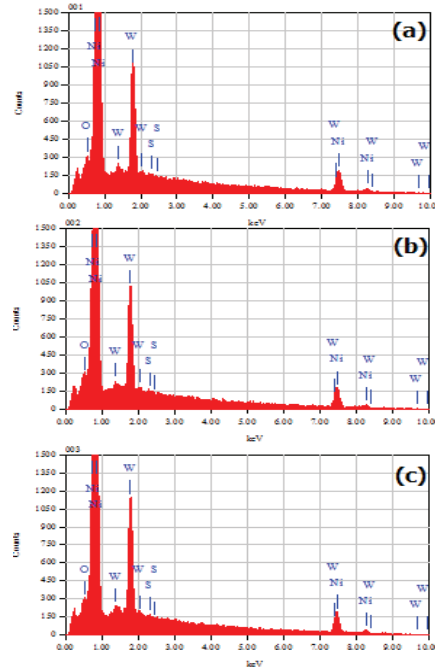
Kết quả phân tích ảnh SEM-EDS của mẫu mạ được chỉ ra ở trên hình 2, 3 và bảng 1. Từ đó cho thấy lớp mạ có chứa 4,5-14,2% khối lượng W, phụ thuộc vào mật độ dòng sử dụng. Lớp mạ ngoài thành phần chính là Ni và W còn có các tạp chất khác là nguyên tố O, S chiếm tỷ lệ nhỏ khoảng 0,4 % khối lượng (phổ EDS hình 3). Theo M. Obradović [9] và N. Eliaz [10], sự có mặt của tạp chất O, S trong lớp mạ được giải thích do sự cộng kết và đồng kết tủa của các hợp chất dạng WO_4^{2-} , SO_4^{2-} có mặt trong lớp mạ.



Hình 2. Ảnh SEM của mẫu mạ Ni-W, ở mật độ dòng 0,3 A/dm².

Mật độ dòng có ảnh hưởng lớn tới thành phần W có trong lớp mạ, ở mật độ dòng 0,5 A/dm², thu được lớp mạ có chứa hàm lượng W cao nhất (14,2%). Khi tăng mật độ dòng lớn hơn 0,5 A/dm², hàm lượng W có xu hướng giảm dần, điều này được giải thích có liên quan đến cơ chế phóng điện trong dung dịch phức. Ở mật độ dòng nhỏ

(nhỏ hơn 0,5 A/dm²), quá trình phóng điện giải phóng W kim loại từ dung dịch phức khó khăn hơn sự phóng điện của Ni^{2+} từ dung dịch phức, cho nên khi tăng mật độ dòng sẽ tăng hàm lượng W trong thành phần lớp mạ. Nhưng khi mật độ dòng tăng quá 0,5 A/dm², quá trình phóng điện của cả WO_4^{2-} , Ni^{2+} từ dung dịch phức đều tăng, nhưng quá trình phóng điện của Ni^{2+} ở mật độ dòng lớn ưu tiên hơn, nên hàm lượng Ni trong hợp kim sẽ tăng khi mật độ dòng điện lớn hơn 0,5 A/dm².



Hình 3. Phổ EDS của mẫu mạ Ni-W composít, ở chế độ mạ khác nhau: (a) 0,1 A/dm²; (b) 0,3 A/dm² và (c) 0,5 A/dm², thành phần dung dịch mạ: 60-70 g/l $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ + 50 g/l Na_2WO_4 + 60-80 g/l $Na_3C_6H_5O_7$ (natri citrat) + 60 g/l $(NH_4)_2SO_4$, pH = 6-7.

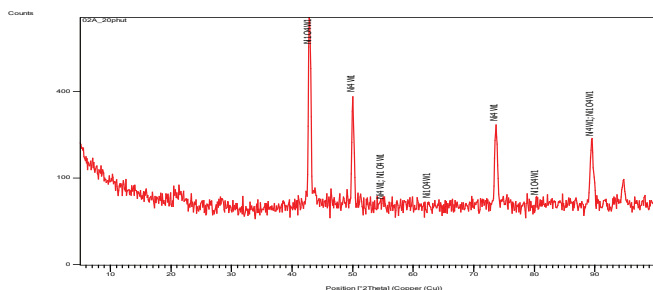
Bảng 1. Thành phần % nguyên tố trong lớp mạ Ni-W composít phụ thuộc mật độ dòng.

Tên mẫu, chế độ mạ	Ni (%)	W (%)	Khác (%)
0,1 A/dm ²	95,1	4,5	0,4
0,2 A/dm ²	91,1	8,6	0,3
0,3 A/dm ²	89,1	10,7	0,2
0,5 A/dm ²	85,5	14,2	0,3
1,0 A/dm ²	89,5	10,3	0,2

Ảnh SEM trên hình 2 cho thấy, các hạt W hoặc $NiWO_4$ phân bố đồng đều trên lớp mạ, điều này chỉ ra lớp mạ Ni-W dạng composít (sẽ được nghiên cứu thêm bằng phương pháp phân tích Ronghen).

Phân tích Ronghen

Kết quả phân tích ảnh Ronghen (XRD) của mẫu mạ được chỉ ra ở hình 4. Từ trên hình chỉ rõ, mẫu có xuất hiện pic của kim loại Ni, W, $NiWO_4$ rất đặc trưng. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu được công bố trước đây, cũng như ảnh SEM ở trên [8].



Hình 4. Phổ XRD của mẫu mạ Ni-W compozit ở chế độ mạ 0,2 A/dm², thành phần dung dịch mạ: 60-70 g/l NiSO₄.6H₂O + 50 g/l Na₂WO₄ + 60-80 g/l Na₃C₆H₅O₇ (natri citrat) + 60 g/l (NH₄)₂SO₄, pH = 6-7.

Đo độ cứng, độ mài mòn

Kết quả đo độ cứng và độ mài mòn của lớp mạ có hàm lượng W 10,7% (khối lượng) được cho ở bảng 2. Bảng 2 chỉ ra, lớp mạ Ni chứa W (10,7%) cải thiện đáng kể độ cứng, độ mài mòn. Nguyên nhân cải thiện độ cứng của lớp mạ được giải thích là do sự có mặt của W, tạo hợp chất NiWO₄, hoặc W kim loại làm tăng độ cứng so với lớp mạ Ni (thông thường lớp mạ Ni đơn chất từ dung dịch Watt có độ cứng khoảng 200, hoặc trên cơ sở dung dịch Watt có bổ sung chất mạ bóng, có độ cứng khoảng 400 (kg/mm²)) [3]. Sự có mặt của các hợp chất NiWO₄ hoặc kim loại W tạo thành hợp chất dạng compozit làm thay đổi cấu trúc tinh thể của niken, tương tự các quá trình mạ Ni compozit với các chất trơ như Al₂O₃, SiO₂, TiO₂, SiC, ZrO₂, WC, BN, CNTs (carbon nano tube), kim cương (diamond)... để cải thiện tính chất cơ lý [13, 15, 16].

Bảng 2. Tính chất cơ lý của lớp mạ Ni-W compozit có chứa 10% W.

Tên mẫu	Độ cứng (kg/mm ²)	Khối lượng trước khi đo (g)	Khối lượng sau khi đo (g)	Giảm khối lượng (mg)
Cr cứng	1000	132,5114	132,5113	1
Ni-W (4,5%)	600	132,7920	132,7915	5
Ni-W (10,7%)	880	131,4687	131,4686	1

Kết luận

Việc nghiên cứu, khảo sát lớp mạ Ni-W compozit chịu mài mòn định hướng ứng dụng cho lớp mạ crôm cứng bước đầu cho kết quả khả quan, tạo được lớp mạ Ni-W có hàm lượng W đạt từ 4,5-14,2%. Với dung dịch mạ có thành phần và chế độ sau: 60-80 g/l NiSO₄.6H₂O + 50 g/l Na₂WO₄ + 60-80 g/l Na₃C₆H₅O₇ (natri citrat) + 60 g/l (NH₄)₂SO₄, pH = 6-7, mật độ dòng catot 0,1-1,0 A/dm², nhiệt độ 65-70°C, cho lớp mạ có thành phần ổn định, bóng, mịn và hàm lượng W có trong lớp mạ phụ thuộc vào

mật độ dòng điện. Lớp mạ Ni-W thu được có chất lượng tốt, cải thiện độ cứng, chịu mài mòn so với lớp mạ Ni, độ cứng đạt 88% so với lớp mạ crôm cứng truyền thống. Với kết quả này, lớp mạ hợp kim Ni-W có triển vọng thay thế lớp mạ crôm truyền thống cho các chi tiết cơ khí chịu mài mòn.

Trong khuôn khổ bài báo, các tác giả mới nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ dòng đến thành phần, tính chất cơ lý của lớp mạ, chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu các yếu tố thành phần dung dịch, nhiệt độ, pH ảnh hưởng tới chất lượng lớp mạ và công bố trong các công trình tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Minh Hoàng (2001), *Công nghệ mạ điện*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [2] Nguyễn Văn Lộc (2005), *Công nghệ mạ điện*, Nhà xuất bản Giáo dục.
- [3] M.H. Allahyarzadeh, M. Aliofkhazraei, A.R. Rezvanian, V. Torabinejad, A.R. Sabour Rouhaghdam (2016), "Ni-W electrodeposited coatings: Characterization, properties and applications", *Surface & Coatings Technology*, **307**, pp.978-1010.
- [4] Nguyễn Thị Thanh Hương, Lê Bá Thắng, Trương Thị Nam, Nguyễn Văn Chiến (2015), "Nghiên cứu hình thái, cấu trúc của màng thụ động Cr³⁺ trên nền mạ kẽm", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ (VAST)*, **53(2)**, tr.221-230.
- [5] Patrick Benaben (2011), "An Overview of Hard Chromium Plating Using Trivalent Chromium Solutions", *Products finishing magazine*, PE online.
- [6] Nguyen Xuan Huy, Nguyen Duy Ket, Le Xuan Que (2016), "A novel study on chromium electrochemical deposition from Cr(III)-glycine complex solution", *International Journal of Development Research*, **6(11)**, pp.10308-10312.
- [7] Matsui, Y. Takigawa, T. Uesugi, K. Higashi (2013), "Effect of additives on tensile properties of bulk nanocrystalline Ni-W alloys electrodeposited from a sulfamate bath", *Mater. Lett.*, **99**, pp.65-67.
- [8] S. Kabi, K. Raeissi, A. Saatchi (2009), "Effect of polarization type on properties of Ni-W nano-crystalline electrodeposits", *J. Appl. Electrochem*, **39**, pp.1279-1285.
- [9] M. Obradović, R. Stevanović, A. Despić (2003), "Electrochemical deposition of Ni-W alloys from ammonia-citrate electrolyte", *J. Electroanal. Chem.*, **552**, pp.185-196.
- [10] N. Eliaz, E. Gileadi (2007), "The mechanism of induced codeposition of Ni-W alloys", *ECS Trans.*, pp.337-349.
- [11] N. Eliaz, E. Gileadi (2008), "Induced codeposition of alloys of tungsten, molybdenum and rhenium with transition metals", *Modern Aspects of Electrochemistry*, Springer, pp.191-301.
- [12] Y. Wu, D. Chang, D. Kim, S.C. Kwon (2003), "Influence of boric acid on the electrodeposition process and structures of Ni-W alloy coating", *Surf. Coat. Technol.*, **173**, pp.259-264.
- [13] M. Hashemi, S. Mirdamadi, H. Rezaie (2014), "Effect of SiC nanoparticles on microstructure and wear behavior of Cu-Ni-W nanocrystalline coating", *Electrochim. Acta*, **138**, pp.224-231.
- [14] G.S. Tasić, U. La njevac, M.M. Tasić, M.M. Kaninski, V.M. Nikolić, D.L. Žugić, V.D. Jović (2013), "Influence of electrodeposition parameters of Ni-W on Ni cathode for alkaline water electrolyser", *Int. J. Hydrog. Energy*, **38**, pp.4291-4297.
- [15] K.H. Hou, Y.C. Chen (2011), "Preparation and wear resistance of pulse electrodeposited Ni-W/Al₂O₃ composite coatings", *Appl. Surf. Sci.*, **257**, pp.6340-6346.
- [16] Viet Hue Nguyen, Thi Anh Thi Ngo, Hong Hanh Pham, Ngoc Phong Nguyen (2013), "Nickel composite plating with fly ash as inert particle", *Trans. Nonferrous Met. Soc. China*, **23**, pp.2348-2353.

Nghiên cứu chế tạo vật liệu composit trên cơ sở nhựa nền sinh học ứng dụng chế tạo chậu trồng cây

Nguyễn Thu Trang*, Trần Hùng Thuận, Trương Thị Nguyệt Ánh,
Chu Xuân Quang, Thái Thị Xuân Trang

Trung tâm Công nghệ Vật liệu, Viện Ứng dụng Công nghệ

Ngày nhận bài 20/3/2017; ngày chuyển phản biện 24/3/2017; ngày nhận phản biện 20/4/2017; ngày chấp nhận đăng 26/4/2017

Tóm tắt:

Bài viết trình bày kết quả nghiên cứu chế tạo và thử nghiệm tính chất của composit từ nhựa phân hủy sinh học và sợi xơ dừa. Vật liệu composit được chế tạo theo phương pháp ép nóng trong khuôn với các tỷ lệ sợi khác nhau (từ 10-50%) và được xác định các đặc tính: Độ bền kéo, độ bền uốn, độ bền nén, khả năng hấp thụ nước và khả năng phân hủy trong môi trường giả lập. So sánh với nhựa nền sinh học, vật liệu với tỷ lệ sợi xơ dừa từ 10-30% có tính chất cơ lý tốt hơn mẫu vật liệu chứa 40 và 50%, trong đó mẫu 30% sợi cho thấy tính chất cơ lý hài hòa và tiềm năng phân hủy sinh học tốt.

Từ khóa: Composit, phân hủy sinh học, xơ dừa.

Chỉ số phân loại: 2.5

Đặt vấn đề

Hàng năm, một lượng lớn các loại bầu và túi ươm trồng cây được chế tạo từ các vật liệu có nguồn gốc dầu mỏ đã và đang được sử dụng trên toàn thế giới. Các vật liệu này có khối lượng phân tử rất lớn, có khả năng tồn tại trong môi trường hàng trăm năm do khả năng tương tác và phân hủy trong môi trường rất thấp [1, 2]. Mặc dù đã có những nghiên cứu cũng như chế tạo các loại bầu ươm trồng cây từ vật liệu tái chế nhưng thực tế chỉ có khoảng 2% các loại bầu ươm trồng này được xử lý tái chế hoặc tái sử dụng. Do đó một lượng rất lớn cacbon hóa thạch từ các túi trồng cây này được sử dụng và chôn lấp trong đất mỗi năm [3]. Nhằm góp phần giải quyết hàng ngàn tấn rác thải không phân hủy được tạo ra mỗi năm, các nhà khoa học đã nỗ lực nghiên cứu và phát triển các vật liệu có khả năng phân hủy sinh học khi chôn trực tiếp trong đất. Trong đó, than bùn, giấy và sợi xơ dừa là những vật liệu không phải nhựa được sử dụng phổ biến nhất để chế tạo các loại bầu ươm trồng cây có khả năng phân hủy sinh học. Tuy nhiên, các loại bầu từ những vật liệu này khi gặp nước rất dễ bị rách hoặc phá hủy. Thậm chí, các bầu ươm cây bằng sợi xơ dừa có khả năng hấp thụ ẩm cao, là môi trường cho các loại nấm mốc và sâu bệnh phát triển, gây ảnh hưởng tới sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng [3-5].

Gần đây, một số nghiên cứu chế tạo bầu ươm trồng cây từ nhựa sinh học có nguồn gốc từ các loại vật liệu như tinh bột, protein đậu nành, ngô... đã được tiến hành.

Tuy nhiên, so sánh với các loại nhựa thông thường, các loại nhựa sinh học này có tính chất cơ học và khả năng che chắn cho cây trồng cũng như khả năng gia công, ổn định nhiệt đều rất kém. Do đó gây ra các hạn chế khi ứng dụng sản xuất số lượng lớn. Các composit kết hợp nhựa sinh học và sợi tự nhiên hứa hẹn cải thiện các tính chất của nhựa sinh học ứng dụng trong chế tạo bầu ươm trồng cây đang là giải pháp tiềm năng, có tính khả thi cao, đã và đang được quan tâm nghiên cứu [6-10].

Tại Việt Nam, xơ dừa là loại sợi tự nhiên có sản lượng rất cao và hiện nay việc ứng dụng loại sợi này vẫn còn rất nhiều hạn chế, chủ yếu bị thải trực tiếp ra ngoài môi trường. Nhằm tận dụng loại vật liệu này, nhóm nghiên cứu đã tiến hành kết hợp giữa nhựa nền có nguồn gốc sinh học và sợi xơ dừa ở các tỷ lệ sợi khác nhau nhằm chế tạo vật liệu composit và thử các tính chất cơ lý khả năng hấp thụ nước và khả năng phân hủy của vật liệu. Từ đó tiến hành chế tạo bầu ươm, sử dụng trong ngành giống cây trồng.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu: Nhựa phân hủy sinh học và xơ dừa (xuất xứ Việt Nam).

Phương pháp nghiên cứu: Sử dụng phương pháp ép nóng trong khuôn, theo đó sợi xơ dừa được xử lý loại tanin và lignin bằng phương pháp kiềm hóa. Tiếp theo, các mẫu vật liệu được làm khô để xác định khối lượng, sau đó ngâm trong nước ở nhiệt độ phòng trong thời gian 25 ngày. Tại

*Tác giả liên hệ: nttrang1187@gmail.com

Preparation of composites based on bioplastic coir fiber for producing nursery containers

Thu Trang Nguyen*, Hung Thuan Tran,
Thi Nguyet Anh Tuong, Xuan Quang Chu,
Thi Xuan Trang Thai

Center for Materials Technology, Institute of Applied Technology

Received 20 March 2016; accepted 26 April 2017

Abstract:

In this study, the biopolymer from coir fiber was used to prepare biocomposite materials for making nursery containers. The flexural strength, tensile strength, and impact strength of composites were evaluated and compared to biodegradable polymers. Water absorption test was carried out by immersion of specimens in water at room temperature. The result showed that mechanical properties were improved by increasing the coir fiber content. The water absorption of composites decreased by increasing the coir fiber content from 10-30 wt.%. Biodegradation assessment by composting tests in aerobic environment demonstrated that the developed biocomposite materials degraded over 60% in 60 days. The result also suggested that the biocomposite containing 30 wt.% coir fiber revealed to be the most suitable materials for producing nursery containers.

Keywords: Biodegradation, coir fiber, composite.

Classification number: 2.5

mỗi thời điểm kiểm tra, loại bỏ nước bám trên bề mặt, cân khối lượng của mẫu và xác định độ hấp thụ nước của mẫu.

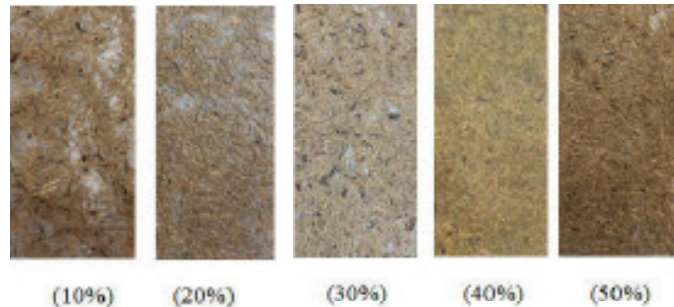
Tính chất vật liệu compozit nhựa sinh học và sợi xơ dừa được xác định theo các phương pháp cụ thể sau: Độ bền kéo (ASTM D638), độ bền uốn (ASTM D790), độ bền nén (ASTM D695), khả năng hấp thụ nước (ISO 62:2008).

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của tỷ lệ xơ dừa đến tính chất cơ lý của vật liệu compozit

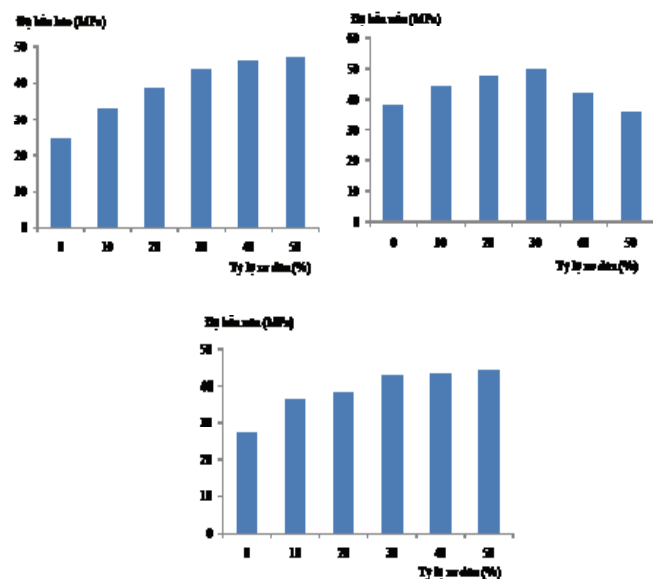
Tỷ lệ sợi gia cường có ảnh hưởng lớn tới tính chất của vật liệu compozit, đặc biệt là các tính chất cơ lý, từ đó quyết định khả năng ứng dụng của vật liệu trong chế tạo

các sản phẩm cụ thể [4, 5, 11]. Các tác giả đã nghiên cứu chế tạo các vật liệu compozit trên nền nhựa sinh học và xơ dừa ở các tỷ lệ sợi: 10, 20, 30, 40, 50% (hình 1) và so sánh các tính chất với nhựa nền ban đầu.



Hình 1. Các mẫu vật liệu compozit trên nền nhựa sinh học và sợi xơ dừa ở các tỷ lệ khác nhau: 10, 20, 30, 40 và 50%.

Kết quả xác định độ bền cơ lý bao gồm: Độ bền kéo, độ bền uốn và độ bền nén của các mẫu vật liệu chế tạo được thể hiện trên hình 2.



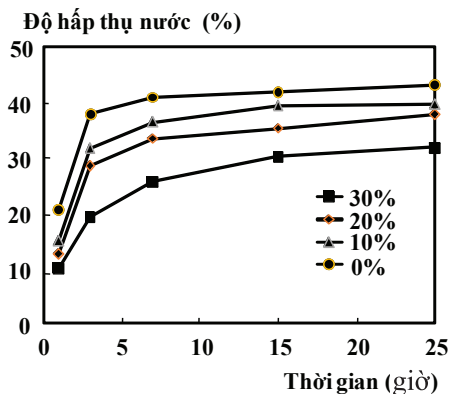
Hình 2. Độ bền kéo, độ bền uốn, độ bền nén của các mẫu vật liệu compozit gia cường sợi xơ dừa ở các tỷ lệ 0-50%.

Cả ba đồ thị của hình 2 đều cho thấy, ở các tỷ lệ sợi xơ dừa từ 10-30%, vật liệu compozit chế tạo được có độ bền cơ lý đều cao hơn so với mẫu vật liệu nhựa sinh học ban đầu, trong đó tỷ lệ sợi 30% có độ bền cao nhất. Đối với hai mẫu có tỷ lệ sợi lần lượt là 40 và 50%, độ bền uốn có xu hướng giảm trong khi đó độ bền nén cao hơn không nhiều so với mẫu 30% sợi xơ dừa. Điều này có thể giải thích là do khi mẫu nhựa nền được gia cường sợi xơ dừa làm tăng khả năng chịu ứng suất của vật liệu. Tuy nhiên, khi hàm

lượng sợi tăng lên, khả năng phân tán của sợi xơ dừa vào nhựa nền bị giảm đi. Điều này dẫn đến những điểm tập trung ứng suất do sự cụm lại của xơ dừa làm cho vật liệu dễ bị phá hủy [11].

Khả năng hấp thụ nước của vật liệu compozit trên nền nhựa sinh học và sợi xơ dừa

Theo các tài liệu nghiên cứu, sợi tự nhiên nói chung và sợi xơ dừa nói riêng có khả năng hấp thụ nước khá mạnh. Điều này là do những nhóm hydroxyl sẵn có trên bề mặt sợi tương tác với những phân tử nước qua liên kết hydro. Sự tương tác này không chỉ xảy ra ngay tại bề mặt sợi mà cả ở bên trong sợi. Khi được xử lý bằng kiềm làm giảm khả năng hấp thụ nước của sợi. Trong khi đó, nhựa nền sinh học có chứa sản phẩm từ tinh bột lại có khả năng hấp thụ ẩm rất cao, làm giảm mạnh cơ tính của nhựa nền dẫn tới thời gian sử dụng của bầu ươm giảm xuống. Khi kết hợp sợi xơ dừa và nhựa sinh học, khả năng hấp thụ nước của vật liệu có sự thay đổi. Hình 3 trình bày độ hấp thụ nước của các mẫu compozit với hàm lượng 10-30% so sánh với mẫu nhựa nền sinh học ban đầu trong thời gian 30 giờ.



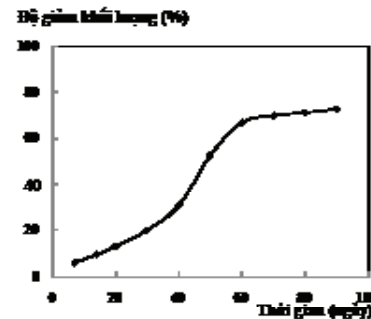
Hình 3. Độ hấp thụ nước của các mẫu compozit trên cơ sở nhựa sinh học và xơ dừa.

Sự hấp thụ nước của tất cả các mẫu thử nghiệm tăng lên nhanh so với mẫu ban đầu, sau đó tăng chậm dần và đạt đến cân bằng (định luật khuếch tán Fick) [12-14]. Độ hấp thụ nước của mẫu nhựa nền sinh học đạt giá trị cao nhất khoảng hơn 40%. Các mẫu compozit gia cường sợi xơ dừa đều có sự hấp thụ nước thấp và chậm hơn so với mẫu nhựa nền, điều này chứng tỏ rằng các mẫu này hấp thụ nước ít hơn và do đó độ kháng nước tốt hơn. Tuy vậy, cả nhựa nền và sợi xơ dừa đều có khả năng hấp thụ nước tự nhiên, hàm lượng nước hấp thụ tùy vào điều kiện môi trường. Kết hợp với kết quả độ bền cơ lý (độ bền kéo, độ bền uốn và độ bền nén) cho thấy, mẫu vật liệu chứa sợi xơ dừa cho độ bền cơ lý tốt, khả năng kháng nước trong một

thời gian cần thiết nhất định tốt hơn so với mẫu vật liệu chỉ chứa nhựa sinh học.

Khả năng phân hủy của vật liệu

Chúng tôi đã tiến hành đặt các mẫu thử nghiệm trong môi trường gia lập phòng thí nghiệm và xác định độ giảm khối lượng theo thời gian thử nghiệm.



Hình 4. Độ giảm khối lượng theo thời gian của mẫu vật liệu compozit từ nhựa nền và 30% sợi xơ dừa.

Hình 4 trình bày độ giảm khối lượng trung bình theo thời gian của mẫu vật liệu compozit chứa 30% sợi xơ dừa. Sự giảm khối lượng của vật liệu diễn ra nhanh trong 60 ngày đầu tiên và sự giảm này là do sự giảm khối lượng của nhựa sinh học. Trên đường cong phân hủy quan sát được, sự khác biệt rõ ràng giữa các thời điểm trong khoảng thời gian này. Có thể thấy, khi chôn ủ, nước đã xâm nhập vào vật liệu, gây ra sự thủy phân nhựa nền tạo ra các phân tử nhỏ (oligome và monome). Do đó tạo điều kiện cho các vi khuẩn tấn công và phá hủy vật liệu [12]. Giai đoạn từ 60 đến 90 ngày, khối lượng của vật liệu giảm đi rất chậm. Đây là giai đoạn cân bằng, sự thay đổi khối lượng không có đột biến đáng kể, do khối lượng còn lại chủ yếu là xơ dừa, sẽ chuyển thành mùn trong thời gian tiếp sau.

Kết luận

Các mẫu vật liệu compozit trên cơ sở nhựa nền sinh học gia cường sợi xơ dừa ở các tỷ lệ từ 10-50% đã được chế tạo bằng phương pháp ép nóng trong khuôn và thử nghiệm xác định tính chất cơ lý, khả năng hấp thụ nước và khả năng phân hủy trong môi trường gia lập.

Kết quả xác định tính chất cơ lý cho thấy, các mẫu vật liệu compozit chứa sợi xơ dừa đều có độ bền cao hơn mẫu nhựa sinh học ban đầu. Ở tỷ lệ sợi 30% có độ bền cơ lý tốt hơn so với mẫu nhựa chứa 10-20% sợi, trong khi đó so sánh với mẫu chứa 40-50% sợi, độ bền kéo và độ bền nén có giá trị tương đương trong khi đó độ bền uốn cao hơn.

Lựa chọn các mẫu vật liệu từ 10-30% nhằm thử nghiệm khả năng hấp thụ nước trong môi trường và so sánh với mẫu chỉ chứa nhựa nền. Mẫu vật liệu chứa sợi xơ dừa đều

có khả năng hấp thụ nước thấp hơn mẫu nhựa nền, trong đó mẫu chứa 30% sợi cho kết quả độ hấp thụ nước và tốc độ hấp thụ thấp nhất.

Tiền hành khảo sát khả năng phân hủy của vật liệu compozit chứa 30% sợi xơ dừa trong môi trường giả lập cho thấy. Vật liệu có khả năng phân hủy tốt và đạt được độ giảm khối lượng cao nhất trong 60 ngày. Sau đó vật liệu giảm khối lượng chậm, điều này cho thấy, nhựa sinh học đã được phân hủy phần lớn trong thời gian 60 ngày. Phần khối lượng còn lại chủ yếu là xơ dừa, sẽ được vi sinh vật phân hủy thành mùn, tạo độ màu mỡ cho đất.



Hình 5. Bầu trồng cây được ứng dụng trong thực tế.

Như vậy, vật liệu chế tạo được có tính chất cơ lý phù hợp để chế tạo bầu ươm cây, có khả năng chống nước cao hơn so với nhựa nền sinh học và có khả năng phân hủy trong môi trường sau khi được chôn lấp. Mẫu vật liệu đã được sử dụng chế tạo bầu ươm và đang được thử nghiệm thực tế (hình 5).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Mohanty, Misra, Drzal (2002), "Sustainable Bio-Composites from renewable resources: Opportunities and challenges in the Green materials

world", *Journal of polymers and the environment*, **10**, p.112.

[2] S. Halim Hamid (2000), *Handbook of Polymer Degradation*, Second Edition, Taylor & Francis Group.

[3] James A. Schrader, Heidi A. Kratsch, William R. Graves (2016), *Bioplastic Container Cropping Systems: Green Technology for the Green Industry*, Sustainable Horticulture Research Consortium.

[4] M. J. Mohd Nor, S. Abdullah, N. Jamaluddin, R. Ismail, S. Mohamed Haris and A. Arifin (2007), "Study on the dynamic characteristic of coconut fibre reinforced composites", *Regional Conference on Engineering Mathematics, Mechanics, Manufacturing & Architecture (EM*ARC)*.

[5] Omar Faruk, Andrzej K. Bledzki, Hans-Peter Fink, Mohini Sain (2012), "Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000-2010", *Polymeric Biomaterials, Progress in Polymer Science*, **37(11)**, pp.1552-1596.

[6] Mosab Kaseem, Kotiba Hamad, and Fawaz Deri (2012), "Thermoplastic Starch Blends: A Review of Recent Works", *Polymer Science, Ser. A*, **54(2)**, pp.165-176.

[7] Waryat, M. Romli, A. Suryani, I. Yuliasih, S. Johan (2013), "Using of a Compatibilizer to Improve Morphological, Physical and Mechanical Properties of Biodegradable Plastic from Thermoplastic Starch/LLDPE Blends", *International Journal of Engineering &*, **13**, p.1.

[8] Frederick T. Wallenberger, Norman Weston (2004), *Nature fibers, plastics and composites*, Kluwer Academic Publishers, ISBN:1 4020 7643 6.

[9] D.R. Mulinari, C.A.R.P. Baptista, J.V.C. Souza, H.J.C. Voorwald (2011) "Mechanical Properties of Coconut Fibers Reinforced Polyester Composites", *ICM11*, pp.2074-2079.

[10] Chin-San Wu (2009), "Renewable resource-based composites of recycled natural fibers and maleated polylactide bioplastic: Characterization and biodegradability", *Polymer Degradation and Stability*, **94(7)**, pp.1076-1084.

[11] Nurul Munirah Abdullah and Ishak Ahmad (2013), "Potential of Using Polyester Reinforced Coconut Fiber Composites Derived from Recycling Polyethylene Terephthalate (PET) Waste", *Fibers and Polymers*, **14(4)**, pp.584-590.

[12] Enhui Sun, Hongying Huang, Fengwen Sun, Guofeng Wu, Zhizhou Chang (2017), "Degradable Nursery Containers made of Rice husk and Cornstarch Composites", *Degradable composite containers, BioResources*, **12(1)**, pp.785-798.

[13] M. Oliveira, C. Mota, Ana S. Abreu, J.M. Nobrega, A.V. Machado (2014), "Eco-friendly polymeric material for horticulture application", *XIV SLAP/ XII CIP*.

[14] E. Muñoz, J.A. García-Manrique (2015), "Water Absorption Behaviour and Its Effect on the Mechanical Properties of Flax Fibre Reinforced Bioepoxy Composites", *International Journal of Polymer Science*, **6**, pp.1-10.

Lên men ethanol từ rỉ đường sử dụng nấm men chịu nhiệt

Ngô Thị Phương Dung^{1*}, Nguyễn Ngọc Thanh¹, Võ Bá Phúc¹, Bùi Hoàng Đăng Long¹,
Pornthap Thanonkeo², Mamoru Yamada³, Huỳnh Xuân Phong¹

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

²Khoa Công nghệ, Đại học Khon Kaen, Thái Lan

³Khoa Nông nghiệp, Đại học Yamaguchi, Nhật Bản

Ngày nhận bài 3/4/2017; ngày chuyển phản biện 7/4/2017; ngày nhận phản biện 5/5/2017; ngày chấp nhận đăng 12/5/2017

Tóm tắt:

Rỉ đường là một trong những nguồn nguyên liệu chính trong công nghiệp sản xuất ethanol sinh học. Ứng dụng nấm men chịu nhiệt trong lên men ethanol là hướng đi có tiềm năng với nhiều lợi ích, đặc biệt đối với các nước có khí hậu nhiệt đới như Việt Nam. Nghiên cứu nhằm mục đích tuyển chọn nấm men chịu nhiệt có hoạt tính lên men tốt và ứng dụng trong sản xuất ethanol từ rỉ đường ở nhiệt độ cao. Kết quả tuyển chọn được 6 chủng nấm men (Y8, Y80, Y81, YVN7, YVN8 và YVN12) có khả năng lên men từ rỉ đường 20°Brix ở 37°C trong 5 ngày, với hàm lượng ethanol thu được trong khoảng 5,54-6,40% (v/v). Trong đó, chủng Y81 sinh ethanol cao nhất ở 37°C và 40°C, hàm lượng ethanol đạt được lần lượt là 6,40% và 3,17% (v/v). Kết quả định danh đã xác định chủng Y8, Y80, Y81, YVN8 là *Saccharomyces cerevisiae*, chủng YVN7 là *Candida glabrata* và chủng YVN12 là *Torulaspora globosa*. Điều kiện thích hợp của chủng *S. cerevisiae* Y81 khi lên men ethanol rỉ đường ở 40°C được xác định là: Nồng độ đường 186 g/l, mật số giống chủng 10^7 tế bào/ml và lên men 6 ngày, hàm lượng ethanol đạt 7,36% (v/v).

Từ khóa: Lên men ethanol, nấm men chịu nhiệt, rỉ đường, *S. cerevisiae*.

Chỉ số phân loại: 2.8

Đặt vấn đề

Ethanol ngày càng trở nên quan trọng và được ứng dụng nhiều trong sản xuất một số thành phần trong thuốc, nhiên liệu sinh học, dung môi và nguyên liệu cho một số ngành công nghiệp khác... Tình trạng biến đổi khí hậu toàn cầu trong những năm gần đây đã đặt ra những thách thức lớn cho ngành công nghiệp sản xuất ethanol với việc sử dụng các vi sinh vật lý tưởng có thể chịu nhiệt và lên men mạnh. Sự phát triển của vi sinh vật chịu nhiệt ứng dụng cho các công nghệ sản xuất ethanol là hướng đi tiềm năng và dự báo sẽ có sự tăng trưởng cao. Theo Brooks (2008) [1], vi sinh vật lý tưởng được sử dụng để tổng hợp ethanol phải có khả năng lên men mạnh, sinh trưởng tốt, sức chống chịu cao, đặc biệt là khả năng chịu nhiệt. Việc nghiên cứu ứng dụng nấm men chịu nhiệt trong sản xuất ethanol ngày càng được quan tâm, do chúng có khả năng tăng trưởng và lên men trong điều kiện nhiệt độ cao của khí hậu ở các nước nhiệt đới. Nhiệt độ cao giúp đẩy mạnh quá trình đường hóa và hiệu quả lên men của quá trình chưng cất, giảm nguy cơ tạp nhiễm, tạo môi trường yếm khí hơn do giảm lượng oxy hòa tan, tạo thuận lợi cho quá trình lên men và đặc biệt là phù hợp với điều kiện nước ta.

Rỉ đường là một sản phẩm phụ của quá trình tinh chế đường. Rỉ đường được sản xuất tại hơn 45 quốc gia trên

thế giới, trong đó có Việt Nam. Nền công nghiệp mía đường ở nước ta phát triển khá mạnh trong thời gian qua nên nguồn nguyên liệu rỉ đường khá phong phú và rẻ hơn so với các nguồn nguyên liệu khác được sử dụng trong sản xuất ethanol cũng như không gây ảnh hưởng đến nguồn cung lương thực. Từ những lý do trên mà nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn, định danh một số chủng nấm men chịu nhiệt triển vọng và thử nghiệm ứng dụng lên men ethanol từ rỉ đường ở nhiệt độ cao.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Chủng nấm men và môi trường

- 23 chủng nấm men đã được phân lập và sơ tuyển dựa vào đặc tính chịu nhiệt và lên men ethanol được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm công nghệ sinh học thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ [2] và chủng *Kluyveromyces marxianus* (Đại học Yamaguchi, Nhật Bản).

- Môi trường YPD (yeast extract 0,5%; peptone 0,5%; D-glucose 2,0%) và môi trường YPD agar (môi trường YPD bổ sung 1,5 g/l agar) [3].

- Rỉ đường từ Nhà máy đường Phụng Hiệp, Hậu Giang (hàm lượng đường tổng 43-47%, độ Brix trong khoảng 74-79° và pH 4,6-4,7).

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

Ethanol fermentation from molasses using thermotolerant yeasts

Thi Phuong Dung Ngo^{1*}, Ngoc Thanh Nguyen¹,
Ba Phuc Vo¹, Hoang Dang Long Bui¹,
Pornthap Thanonkeo², Mamoru Yamada³,
Xuan Phong Huynh¹

¹Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University, Vietnam

²Faculty of Technology, Khon Kaen University, Thailand

³Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Japan

Received 3 April 2017; accepted 12 May 2017

Abstract:

Molasses is one of the common raw materials for the industry of bioethanol production. The application of thermotolerant yeasts to produce ethanol from molasses is a quite potential step, promising to bring many benefits to the ethanol industry, particularly in a country with a tropical climate as Vietnam. The objectives of this study were to select a number of potential thermotolerant yeasts for ethanol fermentation, and to study favorable conditions for ethanol production from molasses at high temperature. At 37°C, six strains of yeasts (Y8, Y80, Y81, YVN7, YVN8, and YVN12) were selected as the most ethanol producing strains with the ethanol contents ranging from 5.54 to 6.40% (v/v). The yeast strains of Y8, Y80, Y81, and YVN8 were characterized as *Saccharomyces cerevisiae*. YVN7 was *Candida glabrata*, and YVN12 was *Torulaspora globosa*. The *S. cerevisiae* Y81 was found giving the highest ethanol produced at 37°C and 40°C with the ethanol concentrations of 6.40% (v/v) and 3.17% (v/v), respectively. The favorable conditions for ethanol production at 37°C from molasses of the *S. cerevisiae* Y81 were determined as follows: 10⁷ yeast cells/ml of inoculum level, initial sugar concentration of 186 g/l, and 6 days of fermentation, which gave the achieved ethanol concentration of 7.36% (v/v).

Keywords: Ethanol fermentation, molasses, *S. cerevisiae*, thermotolerant yeast.

Classification number: 2.8

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát khả năng lên men của nấm men ở 37°C: Tăng sinh khối nấm men trong môi trường YPD, cấy chủng và ủ lactic ở nhiệt độ phòng (28-32°C) trong 24 giờ, mật số đạt 10⁸ tế bào/ml. Ri đường được khử trùng ở 115°C, trong 10 phút. Chủng 1 ml dịch tăng sinh (mật số 10⁸ tế bào/ml) vào bình tam giác 250 ml có chứa 99 ml ri đường (20°Brix và pH 4,5), đậy kín bằng waterlock và ủ trong 5 ngày ở 37°C. Xác định pH, Brix, hàm lượng đường và ethanol.

Khảo sát khả năng lên men của nấm men ở 40°C: Các chủng nấm men được tuyển chọn từ thử nghiệm khả năng lên men ở 37°C được sử dụng trong thử nghiệm này ở 40°C với 3 lần lặp lại.

Định danh nấm men chịu nhiệt được tuyển chọn: Các chủng nấm men tuyển chọn được tăng sinh, trích DNA và khuếch đại trình tự vùng D1/D2 trên 26S rDNA với cặp mồi NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') và NL-4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') [4] bằng phản ứng PCR. Sản phẩm PCR được giải trình tự bằng hệ thống ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, California, USA). Dựa trên trình tự 26S rDNA để phân tích và so sánh với trình tự các chủng nấm men trên ngân hàng dữ liệu NCBI. Xây dựng cây phả hệ dựa trên trình tự đoạn gene 26S rDNA theo phương pháp neighbor-joining trong chương trình MEGA 6 với chỉ số bootstrap 1.000 lần lặp lại [5].

Khảo sát điều kiện lên men từ ri đường của nấm men tuyển chọn: Chủng nấm men có khả năng lên men mạnh nhất từ các thí nghiệm trên được tuyển chọn sử dụng trong thử nghiệm này. Thí nghiệm được thực hiện với 100 ml dịch ri đường ở 37°C với 3 nhân tố: Nồng độ giống (10⁵, 10⁶ và 10⁷ tế bào/ml), hàm lượng đường (20, 25 và 30°Brix, tương đương với nồng độ đường lần lượt là 146,87 g/l, 185,80 g/l và 206,51 g/l) và thời gian lên men (5, 6 và 7 ngày) [6]. Phân tích các chỉ tiêu như ở các thí nghiệm trước. Các điều kiện thích hợp tiếp tục được thử nghiệm ở quy mô 1 l ri đường.

Phân tích và xử lý kết quả: Giá trị pH được xác định bằng pH kế (Sartorius, PB-20, Đức), độ Brix được xác định bằng khúc xạ kế (Hand Refractometer, FG103/113, Euromex, Hà Lan), hàm lượng đường được xác định bằng phương pháp DNS [7], hàm lượng ethanol được xác định bằng phương pháp chưng cất [8]. Hiệu suất lên men (%) là tỷ lệ phần trăm của lượng ethanol thực tế thu được so với lượng ethanol lý thuyết từ tổng lượng đường đã được sử dụng. Kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA). Số liệu thống kê sử

dụng chương trình Statgraphics Centurion XV (Statpoint Technologies, Inc., USA).

Kết quả

Khả năng lên men của nấm men chịu nhiệt ở 37°C

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, sau khi lên men, dịch lên men có độ pH từ 4,31-4,47, độ Brix từ 12,97-18,17°, lượng đường sử dụng từ 92,23-168,91 g, hàm lượng ethanol từ 1,36-6,40% (v/v), hiệu suất lên men từ 22,99-59,00%. Trong đó, chủng Y81 lên men tạo ethanol cao nhất (6,40% v/v) và hiệu suất lên men đạt 59,0%. Hàm lượng ethanol từ các chủng Y81, YVN12, Y80, Y8, YVN7, YVN8 đạt 5,54-6,40% (v/v) và hiệu suất lên men đạt 50,81-59,00%, khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê nhưng khác biệt có ý nghĩa so với kết quả từ các chủng còn lại với độ tin cậy 95%.

Bảng 1. Độ cồn, pH, độ Brix, hiệu suất sau lên men cơ chất rỉ đường ở 37°C.

Chủng nấm men	pH sau lên men	Brix sau lên men	Đường sử dụng (g)	Hàm lượng ethanol (% v/v)	Hiệu suất lên men (%)
Y8	4,32 ^{ab} ¹	13,80 ^b	167,36 ^a	5,93 ^{ab}	54,65 ^{ab}
Y29	4,43 ^{bij}	17,00 ^{de}	111,9 ^{cd}	2,05 ^d	28,24 ^d
Y31	4,41 ^{figh}	16,87 ^d	109,22 ^{cd}	3,31 ^c	46,78 ^{bc}
Y32	4,47 ^k	17,27 ^{defg}	106,12 ^{cde}	1,95 ^{de}	28,35 ^d
Y33	4,47 ^k	17,57 ^{defgh}	107,06 ^{cde}	2,22 ^d	31,76 ^d
Y34	4,47 ^k	17,57 ^{defgh}	111,29 ^{cd}	1,66 ^{de}	23,01 ^d
Y35	4,44 ^{ijk}	17,33 ^{defg}	109,48 ^{cd}	2,14 ^d	31,48 ^d
Y37	4,45 ^{ijk}	17,77 ^{efgh}	118,80 ^c	1,94 ^{de}	25,05 ^d
Y38	4,44 ^{ijk}	17,13 ^{def}	114,40 ^{cd}	2,01 ^{de}	26,97 ^d
Y39	4,47 ^k	17,00 ^{de}	112,76 ^{cd}	2,19 ^d	30,79 ^d
Y42	4,34 ^{abc}	17,93 ^{gh}	113,27 ^{cd}	1,68 ^{de}	23,16 ^d
Y47	4,42 ^{hij}	17,80 ^{figh}	92,40 ^e	1,70 ^{de}	28,28 ^d
Y53	4,44 ^{ijk}	17,80 ^{figh}	110,86 ^{cd}	1,62 ^{de}	23,19 ^d
Y54	4,44 ^{ijk}	17,37 ^{defg}	105,25 ^{cde}	1,98 ^{de}	29,07 ^d
Y80	4,31 ^a	13,73 ^{ab}	165,29 ^a	5,98 ^{ab}	55,83 ^{ab}
Y81	4,32 ^{ab}	12,97 ^a	167,36 ^a	6,40 ^a	59,00 ^a
Y88	4,46 ^{jk}	17,70 ^{efgh}	102,41 ^{de}	2,12 ^d	32,09 ^d
Y104	4,43 ^{bij}	17,60 ^{defgh}	102,84 ^{de}	1,85 ^{de}	27,58 ^d
YVN3	4,35 ^{bcd}	17,90 ^{figh}	92,23 ^e	1,36 ^e	22,99 ^d
YVN7	4,38 ^{def}	13,53 ^{ab}	168,23 ^a	5,54 ^b	50,81 ^{ab}
YVN8	4,39 ^{efg}	13,00 ^a	168,91 ^a	5,80 ^{ab}	52,95 ^{ab}
YVN12	4,40 ^{figh}	13,37 ^{ab}	165,46 ^a	6,10 ^{ab}	56,93 ^a
YVN30	4,33 ^{abc}	18,17 ^h	116,12 ^{cd}	1,71 ^{de}	22,99 ^d
<i>K. marxianus</i>	4,36 ^{cde}	15,33 ^c	140,19 ^b	3,77 ^c	41,49 ^c

¹Giá trị trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Khả năng lên men của nấm men chịu nhiệt ở 40°C

Kết quả sau lên men ở 40°C của 6 chủng tuyển chọn là: pH 4,29-4,42, độ Brix 14,80-18,53°, lượng đường sử dụng 26,22-88,67 g, hàm lượng ethanol 1,23-3,96% (v/v), hiệu suất lên men 54,48-69,08% (bảng 2). Trong đó, ba chủng

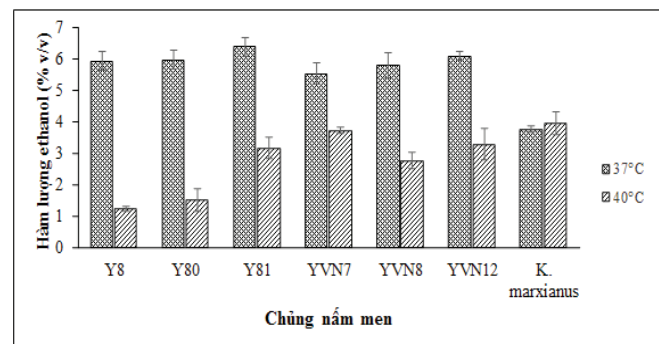
Y81, YVN7 và YVN12 có hàm lượng ethanol đạt từ 3,17-3,74% (v/v), khác biệt không ý nghĩa ở độ tin cậy 95% với *K. marxianus* (3,96% (v/v)), nhưng khác biệt có ý nghĩa so với các chủng còn lại.

Bảng 2. Độ cồn, hiệu suất, pH, độ Brix và hiệu suất sau lên men cơ chất rỉ đường ở 40°C.

Chủng nấm men	pH sau lên men	Brix sau lên men	Đường sử dụng (g)	Hàm lượng ethanol (% v/v)	Hiệu suất lên men (%)
Y8	4,40 ^a ¹	18,53 ^c	26,22 ^c	1,23 ^c	54,48 ^c
Y80	4,40 ^a	17,53 ^{de}	52,19 ^d	1,51 ^c	56,52 ^{bc}
Y81	4,42 ^a	16,67 ^{cd}	71,25 ^c	3,17 ^{ab}	68,53 ^a
YVN7	4,41 ^a	15,53 ^{ab}	83,59 ^{ab}	3,74 ^a	69,06 ^a
YVN8	4,29 ^b	15,93 ^{bc}	74,18 ^{bc}	2,77 ^b	57,55 ^{bc}
YVN12	4,39 ^a	15,53 ^{ab}	79,18 ^{abc}	3,30 ^{ab}	64,08 ^{ab}
<i>K. marxianus</i>	4,32 ^b	14,80 ^a	88,67 ^a	3,96 ^a	69,08 ^a

¹Giá trị trung bình của 3 lần lặp lại; trong cùng một cột các chữ số mũ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Hàm lượng ethanol khi lên men ở 37 và 40°C được tổng hợp và so sánh ở hình 1. Chủng Y81 cho hàm lượng ethanol khác biệt không ý nghĩa so với các chủng tuyển chọn khi lên men ở 40°C (chủng YVN7, YVN12 và *K. marxianus*), tuy nhiên hàm lượng ethanol và hiệu suất lên men đạt được của chủng Y81 là cao nhất khi lên men ở 37°C.



Hình 1. Hàm lượng ethanol (v/v) ở thử nghiệm lên men 37 và 40°C.

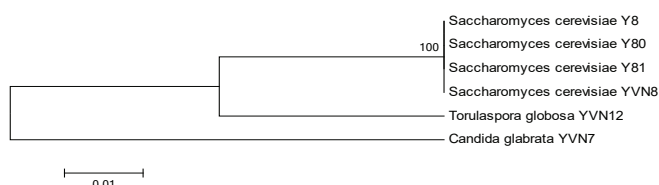
Định danh các chủng nấm men đã được tuyển chọn

Các chủng Y8, Y80, Y81, YVN7, YVN12 và YVN8 được tuyển chọn do có khả năng lên men ethanol cao ở 37°C được giải trình tự vùng D1/D2 trên 26S rDNA với cặp môi NL-1 và NL-4. Kết quả so sánh mức độ tương đồng trình tự DNA trong ngân hàng gene trên NCBI cho thấy 4 chủng Y8, Y80, Y81 và YVN8 thuộc *S. cerevisiae*, chủng YVN7 thuộc *Candida glabrata* và chủng YVN12 thuộc *Torulaspora globosa* với mức độ tương đồng so sánh BLAST trên cơ sở dữ liệu đạt 99-100% (bảng 3).

Bảng 3. Kết quả định danh các chủng nấm men chịu nhiệt tuyển chọn.

Chủng nấm men	Tên loài	Độ tương đồng (%)	Mã số
Y8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	KR063021.1
Y80	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	KR063021.1
Y81	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100	KR063021.1
YVN7	<i>Candida glabrata</i>	99	KJ624034
YVN8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	99	JF715188.1
YVN12	<i>Torulaspora globosa</i>	99	U72166.1

Trình tự DNA các chủng nấm men phân lập được sử dụng để vẽ cây phân loại gene 26S rDNA bằng chương trình MEGA 6 (theo thông số neighbor - joining) với độ tin cậy của nhánh phả hệ thông qua chỉ số bootstrap 1.000 (hình 2). Cây phân loại được xây dựng phù hợp với kết quả định danh của 6 chủng nấm men chịu nhiệt. Bốn chủng *S. cerevisiae* Y8, Y80, Y81 và YVN8 cùng loài và có chỉ số bootstrap lên đến 100%, bốn chủng này có mối quan hệ gần với chủng *T. globosa* YVN12 hơn so với chủng *C. glabrata* YVN7.



Hình 2. Cây phân loại di truyền của 6 chủng nấm men tuyển chọn.

Điều kiện lên men thích hợp của nấm men chịu nhiệt

Kết quả khảo sát các điều kiện thích hợp cho quá trình lên men ethanol từ rỉ đường (bảng 4) cho thấy nghiệm thức 14 (6 ngày - 25°Brix - 10⁶ tế bào/ml), nghiệm thức 15 (6 ngày - 25°Brix - 10⁷ tế bào/ml) và nghiệm thức 27 (7 ngày - 30°Brix - 10⁷ tế bào/ml) lên men tạo ethanol cao nhất, lần lượt là 6,80%, 7,14% và 6,90% (v/v).

Các nghiệm thức 9, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 23 và 26 đều có hiệu suất lên men khá cao (79,03-90,58%), khác biệt không ý nghĩa về mặt thống kê. Trong đó ở nghiệm thức 14 và 15 lần lượt là 87,43% và 90,58%, khác biệt có ý nghĩa với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại (trừ nghiệm thức 9, 10, 13, 16, 17, 23 và 26). Nghiệm thức 14 và 15 cũng cho kết quả hàm lượng ethanol cao nhất, lần lượt là 6,80% (v/v) và 7,14% (v/v). Các nghiệm thức 1, 10 và 19 có hàm lượng ethanol khá thấp, lần lượt là 2,94%, 3,09% và 3,10% (v/v), khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại.

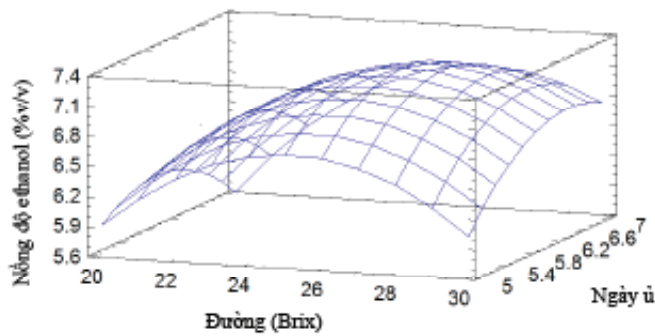
Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ đường, thời gian lên men và mật số nấm men đến hàm lượng ethanol và hiệu suất lên men.

Nghiệm thức	Ngày-Brix -Mật số giống	Brix sau lên men	Đường sử dụng (g)	Hàm lượng ethanol (% v/v)	Hiệu suất (%)
1	5-20-10 ⁵	17,0	85,66	2,94 ¹	52,85 ^{hij}
2	5-20-10 ⁶	14,3	92,64	4,07 ^{kl}	67,22 ^{efg}
3	5-20-10 ⁷	13,1	124,60	6,17 ^{bcd}	76,56 ^{bcd}
4	5-25-10 ⁵	20,0	103,64	4,31 ^{jk}	64,49 ^{fgh}
5	5-25-10 ⁶	18,7	109,47	5,24 ^{efghij}	74,12 ^{cdefg}
6	5-25-10 ⁷	18,0	146,73	6,51 ^{bcd}	68,47 ^{defg}
7	5-30-10 ⁵	24,9	118,65	3,99 ^{kl}	51,73 ^{ij}
8	5-30-10 ⁶	22,8	114,13	5,64 ^{cdefghi}	76,35 ^{bcd}
9	5-30-10 ⁷	22,0	114,90	6,00 ^{bcd}	80,57 ^{abcd}
10	6-20-10 ⁵	15,5	56,93	3,09 ^j	83,99 ^{abc}
11	6-20-10 ⁶	13,9	106,49	4,30 ^{jk}	62,39 ^{ghi}
12	6-20-10 ⁷	12,5	127,6	6,24 ^{bcd}	75,89 ^{bcd}
13	6-25-10 ⁵	19,9	96,01	5,01 ^{fghijk}	80,67 ^{abcd}
14	6-25-10 ⁶	18,5	119,94	6,80 ^{abc}	87,43 ^{ab}
15	6-25-10 ⁷	16,7	131,85	7,14 ^a	90,58 ^a
16	6-30-10 ⁵	23,6	80,22	4,33 ^{jk}	83,17 ^{abc}
17	6-30-10 ⁶	22,4	114,64	5,95 ^{bcd}	79,96 ^{abcd}
18	6-30-10 ⁷	21,4	138,71	6,36 ^{bcd}	70,79 ^{defg}
19	7-20-10 ⁵	16,3	101,45	3,10 ^j	46,44 ^j
20	7-20-10 ⁶	14,1	101,32	4,81 ^{ghijk}	72,89 ^{cdefg}
21	7-20-10 ⁷	13,2	114,90	5,72 ^{cdefgh}	76,74 ^{bcd}
22	7-25-10 ⁵	20,0	97,05	4,54 ^{ijk}	72,32 ^{cdefg}
23	7-25-10 ⁶	18,4	109,34	5,60 ^{defghi}	79,03 ^{abcde}
24	7-25-10 ⁷	17,7	131,98	6,37 ^{bcd}	74,47 ^{cdefg}
25	7-30-10 ⁵	24,0	97,05	4,72 ^{hijk}	74,82 ^{cdef}
26	7-30-10 ⁶	22,4	107,40	6,30 ^{bcd}	90,42 ^a
27	7-30-10 ⁷	21,9	137,93	6,90 ^{ab}	77,13 ^{bcd}

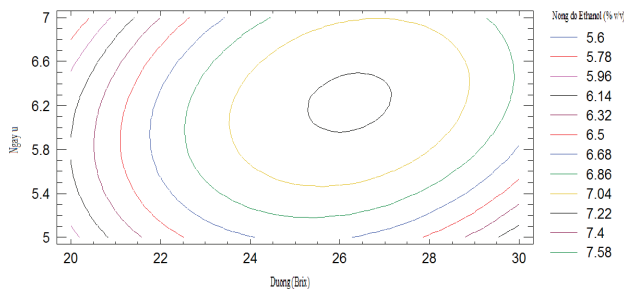
Kết quả phân tích hồi quy bằng phần mềm thống kê Statgraphics centurion XV (độ tin cậy 95%) xác định được các điều kiện thích hợp theo phương trình như sau:

$$\begin{aligned} \text{Nồng độ ethanol} = & -66,176 + 2,41094 \cdot \text{Duong} \\ & + 7,94083 \cdot \text{Mat so} + 7,18361 \cdot \text{Ngay} \\ & - 0,0302444 \cdot \text{Duong} \cdot \text{Duong} - 0,162667 \cdot \text{Duong} \cdot \text{Mat so} \\ & - 0,0853333 \cdot \text{Duong} \cdot \text{Ngay} - 0,186944 \cdot \text{Mat so} \cdot \text{Mat so} \\ & - 0,552708 \cdot \text{Mat so} \cdot \text{Ngay} - 0,371944 \cdot \text{Ngay} \cdot \text{Ngay} \\ & + 0,019375 \cdot \text{Ngay} \cdot \text{Mat so} \cdot \text{Duong} \end{aligned}$$

Biểu đồ mặt đáp ứng và biểu đồ đường mức thể hiện sự tương quan giữa nồng độ đường và thời gian lên men được thể hiện ở hình 3 và hình 4. Kết quả điều kiện lên men ethanol từ rỉ đường của chủng *S. cerevisiae* Y81 được xác định từ phương trình hồi quy là 26,21°Brix, mật số giống chủng 10⁷ tế bào/ml và 6 ngày lên men.



Hình 3. Biểu đồ mặt đáp ứng tương quan giữa nồng độ đường và thời gian lên men.



Hình 4. Biểu đồ đường mức sự tương quan giữa nồng độ đường và thời gian lên men.

Kết quả lên men 1 l dịch ri đường với các điều kiện thích hợp được xác định là: Dịch sau lên men có pH 4,43, 18,0°Brix, lượng đường sử dụng 142,98 g/l, hàm lượng ethanol 7,36% (v/v) và hiệu suất lên men đạt 92,38%.

Thảo luận

Sau quá trình lên men, pH có sự biến động không đáng kể nhưng độ Brix ở tất cả các chủng nấm men đều giảm so với ban đầu (bảng 1). Trong quá trình lên men, đường và các chất dinh dưỡng sẽ được hấp thu vào tế bào nấm men, ở đó các enzyme sẽ tác dụng qua nhiều trung gian rồi cuối cùng tạo thành sản phẩm chính là rượu và khí CO₂ [8]. Sự chênh lệch về độ Brix trước và sau lên men cũng thể hiện khả năng hoạt động của nấm men. Brix chênh lệch càng cao, lượng CO₂ và cồn tạo ra càng nhiều, nấm men hoạt động càng mạnh. Kết quả cho thấy các chủng Y81, YVN12, Y80, YVN7, YVN8 và *K. marxianus* lên men tạo ethanol (lần lượt là 6,40; 6,10; 5,98; 5,40; 5,80; 3,77% v/v) và đạt hiệu suất (59%, 56,93%, 55,83%, 50,81%, 52,95%, 41,49%), cao hơn và có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê so với các chủng còn lại.

Kết quả ở bảng 2 và hình 1 cho thấy, trong môi trường cơ chất ri đường ở nhiệt độ 40°C các chủng nấm men hoạt động yếu đi, lên men tạo cồn thấp so với ở 37°C, trừ chủng *K. marxianus*. Nhiệt độ là yếu tố ảnh hưởng lớn đến sự tạo ethanol của nấm men. Khi nhiệt độ tăng cao thì lượng

ethanol tích lũy nội bào trong nấm men tăng cao, làm ngưng trệ sự phát triển của nấm men nên lượng cồn tạo ra sẽ thấp. Theo Edgardo, et al. (2008) [9], chủng nấm men *Kluyveromyces* có khả năng chịu nhiệt cao hơn các chủng nấm men khác như *Saccharomyces* hay *Candida*, nhưng lại kém hơn trong khả năng lên men sinh ethanol.

Kết quả thống kê cho thấy các chủng nấm men *K. marxianus*, YVN7, YVN12 và Y81 vẫn có khả năng sinh trưởng và tạo ethanol ở 40°C, hàm lượng ethanol cao hơn và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các chủng còn lại ở độ tin cậy 95% (bảng 3). Trong đó, hiệu suất lên men ở 40°C của chủng Y81 là 68,53%, khác biệt không có ý nghĩa so với chủng YVN7 (69,06%) và chủng *K. marxianus* (69,08%), nhưng lại sử dụng lượng đường ít hơn, chỉ 71,25 g so với chủng YVN7 (83,59 g) và *K. marxianus* (88,67 g), vì thế khả năng chuyển hóa của chủng Y81 là tốt hơn.

Sáu chủng nấm men chịu nhiệt tuyển chọn được định danh là *S. cerevisiae*, *T. globosa* và *C. glarata*, đây là các chủng nấm men có khả năng chịu nhiệt và lên men khá tốt trong các nghiên cứu về nấm men chịu nhiệt và lên men ethanol. *T. globosa* có thể phát triển và lên men ở nhiệt độ từ 30-40°C. *T. globosa* BM3 có khả năng chịu ethanol đến 15% (v/v) và phát triển ở 40°C [10]. Sree, et al. (2000) [11] đã phân lập 4 chủng nấm men *S. cerevisiae* từ đất ở Ấn Độ có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ đến 44°C. Chủng *S. cerevisiae* M30 có khả năng lên men trong môi trường ri đường và dịch ép nước mía trong khoảng nhiệt độ 33-45°C [12].

Kết quả thử nghiệm điều kiện thích hợp cho thấy nghiệm thức 25°Brix sau lên men tạo ra hàm lượng ethanol tương đối cao hơn so với hai nghiệm thức còn lại trong 5 và 6 ngày (bảng 4). Ở ngày lên men thứ 7, các nghiệm thức 30°Brix có phần cao hơn. Theo [8], ở độ Brix quá thấp gây ảnh hưởng đến khả năng lên men của nấm men, giảm năng suất của thiết bị. Nhưng nếu Brix quá cao thì sẽ làm tăng áp suất thẩm thấu gây ảnh hưởng đến khả năng hấp thu, chuyển hóa và thay đổi cân bằng sinh lý của nấm men. Về mật số giống chủng, có sự khác biệt khá rõ ràng về độ cồn tạo ra giữa các mật số. Trong đó, mật số 10⁷ tế bào/ml tạo ra cồn cao hơn hẳn so với mật số 10⁶ và 10⁵ tế bào/ml. Kết quả từ phương trình hồi quy cho thấy điều kiện thích hợp trong lên men ethanol trên cơ chất ri đường của chủng *S. cerevisiae* Y81 với hàm lượng đường 186 g/l, mật số giống men chủng 10⁷ tế bào/ml và lên men trong 6 ngày, hàm lượng ethanol theo lý thuyết đạt 7,25% (v/v).

Kết quả thử nghiệm với 1 l dịch ri đường cho thấy, hàm lượng ethanol đạt cao hơn so với độ cồn lý thuyết của phương trình tối ưu (7,25% v/v) cũng như từ thực nghiệm

(7,14%, nghiệm thức 15, bảng 4) và hiệu suất lên men đạt 92,38%. Hàm lượng ethanol thu được với hàm lượng ethanol từ phương trình lý thuyết không có sự chênh lệch đáng kể (7,36% so với lý thuyết là 7,25% v/v). *S. cerevisiae* có khả năng lên men đạt 7,4-7,7% (v/v) khi lên men ri đường trong điều kiện nhiệt độ môi trường khoảng 30-32°C và có khả năng phát triển đến 40-44°C [13, 14].

Kết luận

Sáu chủng nấm men chịu nhiệt được tuyển chọn do lên men tốt ở 37°C với hàm lượng ethanol đạt được 5,54-6,40% (v/v), trong đó chủng Y81 có hàm lượng ethanol cao nhất ở 37°C và 40°C lần lượt đạt 6,40% và 3,17% (v/v). Sáu chủng nấm men được xác định thuộc các loài *S. cerevisiae*, *C. glabrata* và *T. globosa*. Điều kiện lên men ethanol từ ri đường của chủng *S. cerevisiae* Y81 ở 37°C được xác định là: Hàm lượng đường ban đầu 186 g/l (26,21°Brix), mật số giống chủng 10^7 tế bào/ml, lên men 6 ngày, hàm lượng ethanol đạt 7,36% (v/v). Thử nghiệm lên men với 1 l dịch ri đường trong các điều kiện thích hợp cho thấy tiềm năng ứng dụng chủng nấm men chịu nhiệt trong lên men ethanol ở nhiệt độ cao từ nguồn nguyên liệu phụ phẩm như ri đường.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài Nghị định thư của Bộ Khoa học và Công nghệ (09/2014/HĐ-NĐT) và một phần hỗ trợ từ đề tài nghiên cứu trong Chương trình công nghệ sinh học tiên tiến của Trường Đại học Cần Thơ và Chương trình CCP (Core-to-Core Program, 2014-2019).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Brooks (2008), "Ethanol production potential of local yeast strains isolated from ripe banana peels", *African Journal of Biotechnology*, **7**, pp.3749-3752.
- [2] Dung Ngo Thi Phuong, Huynh Xuan Phong, Pornthap Thanonkeo, Preekamol Klanrit, Toshiharu Yakushi, Kazunobu Matsushita, Mamoru Yamada (2015), "The diversified collection of thermotolerant microorganisms isolated in Vietnam for fermentation of ethanol, acetic acid and lactic acid", *International*

Symposium on Microbial Research and Biotechnology for Biomass Utilization, p.27. JR Hakata City, Fukuoka, Japan.

- [3] S. Limtong, C. Sringiew, W. Yongmanitchai (2007), "Production of fuel ethanol at high temperature from sugar cane juice by a newly isolated *Kluyveromyces marxianus*", *Bioresources Technology*, **98**, pp.3367-3374.
- [4] K. O'Donnell (1993), "Fusarium and its near relatives. In D.R. Reynolds & J.W. Taylor (Eds.), *The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics*, pp.225-233.
- [5] K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipinski, S. Kumar (2013), "MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0", *Molecular Biology and Evolution*, **30**(12), pp.2725-2729.
- [6] Nguyễn Hữu Tường, Phạm Hồng Quang, Ngô Thị Phương Dung, Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Minh Đồi (2013), "Thử nghiệm lên men ethanol ở nhiệt độ cao bằng nấm men chịu nhiệt", *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, **27**, tr.17-23.
- [7] C. Bennett (1971), "Spectrophotometric acid dichromate method for the determination of ethyl alcohol", *The American Journal of Medical Technology*, **37**(6), p.217.
- [8] Nguyễn Đình Thường, Nguyễn Thanh Hằng (2005), *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [9] A. Edgardo, P. Carolina, R. Manuela, F. Juanita, B. Jaimea (2008), "Selection of thermotolerant yeast strains *Saccharomyces cerevisiae* for bioethanol production", *Enzyme and Microbial Technology*, **43**, pp.120-123.
- [10] N.T.P. Dung, P. Thanonkeo, H.X. Phong (2012), "Screening useful isolated yeasts for ethanol fermentation at high temperature", *International Journal of Applied Science and Technology*, **2**(4), pp.65-71.
- [11] N.K. Sree, M. Sridhar, K. Suresh, I.M. Banat, L. Venkateswar Rao (2000), "Isolation of thermotolerant, osmotolerant, flocculating *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production", *Bioresource Technology*, **72**(1), pp.43-46.
- [12] A. Eiadpum, S. Limtong, M. Phisalaphong (2012), "High-temperature ethanol fermentation by immobilized coculture of *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*", *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **114**(3), pp.325-329.
- [13] N.K. Sree, M. Sridhar, L.V. Rao, A. Pandey (1999), "Ethanol production in solid substrate fermentation using thermotolerant yeast", *Process Biochemistry*, **34**, pp.115-119.
- [14] W.R. Abdel-Fattah, M. Fadil, P. Nigam, I.M. Banat (2000), "Isolation of thermotolerant ethanologenic yeast and use of selected strains in industrial scale fermentation in an Egyptian distillery", *Biotechnology Bioengineering*, **68**(7), pp.531-535.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI VIẾT ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài viết gửi đăng trên Tạp chí phải là bài viết nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài viết trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài viết gửi về Tòa soạn dưới dạng file mềm và bản in; có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, Cầu Giấy, Hà Nội) hoặc qua hòm thư điện tử, địa chỉ: khcnvn@most.gov.vn.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, không gạch chân hay viết nghiêng.

- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.

- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số (^{1,2...}) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.

Tóm tắt

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

Dẫn nhập/đặt vấn đề

Định nghĩa vấn đề, tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

Bàn luận

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài.

Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài.

Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện (^{1,2,3...}) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với 1 hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

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

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

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách...

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được in nghiêng).

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

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 59 - Number 7 - July 2017

Ứng dụng phương pháp điện di mao quản nhằm theo dõi sự gia tăng hàm lượng của một số axit hữu cơ mạch ngắn trong biodiesel theo thời gian.

Nguyễn Văn Quân, Dương Hồng Anh, Nguyễn Thúy Ngọc, Phạm Hùng Việt, Phan Thị Kim Trang

Tác động của hệ thống hồ chứa lớn đến dòng chảy trên hệ thống sông Hồng.

Trịnh Thu Phương, Lương Hữu Dũng, Lê Tuấn Nghĩa, Trần Đức Thiện

Đánh giá độ tinh sạch và hàm lượng của phycocyanin được tách từ *Arthrospira platensis* theo phổ hấp thụ quang học và điện di biến tính.

Đậu Thị Nhung, Phạm Thị Lương Hằng, Trịnh Lê Phương

Đóng góp dẫn liệu mới về đặc điểm sinh học, sinh thái của loài Hoàng liên ba gai (*Berberis wallichiana* DC.) ở Việt Nam.

Ngô Đức Phương, Nguyễn Thị Thúy Vân, Bùi Văn Hường, Nguyễn Văn Đạt, Nguyễn Thị Vân Anh, Bùi Văn Thanh

Nghiên cứu hoàn thiện quy trình tái sinh cây và thiết kế vector mang gen *AGPopt* tổng hợp nhân tạo để chuyển vào cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz).

Đỗ Hải Lan, Lê Văn Sơn, Lê Trần Bình

HealthDL - Một hệ thống thu thập, lưu trữ dữ liệu y tế lớn.

Phan Tân, Trần Việt Trung, Nguyễn Hữu Đức, Nguyễn Thanh Tùng

Nghiên cứu sử dụng thép chịu thời tiết ở Việt Nam.

Shinichi Miura, Masatsugu Murase, Đặng Đăng Tùng, Lê Quý Thủy, Nguyễn Văn Thịnh

Ảnh hưởng của các thông số công nghệ cơ bản trong dập tạo hình chi tiết từ cặp phôi dạng tấm sử dụng chất lỏng áp suất cao.

Đỗ Văn Vũ, Nguyễn Đức Minh, Trần Anh Quân, Đinh Văn Duy

Nghiên cứu tính toán lực cản tác động lên tao cáp khi luồng cáp vào ống gen trong thi công dầm cầu bê tông cốt thép dự ứng lực.

Nguyễn Xuân Khang, Nguyễn Chí Minh

Nghiên cứu mạ niken-volfram composit định hướng thay thế lớp mạ crom cứng.

Nguyễn Văn Chiến, Nguyễn Văn Tú

Nghiên cứu chế tạo vật liệu composit trên cơ sở nhựa nền sinh học ứng dụng chế tạo chậu trồng cây.

Nguyễn Thu Trang, Trần Hùng Thuận, Tường Thị Nguyệt Ánh, Chu Xuân Quang, Thái Thị Xuân Trang

Lên men ethanol từ rỉ đường sử dụng nấm men chịu nhiệt.

Ngô Thị Phương Dung, Nguyễn Ngọc Thanh, Võ Bá Phúc, Bùi Hoàng Đăng Long, Pornthap Thanonkeo, Mamoru Yamada, Huỳnh Xuân Phong

1 Application of capillary electrophoresis method for investigating the increase in short chain fatty acid concentrations in biodiesel over time.

Van Quan Nguyen, Hong Anh Duong, Thuy Ngoc Nguyen, Hung Viet Pham, Thi Kim Trang Phan

5 Impact of large reservoirs system on flow regime in the Red river basin.

Thu Phuong Trinh, Huu Dung Luong, Tuan Nghia Le, Duc Thien Tran

10 Qualitative and quantitative assessment of phycocyanin extracted from *Spirulina* (*Arthrospira* sp.) through absorption spectroscopy and denaturation electrophoresis SDS-PAGE.

Thi Nhung Dau, Thi Luong Hang Pham, Le Phuong Trinh

15 A contribution to the biological and ecological characteristics of *Berberis wallichiana* DC. in Vietnam.

Duc Phuong Ngo, Thi Thuy Van Nguyen, Van Huong Bui, Van Dat Nguyen, Thi Van Anh Nguyen, Van Thanh Bui

19 Study on completing a regeneration system and constructing a synthetic *AGPopt* vector for transformation into cassava (*Manihot esculenta* Crantz).

Hai Lan