



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

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

B

Tập 59 - Số 9 - Tháng 9 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

Nghiên cứu xác định các tạp chất bằng ICP-MS sau khi tách chúng khỏi nền Zr(IV) bằng phương pháp chiết dung môi với TBP/Toluen

Chu Mạnh Nhường*, Nguyễn Thị Mai Phương, Nguyễn Văn Trung

Khoa Hóa học, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

Ngày nhận bài 19/6/2017; ngày chuyển phản biện 26/6/2017; ngày nhận phản biện 27/7/2017; ngày chấp nhận đăng 8/8/2017

Tóm tắt:

Bài báo giới thiệu các kết quả nghiên cứu khả năng chiết Zr(IV) bằng tributyl photphat (TBP) thông qua phổ hồng ngoại và phổ tử ngoại của muối Zr(IV), dung môi TBP-toluen và phức Zr-TBP-toluen. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra ảnh hưởng của nồng độ HNO_3 đến hiệu suất chiết Zr(IV) và các nguyên tố tạp chất khác bằng TBP trong toluen. Với hệ chiết (Zr(IV) 20,5 mg/ml và các tạp chất), khi sử dụng dung môi TBP 50%/toluen, qua 1 lần chiết trong môi trường HNO_3 8M và 2-3 lần giải chiết bằng môi trường HNO_3 10M, đã tách và thu hồi được (95-100%) hàm lượng của hầu hết các nguyên tố tạp chất và lượng nền Zr còn lại trong pha nước từ 3-4% sẽ không gây ảnh hưởng đến phép xác định các nguyên tố tạp chất bằng ICP-MS. Hệ chiết này có khả năng ứng dụng cao vào quy trình tách Zr(IV) và xác định tạp chất trong các vật liệu zircon độ sạch hạt nhân và độ sạch cao bằng phép đo ICP-MS.

Từ khóa: HNO_3 , ICP-MS, tách, tạp chất, TBP, Zr(IV).

Chỉ số phân loại: 1.4

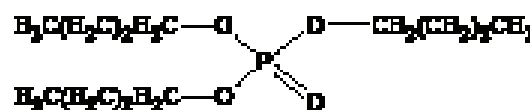
Đặt vấn đề

Các vật liệu Zr độ sạch cao và sạch hạt nhân, mặc dù có độ tinh khiết rất lớn nhưng chúng vẫn chứa nhiều tạp chất với hàm lượng khác nhau và gây hại đến các tính chất quý báu của Zr, nhất là tạp chất có tiết diện bắt neutron nhiệt lớn như Hf, B, Cd, Gd, Sm [1]. Vì vậy, việc kiểm tra đánh giá chất lượng các vật liệu Zr độ sạch cao và độ sạch hạt nhân là vấn đề được các nhà hóa học trên thế giới cũng như ở Việt Nam đặc biệt quan tâm.

Phương pháp chiết dung môi (hay chiết lỏng - lỏng) thường được sử dụng để tách nguyên tố nền Zr và các tạp chất khác bằng một số tác nhân chiết như PC88A, D2EHPA, TBP... trong môi trường axit [2-11].

Biswas và cộng sự đã sử dụng các tác nhân D2EHPA để chiết tách Zr [1]. R. Reddy và cộng sự đã nghiên cứu chiết Zr bằng Cyanex 272, PC88A và LIX-84-IC [2-4].

TBP là một tác nhân chiết solvat cùng với các tác nhân khác như TPPO, PC88A, D2EHPA đã và đang được đánh giá là có nhiều triển vọng trong nghiên cứu chiết tách và tinh chế Zr [5-7, 9-11]. TBP có công thức phân tử $(\text{C}_4\text{H}_9\text{O})_3\text{PO}$ và công thức cấu tạo như sau [8, 10]:



Trong bài báo này, chúng tôi đã nghiên cứu đánh giá được khả năng chiết Zr(IV) bằng tác nhân TBP thông qua việc ghi đo phổ hồng ngoại, tử ngoại của muối, dung môi chiết và phức chiết được; lựa chọn môi trường axit và số lần chiết, giải chiết phù hợp nhằm tách nền Zr và các tạp chất ra khỏi nhau cao nhất, đáp ứng được yêu cầu của phép phân tích xác định tạp chất bằng ICP-MS.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất, dụng cụ và máy móc

Muối Zr(IV) rắn, dung dịch chuẩn đơn từng nguyên tố Zr(IV), Hf(IV), Ti(IV) (1000 $\mu\text{g/ml}$) và chuẩn hỗn hợp gồm 23 nguyên tố (Ag, Al, B, Bi, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn) 1000 $\mu\text{g/ml}$; chuẩn 14 nguyên tố đất hiếm 1000 $\mu\text{g/ml}$; HNO_3 65%; HClO_4 70%; tác nhân chiết TBP và toluen. Các hóa chất trên đều có độ tinh khiết phân tích của hãng Merck (Đức). H_2O cất siêu tinh khiết 18M Ω .

*Tác giả liên hệ: chumanhnhuongkhoahoa@gmail.com

Determination of impurities by ICP-MS after separating them from the Zr(IV) matrix by solvent extraction with TBP/Toluene

Manh Nhuong Chu*, Thi Mai Phuong Nguyen, Van Trung Nguyen

Department of Chemistry, Thai Nguyen University of Education

Received 19 June 2017; accepted 8 August 2017

Abstract:

The capability of Zr(IV) extraction by tributyl phosphate were examined by infrared spectrum and ultraviolet spectrum of Zr(IV), TBP-toluene, and Zr-TBP-toluene. Investigation on the effects of the acid concentration on solvent extraction of zirconium and other impurities from HNO₃ acid with TBP diluted in toluene as the extractant was carried out. With the (20.5 mg/ml Zr(IV) and impurities) system, using 50%TBP/toluene with 1 extraction cycle using 8M HNO₃ environment, and 2-3 back-extraction cycles using 10M HNO₃, (95-100%) of most investigated elements can be separated, and Zr(IV) remained in aqueous phase was just about 3-4%. It was found that with the mentioned amount of Zr(IV), the effect of Zr(IV) on the determination of almost elements by ICP-MS can be negligible. This extraction system can be used for separation procedure of the matrix and determination of impurities in materials of nuclear grade and high purity zirconium by using ICP-MS.

Keywords: HNO₃, ICP-MS, impurities, separation, TBP, Zr(IV).

Classification number: 1.4

Máy quang phổ hồng ngoại FT/IR (Affinity - 1S, Shimadzu) và máy quang phổ UV-Vis (V-630, Serial No. C354161148) lắp đặt và vận hành tại Khoa Hóa học - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Máy khối phổ plasma cảm ứng (ICP-MS) Agilent 7500a - Mỹ, micropipet và các dụng cụ thường dùng trong phân tích thể tích.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu phổ hồng ngoại và tử ngoại của dung dịch muối, dung môi chiết và phức chất chiết được: Nghiên cứu phổ hồng ngoại (IR) và tử ngoại (UV) nhằm đánh giá khả năng chiết Zr(IV) trong môi trường HNO₃ bằng tác nhân TBP. Để chụp phổ IR, các mẫu lỏng được tạo thành màng trên viên KBr và ghi đo trong vùng tần số từ 4000-400 cm⁻¹. Để chụp phổ UV, ban đầu ghi đo đường nền baseline của dung môi (etanol), sau đó ghi đo phổ các mẫu với 1 cuvet chứa nền và 1 cuvet chứa mẫu đo trong vùng tần số từ 200-800 nm.

Nghiên cứu lựa chọn dung dịch giải chiết: Pha nước chứa Zr(IV) 20,5 mg/ml trong HNO₃ 8M. Pha hữu cơ là TBP 50%/toluene. Các dung dịch giải chiết là HNO₃ (0,05-10M).

Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ HNO₃: Chuẩn bị pha nước là các dung dịch chứa Zr(IV) 20,5 mg/ml và các nguyên tố tạp chất; nồng độ mỗi tạp chất là 0,5 µg/ml trong môi trường HNO₃ có nồng độ tăng dần từ 4 đến 12M. Dung môi chiết chứa TBP 50% pha loãng trong toluene được dùng làm pha hữu cơ khi chiết Zr(IV) và các nguyên tố tạp chất khác.

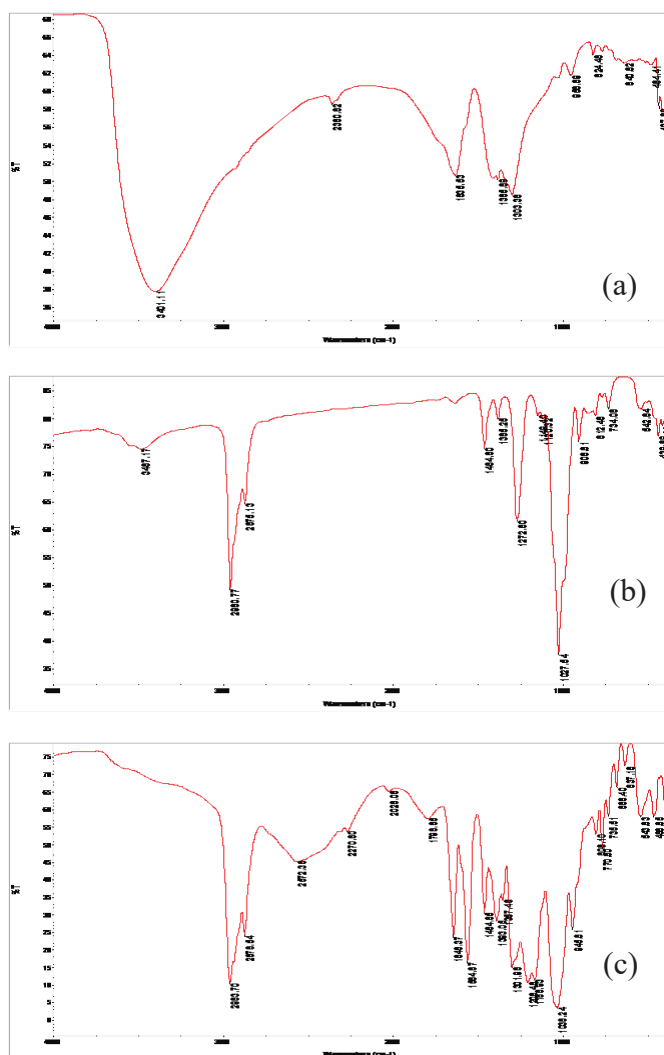
Quy trình chiết và xác định các nguyên tố: Trong mỗi hệ chiết, tỷ lệ thể tích pha nước và hữu cơ là 1/1, thời gian lắc 30 phút, thời gian cân bằng 15 phút. Sau khi cân bằng tách lấy phần nước cái và cô cạn lần 1. Tiếp tục cô cạn lần 2 với 5 ml hỗn hợp (HNO₃ 25% và HClO₄ 20%). Cuối cùng dùng HNO₃ 0,3M định mức đến 10 ml và đo trên máy ICP-MS Agilent 7500a. Các kết quả xác định nồng độ được dùng để tính hiệu suất chiết (%Ex) và đánh giá khả năng tách Zr ra khỏi các nguyên tố khác.

Kết quả và thảo luận

Nghiên cứu khả năng tạo phức của Zr(IV) với TBP bằng phổ hồng ngoại và tử ngoại

Phổ hồng ngoại IR:

Để đánh giá sự tạo phức của Zr(IV) và TBP, chúng tôi tiến hành ghi phổ IR của Zr(IV), TBP-toluene và Zr-TBP-toluene, kết quả được chỉ ra trên hình 1.



Hình 1. Phổ IR của Zr(IV) (a), TBP-toluen (b) và Zr-HNO₃-TBP-toluen (c).

Trên phổ IR của dung dịch Zr(IV), xuất hiện tần số 3401,11 cm⁻¹, đó là vùng dao động hóa trị nhóm -OH (liên kết hydro) của H₂O; tần số 1635,53 cm⁻¹ là vùng dao động đặc trưng của nhóm -NO₃ [7]; vùng tần số 1385,89 cm⁻¹ được quy gán cho dao động đồng mặt phẳng của nhóm -OH; vùng tần số 1303,38 cm⁻¹ được quy gán cho dao động biến dạng của nhóm -OH. Còn vùng tần số 484,41 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động của ion Zr⁴⁺.

Phổ IR của TBP-toluen có tần số 3487,17 cm⁻¹ là vùng dao động hóa trị của nhóm -CH và các tần số 2960,77; 2875,13 cm⁻¹ là vùng dao động của nhóm -CH₃ trong toluen; dao động 1464,80 cm⁻¹ đặc trưng cho nhóm -C₆H₅ của toluen. Tần số 1272,60 cm⁻¹ đặc trưng cho nhóm -P-O...H sinh ra do liên kết giữa nhóm -P=O của TBP và -H của nhóm -CH₃ trong toluen. Tần số 1027,54 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động của nhóm -P=O tự do trong TBP. Các

tần số 542,64; 439,80 cm⁻¹ đặc trưng cho dao động của nhóm -C=C- trong nhân thơm của toluen.

Nghiên cứu phổ IR của phức chiết Zr(NO₃)₄-HNO₃-TBP-toluen thấy xuất hiện các dao động 1208,43 và 1168,93 cm⁻¹ là do được tách ra từ vùng 1272,60 cm⁻¹ có trong dung môi chiết TBP-toluen, điều này chứng tỏ có sự liên kết của ion Zr⁴⁺ với nhóm -P=O (hoặc -P-O...H) của TBP. Đặc biệt, vùng dao động 1635,53 cm⁻¹ của nhóm -NO₃ trong Zr(NO₃)₄ bị mất hoàn toàn và chuyển thành 2 dao động 1646,37 và 1564,87 cm⁻¹ trong phức chất chiết được. Ngoài ra, vùng 1027,54 cm⁻¹ đặc trưng cho nhóm -P=O của TBP đã chuyển dịch thành 1036,24 cm⁻¹ trong phức chất chiết. Các vân đặc trưng của nhóm -C=C- và C-C₆H₅ chuyển dịch lớn từ vùng 439,80 - 908,81 cm⁻¹ trong dung môi chiết về vùng 466,85 - 945,81 cm⁻¹. Từ đó cho thấy đã có sự tương tác mạnh giữa ion Zr⁴⁺ với nguyên tử O của nhóm -P=O trong TBP, nghĩa là tác nhân TBP có khả năng tạo phức mạnh với ion Zr⁴⁺ trong môi trường HNO₃ và phức này được chiết tốt vào pha hữu cơ.

Sự dịch chuyển các bước sóng của dung dịch muối, dung môi chiết và phức chất chiết ở trên được trình bày trong bảng 1.

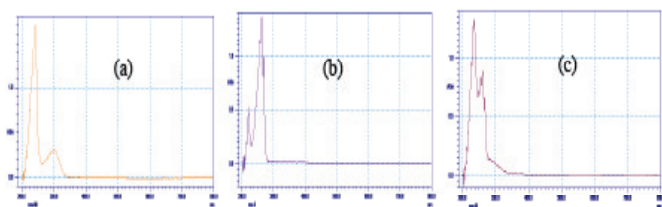
Bảng 1. Phổ IR của Zr(IV), TBP-toluen và Zr-HNO₃-TBP-toluen (đơn vị cm⁻¹).

	ν_{NO_3}	$\nu_{\text{Zr}^{4+}}$	$\nu_{\text{P=O}}$	$\nu_{\text{P-OH}}$	ν_{CH}	δ_{CH_3}	$\nu_{\text{C=C thơm}}$	$\nu_{\text{C-C}_6\text{H}_5}$
Zr(IV)	1635,53	484,41						
TBP-toluen			1027,54	1272,60	3487,17	2960,77; 2875,13	542,64; 439,80	908,81
Zr-HNO ₃ -TBP-toluen	1646,37; 1564,87	466,85	1036,24	1301,98		2963,70; 2876,54	543,83; 466,85	945,81

Phổ tử ngoại UV:

Để làm rõ thêm khả năng tạo phức của Zr(IV) với TBP, phổ UV của Zr(IV), TBP-toluen, Zr-HNO₃ 8M-TBP-toluen cũng đã được ghi đo và được chỉ ra trên hình 2.

Trên phổ UV của dung dịch Zr(IV) xuất hiện 2 cực đại ở bước sóng 237,5 và 300 nm đặc trưng cho ion Zr⁴⁺. Còn trên phổ UV của TBP-toluen xuất hiện 4 cực đại ở 222,5; 256; 256,5 và 269 nm. Tuy nhiên, trên phổ UV của phức Zr-TBP-toluen, các pic xuất hiện trong Zr(IV) và dung môi TBP-toluen có xu hướng giảm cường độ hoặc mất hẳn. Đó là pic 237,5 nm của -NO₃ trong Zr(IV) bị giảm cường độ và các cực đại 222,5; 300 nm của TBP-toluen bị mất hẳn khi đi vào phức chất. Các cực đại 256; 262,5; 269 bị giảm cường độ rất mạnh. Các sự chuyển dịch ở trên là do có sự tạo phức Zr(IV) với TBP và kết quả này có sự phù hợp với phổ hồng ngoại.



Hình 2. Phổ UV của Zr(IV) (a); TBP-toluen (b) và Zr-HNO₃-TBP-toluen (c).

Từ các phổ IR và UV cho thấy, có sự tạo phức mạnh của ion Zr⁴⁺ với dung môi chiết TBP-toluen trong môi trường HNO₃ 8M. Nói một cách khác, trong môi trường HNO₃ 8M, tác nhân TBP đã tạo phức mạnh với Zr⁴⁺ và phức tạo thành được chiết tốt lên pha hữu cơ.

Nghiên cứu khả năng giải chiết nền Zr(IV) ra khỏi pha hữu cơ TBP 50%/toluen

Kết quả nghiên cứu giải chiết nền Zr(IV) bằng một số tác nhân được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Hiệu quả giải chiết Zr(IV) (%) ra khỏi TBP 50%/toluen bằng dung dịch HNO₃ (0,05-10M).

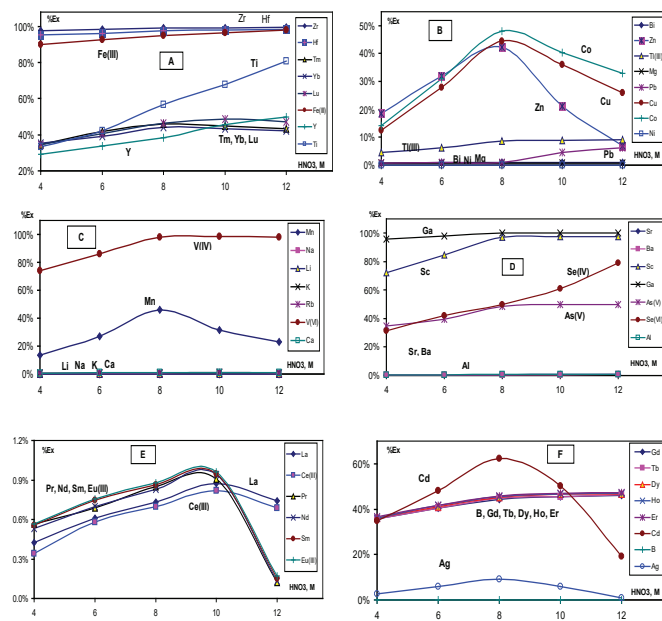
Tỷ lệ V _a /V _o	Dung dịch giải chiết [HNO ₃], M	[Zr], mg/ml			Hiệu quả giải chiết, %
		Giải chiết lần 1	Giải chiết lần 2	Giải chiết lần 3	
1:1	0,05	17,62	1,25	0,0	92,36
	0,1	18,97	1,23	0,0	98,87
	0,5	19,78	0,65	0,0	100,0
	8,0	0,79	0,25	0,0	5,09
	10,0	0,50	0,15	0,0	3,18
2:1	0,05	17,34	2,45	0,0	96,87
	0,1	17,63	2,80	0,0	100,0
	0,5	19,63	0,80	0,0	100,0
	8,0	1,15	0,40	0,0	7,59
	10,0	0,91	0,25	0,0	5,68
3:1	0,05	17,53	2,25	0,65	100,0
	0,1	20,18	0,20	0,05	100,0
	0,5	20,28	0,15	0,0	100,0

Theo kết quả ở bảng 2, Zr(IV) được giải chiết hoàn toàn vào pha nước với điều kiện: Tỷ lệ V_a/V_o = 1/1 với dung dịch giải chiết HNO₃ 0,5M; tỷ lệ V_a/V_o = 2/1 với dung dịch giải chiết HNO₃ 0,1-0,5M hoặc tỷ lệ V_a/V_o = 3/1 với dung dịch giải chiết HNO₃ 0,05-0,5M và cần tối thiểu từ 2 đến 3 bậc giải chiết để thu hồi hoàn toàn Zr(IV) từ pha hữu cơ. Các dung dịch HNO₃ 8-10M ở tỷ lệ V_a/V_o = 1/1 hoặc 2/1 đều có hiệu quả giải chiết Zr(IV) là thấp nhất. Kết quả này có sự phù hợp với nghiên cứu được chỉ ra ở tài liệu [8]. Vì vậy, với mục tiêu tách cấu tử đa lượng là Zr(IV) bằng cách giữ Zr(IV) chủ yếu trên pha hữu cơ,

cần lựa chọn dung dịch với hiệu quả giải chiết Zr(IV) là thấp nhất. Theo tiêu chí đó, biện pháp được đề xuất để giữ Zr(IV) nằm chủ yếu trên pha hữu cơ là sử dụng các dung dịch HNO₃ 8-10M để rửa chiết pha hữu cơ.

Ảnh hưởng của nồng độ HNO₃ đến hiệu suất chiết Zr(IV) và các nguyên tố bằng TBP 50%/toluen

Ảnh hưởng của nồng độ HNO₃ đến hiệu suất chiết Zr(IV) và các nguyên tố bằng TBP 50%/toluen được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ HNO₃ đến hiệu suất chiết Zr(IV) và các nguyên tố khác bằng TBP 50%/toluen.

A - hiệu suất chiết của các nguyên tố (Zr, Hf, Tm, Yb, Lu, Fe, Y, Ti); B- hiệu suất chiết của các nguyên tố (Bi, Zn, Ti, Mg, Pb, Cu, Co, Ni); C- hiệu suất chiết của các nguyên tố (Mn, Na, Li, K, Rb, V, Ca); D- hiệu suất chiết của các nguyên tố (Sr, Ba, Sc, Ga, As, Se, Al); E- hiệu suất chiết của các nguyên tố (La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu); F- hiệu suất chiết của các nguyên tố (Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Cd, B, Ag).

Kết quả chỉ ra trên hình 3 cho thấy, khi tăng nồng độ HNO₃, hiệu suất chiết Zr(IV), Hf(IV) đạt được rất cao (từ 95,56 đến 99,69%) và khá ổn định khi tăng nồng độ HNO₃. Một số nguyên tố được chiết khá cao như Fe(III), Ti, V, Ga, Sc, Y, Tm, Yb, Lu; một số có hiệu suất chiết trung bình như Cu, Co, Zn, Mn, Cd, Se, As và hiệu suất chiết của các nguyên tố còn lại là khá nhỏ. Với môi trường HNO₃ 8M, hiệu suất chiết Zr(IV) đạt 99%, Hf(IV) đạt gần 98%, Ga (99,99%), Sc, V (97-98%), Fe(III) đạt gần 95%, Cd (62%), Ti (56%), Mn, As, Se (46-50%), Y, Tm, Yb, Lu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er (38-46%), Cu, Co, Zn (27-32%), Ag (9%) và các nguyên tố còn lại có hiệu suất chiết khá nhỏ (dưới 1%). Đặc biệt, khi nồng độ HNO₃ ≥ 10M, hiệu suất

chiết của Zr(IV) vẫn tiếp tục tăng nhẹ, trong khi hiệu suất chiết của hầu hết các nguyên tố còn lại đều bị giảm khá mạnh. Dựa trên kết quả này, chúng tôi đề xuất chọn các dung dịch HNO_3 có nồng độ $\geq 10\text{M}$ làm môi trường để rửa chiết các nguyên tố khác từ pha hữu cơ trở lại pha nước nhằm tách chúng ra khỏi nền Zr.

Căn cứ vào kết quả giải chiết nền Zr(IV) ra khỏi pha hữu cơ TBP 50% toluen ở phần trên, chúng tôi chọn dung dịch HNO_3 10M để rửa chiết từ 2-3 lần các nguyên tố sau khi chiết hệ chứa (Zr(IV) 20,5 mg/ml + 43 tạp chất, mỗi tạp chất 0,5 $\mu\text{g/ml}$) trong môi trường HNO_3 8M. Kết quả xác định lượng phân bố các nguyên tố trong pha nước và pha hữu cơ sau khi chiết, rửa chiết bằng ICP-MS được chỉ ra ở bảng 3 và 4.

Bảng 3. Lượng phân bố các nguyên tố ở hai pha sau 1 lần chiết trong HNO_3 8M bằng TBP 50%/toluen và 2 lần rửa chiết bằng HNO_3 10M.

Tạp chất và nền Zr	Bi, Ti, Mg, Pb, Ni, Na, Li, K, Rb, Ca, Sr, Ba, Al, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, B, Ag	Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Lu, Tm, Yb, Cu, Zn, Y	As, Se, Co, Mn, Lu, Tm	Cd	Ti	Fe	Sc	V	Ga	Hf	Zr
Pha nước, %	≈ 100	91-94	88-90	76	82	14	09	05	01	06	03
Pha hữu cơ, %	Không phát hiện	06-09	10-12	24	18	86	91	95	99	94	97

Bảng 4. Lượng phân bố các nguyên tố ở hai pha sau 1 lần chiết trong HNO_3 8M bằng TBP 50%/toluen và 3 lần rửa chiết bằng HNO_3 10M.

Tạp chất và nền Zr	Bi, Ti, Mg, Pb, Ni, Na, Li, K, Rb, Ca, Sr, Ba, Al, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, B, Ag	Co, Cu, Mn, Lu, Tm, Yb, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Yb, Zn, Y	As, Se	Cd	Ti	Fe	Sc	V	Ga	Hf	Zr
Pha nước, %	≈ 100	95-96-97-98	94	85	90	19	12	07	02	08	04
Pha hữu cơ, %	Không phát hiện	02-03-04-05	06	15	10	81	88	93	98	92	96

Như vậy, khi sử dụng dung môi TBP 50%/toluen để chiết hệ chứa (Zr(IV) 20,5 mg/ml và 43 tạp chất, mỗi tạp chất 0,5 $\mu\text{g/ml}$), sau 1 lần chiết trong HNO_3 8M và 2-3 lần rửa chiết bằng HNO_3 10M, có thể tách được gần như hoàn toàn (trên 95%) hàm lượng của 22-34 nguyên tố và lượng Zr còn lại trong pha nước là rất nhỏ, chỉ từ 3-4% lượng ban đầu sẽ không gây ảnh hưởng đến phép xác định các tạp chất này bằng ICP-MS. Do đó, khi sử dụng dung môi TBP

50%/toluen đã cho khả năng tách nền Zr rất tốt với mức độ tách đạt 96-97%. Tuy nhiên, hiệu quả thu hồi và xác định các tạp chất bằng ICP-MS là chưa cao đối với một số tạp chất như Hf, Ga, V, Sc, Ti, Fe, Cd, As, Se.

Kết luận

Thông qua phổ IR, UV của Zr(IV), TBP-toluen và Zr-HNO_3 -TBP-toluen đã cho thấy tác nhân chiết có khả năng tạo phức mạnh với ion kim loại và tạo ra phức chất chiết được lên pha hữu cơ.

Nghiên cứu các dung dịch giải chiết pha hữu cơ cho thấy, dung dịch HNO_3 10M có khả năng giải chiết Zr(IV) là kém hơn và là sự lựa chọn phù hợp nhất cho phép giải chiết.

Khi sử dụng TBP 50%/toluen trong môi trường HNO_3 8M qua 1 lần chiết và 2-3 lần giải chiết bằng HNO_3 10M, đã tách được khá nhiều các tạp chất (95-100%) và lượng Zr(IV) còn lại trong pha nước chỉ còn 3-4% sẽ không gây ảnh hưởng và phép xác định các tạp chất bằng ICP-MS là thực hiện được với độ chính xác và tin cậy cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R.K. Biswas, M.A. Hayat (2002), "Solvent extraction of zirconium(IV) from chloride media by D2EHPA in kerosene", *Hydrometallurgy*, **63**(2), pp.149-158.
- [2] B. Ramachandra Reddy, J. Rajesh Kumar, A. Varada Reddy (2004), "Liquid-liquid extraction of tetravalent zirconium from acidic chloride solutions using Cyanex272", *Anal. Sci.*, **20**, pp.501-505.
- [3] B. Ramachandra Reddy, J. Rajesh Kumar, A. Varada Reddy, D. Neela Priya (2004), "Solvent extraction of zirconium(IV) from acidic chloride solutions using 2-ethylhexyl phosphonic acid mono-2-ethyl hexyl ester (PC-88A)", *Hydrometallurgy*, **72**, pp.303-307.
- [4] B. Ramachandra Reddy, J. Rajesh Kumar, A. Varada Reddy (2004), "Solvent extraction of zirconium(IV) from acid chloride solutions using LIX 84-IC", *Hydrometallurgy*, **74**, pp.173-177.
- [5] I.V. Blazheva, et al. (2008), "Extraction of zirconium with tributyl phosphate from nitric acid solutions", *Radiochemistry*, **50**(3), pp.221-224.
- [6] Carlos A. Gonzalez, Robert L. Watters (2013), *Certificate of Analysis Standard Reference Material® 360b Zirconium (Sn-Fe-Cr)*, National Institute of Standards & Technology, Alloy (Gaithersburg, MD 20899 R).
- [7] Lưu Minh Đại, Đào Ngọc Nhiệm, Võ Quang Mai (2011), "Chiết các nguyên tố đất hiếm nhẹ (La, Ce, Nd, Sm, Eu) bằng Triphenylphosphin oxit từ dung dịch axit nitric", *Tạp chí Hóa học*, **49**(3A), tr.69-74.
- [8] Hoàng Nhuận (2012), *Nghiên cứu quy trình công nghệ thu nhận zirconi dioxit tinh khiết hạt nhân từ zircon silicat Việt Nam bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng với dung môi TBP*, Đề tài khoa học và công nghệ cấp bộ, Viện Năng lượng nguyên tử Việt Nam.
- [9] Chu Mạnh Nhường, Lê Bá Thuận, Nguyễn Xuân Chiến (2013), "Nghiên cứu tách Zirconi bằng phương pháp chiết dung môi với PC88A/kerosen từ môi trường HCl có một số muối để xác định các tạp chất bằng ICP-MS", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **5**(648), tr.55-59.
- [10] Chu Mạnh Nhường (2015), *Nghiên cứu xác định tạp chất trong một số vật liệu zirconi sạch hạt nhân bằng phương pháp phân tích ICP-MS*, Luận án Tiến sĩ hóa học, Viện Năng lượng nguyên tử Việt Nam.
- [11] Chu Mạnh Nhường, Nguyễn Quang Bắc (2017), "Xác định các tạp chất đất hiếm trong ZrOCl_2 độ sạch cao bằng ICP-MS sau khi tách nền Zr bằng phương pháp chiết dung môi với D2EHPA/toluen/ HNO_3 ", *Tạp chí Hóa học*, **55**(3e12), tr.278-283.

Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy nhân tạo đến sinh trưởng phát triển của nấm *Cordyceps militaris*

Nguyễn Minh Đức^{1*}, Nguyễn Thị Phương Đoài¹, Trần Thị Thu Hà², Trần Đăng Khánh¹, Khuất Hữu Trung¹

¹Viện Di truyền nông nghiệp

²Viện Nghiên cứu và phát triển lâm nghiệp, Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên

Ngày nhận bài 10/5/2017; ngày chuyển phản biện 12/5/2017; ngày nhận phản biện 16/6/2017; ngày chấp nhận đăng 22/6/2017

Tóm tắt:

Cordyceps militaris là một loại nấm dược liệu chứa nhiều hoạt chất sinh học quý giá để sử dụng làm thuốc. Trong điều kiện nuôi cấy nhân tạo, sử dụng gạo lứt làm cơ chất nền thu được sinh khối quả thể cao hơn sử dụng gạo trắng 17,4-31,1% tùy từng chủng nấm *C. militaris*. Hàm lượng đường glucose trong môi trường ảnh hưởng đến số lượng nấm, chiều dài và khối lượng quả thể; hàm lượng đường glucose bổ sung vào môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 30 g. Lượng bột nhộng tằm bổ sung vào môi trường nuôi cấy là 2 g/bình. Nấm *C. militaris* có thể sinh trưởng phát triển được trong dải pH từ 4 đến 8, pH thích hợp cho môi trường nuôi cấy là 6-7. Ở nhiệt độ cao trên 30°C, quả thể nấm không thể hình thành, nhiệt độ môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 20-25°C. Cường độ ánh sáng môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 500-700 lux. Cường độ ánh sáng thấp làm giảm khả năng sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *C. militaris*. Thời gian thu hoạch thích hợp nhất là 65 ngày sau cấy giống. Thời gian thu hoạch kéo dài sẽ khiến hàm lượng cordycepin và adenosin trong quả thể nấm *C. militaris* giảm xuống.

Từ khóa: *Cordyceps militaris*, môi trường nuôi cấy, quả thể.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Cordyceps là một chi nấm ký sinh trên sâu non, sâu trưởng thành hoặc nhộng của một số loài côn trùng. Sâu non, nhộng, sâu trưởng thành của một số loài côn trùng nằm dưới đất hoặc ở trên mặt đất bị nấm ký sinh. Các loài nấm này sử dụng các chất hữu cơ trong cơ thể côn trùng làm thức ăn, làm cho côn trùng bị chết. Mùa đông, nhiệt độ và ẩm độ không khí thấp, nấm ký sinh ở dạng hệ sợi. Đến mùa hè, nhiệt độ và ẩm độ không khí cao, nấm chuyển sang giai đoạn sinh sản hữu tính, hình thành quả thể. Loài nấm *C. militaris* phân bố ở độ cao 2.000-3.000 m so với mực nước biển. Nấm *C. militaris* ký sinh trên sâu, nhộng của nhiều loài thuộc bộ Cánh vẩy (*Lepidoptera*). Loài này được tìm thấy tại nhiều quốc gia trên thế giới như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Thái Lan, Việt Nam.

Trên thế giới, các nghiên cứu về tác dụng của *Cordyceps* được các nhà khoa học đặc biệt quan tâm. Nhiều nghiên cứu đã được công bố chứng minh *Cordyceps* có hoạt tính kháng oxy rất cao, kháng ung thư, một số virus, vi khuẩn và nấm. Yu và cs (2006) đã so sánh về hiệu quả chống lại quá trình oxy hóa giữa *C. militaris* nuôi cấy và *C. sinensis* tự nhiên. Kết quả nghiên cứu cho thấy, ở *C. militaris*, khả năng ức chế sự oxy hóa ở liposom cao hơn nhưng ở

protein thì thấp hơn *C. sinensis*, hàm lượng polyphenolic và các hoạt chất sinh học như cordycepin và adenosin thì cao hơn *C. sinensis* [1]. Jiang và cs (2011) đã chứng minh rằng adenosin và 6,7,2',4',5'- pentamethoxyflavon ly trích từ *C. militaris* có khả năng ức chế HIV-1 protease [2]. Nghiên cứu của Wu và cs (2011) đã chỉ ra tỷ lệ monosaccharid trong phân đoạn polysaccharid tinh sạch từ *C. militaris* nuôi cấy gồm mannose:glucose:galactose với tỷ lệ là 1,35:8,34:1,00. Phân đoạn này cũng cho hoạt tính kháng oxy hóa cao, điều đó có thể liên quan đến khả năng chuyển electron hoặc nhường hydrogen [3]. So với thế giới, các nghiên cứu về tác dụng của nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* ở Việt Nam chưa được công bố nhiều. Phần lớn những gì mà các nhà nghiên cứu Việt Nam có được về nguồn dược liệu quý hiếm này đều chỉ dừng lại ở việc phát hiện các chủng của nấm đông trùng hạ thảo sẵn có trong tự nhiên. Theo nghiên cứu của Đái Duy Ban và cs (2009) thì nấm đông trùng hạ thảo là một loại dược liệu quý hiếm, có tác dụng hỗ trợ điều trị các bệnh virus, ung thư, HIV/AIDS, đái tháo đường và suy giảm tình dục [4]. Đoàn Minh Quân và cs (2014) đã tiến hành nghiên cứu tách chiết ergosterol và thử nghiệm hoạt tính kháng phân bào của cao ether dầu hỏa từ sinh khối nấm *Cordyceps*

*Tác giả liên hệ: Email: nmduc1986@gmail.com

Effect of the nutritional medium and environment on artificial fruiting body formation of *Cordyceps militaris*

Minh Duc Nguyen^{1*}, Thi Phuong Doai Nguyen¹,
Thi Thu Ha Tran², Dang Khanh Tran¹,
Huu Trung Khuat¹

¹Agricultural Genetics Institute (AGI)

²Institute of Forestry Research and Development (IFRAD),
Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry (TUAF)

Received 10 May 2017; accepted 22 June 2017

Abstract:

Stromatal fruiting bodies of *Cordyceps militaris* were successfully produced in rice. Brown rice increases fresh fruit weight by 17.4-31.1% and was thus used for the rest of the experiments. Glucose influenced the number of shoots, length, and body weight; 30 g glucose/bottle was the optimum content. Supplementation of pupa at 2 g/bottle to the medium resulted in a slightly enhanced production of fruiting bodies. *C. militaris* can grow in the pH range from 4 to 8, and the suitable pH for the culture medium was 6 to 7. At high temperatures above 30°C, fruiting bodies can not form; the optimum temperature was 20-25°C. The most suitable light intensity was 500-700 lux. Low light intensity reduces the growth of *C. militaris*. The best harvest time was 65 days after transplanting. Long harvest time will reduce cordycepin and adenosine levels.

Keywords: *Cordyceps militaris*, culture medium, fruiting body.

Classification number: 1.6

spp. tại Việt Nam, kết quả cho thấy ergosterol dạng tinh thể và dạng cao PE có khả năng ức chế sự phân bào trên dòng tế bào ung thư vú MCF-7 [5].

Vài năm gần đây, nhờ những tiến bộ trong công nghệ sinh học, nước ta đã có thể nhân giống và nuôi trồng thành công nấm *C. militaris*. Thành tựu này đã giúp nước ta góp mặt cùng với Mỹ, Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc và Thái Lan trở thành số ít nước có thể nuôi trồng thành công vị thuốc quý này trong công cuộc tìm kiếm giải pháp thay thế cho nấm đông trùng hạ thảo tự nhiên đang trở nên cạn kiệt cũng như để đáp ứng nhu cầu tiêu thụ loại nấm này ngày một tăng trên thế giới. Với mục đích chuyển giao công nghệ cho cá nhân, tổ chức có nhu cầu nhằm đưa loại nấm quý có chất lượng đảm bảo tới tay người tiêu dùng với giá thành phải chăng, đồng thời tăng thu nhập cho người sản xuất, chúng tôi tiến hành nghiên cứu để chọn ra môi trường nuôi cấy và điều kiện nuôi cấy tối ưu cho nấm *C. militaris*.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Ba chủng nấm *C. militaris* HQ, Ho, Q1 thuộc bộ chủng giống của Bộ môn Kỹ thuật di truyền, Viện Di truyền nông nghiệp.

Phương pháp nghiên cứu

Giống gốc nấm *C. militaris* được lưu giữ và bảo quản ở 4°C trên môi trường PDA tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Kỹ thuật di truyền, Viện Di truyền nông nghiệp. Môi trường nhân giống dịch thể gồm 5 g pepton, 5 g cao nấm men, 0,1 g B₁, 1 g MgSO₄, 0,5 g KH₂PO₄, pH = 6,5. Dịch lỏng này được nuôi trong máy lắc với tốc độ 120 vòng/phút, ở 25±1°C trong vòng 5 ngày.

Môi trường tạo quả thể cho thí nghiệm đầu tiên bao gồm: 25 g gạo và 50 ml dung dịch dinh dưỡng (1 g/l KH₂PO₄, 1 g/l MgSO₄, 0,2 g/l B₁, 1 g/l pepton, 50 g/l khoai tây, 10% nước dừa, pH = 7). Kết quả thu được từ thí nghiệm trước sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm kế tiếp. Tất cả được cho vào bình trụ 500 ml, bịt nắp nylon và được khử trùng ở 121°C trong thời gian 25 phút.

Mỗi bình môi trường được cấy 2 ml giống dịch thể. Giai đoạn ươm sợi nấm được nuôi trong điều kiện tối hoàn toàn ở 20-22°C trong khoảng 9-10 ngày, sau đó được chuyển sang điều kiện phòng nuôi trồng ở 24±1°C, cường độ chiếu sáng 500-1.000 lux, quang chu kỳ 12L/12D, độ ẩm 80-90% trong khoảng 55-60 ngày.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày), đặc điểm phát triển của mầm quả thể

sau 20 ngày cấy giống, TW: Tổng khối lượng (g/bình), LS: Chiều dài quả thể, FW: Khối lượng quả thể (g/bình), hàm lượng cordycepin (mg/g chất khô), hàm lượng adenosin (mg/g chất khô). Cordycepin và adenosin được phân tích bằng phương pháp HPLC-PDA.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2007.

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm C. militaris

Ảnh hưởng của cơ chất nền đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm C. militaris: Trong tự nhiên, nấm *C. militaris* thường ký sinh trên các loại côn trùng. Để giảm giá thành và chủ động nguồn nguyên liệu trong sản xuất, rất nhiều thí nghiệm nuôi trồng nấm *C. militaris* trên môi trường hữu cơ được tiến hành và may mắn là ngũ cốc và một vài nguồn cơ chất hữu cơ khác đã được chứng minh là thích hợp để nuôi trồng *C. militaris* trong môi trường nhân tạo. Từ năm 1941, Kobayasi đã tiến hành thử nghiệm trồng *C. militaris* trên cơ chất gạo [6]. Từ đó trở đi, gạo trở thành nguồn cơ chất chủ yếu để nuôi trồng *C. militaris* trên môi trường nhân tạo. Tuy nhiên không phải loại gạo nào cũng phù hợp làm môi trường nuôi trồng *C. militaris*. Để tìm ra loại gạo phù hợp, chúng tôi tiến hành nuôi trồng *C. militaris* trên loại gạo phổ biến tại Việt Nam, đó là gạo Bắc thơm trắng và gạo Bắc thơm lức. Sau thời gian 65 ngày tính từ khi cấy giống, các bình nấm được thu hoạch và đo đếm các chỉ tiêu. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của cơ chất nền đến quả thể nấm *C. militaris* 60 ngày sau cấy giống.

Chủng nấm	Công thức	TW (g/bình)	LS (mm)	FW (g/bình)
HQ	CT1 (Gạo Bắc thơm trắng)	100,7	55,8	13,5
	CT2 (Gạo Bắc thơm lức)	104,5	65,2	17,7
	LSD _{0,05}	4,17	3,06	2,33
Ho	CT1 (Gạo Bắc thơm trắng)	83,7	48,1	13,2
	CT2 (Gạo Bắc thơm lức)	88,3	53,9	15,5
	LSD _{0,05}	3,96	3,43	2,12
Q1	CT1 (Gạo Bắc thơm trắng)	93,6	45,4	13,6
	CT2 (Gạo Bắc thơm lức)	102,8	52,3	16,2
	LSD _{0,05}	4,32	3,04	2,07

Kết quả bảng 1 cho thấy, ở cả 3 chủng nấm, tất cả các chỉ tiêu theo dõi của công thức sử dụng gạo Bắc thơm lức đều cao hơn so với gạo Bắc thơm trắng. Theo kết quả nghiên cứu của Shrestha và cs (2012), 2 chỉ tiêu LS và năng suất sinh học khi nuôi trồng nấm *C. militaris* phụ thuộc vào từng chủng [7]. Ở công thức sử dụng Bắc thơm trắng làm cơ chất nền, chiều dài quả thể của chủng HQ là cao nhất (55,8 mm), chủng Q1 là thấp nhất (45,4 mm). Ở công thức sử dụng gạo Bắc thơm lức, chiều dài quả thể của

chủng HQ cao nhất (65,2 mm), chủng Q1 đạt thấp nhất (52,3 mm).

Sử dụng gạo Bắc thơm trắng làm cơ chất, khối lượng quả thể tươi thu được của giống Q1 cao nhất (13,6 g), của chủng Ho là thấp nhất (13,2 g). Trong khi đó ở công thức sử dụng gạo Bắc thơm lức, khối lượng quả thể tươi của chủng HQ là cao nhất (17,7 g), thấp nhất vẫn là chủng Ho (15,5 g).

Như vậy, có thể nhận thấy, sử dụng gạo Bắc thơm lức làm cơ chất nền thu được khối lượng quả thể tươi cao hơn sử dụng gạo Bắc thơm trắng 17,4-31,1% tùy từng chủng nấm.

Ảnh hưởng của hàm lượng đường glucose đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm C. militaris: Ngoài nguồn carbon được cung cấp từ gạo, chúng tôi tiến hành bổ sung thêm đường glucose vào môi trường nuôi cấy với hàm lượng tăng dần từ 0 đến 50 g/l. Kết quả thí nghiệm cho thấy, hàm lượng đường trong môi trường nuôi cấy không ảnh hưởng đến thời gian hình thành cũng như đặc điểm hình thái và phát triển của mầm quả thể nhưng lại ảnh hưởng đến số lượng mầm quả thể nấm *C. militaris* (bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng của hàm lượng glucose đến sự hình thành và phát triển của mầm quả thể.

Chủng nấm	Công thức	Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày)	Số lượng mầm quả thể/bình	Đặc điểm hình thái và phát triển mầm quả thể sau 25 ngày cấy giống
HQ	CT3 (0 g, ĐC)	18,4	13,9	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT4 (10 g)	18,8	18,3	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT5 (20 g)	17,2	40,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT6 (30 g)	17,0	53,6	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT7 (40 g)	17,4	52,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT8 (50 g)	18,4	50,8	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	LSD _{0,05}	1,73	9,78	
Ho	CT3 (0 g, ĐC)	16,2	17,3	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT4 (10 g)	16,0	18,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT5 (20 g)	16,7	40,2	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT6 (30 g)	16,3	52,5	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT7 (40 g)	16,5	53,8	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT8 (50 g)	16,1	54,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	LSD _{0,05}	1,63	9,06	
Q1	CT3 (0 g, ĐC)	16,4	15,6	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT4 (10 g)	16,1	16,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT5 (20 g)	16,5	25,2	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT6 (30 g)	16,6	50,5	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT7 (40 g)	16,4	49,8	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT8 (50 g)	16,4	46,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	LSD _{0,05}	1,35	9,24	

Kết quả bảng 2 cho thấy, số lượng mầm quả thể ở 2 công thức không bổ sung đường và bổ sung 10 g đường không có sự khác biệt đáng kể. Bổ sung 20 g đường, số

lượng mầm quả thể tăng lên rõ rệt. Khi lượng đường bổ sung tăng lên đến 30 g, số lượng mầm quả thể tăng lên gấp hơn 2 lần so với công thức đối chứng. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng lượng đường, số mầm quả thể không tiếp tục tăng.

Ảnh hưởng của hàm lượng đường glucose đến quả thể nấm *C. militaris* được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của hàm lượng glucose đến quả thể nấm *C. militaris* sau 60 ngày cấy giống.

Chủng nấm	Công thức	TW (g/bình)	LS (mm)	FW (g/bình)
HQ	CT3 (0 g ĐC)	116,2	65,1	17,2
	CT4 (10 g)	116,7	65,7	17,8
	CT5 (20 g)	117,3	70,4	18,5
	CT6 (30 g)	117,1	74,3	22,6
	CT7 (40 g)	117,8	75,6	22,8
	CT8 (50 g)	118,0	75,8	22,8
	<i>LSD</i> _{0,05}	3,07	3,12	3,16
Ho	CT3 (0 g ĐC)	105,1	47,6	15,8
	CT4 (10 g)	105,3	48,0	16,3
	CT5 (20 g)	107,7	50,8	18,6
	CT6 (30 g)	108,2	55,4	21,8
	CT7 (40 g)	108,1	55,6	22,5
	CT8 (50 g)	108,4	55,0	22,7
	<i>LSD</i> _{0,05}	3,12	3,01	3,12
Q1	CT3 (0 g ĐC)	111,7	52,1	16,0
	CT4 (10 g)	113,6	52,7	16,4
	CT5 (20 g)	114,2	56,3	20,1
	CT6 (30 g)	115,8	63,9	23,9
	CT7 (40 g)	115,8	64,1	23,9
	CT8 (50 g)	116,1	64,4	24,5
	<i>LSD</i> _{0,05}	3,16	3,33	3,04

Kết quả bảng 3 cho thấy, ở cả 3 chủng nấm, hàm lượng đường glucose không ảnh hưởng đến TW thu được nhưng lại ảnh hưởng đến chiều dài và khối lượng của quả thể. Đối với cả 3 chủng HQ, Ho và Q1, khi tăng lượng đường bổ sung, chiều dài quả thể sẽ tăng lên. Ở mức ý nghĩa 5%, chiều dài quả thể ở 3 công thức 6, 7 và 8 (bổ sung 30, 40 và 50 g đường) không sai khác. Tương tự, khối lượng quả thể nấm cũng tăng cùng với lượng đường bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Khối lượng quả thể ở 3 công thức 6, 7 và 8 cũng không có sự khác biệt.

Như vậy, có thể nhận thấy hàm lượng đường glucose trong môi trường ảnh hưởng đến số lượng mầm, chiều dài và khối lượng quả thể nấm *C. militaris*. Hàm lượng đường glucose bổ sung vào môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 30 g.

*Ảnh hưởng của hàm lượng bột nhộng đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm *C. militaris*:* Trong tự nhiên, nấm *C. militaris* ký sinh trên côn trùng, do vậy nhu cầu về đạm tự nhiên của chúng cũng khá cao. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành bổ sung thêm bột nhộng tằm để tối ưu hóa môi trường nuôi cấy. Bột nhộng tằm được bổ sung vào môi trường theo các mức 1, 2 và 3 g/bình. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của hàm lượng bột nhộng tằm đến quả thể nấm *C. militaris* sau 60 ngày cấy giống.

Chủng nấm	Công thức	TW (g/bình)	LS (mm)	FW (g/bình)
HQ	CT9 (0 g)	117,3	74,6	22,6
	CT10 (1 g)	117,9	75,7	22,9
	CT11 (2 g)	118,2	78,9	26,7
	CT12 (3 g)	118,2	79,0	26,5
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,98	3,26	2,15
Ho	CT9 (0 g)	97,5	55,8	21,1
	CT10 (1 g)	97,9	56,0	21,4
	CT11 (2 g)	100,7	59,9	23,9
	CT12 (3 g)	101,2	60,1	24,0
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,98	3,42	2,07
Q1	CT9 (0 g)	114,3	63,3	22,5
	CT10 (1 g)	116,9	63,9	23,0
	CT11 (2 g)	117,8	72,5	25,6
	CT12 (3 g)	117,5	72,7	25,8
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,98	3,45	2,22

Kết quả bảng 4 cho thấy, khi bổ sung vào môi trường 1 g bột nhộng tằm/bình, kết quả quan sát sau 60 ngày cấy giống cho thấy các chỉ tiêu theo dõi không có sự khác biệt so với đối chứng. Khi lượng bột nhộng tằm tăng lên 2 g/bình quan sát thấy chiều dài và khối lượng quả thể có sự thay đổi rõ rệt ở cả 3 chủng nấm. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng lượng bột nhộng tằm lên 3 g thì các chỉ tiêu theo dõi thay đổi không đáng kể. Như vậy, có thể nhận thấy mức bổ sung 2 g bột nhộng tằm/bình là hiệu quả nhất.

*Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm *C. militaris*:* pH là một yếu tố quan trọng liên quan đến sinh trưởng, phát triển của nấm vì nó ảnh hưởng đến khả năng hấp thu dinh dưỡng cũng như hoạt tính của các enzyme trong nấm. Để tìm ra pH môi trường thích hợp nhất cho 3 chủng nấm *C. militaris*, chúng tôi tiến hành làm thí nghiệm với các công thức môi trường có pH từ 4 đến 8. Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của pH đến quả thể nấm *C. militaris* sau 60 ngày cấy giống.

Chủng nấm	Công thức	TW (g/bình)	LS (mm)	FW (g/bình)
HQ	CT13 (pH = 4)	100,3	34,2	10,3
	CT14 (pH = 5)	102,6	60,8	18,5
	CT15 (pH = 6)	115,8	78,5	26,6
	CT16 (pH = 7)	116,6	79,0	27,1
	CT17 (pH = 8)	98,7	42,1	13,4
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,87	5,15	2,48
Ho	CT13 (pH = 4)	97,2	26,8	11,7
	CT14 (pH = 5)	100,3	46,7	18,4
	CT15 (pH = 6)	102,4	54,3	22,4
	CT16 (pH = 7)	101,8	59,6	23,6
	CT17 (pH = 8)	95,3	32,3	10,8
	<i>LSD</i> _{0,05}	3,41	5,62	3,78
Q1	CT13 (pH = 4)	100,1	32,6	12,1
	CT14 (pH = 5)	102,3	46,1	18,6
	CT15 (pH = 6)	116,5	69,3	24,9
	CT16 (pH = 7)	117,2	70,5	25,3
	CT17 (pH = 8)	102,4	32,7	11,0
	<i>LSD</i> _{0,05}	3,13	6,32	4,88

Kết quả bảng 5 cho thấy, cả 3 chủng nấm *C. militaris* được nghiên cứu đều có thể sinh trưởng, phát triển trên pH môi trường từ 4 đến 8. Tuy nhiên, chiều dài và khối lượng quả thể đạt cao nhất ở pH = 6-7. Đối với 2 chủng nấm HQ và Q1, chiều dài quả thể ở 2 công thức có pH = 6-7 chỉ khác nhau rất ít, lần lượt là 78,5-79,0 và 69,3-70,5 mm. Đối với chủng Ho, chiều dài quả thể lớn nhất đạt được ở công thức có pH = 7 là 59,6 mm. Chiều dài quả thể thấp nhất ở công thức có pH = 4 (HQ: 34,2 mm; Ho: 26,8 mm; Q1: 32,6 mm). Như vậy, có thể kết luận pH môi trường nuôi cấy thích hợp tạo quả thể nấm là 6-7.

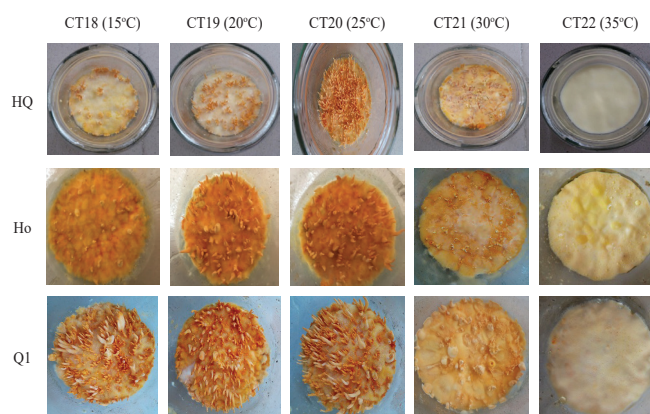
Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm *C. militaris*

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm *C. militaris*: Nhiệt độ được xác định là một yếu tố quan trọng trong việc kích thích hình thành quả thể cũng như hình dạng, chiều dài và năng suất quả thể. Để xác định sự ảnh hưởng của nhiệt độ phòng nuôi tới sự hình thành và phát triển quả thể, chúng tôi thiết lập 5 công thức nhiệt độ nuôi nấm khác nhau từ 15 đến 35°C. Nấm trải qua giai đoạn ươm sợi sẽ được đưa vào các điều kiện nhiệt độ nuôi khác nhau, độ ẩm 80%, cường độ chiếu sáng 500-1.000 lux, quang chu kỳ 12L/12D.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ môi trường đến sự hình thành và phát triển của mầm quả thể nấm *C. militaris*.

Chủng nấm	Công thức	Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày)	Số lượng mầm quả thể/bình	Đặc điểm hình thái và phát triển mầm quả thể sau 25 ngày cấy giống
HQ	CT18 (15°C)	19,1	38,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT19 (20°C)	18,9	46,6	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT20 (25°C)	19,0	50,4	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT21 (30°C)	19,8	20,3	Đỉnh nhọn, màu trắng, không phát triển thành quả thể
	CT22 (35°C)			Không hình thành mầm quả thể
	<i>LSD</i> _{0,05}	1,12	5,34	
Ho	CT18 (15°C)	17,4	28,9	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT19 (20°C)	17,6	40,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT20 (25°C)	17,5	44,2	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT21 (30°C)	18,3	16,6	Đỉnh tù, màu vàng cam, không phát triển thành quả thể
	CT22 (35°C)			Không hình thành mầm quả thể
	<i>LSD</i> _{0,05}	1,09	5,23	
Q1	CT18 (15°C)	17,5	22,7	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT19 (20°C)	17,2	43,5	Đỉnh nhọn, màu vàng nhạt, phát triển nhanh
	CT20 (25°C)	17,8	52,1	Đỉnh nhọn, màu vàng cam, phát triển nhanh
	CT21 (30°C)	18,1	26,4	Đỉnh tù, màu vàng nhạt, không phát triển thành quả thể
	CT22 (35°C)			Không hình thành mầm quả thể
	<i>LSD</i> _{0,05}	1,04	5,18	

Kết quả bảng 6 cho thấy, ở nhiệt độ 35°C, cả 3 chủng nấm đều không hình thành mầm quả thể. Ở nhiệt độ 30°C, mầm quả thể được hình thành nhưng hình dạng mầm quả thể xấu, đỉnh tù, không phát triển thành quả thể. Số lượng mầm quả thể tăng dần ở nhiệt độ 15-25°C. Số lượng mầm quả thể thấp nhất ở nhiệt độ 15°C (trung bình HQ: 38,7 mầm, Ho: 28,9 mầm, Q1: 22,7 mầm), cao nhất ở nhiệt độ 25°C (HQ: 50,4 mầm, Ho: 44,2 mầm, Q1: 52,1 mầm) (hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ phòng nuôi đến sự hình thành và phát triển của mầm quả thể nấm *C. militaris* sau 25 ngày cấy giống.

Ảnh hưởng của nhiệt độ phòng nuôi cấy đến quả thể nấm *C. militaris* được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến quả thể nấm *C. militaris* sau 60 ngày cấy giống.

Chủng nấm	Công thức	TW (g/bình)	LS (mm)	FW (g/bình)
HQ	CT18 (15°C)	112,6	90,4	24,8
	CT19 (20°C)	114,3	80,3	30,1
	CT20 (25°C)	115,9	80,1	29,4
	CT21 (30°C)	102,1	0	0
	CT22 (35°C)	-	-	-
	LSD _{0,05}	3,16	5,08	3,27
Ho	CT18 (15°C)	99,8	70,3	20,7
	CT19 (20°C)	102,3	60,0	25,5
	CT20 (25°C)	103,1	60,1	24,4
	CT21 (30°C)	96,5	0	0
	CT22 (35°C)	-	-	-
	LSD _{0,05}	3,11	5,17	3,64
Q1	CT18 (15°C)	102,2	73,0	20,3
	CT19 (20°C)	110,4	72,4	26,5
	CT20 (25°C)	111,1	72,6	27,0
	CT21 (30°C)	103,7	0	0
	CT22 (35°C)	-	-	-
	LSD _{0,05}	3,52	4,24	3,45

Kết quả bảng 7 cho thấy, ở nhiệt độ 15°C, quả thể đạt chiều dài lớn nhất nhưng khối lượng quả thể không cao bằng nuôi ở nhiệt độ 20-25°C. Ở nhiệt độ 20-25°C, chiều dài cũng như khối lượng quả thể không có sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%. Đối với chủng HQ, chiều dài quả thể ở 15°C là 90,4 mm; ở 20-25°C là 80,1-80,3 mm. Đối với chủng Ho, chiều dài quả thể ở 15°C là 70,3 mm; ở 20-25°C là 60,0-60,1 mm. Đối với chủng Q1, chiều dài quả thể ở các nhiệt độ khác nhau không có sự chênh lệch đáng kể.

Khối lượng quả thể của 2 chủng nấm HQ và Ho đều đạt thấp nhất ở 15°C (HQ: 24,8 g; Ho: 20,7 g) và cao nhất ở 20°C (HQ: 30,1 g; Ho: 25,5 g). Đối với chủng Q1, khối lượng quả thể thấp nhất ở 15°C (20,3 g) và cao nhất ở 25°C (27,0 g). Khối lượng quả thể ở nhiệt độ 20-25°C không có sự sai khác ở mức ý nghĩa 5%.

Như vậy, nhiệt độ nuôi cấy thích hợp nhất của nấm *C. militaris* là 20-25°C.

Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến sinh trưởng, phát triển, năng suất nấm C. militaris: Ánh sáng là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới sự hình thành và phát triển quả thể nấm *C. militaris*. Để xác định sự ảnh hưởng của cường độ chiếu sáng tới việc hình thành và phát triển quả thể, chúng tôi thiết lập 5 công thức chiếu sáng với cường độ khác nhau là: 300, 500, 700, 900 và 1.100 lux.

Nấm trải qua giai đoạn ươm sợi sẽ được đưa vào các điều kiện chiếu sáng khác nhau, nhiệt độ 20-25°C, độ ẩm 90%, quang chu kỳ 12L/12D. Kết quả nghiên cứu được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng đến quả thể nấm *C. militaris* sau 60 ngày cấy giống.

Chủng nấm	Công thức	TW (g/bình)	LS (mm)	FW (g/bình)
HQ	CT23 (300 lux)	92,8	50,4	14,8
	CT24 (500 lux)	112,3	79,3	28,1
	CT25 (700 lux)	114,2	79,7	28,4
	CT26 (900 lux)	102,1	61,1	24,5
	CT27 (1.100 lux)	98,1	55,7	21,3
	LSD _{0,05}	3,27	4,26	3,05
Ho	CT23 (300 lux)	98,9	40,3	17,7
	CT24 (500 lux)	100,3	60,3	23,5
	CT25 (700 lux)	102,1	60,6	24,1
	CT26 (900 lux)	99,5	57,2	23,9
	CT27 (1.100 lux)	95,7	49,7	22,5
	LSD _{0,05}	3,15	4,11	3,55
Q1	CT23 (300 lux)	92,2	43,0	15,3
	CT24 (500 lux)	111,3	69,4	24,5
	CT25 (700 lux)	111,1	70,6	26,1
	CT26 (900 lux)	102,9	65,7	24,7
	CT27 (1.100 lux)	100,5	58,4	20,4
	LSD _{0,05}	3,15	4,27	3,05

Kết quả bảng 8 cho thấy, ở cả 5 cường độ ánh sáng, quả thể nấm đều được hình thành. Cường độ ánh sáng ảnh hưởng đến cả TW, LS và FW của cả 3 chủng nấm nghiên cứu. Kết quả thí nghiệm cũng chỉ ra rằng, cường độ ánh sáng từ 500 đến 700 lux thích hợp cho sinh trưởng, phát triển của nấm *C. militaris*.

Đối với chủng HQ, chiều dài cũng như khối lượng quả thể ở các công thức có sự chênh lệch rõ rệt, hai công thức 500 và 700 lux vượt trội hơn hẳn các công thức còn lại: Chiều dài quả thể ở 500-700 lux đạt hơn 79 mm trong khi các công thức còn lại chỉ đạt 50-61 mm; khối lượng quả thể ở 2 công thức này cũng đạt trên 28 g. Khối lượng quả thể thấp nhất ở công thức 300 lux (14,8 g).

Đối với 2 chủng nấm còn lại, chiều dài cũng như FW của các công thức cũng có sự chênh lệch. Chiều dài cũng như khối lượng quả thể thấp nhất ở công thức 300 lux (Ho: 40,3 mm và 17,7 g; Q1: 43,0 mm và 15,3 g), cao nhất vẫn ở 2 công thức 500-700 lux.

Như vậy, cường độ ánh sáng tối ưu trong điều kiện môi trường nuôi cấy nấm *C. militaris* là 500-700 lux.

Ảnh hưởng của thời gian thu hoạch đến năng suất và chất lượng nấm *C. militaris*

Thời gian thu hoạch có ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng quả thể. Quả thể thu hoạch đúng thời gian sẽ cho chất lượng tốt, hàm lượng hoạt chất cao. Nếu thu hoạch non, quả thể chưa phát triển hết, hàm lượng hoạt chất trong quả thể chưa tích lũy được nhiều, dẫn đến cả năng suất và chất lượng đều không cao. Nếu thu hoạch quá già, quả thể nấm sẽ mất nước, trở nên xù xì, sợi nấm thu được không đẹp, năng suất quả thể cũng giảm đi.

Ảnh hưởng của thời gian thu hoạch đến năng suất và hàm lượng hoạt chất trong quả thể được thể hiện ở bảng 9.

Bảng 9. Ảnh hưởng của thời gian thu hoạch đến khối lượng, hàm lượng hoạt chất adenosin và cordycepin trong quả thể nấm *C. militaris*.

Chủng nấm	Công thức	FW (g/bình)	Adenosin (mg/g)	Cordycepin (mg/g)
HQ	CT 28 (55 ngày)	26,8	0,80	8,1
	CT 29 (65 ngày)	29,3	0,64	11,6
	CT 30 (75 ngày)	28,7	0,36	9,5
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,23		
Ho	CT 28 (55 ngày)	24,4	0,84	7,7
	CT 29 (65 ngày)	26,1	0,68	10,1
	CT 30 (75 ngày)	25,5	0,53	8,3
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,75		
Q1	CT 28 (55 ngày)	26,9	0,96	8,0
	CT 29 (65 ngày)	28,6	0,77	10,6
	CT 30 (75 ngày)	28,3	0,53	8,4
	<i>LSD</i> _{0,05}	2,51		

Kết quả bảng 9 cho thấy, hàm lượng cordycepin trong quả thể cao nhất khi thời gian thu hoạch là 65 ngày. Hàm lượng cordycepin của chủng HQ tăng từ 8,1 (55 ngày) lên 11,6 mg/g (65 ngày), sau đó lại giảm xuống 9,5 mg/g (75 ngày). Hàm lượng cordycepin của chủng Ho tăng từ 7,7 (55 ngày) lên 10,1 mg/g (65 ngày), sau đó lại giảm xuống 8,3 mg/g (75 ngày). Ở chủng Q1, hàm lượng cordycepin tăng từ 8,0 (55 ngày) lên 10,6 mg/g (65 ngày), sau đó lại giảm xuống 8,4 mg/g (75 ngày).

Khác với cordycepin, hàm lượng adenosin trong quả thể nấm giảm dần theo thời gian thu hoạch. Thời gian thu hoạch nấm càng dài thì hàm lượng adenosin trong quả thể càng giảm.

Qua thí nghiệm có thể thấy, thời điểm thu hoạch quả thể nấm *C. militaris* tốt nhất là 65 ngày sau cấy.

Kết luận

Sử dụng gạo Bắc thơm lúc làm cơ chất nền thu được sinh khối quả thể cao hơn sử dụng gạo Bắc thơm trắng

17,4-31,1% tùy từng chủng nấm.

Hàm lượng đường glucose trong môi trường ảnh hưởng đến số lượng mầm, chiều dài và khối lượng quả thể nấm *C. militaris*. Hàm lượng đường glucose bổ sung vào môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 30 g.

Lượng bột nhộng tằm bổ sung vào môi trường nuôi cấy là 2 g/bình. Khi lượng nhộng tăng lên 2 g/bình quan sát thấy chiều dài và khối lượng quả thể có sự thay đổi rõ rệt ở cả 3 chủng nấm. Tuy nhiên khi tiếp tục tăng lượng nhộng lên 3 g thì các chỉ tiêu theo dõi thay đổi không đáng kể.

Nấm *C. militaris* có thể sinh trưởng, phát triển được trong dải pH từ 4 đến 8. Tuy nhiên pH thích hợp cho môi trường nuôi cấy là 6-7, cho chiều dài và khối lượng quả thể nấm cao nhất ở cả 3 chủng nấm.

Nhiệt độ môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 20-25°C. Ở nhiệt độ cao trên 30°C, quả thể nấm không thể hình thành. Chiều dài của quả thể nấm đạt cao nhất ở 15°C, còn khối lượng quả thể đạt cao nhất ở nhiệt độ 20-25°C.

Cường độ ánh sáng ảnh hưởng đến cả tổng trọng lượng, chiều dài quả thể và khối lượng quả thể của cả ba chủng nấm nghiên cứu. Cường độ ánh sáng môi trường nuôi cấy thích hợp nhất là 500-700 lux. Cường độ ánh sáng thấp làm giảm khả năng sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *C. militaris*.

Thời gian thu hoạch thích hợp nhất là 65 ngày sau cấy giống. Thời gian thu hoạch kéo dài sẽ khiến hàm lượng cordycepin và adenosin trong quả thể nấm *C. militaris* giảm xuống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H.M. Yu, B.S. Wang, S.C. Huang, P.D. Duh (2006), "Comparison of protective effects between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Cordyceps sinensis* against oxidative damage", *J. Agric. Food Chem.*, **54**(8), pp.3132-3138.
- [2] Y. Jiang, J.H. Wong, M. Fu, T.B. Ng, Z.K. Liu, C.R. Wang, N. Li, W.T. Qiao, T.Y. Wen, F. Liu (2011), "Isolation of adenosin, iso-sinensetin and dimethylguanosine with antioxidant and HIV-1 protease inhibiting activities from fruiting bodies of *C. militaris*", *Phytomedicine*, **18**(2&3), pp.189-282.
- [3] F. Wu, H. Yan, X. Ma, J. Jia, G. Zhang, X. Guo, Z. Gui (2011), "Structural characterization and antioxidant activity of purified polysaccharid from cultured *C. militaris*", *African Journal of Microbiology Research*, **5**(18), pp.2743-2751.
- [4] Đái Duy Ban, Lưu Tham Mưu (2009), *Đồng trùng hạ thảo*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- [5] Đoàn Minh Quân, Đinh Minh Hiệp (2014), "Nghiên cứu tách chiết ergosterol và thử nghiệm hoạt tính kháng phân bào của cao ether dầu hỏa từ sinh khối nấm *Cordyceps* spp. tại Việt Nam", *Kỷ yếu Hội nghị nấm học nghiên cứu và ứng dụng tại khu vực phía Nam năm 2014*, tr.89.
- [6] Y. Kobayasi (1941), "The genus *Cordyceps* and its allies", *Science reports of the Tokyo Bunrika Daigaku*, **5**, pp.53-260.
- [7] B. Shrestha, W. Zhang, Y. Zhang, X.Z. Liu (2012), "The medicinal fungus *C. militaris*: Research and development", *Mycological Progress*, **11**(3), pp.599-614.

Nghiên cứu thực nghiệm khả năng chống chọc thủng của sàn phẳng bê tông cốt thép được gia cường bởi cốt sợi kim loại vô định hình

Đặng Công Thuật^{1*}, Đinh Ngọc Hiếu¹, Trương Gia Toại²

¹Khoa Xây dựng Dân dụng và Công nghiệp, Trường Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng

²Khoa Xây dựng, Trường Đại học Kiến trúc TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 20/3/2017; ngày chuyển phản biện 7/4/2017; ngày nhận phản biện 28/5/2017; ngày chấp nhận đăng 31/5/2017

Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm khảo sát bằng thực nghiệm khả năng chống chọc thủng của sàn phẳng bê tông cốt thép không dự ứng lực khi được gia cường bởi cốt sợi kim loại vô định hình. Kết quả thí nghiệm được so sánh với các giải pháp khác cũng được sử dụng để gia cường tại liên kết cột - sàn như thép đai và bulong chịu cắt. Kết quả thí nghiệm cho thấy việc sử dụng cốt sợi kim loại vô định hình trong bê tông làm tăng khả năng chống chọc thủng và ứng xử chuyển vị của sàn so với giải pháp sử dụng thép đai chịu cắt và bulong chịu cắt.

Từ khóa: Chọc thủng, cốt sợi kim loại vô định hình, sàn phẳng bê tông cốt thép, thí nghiệm sàn phẳng.

Chỉ số phân loại: 2.1

Experimental study on the punching shear capacity of flat slab reinforced with amorphous steel fibers

Cong Thuat Dang^{1*}, Ngoc Hieu Dinh¹, Gia Toai Truong²

¹Faculty of Civil Engineering, University of Science and Technology - The University of Danang

²Faculty of Civil Engineering, University of Architecture Ho Chi Minh City

Received 20 March 2017; accepted 31 May 2017

Abstract:

This experimental study has been carried out to investigate the punching shear capacity of flat concrete slabs reinforced by amorphous steel fibers (ASFs). The experimental results were compared to those of the different reinforcing solutions applied at the column-slab connection region using stirrups and stud rails. The test results have shown that the use of ASFs in concrete could improve significantly the punching shear capacity of the flat slab as well as the deflection of the slabs subjected under the testing load compared to the using of the stirrups or stud rails.

Keywords: Amorphous steel fibers, flat concrete slab, flat slab experiment, punching shear capacity.

Classification number: 2.1

Giới thiệu

Kết cấu sàn phẳng hiện đang được sử dụng rộng rãi trong các công trình xây dựng bê tông cốt thép trong nước và trên thế giới. Ưu điểm của hệ sàn phẳng là bản sàn được kê trực tiếp lên đầu cột cho phép tăng tương đối chiều cao thông tầng, tạo được độ phẳng không gian trần đẹp, thi công nhanh, sử dụng không gian linh hoạt. Tuy nhiên, sự kết hợp momen uốn và lực cắt lớn tại vị trí mối nối giữa cột và sàn sẽ gây ra phá hoại đột ngột tại vị trí này. Hơn nữa, sự phá hoại tại các vị trí này sẽ dẫn đến sự suy giảm đáng kể khả năng chống tải trọng đứng của liên kết cột - sàn và dẫn đến sự sụp đổ của toàn hệ kết cấu (theo các nghiên cứu của Graf và Mehrain [1]; Hatcher và cộng sự [2]). Vì vậy, tại các vị trí mối nối cột - sàn cần được gia cường để đảm bảo khả năng chịu cắt và khả năng chuyển vị (độ dẻo).

Một số nghiên cứu thực nghiệm ở nước ngoài [3, 4] đã chỉ ra rằng, khả năng chống chọc thủng tại vị trí liên kết cột - sàn của kết cấu sàn phẳng bê tông cốt thép phụ thuộc vào nhiều yếu tố như chiều dày sàn, cường độ của cốt thép chịu uốn, cường độ bê tông, kích thước cột. Từ đó, một số nghiên cứu sau này đã phát triển các chi tiết thép để gia cường tại vị trí mũ cột để làm tăng khả năng chống chọc thủng tại vị trí này, như thép chịu cắt dạng bulong (head-studs) [5], tấm carbon (shear CFRP sheets) [6], cốt thép ngang chịu cắt [7], cốt sợi thép truyền thống (steel fibers) [8, 9]. Ở Việt Nam, nghiên cứu lý thuyết và mô phỏng số về ứng xử chọc thủng của kết cấu sàn phẳng đã được thực hiện, nhưng các số liệu thực nghiệm về vấn đề này còn rất

*Tác giả liên hệ: Email: dangcongthuat@dut.udn.vn

hạn chế [10-12].

Hiện nay, cốt sợi kim loại vô định hình (Amorphous steel fibers) là một loại cốt sợi phân tán mới được chế tạo với công nghệ hoàn toàn khác so với cốt sợi thép truyền thống. Loại cốt sợi này có cường độ chịu kéo và khả năng chống ăn mòn cao hơn cốt sợi thép, mềm, dễ uốn, khả năng phân tán cao trong bê tông, và đặc biệt là không bị hiện tượng ăn mòn kim loại. Ở nước ngoài, một số nghiên cứu đã sử dụng cốt sợi này để tăng khả năng kiểm soát vết nứt của cấu kiện bê tông cốt thép trong quá trình co ngót hay quá trình chịu tải trọng [13, 14]. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các nghiên cứu cũng như ứng dụng loại cốt sợi này vào các kết cấu công trình xây dựng vẫn chưa được khảo sát.

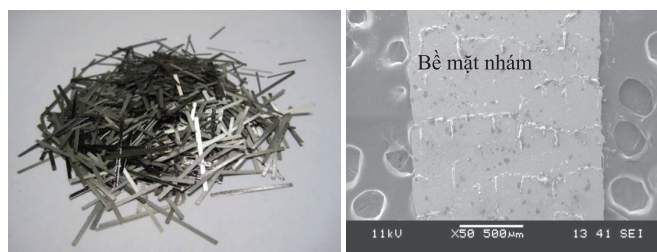
Trong nghiên cứu này, khả năng chống chọc thủng của sàn phẳng bê tông cốt sợi vô định hình không dự ứng lực được nghiên cứu bằng thực nghiệm và so sánh với các phương pháp truyền thống khác như sử dụng cốt thép đai chịu cắt và bulong chịu cắt. Trên cơ sở đó, tính hiệu quả của mẫu khi sử dụng cốt sợi vô định hình được so sánh với mẫu sử dụng các phương pháp khác dựa trên hai chỉ tiêu: Cường độ và khả năng chuyển vị tại liên kết cột - sàn.

Mô tả thí nghiệm

Vật liệu

Trong nghiên cứu này, bê tông với cường độ nén mẫu tiêu chuẩn kích thước hình trụ tròn 100x200 mm ở 28 ngày tuổi là 24 MPa, được xác định theo tiêu chuẩn ASTM C39/C39M [15]. Cốt thép có gờ với 3 loại đường kính Ø10, Ø13 và Ø24 được sử dụng làm cốt thép dọc chịu lực trong mẫu thí nghiệm. Cường độ chịu kéo ở giới hạn chảy được xác định theo tiêu chuẩn ASTM E8/E8M [16] lần lượt là 455, 430 và 465 MPa. Bulong chịu cắt dùng trong mẫu thí nghiệm có đường kính Ø10, chiều dài 85 mm, cường độ chịu kéo ở giới hạn chảy là 400 MPa.

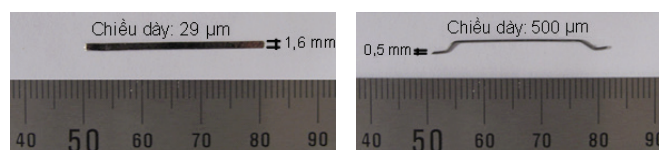
Cốt sợi thép vô định hình (ASFs) được sử dụng trong nghiên cứu là một loại cốt sợi mới, có dạng thẳng, được phát triển bởi Công ty POSCO - Hàn Quốc (<http://www.posco.com/>) (hình 1a). Ưu điểm của loại cốt sợi này là quá trình sản xuất tiết kiệm năng lượng và giảm khí thải CO₂ (ít hơn 20% so với cốt sợi thép truyền thống), mỏng, dễ uốn, trọng lượng riêng nhẹ, cường độ chịu kéo cao hơn so với cốt sợi thép truyền thống và đặc biệt là không có hiện tượng ăn mòn kim loại. Hơn nữa, bề mặt của phần từ sợi nhám, có khả năng làm tăng lực bám dính giữa bê tông và cốt sợi (hình 1b).



a. Hình dạng cốt sợi kim loại vô định hình b. Hình ảnh khi quét dưới kính hiển vi điện tử

Hình 1. Cốt sợi kim loại vô định hình sử dụng trong thí nghiệm.

ASFs có trọng lượng riêng là 7200 kg/m³, cường độ chịu kéo là 1400 MPa và modul đàn hồi là 14x10⁴ MPa. Trong khi đó, cốt sợi thép truyền thống có dạng móc ở 2 đầu, trọng lượng riêng là 7850 kg/m³, cường độ chịu kéo là 1100 MPa và modul đàn hồi là 20x10⁴ MPa. Hình 2 so sánh kích thước hình học của cốt sợi kim loại vô định hình và cốt sợi thép truyền thống.



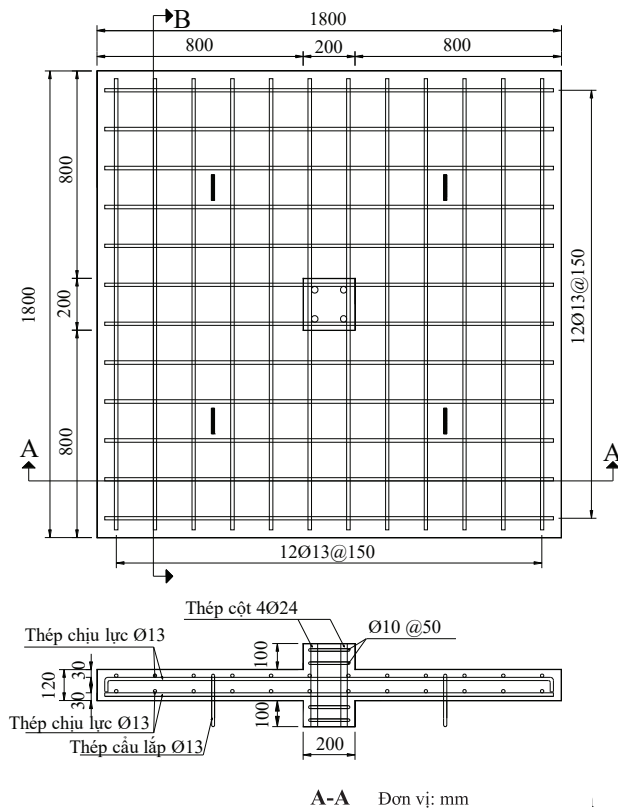
a. Cốt sợi kim loại vô định hình b. Cốt sợi thép truyền thống

Hình 2. So sánh kích thước hình học của cốt sợi kim loại vô định hình và cốt sợi thép truyền thống.

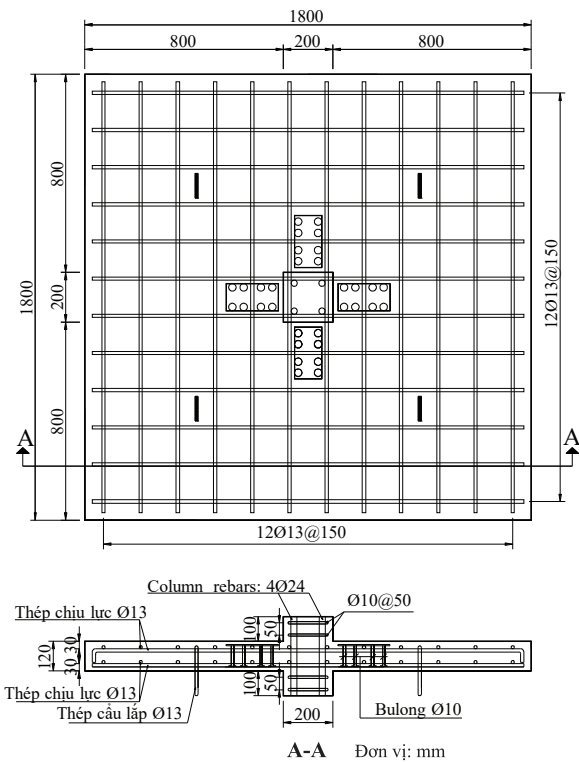
Mẫu thí nghiệm

Trong nghiên cứu này, có 4 mẫu được thí nghiệm, bao gồm mẫu tiêu chuẩn (TC), mẫu được gia cường bởi bulong chịu cắt ở đầu cột (BL), mẫu được gia cường bởi thép đai chịu cắt ở đầu cột (TĐ), và mẫu sử dụng bê tông cốt sợi thép vô định hình (ASFs). Tất cả các mẫu thí nghiệm đều có kích thước 1800x1800 mm, chiều dày sàn là 120 mm. Trong sàn, cốt thép dọc chịu lực Ø13 được sử dụng. Cốt được thiết kế làm việc trong giai đoạn đàn hồi, với kích thước tiết diện là 200x200 mm và cốt thép dọc chịu lực là 4Ø24.

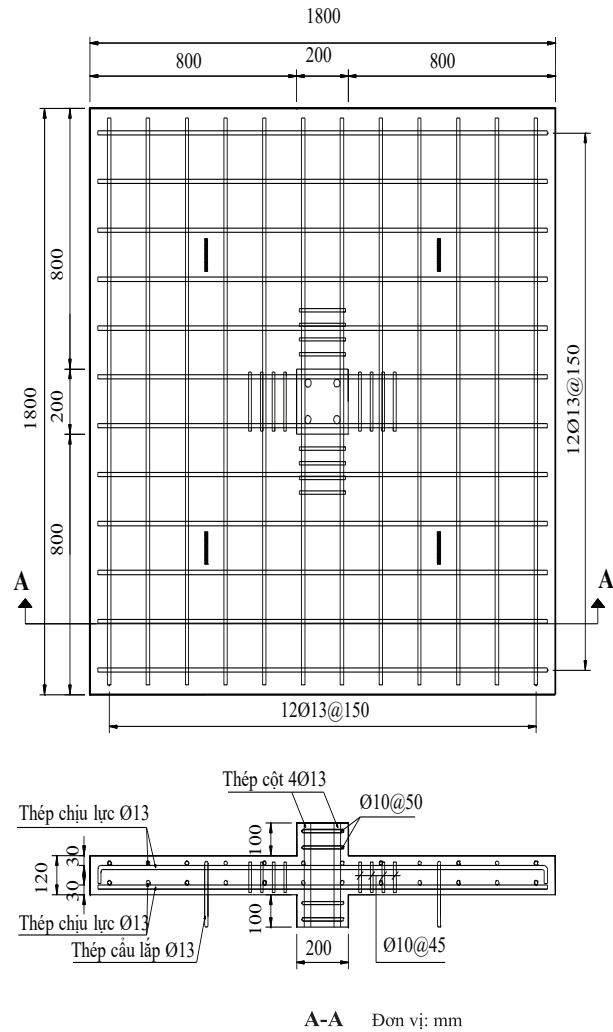
Theo khuyến cáo từ nhà sản xuất, hàm lượng ASFs hợp lý trong hỗn hợp bê tông dùng trong các kết cấu công trình từ 0,6-0,8%. Vì vậy, trong thí nghiệm này, nhóm nghiên cứu lựa chọn hàm lượng cốt sợi vô định hình được trộn trực tiếp vào hỗn hợp bê tông với hàm lượng là 0,8%. Kích thước hình học và cấu tạo cốt thép của các mẫu thí nghiệm được trình bày trong hình 3. Trong nghiên cứu này, bê tông cốt sợi kim loại vô định hình được sử dụng cho toàn bộ tấm sàn.



a. Mẫu tiêu chuẩn sử dụng bê tông thông thường, mẫu sử dụng bê tông cốt sợi kim loại vô định hình



b. Mẫu được gia cường bởi bulong chịu cắt ở đầu cột

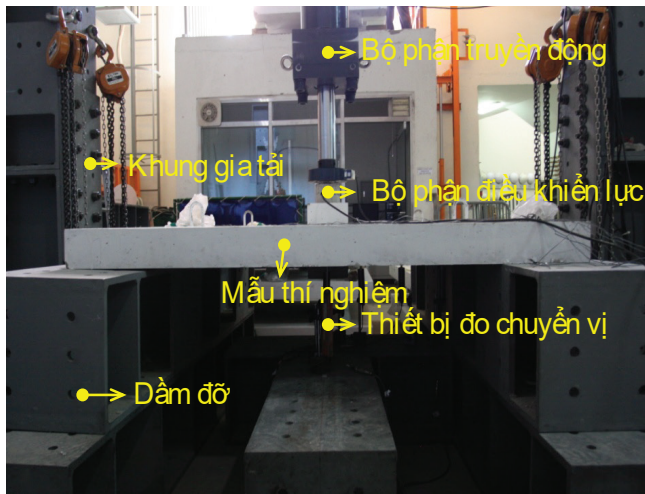


c. Mẫu được gia cường bởi thép dai chịu cắt ở đầu cột

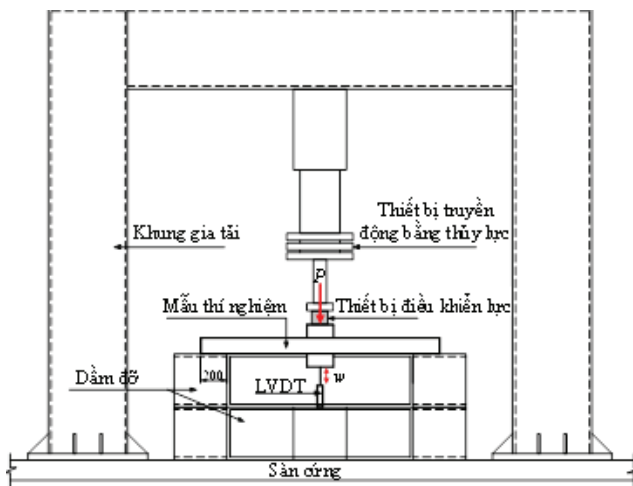
Hình 3. Kích thước và cấu tạo cốt thép của mẫu thí nghiệm.

Thiết lập thí nghiệm

Lực tập trung theo phương thẳng đứng được tác dụng tại vị trí đầu cột trên của các mẫu thí nghiệm thông qua thiết bị gia tải là kích thủy lực 500 kN. Cấu tạo và hình ảnh hệ thống thí nghiệm được trình bày ở hình 4, bao gồm bộ phận truyền động, bộ phận điều khiển lực, và thiết bị đo chuyển vị (LVDT) đặt tại vị trí đầu cột dưới. Tải trọng đứng (P) được tác dụng lên mẫu thí nghiệm với vận tốc 0,03 mm/s cho đến khi mẫu bị phá hoại. Chuyển vị (w) của mẫu và lực tác dụng lên mẫu được đo và ghi nhận tại vị trí đầu cột dưới trong suốt quá trình thí nghiệm thông qua một máy ghi dữ liệu.



a. Hình ảnh hệ thống thí nghiệm.



b. Cấu tạo hệ thống thí nghiệm.

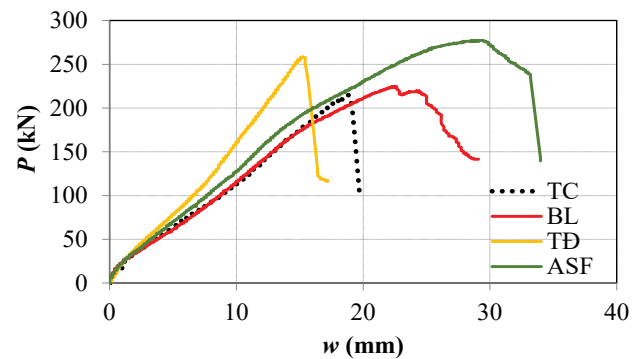
Hình 4. Hệ thống thí nghiệm.

Kết quả thí nghiệm và phân tích

Kết quả đường cong lực - chuyển vị

Kết quả đường cong lực (P) - chuyển vị (w) của các mẫu thí nghiệm được trình bày ở hình 5. Ta có thể thấy rằng, ở mẫu tiêu chuẩn (TC), sau khi đạt giá trị lực lớn nhất (214,8 kN), đường cong lực - chuyển vị sụt giảm một cách đột ngột. Mẫu được gia cường bởi thép đai (TĐ) cũng thể hiện một ứng xử tương tự mẫu TC, tuy nhiên khả năng chịu lực (258,8 kN) cao hơn so với mẫu TC là 20,5%. Mẫu được gia cường bởi bulong chịu cắt cho khả năng chịu lực cao hơn chỉ khoảng 4,6%, tuy nhiên khả năng chuyển vị cao hơn 30,9%, và sau khi đạt giá trị lực lớn nhất, đường cong lực - chuyển vị sụt giảm một cách từ từ. Đối với mẫu thí nghiệm sử dụng cốt sợi vô định hình với hàm lượng 0,8% (ASFs), giá trị lực và chuyển vị lớn nhất tương ứng đạt 277,3 kN và 29,49 mm, tức là cao hơn

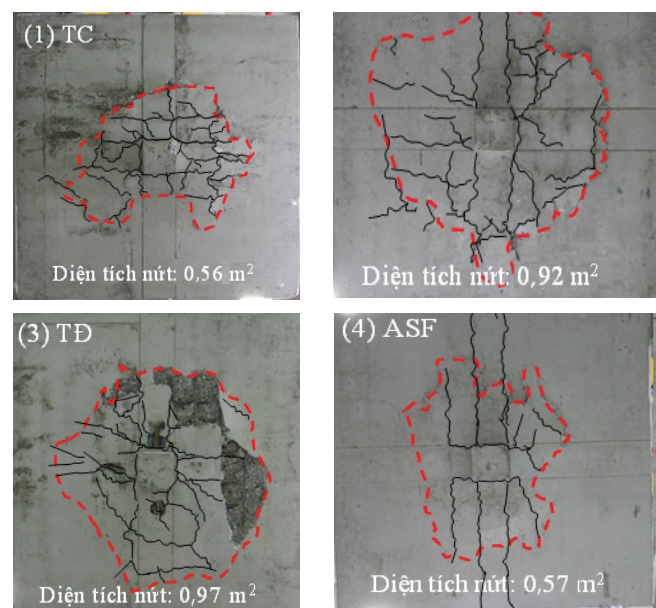
tương ứng 29 và 72% so với mẫu TC, đồng thời, đường cong lực - biến dạng sụt giảm một cách từ từ sau khi đạt giá trị lực lớn nhất. Điều này chứng tỏ cốt sợi kim loại vô định hình sử dụng trong hỗn hợp bê tông làm tăng khả năng chống chọc thủng và khả năng chuyển vị của mẫu thí nghiệm. Đồng thời, chúng có khả năng kiểm soát các vết nứt sau khi đạt đến trạng thái giới hạn chịu lực, giúp cho các kết cấu không bị phá hoại một cách đột ngột, tương tự như cốt sợi thép truyền thống [17].



Hình 5. Quan hệ lực - chuyển vị.

Đặc điểm phá hoại mẫu

Trong nghiên cứu này, các mẫu thí nghiệm được kê tự do lên các gối tựa đặt ở 4 cạnh của mẫu thí nghiệm. Vì vậy, phần diện tích sàn xung quanh cột sẽ chịu tác dụng của lực chọc thủng cũng như moment uốn lớn nhất. Trong tất cả các mẫu thí nghiệm, các vết nứt đầu tiên được hình thành trong vùng chịu kéo của tiết diện sàn gần vị trí cột, sau đó bề rộng và diện tích vùng nứt tăng dần cùng với sự tăng của tải trọng (hình 6).



Hình 6. Đặc điểm hình thái phá hoại mẫu.

Hình 6 cho thấy hình mẫu của các vết nứt được quan sát bằng mắt thường tại thời điểm sau khi các mẫu thí nghiệm bị phá hoại. Trong trường hợp các mẫu tiêu chuẩn (TC), bulong chịu cắt (BL), thép đai chịu cắt (TĐ), một số lượng lớn các vết nứt được hình thành xung quanh chu vi cột và gây ra sự phá hoại của vùng bê tông ở bề mặt bên dưới các mẫu thí nghiệm, kéo theo sự phá hoại hoàn toàn mẫu sau đó. Tuy nhiên, trong trường hợp mẫu thí nghiệm với hàm lượng 0,8% cốt sợi vô định hình trong hỗn hợp bê tông (mẫu ASFs), số lượng các vết nứt ít và diện tích cũng như bề rộng các vết nứt hẹp được quan sát sau khi mẫu bị phá hoại.

Diện tích vùng phá hoại cũng được đo và thể hiện ở hình 6. Ta có thể thấy rằng, diện tích vùng phá hoại trong trường hợp mẫu ASFs gần bằng với mẫu TC và ít hơn các mẫu còn lại. Ngoài ra, số lượng các vết nứt quan sát được trong mẫu ASFs ít hơn nhiều so với tất cả các mẫu TC, BL và TĐ. Điều này có thể được lý giải bởi sự hiện diện của cốt sợi vô định hình trong hỗn hợp bê tông đã tạo ra hiệu ứng cầu nối (bridging effect) giữa các vết nứt xuất hiện khi bị phá hoại, và làm giảm số lượng các vết nứt lớn cũng như bề rộng khe nứt [17].

Kết luận và kiến nghị

Bài báo đã trình bày kết quả nghiên cứu bằng thực nghiệm để khảo sát tính hiệu quả của cốt sợi kim loại vô định hình khi trộn vào trong bê tông đến khả năng chống chọc thủng của sàn phẳng bê tông cốt thép không dự ứng lực. Một số kết luận có thể rút ra từ kết quả thí nghiệm như sau:

- Các phương pháp kháng chọc thủng tại liên kết cột - sàn như sử dụng bulong chịu cắt, thép đai chịu cắt, cũng như sử dụng cốt sợi kim loại vô định hình trong hỗn hợp bê tông đều làm tăng khả năng kháng chọc thủng tại vị trí này.

- Mẫu thí nghiệm sử dụng cốt sợi kim loại vô định hình trong hỗn hợp bê tông có khả năng chịu tải trọng chọc thủng tại đầu cột lớn hơn 29% so với mẫu tiêu chuẩn, và lớn hơn so với các mẫu sử dụng các biện pháp gia cường khác.

- Diện tích vùng phá hoại trong trường hợp mẫu sử dụng cốt sợi kim loại vô định ít hơn các mẫu còn lại. Ngoài ra, số lượng các vết nứt cũng như bề rộng khe nứt quan sát được trong mẫu ASF ít hơn nhiều so với các mẫu tiêu chuẩn, bulong chịu cắt, thép đai chịu cắt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] W.P. Graf, M. Mehra (1992), "Analysis and testing of a flat slab concrete building", *Proceedings of Earthquake Engineering, 10th World Conference*, Rotterdam, Netherlands, pp.3387-3392.
- [2] D.S. Hatcher, M.A. Sozen, C.P. Siess (1969), "Test of a reinforced concrete flat slab", *Journal of the Structural Division (ASCE)*, **95**(ST6), pp.1051-1072.
- [3] P.E. Regan (1981), *Behavior of Reinforced Concrete Flat Slabs*, Construction Industry Research and Information Association, London, UK, Report 89, February, pp.1-89.
- [4] S. Lips, M.F. Ruiz, A. Muttoni (2012), "Experimental investigation on punching shear strength and deformation capacity of shear-reinforced slabs", *ACI Structural Journal*, **109**(6), pp.889-900.
- [5] C.B. Tan, S.C. Lee, S. Teng (2002), "Shear studs in slab-column connections with rectangular column", *Proceedings of the 27th Conference on Our World in Concrete and Structures*, Singapore, pp.569-574.
- [6] M.R. Esfahani (2008), "Effect of cyclic loading on punching shear strength of slabs strengthened with carbon fiber polymer sheets", *International Journal of Civil Engineering*, **6**(3), pp.208-215.
- [7] M.M.G. Inácio, A.P. Ramos, D.M.V. Faria (2012), "Strengthening of flat slabs with transverse reinforcement by introduction of steel bolts using different anchorage approaches", *Engineering Structures*, **44**, pp.63-77.
- [8] S. Altoubat, A. Yazdanbakhsh, K.A. Rieder (2009), "Shear behavior of macro-synthetic fiber-reinforced concrete beams without stirrups", *ACI Material Journal*, **106**(4), pp.381-389.
- [9] M.A. Tantary, A. Upadhyay, J. Prasad (2012), "Influence of steel fibers on the shear strength of concrete", *Journal of Engineering, Computer and Applied Sciences*, **1**(1), pp.88-92.
- [10] Lê Khắc Hùng, Trương Hoài Chính (2011), "Sàn phẳng bê tông ứng lực trước căng sau thiết kế theo phương pháp khung tương đương và phương pháp phần tử hữu hạn", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Đại học Đà Nẵng, **4**(45), tr.65-74.
- [11] Trương Hoài Chính, Võ Trang Thắng (2013), "Quá trình sử dụng kết cấu bê tông ứng lực trước tại Việt Nam và những bài học kinh nghiệm", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Đại học Đà Nẵng, **5**(66), tr.7-14.
- [12] Trương Hoài Chính (2016), "Nghiên cứu ảnh hưởng của hình dạng kích thước mũ cột đến sự làm việc và khả năng chịu lực của sàn phẳng bê tông ứng lực trước", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, Đại học Đà Nẵng, **1**(98), tr.15-20.
- [13] H. Kim, G. Kim, J. Nam, J. Kim, S. Han, S. Lee (2015), "Static mechanical properties and impact resistance of amorphous metallic fiber-reinforced concrete", *Composite Structures*, **134**, pp.831-844.
- [14] N.H. Dinh, K.K. Choi, H.S. Kim (2016), "Mechanical Properties and Modeling of Amorphous Metallic Fiber-Reinforced Concrete in Compression", *International Journal of Concrete Structures and Materials*, **10**(2), pp.221-236.
- [15] ASTM (2012b) C39/C39M-12a, *Standard test method for compressive strength of cylindrical concrete specimens*, American Society for Testing and Materials (ASTM), WestConshohocken, PA, USA.
- [16] ASTM (2012b) E8/E8M-12a, *Standard Test Methods for Tension Testing of Metallic Materials*, American Society for Testing and Materials (ASTM), WestConshohocken, PA, USA.
- [17] P.B. Sakthivel, A. Jagannathan, R. Padmanaban (2012), "Thin cementitious slabs reinforced with stainless steel fibers", *Journal of Mechanical and Civil Engineering*, **4**(2), pp.39-45.

Ảnh hưởng của các thông số búa rung thủy lực đến lực cản của đất và độ dịch chuyển của cọc thép trong quá trình hạ cọc

Vũ Văn Trung^{1*}, Thái Hà Phi¹, Trần Quang Hùng²

¹Trường Đại học Giao thông Vận tải

²Học viện Kỹ thuật Quân sự

Ngày nhận bài 25/4/2017; ngày chuyển phản biện 28/4/2017; ngày nhận phản biện 5/6/2017; ngày chấp nhận đăng 12/6/2017

Tóm tắt:

Lựa chọn búa rung thủy lực phù hợp với cọc thép và nền đất có ý nghĩa kinh tế rất lớn trong quá trình thi công các công trình xây dựng dân dụng và công nghiệp. Để có sự tính toán đúng đắn cần thiết phải có sự phân tích đúng bản chất vật lý về tương tác giữa cọc thép với đất, động lực học của cơ hệ trong cả quá trình ép hạ cọc thép vào đất. Bài báo trình bày mô hình động lực học quá trình hạ cọc thép vào nền đất bằng búa rung thủy lực. Lập chương trình khảo sát ảnh hưởng của các thông số búa rung đến lực cản ép cọc, độ dịch chuyển cọc vào đất với một bộ thông số cụ thể, làm cơ sở để lựa chọn búa rung có thông số phù hợp với cọc và nền đất.

Từ khóa: Búa rung thủy lực, cọc thép, độ dịch chuyển cọc, lực cản ép cọc thép, thông số của búa.

Chỉ số phân loại: 2.1

Surveying the effect of hydraulic vibrator parameters on the resistance between steel piles and soils when installing

Van Trung Vu^{1*}, Ha Phi Thai¹, Quang Hung Tran²

¹University of Transport and Communications

²Military Technical Academy

Received 25 April 2017; accepted 12 June 2017

Abstract:

The proper use of hydraulic vibrators in accordance with steel piles and soils results in a high economic efficiency. For the correct calculation, it is necessary to exactly analyse the physical nature of the mutual effect between steel piles and soils, system dynamics during pile driving into the soils. The article has shown the dynamics model in steel pile driving into the soils with hydraulic vibrators. The assessment on the impacts of vibrator specifications on the resistance and penetration of piles with specific specifications shall be used as a basis to select a proper hydraulic vibrator in accordance with piles and soils.

Keywords: Hydraulic vibrator, pile penetration, soil resistance, steel pile, vibrator parameters.

Classification number: 2.1

Đặt vấn đề

Công nghệ hạ cọc thép bằng búa rung được sử dụng khá phổ biến ở nước ta hiện nay để phục vụ thi công các công trình. Ưu điểm nổi bật của công nghệ này là giảm thời gian thi công, sử dụng được ở nhiều địa hình, không gây ảnh hưởng lớn đến các công trình lân cận, không phá hủy cọc trong quá trình hạ cọc... Búa rung có thể được dẫn động bằng cơ khí hoặc thủy lực, được lắp trên các máy cơ sở như máy xúc, cần trục hoặc máy chuyên dùng. Để quá trình hạ cọc có hiệu quả cần thiết phải có sự phù hợp giữa các thành phần như cần trục, búa rung, cọc thép và nền đất, hay nói cách khác, quá trình hạ cọc vào nền đất bằng búa rung phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố như các yếu tố của nền đất (các chỉ tiêu cơ lý của đất), các thông số của cọc và các thông số của búa rung (tần số, biên độ và giá trị lực kích thích, trọng lượng búa...). Tuy nhiên, tài liệu tính toán, thiết kế búa rung để hạ cọc hiện nay ở nước ta còn hiếm và không đầy đủ nên trong thực tế việc tính chọn máy cơ sở, búa rung, cọc ván thép đều dựa theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất hoặc theo tài liệu của các nước khác. Đã có một số công trình trong nước nghiên cứu về búa rung, nhưng có thể thấy hầu hết các công trình này mới chỉ dừng lại ở việc tính toán thiết kế, xây dựng bài toán động lực học và mô hình thực nghiệm nhằm xác định các thông số cơ bản của búa rung... mà chưa có công trình nào đề cập đến việc xây dựng mô hình động lực học khảo sát sự ảnh hưởng các thông số của búa rung đến quy luật thay đổi lực cản của nền đất tác dụng lên cọc trong

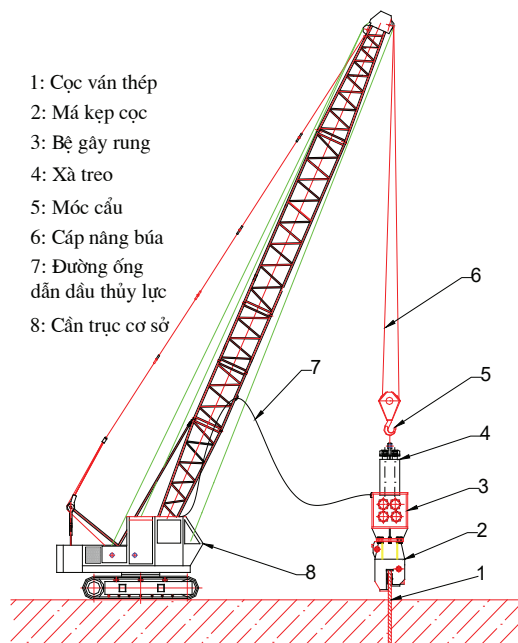
*Tác giả liên hệ: Email: Vuvantrungdhgtvt@yahoo.com

quá trình rung hạ cọc và độ dịch chuyển của cọc vào nền, để từ đó xác định các thông số hợp lý của búa rung trong quá trình tính toán, thiết kế và thi công cọc thép. Xuất phát từ yêu cầu trên, nhóm tác giả tiến hành xây dựng bài toán động lực học quá trình hạ cọc bằng búa rung, khảo sát ảnh hưởng của các thông số búa rung đến lực cản giữa cọc thép và đất, sự dịch chuyển của cọc nhằm mục đích tính toán lựa chọn búa rung phù hợp với cọc thép và nền đất, tăng năng suất, giảm chi phí năng lượng trong khi không làm hư hỏng cọc (cong, biến dạng cọc, lệch hướng đi thẳng của cọc).

Nội dung nghiên cứu

Công nghệ hạ cọc thép bằng búa rung

Công nghệ cọc thép đã được sử dụng khá phổ biến ở nước ta hiện nay để gia cố nền đất yếu hoặc làm tường vây. Ưu điểm nổi bật của công nghệ này là giảm thời gian thi công, sử dụng được ở nhiều địa hình, không gây ảnh hưởng lớn đến các công trình lân cận, không phá hủy cọc trong quá trình hạ cọc... (búa rung là một phương pháp phổ biến dùng để hạ cọc thép). Búa rung có thể được dẫn động bằng cơ khí hoặc thủy lực, được lắp trên các máy cơ sở như máy xúc, cần trục hoặc máy chuyên dùng. Một trong những thiết bị tương đối phổ biến được sử dụng để ép hạ cọc thép vào nền đất được mô tả như trên hình 1, gồm búa rung 3 được cấp dầu thủy lực bởi đường ống 7, búa được treo trên cáp 6 của máy cầu bánh xích 8 thông qua khung treo (xà treo) 4, cọc thép 1 được kẹp chặt với búa rung bằng bộ kẹp 2 khi làm việc.



Hình 1. Búa rung thủy lực lắp trên cần trục bánh xích.

Mô hình động lực học ép cọc thép bằng búa rung

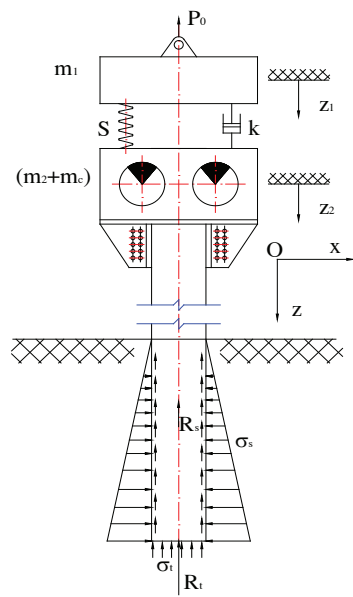
Khi sử dụng búa rung để hạ cọc thép vào nền đất, dưới tác dụng của lực rung động do búa rung gây ra và trọng lượng toàn bộ hệ búa - cọc tác dụng lên đầu cọc làm cho cọc có xu hướng dịch chuyển dần vào nền đất, quá trình hạ cọc này là một quá trình rất phức tạp, dưới tác dụng của lực rung động, các phần tử đất xung quanh thân cọc sẽ chuyển động theo, khi tần số rung đạt đến một giá trị nhất định thì liên kết giữa các hạt đất xung quanh và vùng lân cận sẽ bị phá vỡ nên lực cản của nền đất tác dụng lên cọc giảm so với lực cản tĩnh. Lực cản của nền đất lên cọc gồm có lực cản thành cọc và lực cản mũi cọc, để xác định các thành phần lực cản này cho đến nay trên thế giới có nhiều trường phái khác nhau, trong bài báo này nhóm tác giả sử dụng mô hình đàn hồi để xác định các thành phần lực cản của nền đất lên cọc [1, 2].

Xuất phát từ vấn đề trên, nhóm tác giả tiến hành xây dựng mô hình động lực học của hệ “búa rung - cọc - nền” nhằm khảo sát sự ảnh hưởng các thông số của búa rung đến quy luật thay đổi của lực cản giữa cọc với nền đất khi hạ cọc bằng lực rung động như trên hình 2 [3]. Trong đó búa rung được treo bằng cáp qua cơ cấu treo (khung treo) có khối lượng m_1 , cơ cấu gây rung có khối lượng m_2 và cọc có khối lượng m_c được kẹp chặt với cơ cấu gây rung tạo thành một liên kết cứng có khối lượng (m_2+m_c) . Búa và cọc được liên kết với khung treo qua hệ giảm chấn. Lực cản nền đất lên cọc bao gồm lực cản thành R_s và lực cản mũi cọc R_t .

Mô hình động lực học của hệ được xây dựng dựa trên các giả thiết:

- Cọc thép dịch chuyển vào đất theo hướng thẳng đứng, cọc không bị xoắn và uốn trong quá trình ép cọc;
- Coi cọc cứng tuyệt đối, các điểm trên thân cọc dao động với cùng biên độ và tần số;
- Các lớp đất có cùng tính chất cơ lý.

Mô hình động lực học búa rung hạ cọc thép là mô hình 2 khối lượng. Mô hình tương tác giữa cọc và đất được thể hiện qua quy luật biến đổi của các thành phần lực thân cọc và lực cản đầu cọc. Ở đó, lực cản thành bên phụ thuộc vào áp lực ngang của nền tác dụng lên cọc, hệ số ma sát cọc thép - đất và diện tích tiếp xúc giữa cọc với nền...; lực cản đầu cọc phụ thuộc vào diện tích mũi cọc, các tham số của nền và áp lực đứng của cọc trên nền.



Hình 2. Mô hình động lực học búa rung thủy lực hạ cọc thép 2 khối lượng.

P_0 - Lực kéo cáp nâng hạ búa (N); m_1 - Khối lượng khung treo (kg); m_2 - Khối lượng bộ gây rung (kg); m_3 - Khối lượng cọc (kg); z_1 - Dịch chuyển của khung treo (m); z_2 - Dịch chuyển của bộ gây rung và cọc (m); S - Độ cứng của giảm chấn (N/m); k - Hệ số đập tắt dao động của hệ giảm chấn (N.s/m); R_s - Lực cản thành bên của cọc (N); R_t - Lực cản mũi cọc (N).

Theo Svetlana Polukoshko [4], các thành phần lực cản này được xác định như trong công thức (1):

$$\begin{cases} \ddot{R}_t = \int_0^z p \sigma_s(z) dz = \int_0^z (p \gamma k_0 z f_{c-t}) dz = p \gamma k_0 f_{c-t} \frac{z^2}{2} \\ \ddot{R}_s = f_s A_t \sigma_t \end{cases} \quad (1)$$

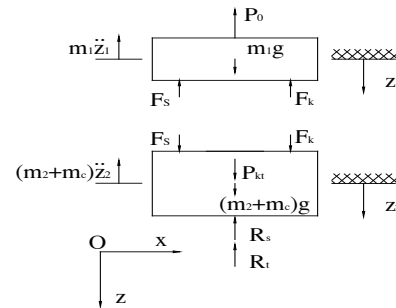
Trong đó: $\ddot{R}_s$ - Lực cản của đất tác dụng lên thành cọc (N); $\ddot{R}_t$ - Lực cản của đất tác dụng lên mũi cọc (N); p - Chu vị bề mặt ngoài của cọc (m); γ - Trọng lượng riêng của đất (N/m³); z - Độ dịch chuyển đầu cọc vào đất (m); f_s - Tham số của nền đất; A_t - Tiết diện mặt cắt cọc tại mũi cọc (m²); σ_t - Áp lực nền đất tại mũi cọc (N/m²); f_{c-t} - Hệ số ma sát giữa cọc thép với đất; k_0 - Hệ số áp lực hông của đất; $\sigma_s(z)$ - Áp lực nền đất phân bố dọc theo chiều sâu cọc (N/m²).

Thực tế cho thấy, lực cản của đất tác dụng lên thành cọc ($\ddot{R}_s$) chỉ xuất hiện khi cọc có chuyển động ($\dot{z}_2 \neq 0$) và chiều tác dụng của nó luôn có xu hướng ngược với chuyển động của cọc, khi cọc chuyển động đi xuống ($\dot{z}_2 > 0$), lực cản có hướng đi lên và khi cọc chuyển động đi lên ($\dot{z}_2 < 0$), lực cản có hướng đi xuống, lực cản này bằng 0 khi cọc có $\dot{z}_2 = 0$ (cọc không chuyển động). Còn thành phần lực cản tác dụng lên mũi cọc ($\ddot{R}_t$) chỉ xuất hiện khi cọc có chuyển

động đi xuống ($\dot{z}_2 > 0$), khi cọc đi lên ($\dot{z}_2 < 0$), lực cản mũi cọc bằng không. Từ đó, kết hợp với (1), ta xây dựng được phương trình các thành phần lực cản của đất tác dụng lên cọc có kể đến chiều tác dụng trong quá trình hạ cọc bằng búa rung như sau:

$$\begin{cases} \ddot{R}_t = \begin{cases} \ddot{R}_t & \text{khi } \dot{z}_2 > 0 \\ 0 & \text{khi } \dot{z}_2 = 0 \\ -\ddot{R}_t & \text{khi } \dot{z}_2 < 0 \end{cases} \Rightarrow \begin{cases} \ddot{R}_t = \ddot{R}_t \cdot \text{sgn}(\dot{z}_2) \\ \ddot{R}_t = 0,5 \ddot{R}_t [1 + \text{sgn}(\dot{z}_2)] \end{cases} \\ \ddot{R}_s = \begin{cases} \ddot{R}_s & \text{khi } \dot{z}_2 > 0 \\ 0 & \text{khi } \dot{z}_2 < 0 \end{cases} \end{cases} \quad (2)$$

Từ mô hình động lực học của hệ búa rung thủy lực - cọc - nền (hình 2), ta xây dựng được sơ đồ phân tích mô hình động lực học như trên hình 3.



Hình 3. Sơ đồ phân tích mô hình động lực học.

Tiến hành phân tích lực và áp dụng nguyên lý D'Alembert ta thiết lập được hệ phương trình chuyển động của cơ hệ búa rung - cọc thép - nền như sau:

$$\begin{cases} m_1 \ddot{z}_1 + k(\dot{z}_1 - \dot{z}_2) + S(z_1 - z_2) + P_0 - m_1 g = 0 \\ (m_2 + m_3) \ddot{z}_2 - k(\dot{z}_1 - \dot{z}_2) - S(z_1 - z_2) - (m_2 + m_3) g \\ - P_{kt} + R_s + R_t = 0 \end{cases} \quad (3)$$

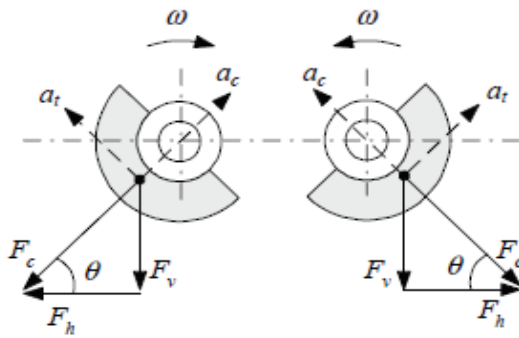
Trong đó: P_{kt} là lực kích rung của bộ gây rung; Lực kích thích của bộ gây rung được tạo ra bởi các bánh lệch tâm là hợp lực của các lực ly tâm do các bánh lệch tâm này gây ra khi quay theo phương thẳng đứng (hình 4) và được tính theo công thức:

$$P_{kt} = 2F_c \sin(\omega t) = 2m_c r_c \omega^2 \sin(\omega t) \quad (4)$$

F_c - Lực ly tâm của một khối lệch tâm là:

$$F_c = m_c r_c \omega^2 \quad (5)$$

Với: m_c - Khối lượng lệch tâm (kg); r_c - Bán kính lệch tâm (m); ω - Vận tốc góc trục lệch tâm (rad/s).



Hình 4. Sơ đồ tính lực kích thích của búa rung.

Thay các biểu thức (1), (2), (4) và (5) vào hệ phương trình (3) nhận được hệ sau:

$$\begin{cases} m_1 \ddot{z}_1 + k(\ddot{z}_1 - \ddot{z}_2) + S(z_1 - z_2) + P_1 - m_1 g = 0 \\ (m_2 + m_c) \ddot{z}_2 - k(\ddot{z}_1 - \ddot{z}_2) - S(z_1 - z_2) - (m_2 + m_c) g \\ - P_2 + R_z + R_1 = 0 \end{cases} \quad (6)$$

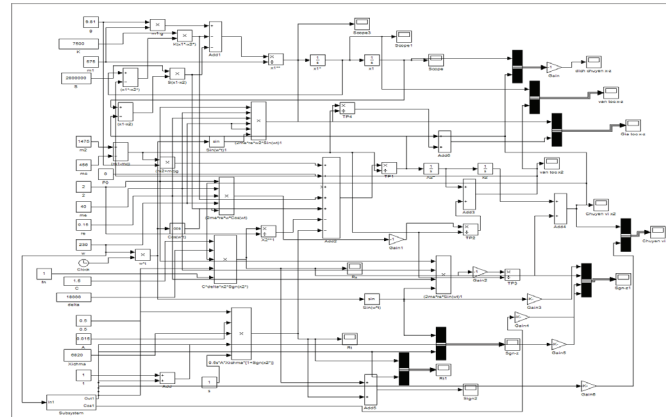
Xây dựng chương trình tính và khảo sát sự ảnh hưởng các thông số của búa rung đến sự thay đổi của lực cản nền lên cọc

Để khảo sát quy luật thay đổi lực cản của nền đất tác dụng lên cọc theo các thông số của búa rung, ta ứng dụng phần mềm Matlab để xây dựng chương trình tính toán cho hệ phương trình chuyển động (6) và tiến hành giải bài toán trên với bộ thông số đầu vào của đất, búa rung như trong bảng 1.

Bảng 1. Các thông số đầu vào của mô hình.

TT	Các thông số	Ký hiệu	Đơn vị	Giá trị
1	Khối lượng khung treo búa	m_1	kg	575
2	Khối lượng bộ gây rung	m_2	kg	1475
3	Khối lượng lệch tâm	m_c	kg	40
4	Hệ số độ cứng của nền	S	N/m	28.10^5
5	Hệ số giảm chấn của nền	k	N.s/m	7500
6	Tần số góc của bộ gây rung	ω	rad/s	230
7	Bán kính lệch tâm của bánh lệch tâm	r_c	m	0,15
8	Diện tích mặt cắt ngang của cọc	A_1	m ²	0,015
9	Chu vi mặt cắt cọc thép	p	m	1,5
10	Trọng lượng riêng của đất	γ	N/m ³	18.10^3
11	Ứng suất nén của đất	σ_1	N/m ²	6820.10^3
12	Hệ số ma sát giữa đất - cọc thép	f_{c-t}		0,5
13	Tham số của nền đất	f_s		1
14	Hệ số áp lực bên của đất	k_0		0,78
15	Khối lượng cọc	m_c	kg	456

Ứng dụng phần mềm Matlab, chương trình tính toán được trình bày ở hình 5.



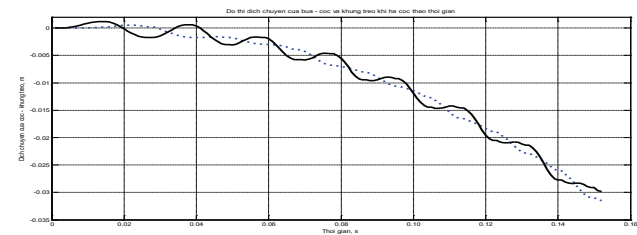
Hình 5. Chương trình tính toán trên phần mềm Matlab - Simulink.

Chạy chương trình với các thông số như trong bảng 1 với điều kiện đầu vào là:

- Thời điểm ban đầu $t = 0$; $z_{10} = 0$; $\dot{z}_{10} = 0$ (khung treo và búa - cọc ở vị trí cân bằng tĩnh ban đầu, cọc nằm trên bề mặt nền đất);

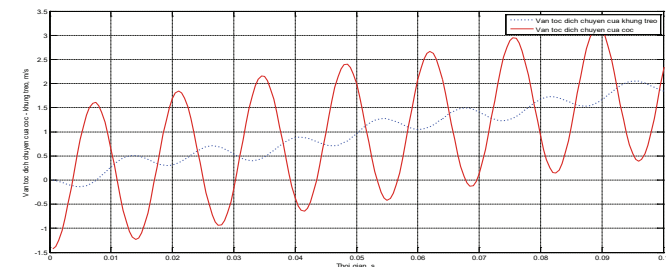
- Pha ban đầu của lực kích rung bằng không.

Kết quả được ghi trên các hình từ 6 đến 14.

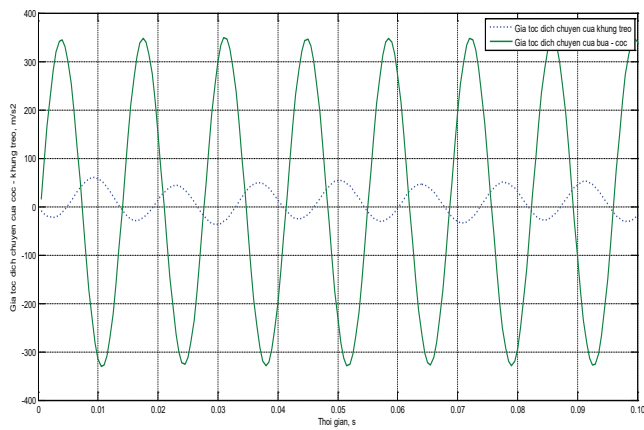


Hình 6. Đồ thị dịch chuyển của cọc và khung treo.

Kết quả dịch chuyển của khung treo và cọc trên đồ thị (hình 6) cho thấy, dịch chuyển của cọc (đường nét liền) và dịch chuyển của khung treo (đường nét đứt) bám sát nhau, khung treo có biên độ dao động nhỏ hơn biên độ dao động của cọc (vì giữa chúng có hệ giảm chấn), dịch chuyển của búa có xu hướng đi xuống, tức là theo chiều hạ cọc vào đất với vận tốc trung bình khoảng 0,035 m/0,15 s (23,3 m/s).



Hình 7. Đồ thị vận tốc dịch chuyển của cọc và khung treo.

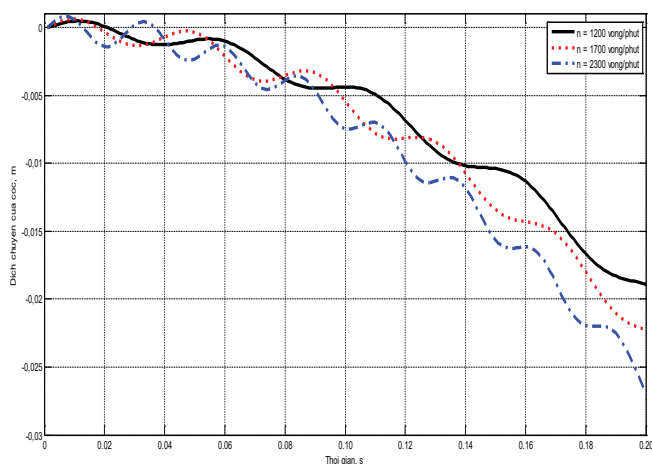


Hình 8. Đồ thị gia tốc dịch chuyển của cọc và khung treo.

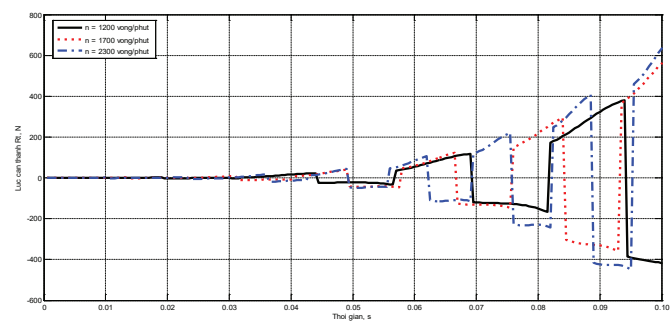
Kết quả nhận được trên hình 7 cho thấy, khung treo có biên độ vận tốc khoảng 0,4 m/s, thấp hơn biên độ vận tốc của cọc, 1,65 m/s. Từ kết quả độ dịch chuyển và vận tốc dao động của cọc thép cho thấy giá trị trung bình của độ dịch chuyển và vận tốc có giá trị lớn hơn không, điều này cho thấy độ dịch chuyển và vận tốc của cọc khi di chuyển đi lên nhỏ hơn độ dịch chuyển và vận tốc khi di chuyển đi xuống, vì vậy cọc được hạ sâu dần vào nền đất.

Đồ thị gia tốc của cọc và khung treo đều dao động ổn định quanh giá trị cân bằng (hình 8). Biên độ gia tốc của cọc thép 325 m/s² lớn hơn rất nhiều biên độ gia tốc của khung treo 60 m/s², từ đó cho thấy quy luật biến thiên các giá trị động lực học của mô hình thể hiện đúng quy luật thực tế quá trình làm việc của búa rung khi hạ cọc.

Trên cơ sở chương trình đã được xây dựng, tiến hành thay đổi các thông số làm việc của búa rung (tần số rung, mô men lệch tâm, lực kéo máy cơ sở) để khảo sát sự ảnh hưởng của chúng đến độ dịch chuyển của cọc và lực cản của nền đất lên cọc.

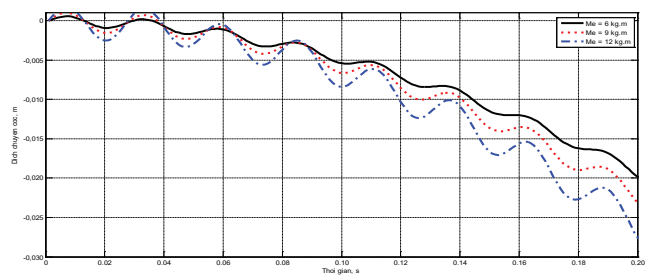


Hình 9. Dịch chuyển của cọc khi thay đổi tần số rung.

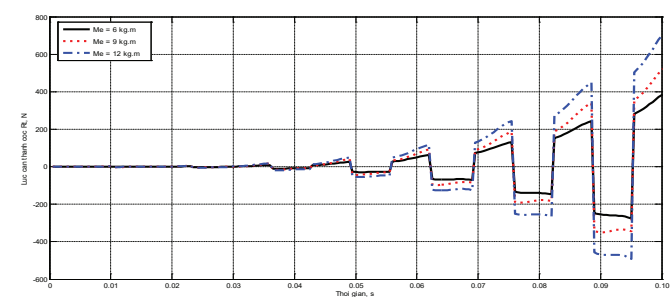


Hình 10. Sự thay đổi lực cản thành cọc khi thay đổi tần số rung.

Từ kết quả hình 9 và 10 cho thấy, khi tăng tần số rung (số vòng quay của trục gây rung) lần lượt là $n = 1200/1700/2200$ vòng/phút (với $M_c = 6 \text{ kg.m}$ và $P_0 = 0 \text{ kN}$) thì độ dịch chuyển của cọc tăng lên (hình 9) và lực cản thành cọc (R_s) giảm xuống (hình 10), điều đó nghĩa là tần số rung của búa tăng thì sẽ làm giảm lực cản thành cọc và tăng tốc độ hạ cọc vào đất.



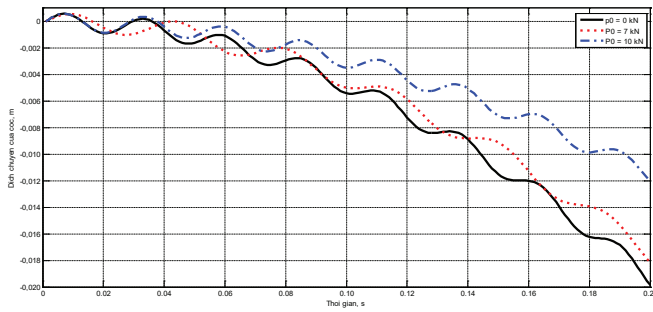
Hình 11. Dịch chuyển của cọc khi thay đổi mô men lệch tâm (M_c).



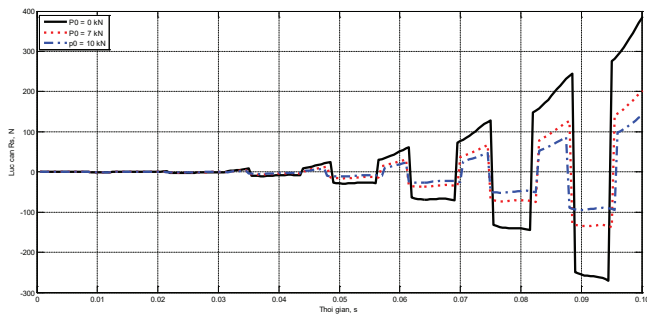
Hình 12. Sự thay đổi lực cản thành cọc khi thay đổi mô men lệch tâm (M_c).

Trên hình 11 và 12 thể hiện kết quả sự thay đổi độ dịch chuyển của cọc và lực cản thành cọc (R_s) khi lần lượt thay đổi mô men lệch tâm của búa rung là $M_c = 6/9/12 \text{ kg.m}$ (với $n = 2200$ vòng/phút và $P_0 = 0 \text{ kN}$). Từ đó có thể thấy độ dịch chuyển của cọc (hình 11) và lực cản thành cọc (R_s) (hình 12) đều tăng khi M_c tăng, điều này có nghĩa là khi M_c tăng làm cho giá trị lực kích thích tăng nên tốc độ dịch

chuyển của cọc vào đất tăng lên và làm cho lực cản thành cọc cũng tăng theo.

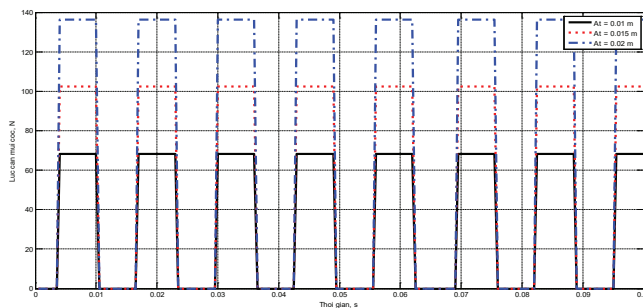


Hình 13. Sự thay đổi dịch chuyển của cọc khi thay đổi lực kéo của máy cơ sở.

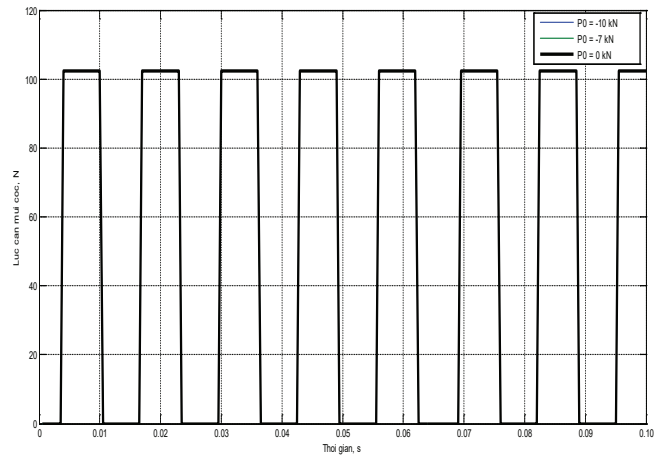


Hình 14. Sự thay đổi lực cản thành cọc khi thay đổi lực kéo của máy cơ sở.

Hình 13, 14 thể hiện kết quả về sự thay đổi độ dịch chuyển của cọc và lực cản thành cọc (R_s) khi lần lượt thay đổi lực kéo của máy cơ sở tương ứng là $P_0 = 0/7/10$ kN (với $M_c = 6$ kg.m và $n = 2200$ vòng/phút), từ đó cho thấy, lực kéo máy cơ sở tăng lên thì độ dịch chuyển của cọc (hình 13) và lực cản thành cọc (hình 14) giảm. Độ lớn của lực cản mũi cọc R_t không thay đổi theo chiều sâu cọc, giá trị lực này chỉ thay đổi khi tiết diện cọc thay đổi hoặc thay đổi các thông số của nền đất. Trên hình 15 cho thấy, khi tăng diện tích mũi cọc thì lực cản mũi cọc tăng theo. Hình 16 cho thấy, lực kéo máy cơ sở (P_0) gần như không ảnh hưởng đến lực cản mũi cọc.



Hình 15. Sự thay đổi lực cản mũi cọc theo tiết diện mũi cọc.



Hình 16. Sự thay đổi lực cản mũi cọc theo lực kéo máy cơ sở.

Kết luận

Nhóm nghiên cứu đã xây dựng được mô hình tính toán xác định sự ảnh hưởng của các thông số búa rung thủy lực (tần số rung, mô men lệch tâm, lực kéo máy cơ sở) đến các thành phần lực cản của đất và độ dịch chuyển của cọc thép trong quá trình hạ cọc, từ đó có thể ứng dụng trong quá trình tính toán thiết kế búa rung nói chung, búa rung thủy lực nói riêng và trong quá trình lựa chọn sử dụng búa rung thủy lực khi thi công.

Nghiên cứu bản chất ép cọc thép vào đất, nhóm tác giả đã xây dựng được mô hình động lực học quá trình ép cọc thép bằng búa rung thủy lực và mô hình xây dựng được phản ánh tương đối đầy đủ cơ chế tương tác giữa cọc và đất trong quá trình làm việc.

Nhóm nghiên cứu đã lập được chương trình khảo sát ảnh hưởng của các thông số búa rung đến độ dịch chuyển của cọc và lực cản của đất tác dụng lên cọc. Lực cản của đất tác dụng lên cọc và độ dịch chuyển của cọc thay đổi phụ thuộc vào các thông số búa rung. Kết quả nghiên cứu có thể làm tài liệu tham khảo để tính toán, lựa chọn các thông số của búa rung phù hợp phục vụ thi công cọc thép.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Văn Khang (2004), *Dao động kỹ thuật*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [2] Kenneth Viking (2002), *Vibro-Driveability - a field study of vibratory driven sheet piles in non-cohesive soils*, Doctoral thesis, Department of Civil and Architectural Engineering, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden.
- [3] Kenneth Viking (2006), *Vibratory pile installation technique*, Transvib 2006. Gonin, Holeyman et Rocher-Lacoste (ed) 2006, Editions du LCPC, Paris, 8, pp.65-82.
- [4] Svetlana Polukoshko (2010), "Dynamical Effects in Process of Piles Vibrodriving", *Scientific Journal of Riga Technical University*, 8, pp.109-116.

Tính toán cân bằng nước xác định quy mô các ao trong khu nuôi tôm thâm canh

Nguyễn Phú Quỳnh*

Viện Khoa học Thủy lợi miền Nam

Ngày nhận bài 23/5/2017; ngày chuyển phản biện 25/5/2017; ngày nhận phản biện 22/6/2017; ngày chấp nhận đăng 3/7/2017

Tóm tắt:

Xuất phát từ yêu cầu phát triển kinh tế vùng ven biển Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), phong trào nuôi tôm trong khu vực đã và đang được mở rộng cả về diện tích cũng như các hình thức nuôi. Trong bối cảnh đó, vấn đề quy hoạch vùng nuôi, các mô hình nuôi, xây dựng hệ thống hạ tầng kỹ thuật thủy lợi phục vụ nuôi tôm hiệu quả và bền vững trở thành một nhu cầu cấp thiết, mang tính kỹ thuật, kinh tế và môi trường to lớn. Từ các mô hình nuôi hiệu quả đang được triển khai tại ĐBSCL kết hợp với kết quả tính toán cân bằng nước, nhóm tác giả giới thiệu giải pháp bố trí hạ tầng kỹ thuật thủy lợi nội đồng và công thức xác định quy mô các ao nuôi trong vùng nuôi tôm thâm canh ven biển ĐBSCL.

Từ khóa: ĐBSCL, nuôi tôm, thâm canh, thủy lợi nội đồng, ven biển.

Chỉ số phân loại: 2.1

Water balance calculation to determine the sizes of intensive shrimp ponds

Phu Quynh Nguyen*

Southern Institute of Water Resources Research

Received 23 May 2017; accepted 3 July 2017

Abstract:

Stemming from the requirements of economic development of Mekong River Delta coastal region, the shrimp farming movement in the region has been expanding in terms of both sizes and forms of farming. In this context, the issues of zoning, farming models, and irrigation infrastructure system for the efficient and sustainable shrimp farming development become an urgent need regarding their technical, economic, and environmental aspects. From the farming models which are being effectively implemented in the Mekong River Delta combined with the results of water balance calculations, the authors introduce readers the solutions of irrigation infrastructure layout and the formulas to determine the sizes of intensive shrimp ponds in the Mekong River Delta coastal region.

Keywords: Coastal region, intensive farming, irrigation infrastructure, Mekong River Delta, shrimp farming.

Classification number: 2.1

Đặt vấn đề

ĐBSCL là vùng nuôi tôm nước lợ trọng điểm của cả nước (năm 2016 đạt trên 630.000 ha, chiếm hơn 90% diện tích nuôi tôm của cả nước). Tuy nhiên, trong một số năm gần đây sản lượng tôm nuôi vùng ven biển tăng trưởng không nhanh như giai đoạn trước. Năm 2011 diện tích nuôi tôm ở khu vực ĐBSCL bị thiệt hại do dịch bệnh lên đến 97.691 ha, năm 2012 dịch bệnh tiếp tục hoành hành trải dài theo các tỉnh ven biển từ Hải Phòng đến Kiên Giang, làm cho hơn 40.000 ha diện tích nuôi tôm bị thiệt hại [1].

Nguyên nhân phát sinh dịch bệnh trong nuôi tôm có nhiều nhưng tập trung chủ yếu vào các nguyên nhân đến từ môi trường nước không đảm bảo, cụ thể là giải pháp thủy lợi cấp, thoát, xử lý nước, tái sử dụng nước từ nguồn đến mặt ao chưa thực sự khoa học, chưa có quy trình vận hành, chưa có các giải pháp kỹ thuật, công nghệ hướng dẫn bố trí, xây dựng...

Thấy được sự cần thiết phải có cơ sở khoa học, thực tiễn để đưa ra giải pháp khắc phục những tồn tại nêu trên, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã cho thực hiện đề tài “Nghiên cứu giải pháp hạ tầng kỹ thuật thủy lợi nội đồng (cấp, thoát và xử lý nước) phục vụ nuôi tôm vùng ven biển ĐBSCL”. Nội dung được giới thiệu dưới đây là một phần trong kết quả nghiên cứu của đề tài, nhóm tác giả trình bày chi tiết các sơ đồ bố trí mẫu, cơ sở khoa học

*Email: nphuquynh@gmail.com

tính toán cân bằng nước để đưa ra các công thức, các bảng biểu được tính toán sẵn, phục vụ tra cứu thuận tiện khi thiết kế, xây dựng các khu nuôi tôm thâm canh vùng ven biển ĐBSCL.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp điều tra, phỏng vấn thu thập thông tin từ các cơ quan, ban ngành: Thu thập các mô hình nuôi trồng thủy sản (NTTS) đặc trưng theo các vùng nghiên cứu (nuôi thâm canh, bán thâm canh, quảng canh; nuôi trong ruộng lúa, nuôi trong rừng ngập mặn; mô hình nuôi hộ gia đình, trang trại...); hiện trạng bố trí khu vực ao tôm (ao nuôi, ao lắng, ao xử lý - nếu có); các công nghệ xử lý nước thải trong nuôi tôm đang áp dụng và cho các loại đối tượng nuôi khác nhau; các mô hình xử lý nước trong vùng nuôi, trong các trang trại, hộ gia đình đã được xây dựng và vận hành. Thu thập các nghiên cứu ở nước ngoài về công nghệ tính toán cân bằng nước, lan truyền chất, các nghiên cứu liên quan trong nước.

Phương pháp điều tra thực địa, phỏng vấn thu thập thông tin: Điều tra thực địa, phỏng vấn người dân, doanh nghiệp tại các mô hình đang hiện hữu trên đồng bằng (cả mô hình thành công và thất bại), qua đó rút ra bài học từ những thành công, thất bại trong quá trình nuôi.

Phương pháp học tập kinh nghiệm: Từ điều tra thực tiễn, kết quả các nghiên cứu trước đó, từ những thành công, thất bại trong và ngoài nước (Thái Lan, Đài Loan), đặc biệt là thành tựu khoa học và công nghệ mới, tiên tiến để đề xuất giải pháp kỹ thuật thủy lợi nội đồng mang tính thực tiễn cao và bền vững.

Phương pháp chuyên gia: Kết hợp với các nhà khoa học, các chuyên gia trong và ngoài nước, các chủ doanh nghiệp, cán bộ quản lý... trong ngành thủy lợi, thủy sản để đưa ra mô hình mẫu với những chọn lọc tối ưu nhất.

Kết quả và thảo luận

Sơ đồ mặt bằng bố trí hệ thống thủy lợi (HTTL) cho vùng nuôi tôm thâm canh

Từ kết quả điều tra thực địa, phỏng vấn người dân, doanh nghiệp tại các mô hình đang hiện hữu ở ĐBSCL (cả mô hình thành công và thất bại), qua phân tích, đánh giá, chúng tôi xin đề xuất một số mô hình bố trí HTTL cho vùng nuôi tôm thâm canh sau đây:

Sơ đồ mặt bằng bố trí HTTL nội đồng áp dụng cho

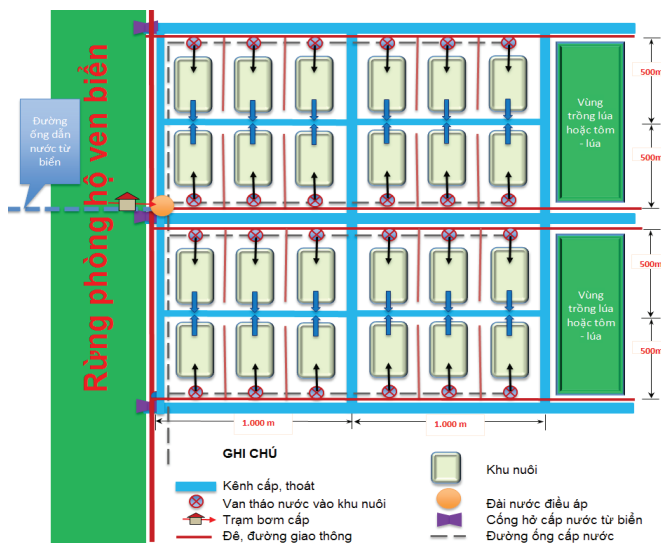
vùng nuôi cấp nước bằng bơm cấp trực tiếp từ kênh cấp - thoát nguồn: Hình 1 là sơ đồ bố trí HTTL từ nguồn đến nội đồng, trong đó nước được cấp bằng hình thức cống tự chảy (có hỗ trợ bơm cấp) trực tiếp từ kênh cấp nguồn. Kênh cấp I, II (hay còn gọi là kênh cấp, thoát nguồn) nối trực tiếp ra biển sẽ đảm trách nhiệm vụ cấp nước, đồng thời cũng là tiêu nước. Hệ thống kênh cấp III hoàn toàn là kênh tiêu. Để không bị ảnh hưởng về chất lượng nước (khu này thoát ra, khu khác lấy vào), cần có quy trình vận hành phù hợp đảm bảo khi cấp sẽ không cho tháo nước thải.

Do điều kiện mặt bằng bố trí HTTL không cho phép, nên có thể kênh cấp nguồn cũng là kênh cấp II, thậm chí cấp III. Tuy nhiên để lấy được nước có chất lượng tốt, nên bố trí HTTL sao cho hướng tới kênh cấp I là kênh cấp nguồn là tốt nhất.



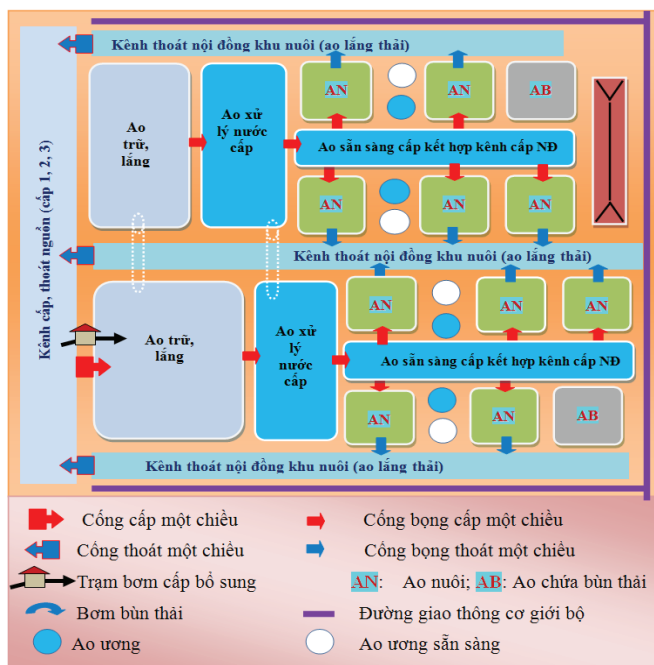
Hình 1. Sơ đồ mặt bằng bố trí HTTL từ nguồn đến nội đồng áp dụng cho khu nuôi cấp nước bằng cống tự chảy (có hỗ trợ bơm cấp) trực tiếp từ kênh cấp nguồn.

Sơ đồ mặt bằng bố trí HTTL nội đồng áp dụng cho vùng nuôi cấp nước vào khu nuôi bằng bơm cấp từ xa: Trong trường hợp hệ thống kênh cấp nguồn bị ô nhiễm hoặc độ mặn không đạt yêu cầu, nước cấp cho khu nuôi có thể cấp trực tiếp từ biển (hình 2). Trong chuyến đi công tác thực tế của nhóm tác giả tại Đài Loan (năm 2014) và Thái Lan (năm 2015, thăm dự án nuôi tôm của Hoàng gia Thái Lan tại vịnh Kung Krabaen [2]) cho thấy, đây là những nước/vùng lãnh thổ ứng dụng phương pháp này khá phổ biến. Ưu điểm của phương pháp này là lấy được nước biển sạch, chủ động cấp trong mọi thời điểm.



Hình 2. Sơ đồ mặt bằng bố trí HTTL cấp nước vào khu nuôi, áp dụng cho khu nuôi cấp nước bằng bơm cấp từ xa.

Mặt bằng bố trí các ao và HTTL cấp, thoát trong khu nuôi thâm canh: Có nhiều cách bố trí các ao và HTTL cấp, thoát nước trong khu nuôi tôm thâm canh, phụ thuộc vào vị trí đường giao thông, hệ thống kênh cấp, thoát nguồn, hình thức cấp thoát... Hình 3 là sơ đồ bố trí các ao và thủy lợi nội đồng trong khu nuôi tôm thâm canh không tuần hoàn nước (có đường giao thông xương cá) - đường giao thông chính đối diện kênh cấp nguồn.

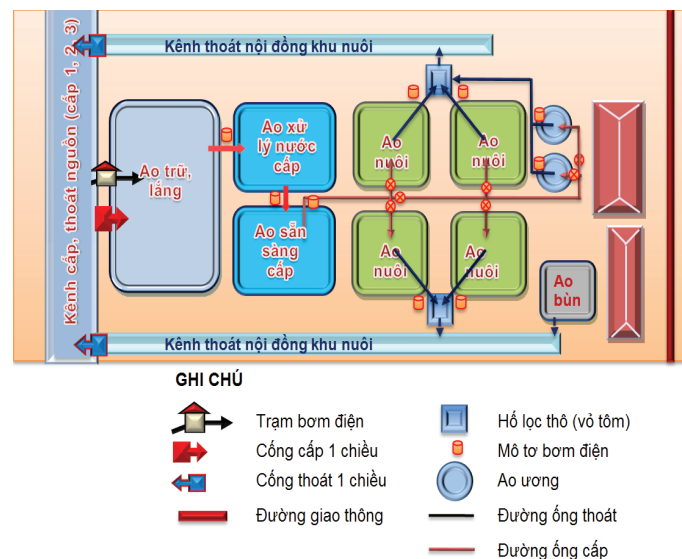


Hình 3. Sơ đồ mặt bằng bố trí các ao và thủy lợi nội đồng trong khu nuôi tôm thâm canh không tuần hoàn nước (có đường giao thông xương cá) - đường giao thông chính đối diện kênh cấp nguồn.

Sơ đồ mặt bằng bố trí HTTL khu nuôi theo mô hình CP (mô hình nuôi tôm của Tập đoàn CP - Thái Lan đang áp dụng thành công tại Việt Nam):

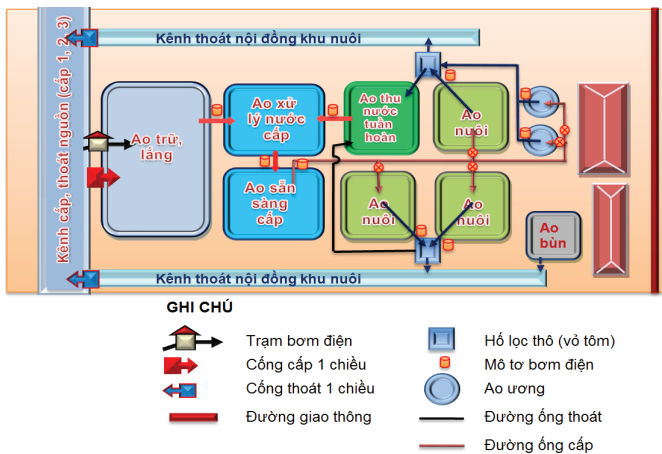
Mô hình không tuần hoàn nước: Đây là mô hình hệ thống cấp nước bằng đường ống trong khu nuôi tôm thâm canh (thay nước liên tục và không tái sử dụng nước) - mô hình mẫu của Tập đoàn CP (Thái Lan [3, 4]). Mô hình này là mô hình kết hợp giữa nuôi siêu thâm canh và thâm canh, hiện phổ biến ở Thái Lan, mới được áp dụng vài năm gần đây tại Việt Nam và đang hoạt động khá hiệu quả.

Mô hình này thực hiện triệt để phương châm “4 không”: Không để nước sâu, không để nước lâu, không để nước đứng yên, không bơm nước trực tiếp (vào ao nuôi). Tháng thứ nhất: Lượng nước thay trong ao nuôi: 20%/ngày; tháng thứ hai: Lượng nước thay trong ao nuôi: 30%/ngày; tháng thứ ba: Lượng nước thay trong ao nuôi: 40-50%/ngày (hình 4).



Hình 4. Mô hình hệ thống cấp nước bằng đường ống trong khu nuôi tôm thâm canh, áp dụng cho khu nuôi thay nước liên tục và không tái sử dụng nước - mô hình của CP.

Mô hình tuần hoàn nước: Lượng nước sau khi thay từ ao nuôi được chuyển về ao thu nước tuần hoàn, sau đó chuyển sang ao xử lý cấp. Sau khi xử lý đạt chất lượng yêu cầu, nước được chuyển sang ao sẵn sàng cấp và cấp cho hệ thống ao nuôi. Ưu điểm của mô hình này là ít thay nước (lấy từ nguồn), từ đó giảm được quy mô ao trữ lắng, quy mô bơm cấp, và đặc biệt là giảm được chi phí cho xử lý sinh học nước cấp lần đầu (nước thay ra chất lượng vẫn khá tốt do lượng thay rất nhiều và liên tục) (hình 5).



Hình 5. Mô hình hệ thống cấp, thoát và xử lý nước trong khu nuôi tôm thâm canh, áp dụng cho khu nuôi thay nước liên tục và tái sử dụng nước.

Suất đầu tư xây dựng hạ tầng kỹ thuật cũng như chi phí điện, nước, chế phẩm sinh học... của mô hình của CP lớn hơn so với mô hình truyền thống. Vì vậy, tùy từng điều kiện tài chính để cân nhắc áp dụng.

Tính toán cân bằng nước xác định quy mô các ao trong khu nuôi tôm thâm canh

Các ao trong khu nuôi:

Ao trữ lắng: Là khoảng không gian chứa nước dùng cho việc tích trữ nước (được cấp từ kênh cấp nguồn), kết hợp lắng đọng phù sa, nhằm đảm bảo chất lượng nước tốt nhất cho ao nuôi.

Dung tích nước chứa trong ao trữ lắng phải đảm bảo đủ cung cấp cho ao nuôi và tồn thất nước trong quá trình nuôi. Trong quá trình nuôi, nước cung cấp vào ao trữ lắng được chia làm nhiều đợt, do đó dung tích ao trữ lắng phải đảm bảo đủ cung cấp cho hệ thống các ao trong khu nuôi tối thiểu là trong khoảng thời gian giữa 2 đợt cấp nước.

$$W_{tru} = W_{an} + W_{az} + W_{tt} \quad (1)$$

Trong đó: W_{tru} là dung tích nước trữ trong ao trữ lắng cho toàn bộ khu nuôi, đảm bảo cấp nước cho khu nuôi trong ít nhất một đợt bơm cấp nước; W_{an} là tổng lượng nước trong ao nuôi cho một đợt thả nuôi, với mực nước trong ao nuôi trung bình 1,4 m [5]; W_{az} là lượng nước trong ao zèo (ao ương) trong một đợt nuôi (1 ao nuôi sẽ cần 1 ao ương); W_{tt} là tổng lượng nước do thấm và bốc hơi.

Diện tích mặt nước ao trữ lắng (S_{tru}) được tính như sau:

$$S_{tru} = \frac{W_{tru}}{H_{tru}} \quad (2)$$

Trong đó, H_{tru} là chiều sâu mực nước trong ao trữ lắng (thường 2-4 m, tùy khả năng đào sâu cũng như khả năng cấp nước sạch trong khu nuôi).

Công thức (15) được trình bày ở phần sau là để tính toán dung tích ao trữ lắng.

Ao nuôi: Chỉ khoảng không gian chứa nước (được giới hạn bởi đáy, bờ và bề mặt nước) dùng để thả tôm, chăm sóc nuôi lớn và thu hoạch. Để đảm bảo khi guồng sục khí dồn được chất lắng cặn đáy ao (thức ăn dư, phân tôm, vỏ tôm...) vào giữa ao, ao nuôi hình vuông là tốt nhất (bà con nông dân thường gọi ao nuôi tôm là vuông tôm). Lượng nước trong ao nuôi (W_{an}) được tính như sau:

$$W_{an} = S_{an} \times H_{an} \quad (3)$$

Trong đó: S_{an} là diện tích mặt nước ao nuôi trong một đợt thả nuôi (trường hợp cần nhiều nước nhất là trường hợp được thả nuôi 100% số lượng ao nuôi); H_{an} là chiều sâu mực nước trong ao nuôi.

Ao zèo (ao ương): Là ao nuôi loại nhỏ chỉ dùng để chăm sóc tôm thời kỳ còn nhỏ, để thả tôm giống với mật độ cao, chăm sóc ương tôm trong vòng từ 20-25 ngày trước khi thả tôm vào các ao nuôi đại trà [3, 4]. Trước đây, ao ương chỉ có trong nuôi tôm siêu thâm canh. Tuy nhiên, hiện nay đối với nuôi thâm canh (thậm chí kể cả quảng canh), để giảm thiểu rủi ro và chi phí nuôi tôm thì trong giai đoạn đầu cần phải ương tôm cho khỏe mạnh, thích nghi với môi trường trước khi đưa vào ao nuôi.

Theo kinh nghiệm, tính trung bình diện tích 1 ao nuôi là 1.600 m² (40 x 40 m) cần ao ương với diện tích mặt bằng là 100 m² (mực nước trong ao zèo bằng mực nước trong ao nuôi), ta có:

$$S_{az} = \frac{S_{an}}{16} \quad (4)$$

$$W_{az} = \frac{W_{an}}{16} = \frac{S_{an}}{16} \times H_{an} \quad (5)$$

Ao xử lý cấp: Chỉ khoảng không gian chứa nước dùng cho việc lắng lọc, xử lý nước cấp trước khi cho vào ao nuôi, nhằm đảm bảo chất lượng nước tốt nhất cho ao nuôi. Tùy theo điều kiện khu nuôi, ao xử lý cấp cũng có thể là ao sản sàng cấp.

Tổng lượng nước trong ao xử lý cấp bằng lượng nước lấy vào ao nuôi trong một đợt cấp đầy vào ao nuôi.

$$W_{axl} = W_{an} \quad (6)$$

Độ sâu mực nước trong ao xử lý tốt nhất là bằng độ sâu mực nước trong ao nuôi để đảm bảo cân bằng nhiệt độ và các trạng thái môi trường khác, khi đó diện tích mặt nước

ao xử lý cấp nước và ao nuôi là như nhau.

$$S_{axl} = S_{an} \quad (7)$$

Ao sẵn sàng cấp: Chỉ khoảng không gian chứa nước dùng cho việc trữ nước từ ao xử lý cấp phục vụ cấp nước cho hệ thống các ao nuôi. Trong điều kiện chuẩn, ao sẵn sàng cấp được thiết kế riêng. Tuy nhiên, tùy theo điều kiện khu nuôi, ao sẵn sàng cấp cũng có thể là ao xử lý cấp.

Trường hợp ao sẵn sàng cấp được bố trí riêng biệt, dung tích ao sẵn sàng cấp phải chứa hết nước từ ao xử lý nước trong một đợt bơm cấp đầy vào ao nuôi cho một đợt thả nuôi.

$$W_{ssc} = W_{axl} = W_{an} \quad (8)$$

Cũng như trong trường hợp ao xử lý cấp, độ sâu mực nước trong ao sẵn sàng tốt nhất là bằng độ sâu mực nước trong ao nuôi để đảm bảo cân bằng nhiệt độ và các trạng thái môi trường khác, khi đó diện tích mặt nước của ao sẵn sàng cấp, ao xử lý cấp và ao nuôi là như nhau.

$$S_{ssc} = S_{axl} = S_{an} \quad (9)$$

Lượng nước tổn thất trong quá trình nuôi:

Lượng nước tổn thất trong quá trình nuôi (W_{tt}) bao gồm tổn thất do thấm và do bốc hơi.

$$W_{tt} = W_{tham} + W_{boc\ hoi} \quad (10)$$

Lượng nước mất đi do thấm (W_{tham}) bình quân là khoảng 2 mm/ngày (0,002 m/ngày).

Khoảng thời gian giữa 2 đợt bơm cấp nước là ΔT (ngày), ta có cột nước tổn thất do thấm trong khoảng thời gian ΔT là:

$$H_{tham} = \Delta T \times 0,002 \text{ (m)}.$$

Do ao nuôi, ao xử lý trong khu nuôi thâm canh được trải bạt chống thấm, không bị mất nước do thấm, nên:

$$W_{tham} = S_{tru} \times \Delta T \times 0,002 = \frac{W_{tru}}{H_{tru}} \times \Delta T \times 0,002 \quad (11)$$

$W_{boc\ hoi}$ bình quân tính cho mùa khô là khoảng 0,5 cm/ngày, ta có cột nước tổn thất do bốc hơi là:

$$H_{boc\ hoi} = 0,005 \times \Delta T \text{ (m)}$$

Hệ thống các ao trong khu nuôi bao gồm ao trữ, ao nuôi, ao xử lý, ao sẵn sàng cấp, ao zèo, ao lắng thải (sau nuôi), ao chứa bùn. Như vậy, tính toán tổn thất do bốc hơi cho khu nuôi, ngoại trừ ao lắng thải (sau nuôi), ao chứa bùn là không tính tổn thất, còn lại đều phải tính toán tổn thất cấp nước.

$$W_{boc\ hoi} = (S_{tru} + S_{an} + S_{axl} + S_{ssc} + S_{az}) \times 0,005 \times \Delta T \quad (12)$$

Từ công thức (2), (4), (9) và (12), ta có:

$$W_{boc\ hoi} = \left(\frac{W_{tru}}{H_{tru}} + 3 \times S_{an} + \frac{S_{an}}{16} \right) \times 0,005 \times \Delta T \quad (13)$$

Từ công thức (10), (11) và (13) ta có:

$$W_{tt} = \frac{W_{tru}}{H_{tru}} \times 0,002 \times \Delta T + \left(\frac{W_{tru}}{H_{tru}} + 3 \times S_{an} + \frac{S_{an}}{16} \right) \times 0,005 \times \Delta T$$

$$W_{tt} = (0,007 \times \frac{W_{tru}}{H_{tru}} + 0,0153 \times S_{an}) \times \Delta T \quad (14)$$

Từ công thức (1), (3), (5) và (14) ta có:

$$W_{tru} = S_{an} \times H_{an} + \frac{S_{an}}{16} \times H_{an} + (0,007 \times \frac{W_{tru}}{H_{tru}} + 0,0153 \times S_{an}) \times T$$

$$W_{tru} = \frac{1,0625 H_{an} + 0,0153 \Delta T}{1 - 0,007 \frac{\Delta T}{H_{tru}}} S_{an} \quad (15)$$

Công thức (15) là công thức tính tổng lượng nước trữ cần thiết trong ao trữ lắng cho một khu nuôi trong một đợt thả nuôi.

Trong đó: ΔT là khoảng thời gian giữa 2 đợt cấp nước; H_{tru} là chiều sâu mực nước trong ao trữ lắng; H_{an} là chiều sâu mực nước trong ao nuôi; S_{an} là diện tích ao nuôi trong một đợt thả nuôi (lớn nhất).

Tính toán quy mô bơm cấp:

Lưu lượng bơm cấp cho một đợt bơm được tính theo công thức:

$$Q_{bom} = \frac{W}{T}$$

Trong đó: W là lượng nước cần cấp (m^3); T là thời gian lấy nước (h).

$$Q_{bom} = \frac{W}{N \times G} \text{ (m}^3\text{/h)} \quad (16)$$

Trong đó: N là số ngày cấp nước (ngày/đợt); G là số giờ cấp nước trong ngày (h/ngày).

Bảng 1. Công thức tính quy mô các ao trong khu nuôi tôm thâm canh.

STT	Hạng mục công trình	Công thức tính	Ký hiệu
1	Ao trữ	$W_{tr} = \frac{1,0625H_{an} + 0,0153}{1 - 0,007} T S_{an}$ $S_{tr} = \frac{W_{tr}}{H_{tr}}$	W_{tr} : Dung tích nước ao trữ S_{tr} : Diện tích mặt nước ao trữ H_{tr} : Chiều sâu mực nước trong ao trữ ΔT : Khoảng thời gian giữa 2 đợt cấp nước H_{an} : Chiều sâu mực nước trong ao nuôi S_{an} : Diện tích mặt nước ao nuôi trong 1 đợt thả nuôi
2	Ao nuôi	$\beta_{max} = \frac{S_{an}(max)}{S_{an}^*}$ $W_{axl} = W_{an}$ $S_{axl} = S_{an}$	$S_{an}(max)$: Diện tích ao nuôi trong một đợt thả nuôi (lớn nhất) S_{an}^* : Tổng diện tích ao nuôi trong khu nuôi W_{an} : Dung tích nước trong ao nuôi
3	Ao xử lý cấp	$W_{axl} = W_{an}$ $S_{axl} = S_{an}$	W_{axl} : Dung tích ao xử lý nước cấp S_{axl} : Diện tích ao xử lý nước cấp
4	Ao sẵn sàng cấp	$W_{sac} = W_{an}$ $S_{sac} = S_{an}$	W_{sac} : Dung tích nước trong ao sẵn sàng cấp S_{sac} : Diện tích mặt nước trong ao sẵn sàng cấp
5	Ao lắng thải (kênh thải)	$10\% \times S_{an}^*$	QCVN 02-19:2014/BNNPTNT
6	Bơm cấp	$Q_{bcm} = \frac{W_{tr}}{N \times G}$	N: Số ngày cấp nước (ngày/đợt) G: Số giờ cấp nước trong ngày (h/ngày)

Bảng 2. Bảng tra dung tích, diện tích ao trữ lắng trong khu nuôi tôm thâm canh (tính cho diện tích ao nuôi là 1 ha/đợt nuôi).

STT	Đối tượng nuôi	Độ sâu mực nước khai thác trong ao trữ lắng (H_{tr})	Khoảng thời gian giữa 2 đợt bơm cấp (ΔT)	Dung tích ao trữ lắng (W_{tr})	Diện tích ao trữ lắng (S_{tr})
		(m)	(ngày)	(m ³)	(m ²)
1			3	11.200	7.500
2		1,5	7	12.100	8.100
3			15	13.900	9.300
4	Nuôi tôm thẻ chân trắng, mực nước trong ao nuôi 1 m ($H_{an} = 1,0$ m)		3	11.200	5.600
5		2,0	7	12.000	6.000
6			15	13.600	6.800
7			3	11.200	4.500
8		2,5	7	11.900	4.800
9			15	13.500	5.400
10			3	15.600	10.400
11		1,5	7	16.500	11.000
12			15	18.500	12.300
13	Nuôi tôm sú, mực nước ao nuôi 1,4 m ($H_{an} = 1,4$ m)		3	15.500	7.800
14		2,0	7	16.300	8.200
15			15	18.100	9.100
16			3	15.500	6.200
17		2,5	7	16.300	6.500
18			15	17.900	7.200

Ví dụ tính toán:

Với khu nuôi tôm thẻ chân trắng thâm canh có diện tích 10 ha, tổng số ao nuôi là 16 ao (40 x 40 m), đợt 1 thả nuôi 8 ao, đợt 2 thả nuôi 4 ao và đợt 3 là 4 ao. Nước cấp vào ao trữ dự kiến vào các đợt triều cường trong tháng (đầu và giữa tháng - mỗi đợt cách nhau 15 ngày), mỗi đợt triều cường bơm 4 ngày, mỗi ngày bơm 6 h. Độ sâu nước trong ao trữ là 2,5 m, độ sâu khai thác là 1,5 m, độ sâu mực nước trong ao nuôi là 1,0 m. Tính quy mô diện tích các ao trong khu nuôi và quy mô bơm cấp.

$S_{an}^* = 2,56$ ha; $H_{an} = 1,0$ m; $H_{tr} = 1,50$ m; $\Delta T = 15$ ngày; $N = 4$ ngày; $G = 6$ h.

Ta có:

$$\beta_1 = 8 \times 40 \times 40 / 16 \times 40 \times 40 = 0,5$$

$$\beta_2 = \beta_3 = 4 \times 40 \times 40 / 16 \times 40 \times 40 = 0,25$$

$\Rightarrow \beta_{max} = 0,5$ (chọn), tương ứng với diện tích nuôi trong một đợt thả nuôi lớn nhất là 8 ao = $8 \times 40 \times 40 = 1,28$ ha (S_{an}).

Tính toán xác định quy mô ao trữ lắng:

Phương pháp 1: Tính toán theo công thức

Thay vào công thức (15) và (2), ta có:

$$W_{tr} = \frac{1,0625 \times 1,0 + 0,0153 \times 15}{1 - 0,007 \times (15/1,50)} \times 1,28 \times 10.000 = 17.782 \text{ (m}^3\text{)}$$

$$S_{tr} = \frac{W_{tr}}{H_{tr}} = 17.782 / 1,5 \approx 11.900 \text{ (m}^2\text{)} = 1,19 \text{ (ha)}$$

Phương pháp 2: Tra bảng (bảng 2)

Ta có: $S_{an} = 1,28$ ha = 1,00 ha + 0,28 ha

$H_{an} = 1$ m, $H_{tr} = 1,5$ m, $\Delta T = 15$ ngày

Với $S_{an}(1) = 1$ ha, tra bảng 2 (hàng số thứ tự bằng 3)

$$W_{tr}(1) = 13.900 \text{ m}^3, S_{tr}(1) = 9.300 \text{ m}^2$$

Với $S_{an}(2) = 0,28$ ha, nội suy ta có:

$$W_{tr}(2) = W_{tr}(1) \times 0,28 = 13.900 \times 0,28 = 3.892 \text{ (m}^3\text{)}$$

$$S_{tr}(2) = S_{tr}(1) \times 0,28 = 9.300 \times 0,28 = 2.604 \text{ (m}^2\text{)}$$

$$W_{tr} = 13.900 + 3.892 = 17.792 \text{ (m}^3\text{)}$$

(Chênh 10 m³ với cách tính từ phương pháp 1, nguyên nhân do trong bảng tra làm tròn số đến hàng chục).

$$S_{tr} = 9.300 + 2.604 = 11.904 \text{ (m}^2\text{)} \approx 1,19 \text{ (ha)}$$

Quy mô các ao xử lý nước:

Thay vào công thức (9) ta có:

$$S_{axl} = S_{ssc} = S_{an} = 1,28 \text{ (ha)}$$

Diện tích ao lắng thải và bùn đọng:

$$S_{thai} = 10\% \times S_{an}^* = 0,26 \text{ (ha)}$$

$$\text{Tổng diện tích mặt nước: } S = S_{tru} + S_{axl} + S_{ssc} + S_{an} + S_{az} + S_{thai} = 1,19 + 2 \times 1,28 + 2,56 + 2,56/16 + 0,26 = 6,73 \text{ (ha)}$$

Tính toán quy mô bơm: Thay vào công thức (16) ta có:

$$Q_{bom} = \frac{W}{N \times G} = \frac{17.782}{4 \times 6} = 740 \text{ (m}^3/\text{h)}$$

Kết luận

Để giảm quy mô ao trữ lắng, ao xử lý nước cấp, ao sẵn sàng cấp cần chia các ao nuôi thành nhiều đợt nuôi (trong ví dụ chia làm 3 đợt nuôi), trong đó quy mô các ao trữ lắng, ao xử lý nước cấp, ao sẵn sàng cấp được tính từ đợt nuôi có diện tích ao nuôi lớn nhất ($\beta - \max$).

Để giảm quy mô ao trữ, quy mô bơm cho khu nuôi, cần phải tăng thời lượng cấp nước (tăng số đợt bơm và thời gian bơm trong 1 đợt). Để làm được việc này, chất lượng nước trong kênh cấp nguồn phải tốt, hay nói cách khác hệ thống kênh cấp nguồn phải thông thoáng, gần biển để đảm bảo độ mặn, cũng như những chỉ số môi trường khác, quy mô kênh cấp nguồn phải tải đủ nước cho bơm cấp. Các khu nuôi thâm canh càng vào sâu trong đất liền quy mô ao trữ càng phải lớn, kênh cấp nguồn càng phải rộng, tỷ lệ diện tích ao nuôi trong khu nuôi càng phải nhỏ. Hệ thống

kênh cấp nguồn có quy mô nhỏ thì các ao trữ lắng trong khu nuôi phải lớn (điều này là không logic do mất cân bằng cấp nước về lượng), đây là nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường trầm trọng.

Các công thức từ (1) đến (16) sử dụng để các nhà quản lý, thiết kế, chủ trang trại, hộ nông dân... làm căn cứ tính toán quy mô ao trữ, ao nuôi và HTTL nội đồng cấp - thoát nước, trên cơ sở đó cân nhắc lựa chọn quy mô ao nuôi phù hợp. Trong ví dụ, tỷ lệ diện tích ao nuôi khoảng 25% (2,56/10) diện tích khu nuôi vào khoảng 40% (2,56/6,73) diện tích mặt nước khu nuôi. Qua kinh nghiệm nuôi tại ĐBSCL, đây được xem là tỷ lệ nuôi bền vững.

Đối với ao nuôi và quản lý quá trình nuôi, cần phải thực hiện “4 không”: Không để nước sâu; không để nước lâu; không để nước đứng yên; không bơm nước trực tiếp (vào ao nuôi).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Tổng cục Thủy sản (2013), *Hướng dẫn kỹ thuật nuôi tôm nước lợ thâm canh, bán thâm canh hạn chế dịch bệnh* (ban hành kèm theo Công văn số 298/TCTS-NTTS ngày 1/2/2013).
- [2] Kung Krabaen Bay Royal Development Study Center (2015), *Workshop in Thái Lan*.
- [3] Banchong Buahung (2015), *“Thailand Leader of The Shrimp”, Workshop in Phú Yên*.
- [4] Jirarod Teerachodjiranon (2015), *Farm companies Long Hai (Model 3.13 Ha) at Ha Tien, Kien Giang Province*.
- [5] Cục Quản lý chất lượng nông lâm sản và thủy sản (2012), *Sổ tay hướng dẫn thực hành nuôi tốt (GAP) tôm sú thâm canh ở Việt Nam*.

Nghiên cứu giải pháp bơm rửa vùng lắng đọng trong đường ống vận chuyển dầu trong điều kiện không dừng khai thác

Nguyễn Hoài Vũ^{1*}, Phạm Thành Vinh¹, Trần Xuân Đào², Nguyễn Thế Vinh³

¹Liên doanh Việt - Nga (Vietsovpetro)

²Hội Dầu khí Việt Nam

³Trường Đại học Mỏ - Địa chất

Ngày nhận bài 28/6/2017; ngày chuyển phản biện 30/6/2017; ngày nhận phản biện 25/7/2017; ngày chấp nhận đăng 28/7/2017

Tóm tắt:

Việc vận chuyển dầu bằng đường ống cho thấy, khả năng vận chuyển phụ thuộc vào các tính chất lý hóa, tính lưu biến của lưu chất và các đặc tính đường ống xây dựng dùng để vận chuyển. Tại các mỏ của Vietsovpetro, quá trình vận chuyển dầu bằng đường ống ngầm gặp rất nhiều khó khăn do hiện tượng lắng đọng paraffin. Hệ thống đường ống xây dựng ở các mỏ của Vietsovpetro nối liền các công trình khai thác dùng để vận chuyển dầu đều không có hệ thống phóng thoi định kỳ để tẩy rửa chất lắng đọng. Vì vậy, việc tẩy rửa các chất lắng đọng trong đường ống phải dùng giải pháp khác.

Bài viết trình bày kết quả nghiên cứu giải pháp bơm rửa vùng lắng đọng trong đường ống vận chuyển dầu áp dụng tại Vietsovpetro, góp phần thực hiện quá trình khai thác dầu hiệu quả ở Vietsovpetro nói riêng và ngành dầu khí nói chung.

Từ khóa: Bơm rửa đường ống, dầu nhiều paraffin, lắng đọng paraffin.

Chỉ số phân loại: 2.4

Đặt vấn đề

Những thách thức và phức tạp trong vận chuyển dầu mỏ Bạch Hổ và mỏ Rồng bắt nguồn từ tính chất đặc trưng của dầu (hàm lượng paraffin, độ nhớt và nhiệt độ đông đặc cao), đặc tính hệ thống đường ống dẫn dầu hiện hữu (không được bọc cách nhiệt, nhiều cấp đường kính ống trong một tuyến ống, toàn tuyến đường ống có rất nhiều đoạn ống đứng làm tăng sự phức tạp trong quá trình vận chuyển...), dầu vận chuyển trong điều kiện môi trường nhiệt độ nước biển thấp, tỷ số khí dầu và xung động áp suất lớn, và ảnh hưởng của hệ nhũ tương dầu - nước lên tính chất lưu biến của chất lỏng...

Quá trình vận chuyển dầu có nhiều paraffin tách khí hoàn toàn bằng đường ống ngầm dưới biển thường kèm theo hiện tượng lắng đọng paraffin, đặc biệt là trong các đoạn ống không được bọc cách nhiệt [1]. Tốc độ lắng đọng paraffin phụ thuộc vào đặc trưng lý - hóa của dầu thô khai thác, điều kiện nhiệt thủy động lực học và các yếu tố khác.

Trong một số giai đoạn, dầu khai thác ở giàn đầu giếng (BK/RC) với lưu lượng nhỏ được vận chuyển an toàn về giàn cố định (MSP) để xử lý. Quá trình vận chuyển này rất khó khăn do hiện tượng lắng đọng paraffin. Một trong những yếu tố chính được xem là ảnh hưởng mạnh mẽ đến

quá trình và mức độ hình thành lắng đọng paraffin trong ống là đặc trưng thủy động lực học của dòng hỗn hợp các chất lỏng trong ống. Điều này được khẳng định tại nhiều công trình khoa học trong và ngoài nước đã công bố trước đây [2, 3]. Vietsovpetro đã đưa ra các biện pháp hạn chế và tẩy rửa chất lắng đọng paraffin hình thành bên trong đường ống dẫn dầu. Một trong những giải pháp đó là bơm thêm nước biển vào đường ống có lưu lượng nhỏ để tăng tốc độ dòng chảy của chất lỏng. Thực tế cho thấy, giải pháp trên đã mang lại hiệu quả tích cực cho công tác sản xuất tại các công trình dầu khí ngoài khơi các mỏ của Vietsovpetro, không cần phải dừng khai thác dầu mà vẫn tẩy rửa được lớp lắng đọng mềm hình thành trong ống, nâng cao hiệu quả vận hành các đường ống dẫn dầu, đặc biệt là các đường ống có lưu lượng nhỏ.

Nội dung nghiên cứu

Vấn đề cốt lõi của việc gia tăng vận tốc dòng chảy trong ống là tạo được những ứng suất trượt đủ lớn, thắng được lực liên kết bên trong giữa các phân tử của dầu đông đặc, các tinh thể paraffin và các tạp chất cơ học trong chất lắng đọng hay lực bám dính của chúng với bề mặt kim loại của đường ống [4-6]. Kết quả là các lớp lắng đọng paraffin thường gặp trong thực tế vận chuyển dầu trong mọi trường

*Tác giả liên hệ: Email: vinh.pt@vietsov.com.vn

Method of cleaning deposition in gas and oil transportation pipeline without interrupting production process

Hoai Vu Nguyen^{1*}, Thanh Vinh Pham¹,
Xuan Dao Tran², The Vinh Nguyen³

¹Vietsoyppetro Join Venture, Vietnam

²Vietnam Petroleum Association

³Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam

Received 28 June 2017; accepted 28 July 2017

Abstract:

The process of gas and oil transportation in subsea pipelines depends on the properties of transported fluids, especially their physicochemical properties, rheological properties, as well as the characteristics of the pipelines.

In the oil field of Vietsoyppetro JV, oil and gas transportation in subsea pipelines faces many challenges due to complicated properties of paraffin produced oil leading to deposition in pipelines. There is no pigging system installed for oil transportation pipelines in Vietsoyppetro JV's oil field, so it is critical to use other methods to clean the pipelines. The article focuses on the effective method applied in Vietsoyppetro JV for cleaning the deposition in pipelines, improving the ability of oil production in Vietsoyppetro JV.

Keywords: Paraffin deposition, paraffinic oil, pipeline cleaning.

Classification number: 2.4

hợp có thể hạn chế và khắc phục được.

Khi ứng suất trượt do máy bơm tạo nên lớn hơn ứng suất trượt động của chất lỏng thì cấu trúc liên kết của các chất bị phá hủy. Lúc này, dầu mang tính chất của chất lỏng Newton. Nếu ngược lại, các chất lắng đọng trong ống sẽ không dịch chuyển được mà tích tụ lại thành từng vùng. Ở trạng thái tĩnh, các phần tử paraffin trong dầu tạo nên những mạng tinh thể và hình thành các cấu trúc có độ bền tăng dần theo thời gian. Phức tạp ở đây là nghiên cứu động lực học mức độ bền vững của các cấu trúc trong dầu (sự phụ thuộc của ứng suất trượt tĩnh theo thời gian mà dầu ở trạng thái tĩnh tại môi trường đẳng nhiệt). Ứng suất trượt tĩnh không những phụ thuộc vào nhiệt độ mà còn phụ thuộc vào thời gian hình thành và độ bền của cấu trúc mạng đó. Đối với dầu khai thác tại các mỏ của Vietsoyppetro, độ bền

của cấu trúc mạng tạo thành sẽ tăng và có thể đạt tới vài trăm Pa trong khoảng thời gian một vài giờ. Nếu sử dụng hóa phẩm giảm nhiệt độ đông đặc để xử lý dầu thì giá trị tới hạn ứng suất trượt tĩnh của dầu đã xử lý có thể giảm tới hàng chục lần so với của dầu thô chưa qua xử lý và có thể đạt ở mức một hoặc vài chục Pa.

Sử dụng phương pháp tiêu chuẩn trong việc xác định lắng đọng paraffin cho thấy, mối liên quan giữa tốc độ hình thành vùng lắng đọng với các đặc trưng thủy động lực học và độ nhớt được thể hiện qua biểu thức sau:

$$I = A \frac{R^3}{Q} \left(1 - \frac{\tau}{\tau_0}\right) \quad (1)$$

Trong đó: I - Tốc độ hình thành vùng lắng đọng hay các chất lắng đọng paraffin; A - Tiết diện đường ống; Q - Lưu lượng của chất lỏng trong ống (m³/ngđ); R - Bán kính thủy lực (m); τ - Ứng suất trượt tại thành ống hay trên lớp lắng đọng (Pa); τ_0 - Ứng suất trượt tĩnh của dầu đông đặc tại bề mặt phân cách các lớp (Pa).

Nếu như tạo được ứng suất trượt trong đường ống dẫn dầu một lực lớn hơn ứng suất trượt động của các chất lắng đọng thì các cấu trúc liên kết của nó sẽ bị phá hủy và các chất lắng đọng hình thành bên trong đường ống sẽ bị đẩy ra ngoài.

Khi rửa đường ống, dòng chất lỏng chuyển động trong ống không đồng nhất, vì vậy để giản hóa quá trình rửa ta chỉ đơn thuần xem xét trường hợp hỗn hợp chất lỏng đồng nhất.

Ứng suất trượt τ được xác định theo biểu thức sau:

$$\tau = \frac{r}{L} (P_1 - P_2) \quad (2)$$

Trong đó: r - Bán kính thủy lực; L - Chiều dài ống; P₁ và P₂ áp suất tại hai đầu ống.

Trong trường hợp chế độ dòng chảy tầng thì τ được xác định theo công thức:

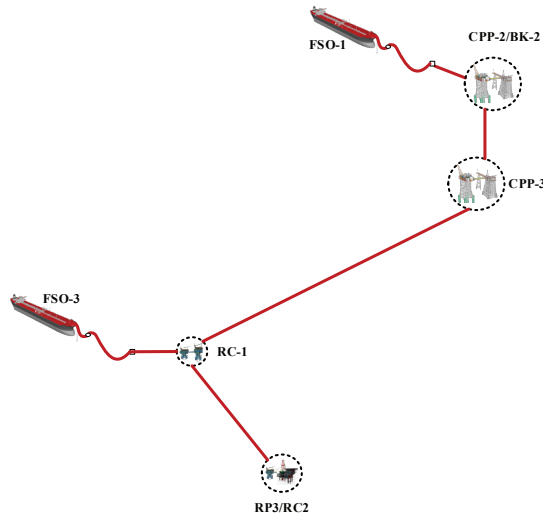
$$\tau = \frac{4\mu v}{r} \quad (3)$$

Trong đó: v là tốc độ trung bình của dòng chảy trong ống; μ là độ nhớt hiệu dụng của chất lỏng trong ống. Độ nhớt hiệu dụng của chất lỏng trong ống thay đổi theo chiều dài đường ống và rất khó xác định. Còn ứng suất trượt có thể xác định theo tổn hao thủy lực khi rửa ống.

Kết quả thực nghiệm

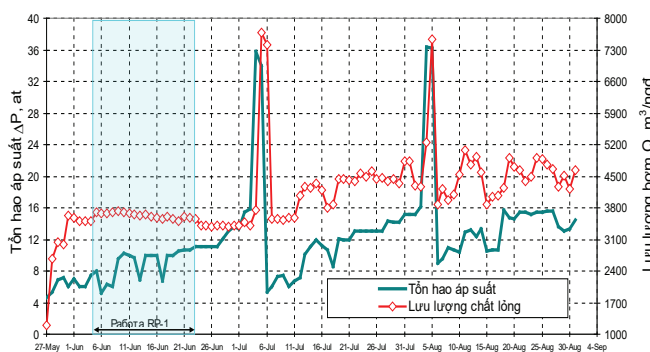
Giải pháp đã được áp dụng để bơm rửa vùng lắng đọng tuyến đường ống vận chuyển dầu RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2 kết nối mỏ Bạch Hổ và mỏ Rồng. Đây

là đường ống có nhiều phức tạp phát sinh khi vận chuyển sản phẩm do các nguyên nhân: Sản phẩm khai thác tại khu vực mỏ Rồng có độ nhớt lớn, nhiệt độ đông đặc cao (30°C), nhiệt độ chất lưu khoảng 50-55°C, khi vận chuyển đến điểm xử lý tiệm cận nhiệt độ đông đặc. Do đó nguy cơ tắc nghẽn đường ống là rất lớn.



Hình 1. Sơ đồ đường vận chuyển sản phẩm RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2.

Dầu vận chuyển theo đường ống RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2 có thông số làm việc của đường ống như hình 2.



Hình 2. Động thái làm việc của đường ống RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2.

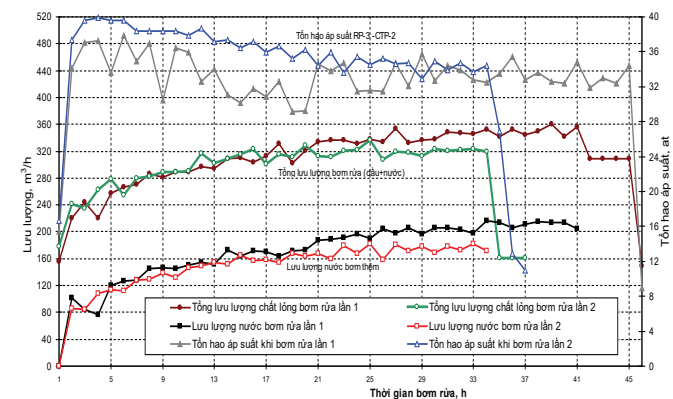
Sau một thời gian vận hành, tổn hao áp suất vận chuyển dầu trong đường ống đã tăng từ 5-6 at lên đến 10 at (tốc độ tăng áp suất khoảng 0,13-0,15 at/ngđ). Nguyên nhân tăng áp suất trong đường ống này là do tính chất lưu biến đặc thù của dầu và có sự lắng đọng paraffin mềm bên trong ống. Kết quả mô hình hóa tính toán tổn hao thủy lực [7] với lưu lượng bơm dầu giả định là 3150 m³/ngđ đã xác định lượng lắng đọng paraffin trong đường ống (bảng 1).

Nếu tổn hao áp suất khi vận chuyển dầu đạt tới 10 at, trong đường ống đã hình thành lớp lắng đọng dày tới 30 mm và lượng lắng đọng paraffin mềm đạt đến 1070 m³.

Bảng 1. Dự đoán lắng đọng paraffin mềm trong đường ống RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2.

Chiều dày lắng đọng (mm)	Tổn hao áp suất (at)	Thể tích lớp paraffin (m³)	Thể tích ống còn lại (m³)
0	4,6	0	3370
5	4,9	193	3170
10	5,4	380	2990
20	7,0	737	2633
30	9,8	1070	2300

Lớp lắng đọng paraffin đã được tẩy rửa bằng cách bơm thêm một lượng nước biển nhằm tăng vận tốc dòng chảy trong ống. Hình 3 cho thấy, sau khi bơm rửa bằng nước biển, áp suất vận chuyển dầu tại ống đứng giàn RP-3 đã giảm từ 37 at xuống 32 at, tổn hao áp suất trong đường ống đã trở lại gần như giá trị ban đầu, chứng tỏ phần lớn lượng paraffin “mềm” lắng đọng đã được đẩy khỏi đường ống. Bơm rửa nước biển vào đường ống vận chuyển thực hiện cách nhau hơn 30 ngày/lần được mô tả trong hình 3.



Hình 3. Các thông số bơm rửa đường ống RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2.

Kết quả tính toán và thực tế vận hành khi dùng nước biển rửa đường ống cho thấy hiệu quả rõ rệt. Khi bắt đầu bơm nước, áp suất tại ống đứng RP-3 đạt đến 37 at, tổng lưu lượng dầu và nước chỉ đạt khoảng 200÷230 m³/giờ. Sau 24 giờ bơm rửa, lưu lượng dầu và nước trong ống đã đạt mức 300÷320 m³/giờ, trong khi áp suất tại ống đứng RP-3 lại giảm từ 37 at xuống còn 32 at. Như vậy, việc định kỳ tẩy rửa lắng đọng paraffin bằng cách bơm thêm nước biển vào đường ống cho phép thực hiện liên tục và hiệu quả quá trình vận chuyển dầu từ mỏ Rồng sang mỏ Bạch Hổ.

Kết luận

Trên cơ sở các kết quả tính toán, thí nghiệm và thực tế vận hành đường ống vận chuyển dầu RP-3 → PLEM (FSO-3) → CPP-3 → CPP-2 có thể đưa ra một số nhận xét sau:

Khi bơm rửa đường ống bằng nước biển mà không dùng khai thác dầu trên mỏ Rồng với công suất cực đại của các máy bơm CNS-65/500 xảy ra quá trình tẩy rửa lớp lắng đọng mềm hình thành trong ống. Sau khi rửa, bề dày lớp lắng đọng mềm giảm đi khoảng 5 mm, tương đương 197 m³ chất lắng đọng mềm (dầu đông) bị đẩy ra khỏi đường ống;

Bơm định kỳ nước biển vào đường ống không tẩy rửa hoàn toàn được lớp lắng đọng hình thành bên trong đường ống. Hiệu quả bơm rửa phụ thuộc vào nhiệt độ nước biển trong thời gian rửa, tốc độ của chất lỏng và khoảng thời gian bơm rửa.

Trong quá trình vận chuyển dầu nhiều paraffin ở nhiệt độ thấp, lắng đọng mềm bên trong thành đường ống là không thể tránh khỏi. Rửa định kỳ đường ống bằng nước biển không thể tẩy toàn bộ các chất lắng đọng đó nhưng có thể duy trì được khả năng vận hành của đường ống và năng lực khai thác dầu trên mỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Từ Thành Nghĩa, Ngô Thường San, Nguyễn Văn Minh, Nguyễn Thúc Kháng, Phạm Xuân Sơn, Tống Cảnh Sơn, Phạm Bá Hiển, Nguyễn Hoài Vũ (2015), “Những khó khăn thách thức của Vietsovpetro trong vận chuyển dầu nhiều paraffin bằng đường ống ngầm ngoài khơi”, *Tạp chí Dầu khí*, **5**, tr.20-22.
- [2] Phung Dinh Thuc, Ha Van Bich, Tong Canh Son, Le Dinh Hoe (1999), *A New Approach to Study on Thixotropic Properties of wax Crude Oils From Dragon and White Tiger Fields Offshore Vietnam*, SPE-54374, pp.1-6.
- [3] Hà Văn Bích, Tống Cảnh Sơn và Lê Đình Hòe (2003), “Mô hình lắng đọng paraffin “mềm” trong đường ống vận chuyển dầu tại các mỏ của Xí nghiệp Liên doanh Vietsovpetro”, *Hội nghị Khoa học công nghệ: 25 năm Viện Dầu khí xây dựng và trưởng thành*, Hà Nội, tr. 510-521.
- [4] Phung Dinh Thuc, Ha Van Bich, Tong Canh Son, Le Dinh Hoe, V.P. Yugovskoi (2003), “The problem in transportation of high waxy crude oils through submarine pipelines at JV VSP oil fields, offshore Viet Nam”, *Journal of Canadian petroleum technology - Solutions for production optimization*, **42(6)**, pp.3-6.
- [5] V.P. Yugovskoi, Hà Văn Bích, Tống Cảnh Sơn, Lê Đình Hòe (1996), “Проблема транспорта бьюкозастыбающих нефтей по подводным трубопроводам”, *Нефтяное хозяйство*, **8**, pp.12-16.
- [6] Ф.И. Бадиков, Долгов, Hà Văn Bích, Tống Cảnh Sơn, Nguyễn Phan Phúc, V.P. Yugovskoi, Lê Đình Hòe (1997), “Проблема асфальтосмолпарафиновых отложений в трубопроводах при перекачке нефтей”, *Материалы III международной конференции по химии нефти*, 2-5 Декабря, Томск, Россия.
- [7] Nguyễn Hoài Vũ, Phan Đức Tuấn, Phạm Thành Vinh, Tống Cảnh Sơn (2016), “Ứng dụng mô hình mô phỏng để nghiên cứu đánh giá trạng thái hoạt động của đường ống vận chuyển dầu ở Liên doanh Việt - Nga Vietsovpetro”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **7**, tr.51-56.

Nghiên cứu một số tính chất của vật liệu polyme compozit PA11/bột tre có sử dụng chất tương hợp PVA

Nguyễn Vũ Giang*, Mai Đức Huynh, Trần Hữu Trung, Đỗ Quang Thắm

Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 1/6/2017; ngày chuyển phản biện 5/6/2017; ngày nhận phản biện 6/7/2017; ngày chấp nhận đăng 26/7/2017

Tóm tắt:

Vật liệu polyme compozit trên nền polyamit 11 (PA11) và bột tre (BT) được chế tạo bằng phương pháp trộn nóng chảy trên thiết bị trộn nội Haake. Để nâng cao khả năng kết dính giữa các thành phần compozit, polyvinyl ancol (PVA) với các hàm lượng khác nhau được đưa vào compozit theo 2 phương pháp: Phối trộn nóng chảy trực tiếp cùng với các thành phần compozit và xử lý bề mặt BT trong dung dịch có mặt PVA trước khi phối trộn nóng chảy. Khảo sát độ bền kéo của vật liệu compozit đối với 2 phương pháp chế tạo cho thấy, các mẫu compozit có BT được xử lý trước với PVA cho độ bền kéo cao hơn so với các mẫu phối trộn nóng chảy. Kết quả thu được tại tỷ lệ PA11/BT (60/40) có mặt 10%kl PVA chế tạo theo phương pháp này cho độ bền kéo đứt đạt giá trị cao nhất (41,5 MPa). Tại tỷ lệ này, độ giãn dài khi đứt của vật liệu cũng đạt giá trị cao nhất là 6,9%. Nhờ khả năng phân tán và kết dính của PVA với các thành phần compozit tốt, nên vật liệu compozit theo phương pháp này có độ ngấm nước trong 24 h thấp hơn so với phương pháp trộn nóng chảy trực tiếp. Kết quả này cũng phù hợp khi quan sát bề mặt phá vỡ cấu trúc của vật liệu bằng ảnh SEM.

Từ khóa: Bột tre, compozit nhựa gỗ, polyamit 11, PVA.

Chỉ số phân loại: 2.5

Mở đầu

Trong những năm gần đây, nhu cầu trang trí nội - ngoại thất liên quan đến vật liệu compozit nhựa gỗ trong kiến trúc và xây dựng ngày càng gia tăng nhờ khả năng tạo ra sự khác biệt và tính thẩm mỹ cao. Điều này có được là do vật liệu sở hữu các tính chất giống gỗ, thân thiện môi trường, khả năng định hình đa dạng, tuổi thọ cao... Làm nên các tính chất độc đáo của vật liệu compozit nhựa gỗ là sự kết hợp các ưu điểm của nhựa nền và các chất độn như: Bột gỗ, BT, các sợi thực vật tự nhiên và các sợi xenlulozo... Những loại sợi này đều có tính chất cơ học tốt và có tỷ khối thấp, do vậy chúng được cho là giải pháp “xanh” trong việc thay thế các sợi truyền thống như sợi thủy tinh, các chất độn vô cơ... [1, 2]. Trong các loại sợi thực vật, sợi tre thể hiện nhiều ưu điểm hơn cả nhờ tính chất cơ học cao và đa dạng, có thể cung cấp cho các ngành công nghiệp với số lượng lớn, giá thành rẻ [3].

PA11 là dòng nhựa polyme sinh học, bán tinh thể có nhiệt độ nóng chảy khoảng 190°C và có tính chất cơ học vượt trội so với một số nhựa nền phổ biến hiện nay như PP, PE hay PVC [4]. PA11 có độ phân cực tương đối cao nhờ nhóm amin và nhóm hydroxyl trong phân tử nên có thể tương hợp với BT để tạo thành vật liệu compozit có độ bền

cơ học cao [5, 6]. Tuy nhiên, vật liệu PA có nhược điểm là độ cứng lớn và khó gia công. Do vậy, một số nghiên cứu đã đề cập tới việc sử dụng chất tương hợp đóng vai trò hỗ trợ gia công cho PA11. Trong đó, PVA sở hữu mật độ nhóm hydroxyl cao, có tính linh động cao nên thích hợp làm chất tương hợp cho nền PA11 với BT. Tác giả Stoyko Fakirov [7] đã chế tạo thành công hỗn hợp PA và PVA với thành phần PVA có thể đạt tới 60% khối lượng. Tuy nhiên, các nghiên cứu sử dụng blend PA/PVA đóng vai trò làm nhựa nền cho vật liệu compozit còn nhiều hạn chế, chưa được đề cập. Do đó, việc nghiên cứu sử dụng PVA như một chất tương hợp cho vật liệu compozit PA11/BT sẽ nâng cao đáng kể khả năng tương tác và bám dính giữa nhựa nền và BT, làm cải thiện đáng kể tính chất cơ học. Điều này có được nhờ cấu trúc của PVA có mật độ nhóm hydroxyl cao nên dễ tương hợp với BT. Bên cạnh đó, các nhóm này cũng có thể kết hợp với nhóm hydroxyl hoặc amin trong PA11. Nhờ sự tương tác giữa các thành phần PA11, PVA và BT, vật liệu compozit này sẽ thể hiện được các tính chất cơ học nổi trội so với vật liệu compozit nhựa gỗ thông thường khác.

Do vậy trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn chế tạo vật liệu compozit trên nền PA11 và BT thân thiện với môi trường có sử dụng chất tương hợp PVA. Trên cơ

*Tác giả liên hệ: Email: vugiang.lit@gmail.com

A study on properties of PA11/bamboo flour composites using PVA compatibilizer

Vu Giang Nguyen*, Duc Huynh Mai,
Huu Trung Tran, Quang Tham Do

Institute for Tropical Technology, Vietnam Academy of Science
and Technology

Received 1 June 2017; accepted 26 July 2017

Abstract:

Polymer composites based on polyamide 11 (PA11) and bamboo flour (BF) were prepared by a melt mixing method on Haake equipment. In order to improve the adhesion between components of the composites, polyvinyl alcohol (PVA) at different concentrations was added into the composites by the two following methods: PVA, PA11, and BF were mixed together in the melting state (abbreviated as the melting method); and BF was treated by PVA in a ethanol solution before added into the composites (the modifying method). The result of tensile test showed that the tensile strength (TS) of composites produced by the modifying method is higher than that of other composites fabricated by the melting method. At the ratio of PA11/BF (60/40) and PVA concentration of 10 wt.%, the TS value reached the highest peak at 41.5 MPa. Besides, the elongation at break of the composites is 6.9%. The composites prepared by the modifying method had lower water uptake for 24 h than that of the melting method. It means that PVA played a more effective role in the modifying method in comparison with the melting method. The result was also relevant with the observation of the fracture surface of composites by SEM images.

Keywords: Bamboo flour, polyamide 11, PVA compatibilizer, wood plastic composite.

Classification number: 2.5

sở đánh giá mối tương quan giữa tính chất cơ học, độ hấp thụ nước và thành phần vật liệu (BT và PVA) để tìm ra tỷ lệ tối ưu trong việc chế tạo vật liệu compozit. Nghiên cứu này đã sử dụng một số phương pháp chế tạo khác nhau để tìm ra giải pháp tối ưu trong việc cải thiện tính chất của vật liệu.

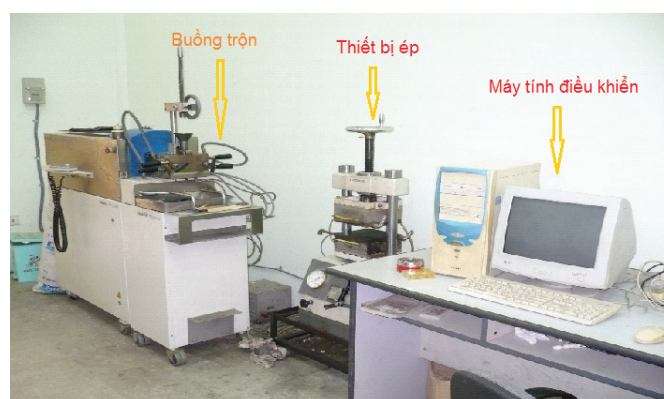
Thực nghiệm và các phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Nhựa PA11 (hãng Arkema, Pháp) nhiệt độ nóng chảy là 188°C, khối lượng riêng: 1,02 g/cm³. BT có kích thước lọt sàng 100 mesh (150 mm), khối lượng riêng 1,1 g/cm³, độ ẩm nhỏ hơn 8%, được cung cấp bởi Công ty TNHH chế biến gỗ VNDD Việt Nam. PVA của hãng Sigma-Aldrich (Mỹ), có trọng lượng phân tử từ 31.000 đến 50.000 đvC.

Chế tạo vật liệu compozit PA11/BT

Phương pháp trộn nóng chảy trực tiếp: Hỗn hợp PA11/BT (theo các tỷ lệ 70/30, 60/40, 50/50) và PVA (chiếm tổng khối lượng mẫu lần lượt là 5, 10, 15%) được cân chính xác và được tính toán để đảm bảo hệ số điền đầy của mẫu trong buồng trộn của thiết bị trộn nội Haake (hình 1) là 0,75. Mẫu compozit PA11/PVA/BT được gia công với chế độ như sau: 200°C; tốc độ trục quay 50 vòng/phút, với thời gian là 5 phút trên thiết bị trộn nóng chảy Haake. Sau đó, mẫu ở trạng thái nóng chảy được lấy ra chuyển sang máy ép thủy lực TOKYOSEIKY ép thành dạng tấm phẳng với nhiệt độ ép 220°C và lực ép 20 MPa. Các mẫu được làm nguội ở nhiệt độ phòng và để ổn định ít nhất 1 ngày trước khi khảo sát tính chất của vật liệu.



Hình 1. Máy trộn nội Haake.

Phương pháp biến tính: Ban đầu, cân một lượng PVA chính xác hòa tan trong 200 ml nước cất có hỗ trợ khuấy từ trong 1 h ở 70°C, tốc độ 500 vòng/phút. BT được phân tán vào dung dịch trên (để đảm bảo hàm lượng PVA chiếm 5, 10, 15%kl của mẫu compozit) khuấy từ tiếp tục trong

45 phút đến khi tạo thành hỗn hợp đều của BT và PVA. Hỗn hợp thu được đem sấy đến khi loại bỏ hết nước để thu được hỗn hợp BT và PVA.

Tiếp theo, hỗn hợp PA và BT được biến tính bởi PVA (được tính toán theo đúng tỷ lệ phương pháp trộn nóng chảy) được trộn nóng chảy trên thiết bị trộn nội Haake với điều kiện gia công tương tự như phương pháp trộn trực tiếp.

Phương pháp nghiên cứu

Các tính chất cơ học như độ bền kéo đứt, độ dẫn dài khi đứt được xác định bằng máy kéo đứt đa năng Zwick Z2.5 (CHLB Đức) theo tiêu chuẩn ASTM D638, tốc độ kéo 5 mm/phút ở nhiệt độ phòng. Mỗi loại mẫu được đo 3 lần để lấy giá trị trung bình.

Hình thái cấu trúc bề mặt vật liệu compozit nhựa gỗ được xác định trên kính hiển vi điện tử phát xạ trường (FESEM) S-4800 của hãng Hitachi (Nhật Bản), với độ phóng đại có thể lên tới 500.000 lần, tại Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

Độ ngấm nước được xác định theo tiêu chuẩn ASTM D570, mẫu được ngâm trong nước với thời gian là 24 h. Sau đó mẫu được lấy ra, lau khô và xác định khối lượng. Hàm lượng nước hấp thụ của vật liệu (%kl) được tính toán theo công thức: $m\% = 100 \cdot (m_n - m_0) / m_0$ (%). Trong đó: m_0 , m_n là khối lượng mẫu ban đầu và sau khi ngâm.

Kết quả và thảo luận

Độ bền kéo của vật liệu compozit PA/PVA/BT

Độ bền kéo đứt (R_b): Độ bền kéo đứt của các mẫu compozit PA11/BT có và không có PVA được trình bày ở bảng 1. Mẫu PA11 ban đầu có độ bền kéo đứt là 37,5 MPa. Khi phối trộn với BT, giá trị độ bền kéo đứt giảm nhẹ. Với hàm lượng BT đưa vào là 30%, độ bền kéo đứt ban đầu là 35,6 MPa, khi tăng hàm lượng lên 40% thì độ bền kéo đứt tăng lên 39,1 MPa. Tuy vậy, khi tiếp tục tăng lượng BT lên 50% thì độ bền kéo đứt lại bị giảm. Điều đó cho thấy hàm lượng 40%kl BT đạt trạng thái phân tán tốt nhất. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu trước, khi sử dụng BT biến tính bởi TEOS gia cường đã cải thiện đáng kể độ bền kéo cho nền PA11 [8]. Khi sử dụng chất tương hợp PVA, độ bền kéo đứt của các mẫu compozit tăng dần và đạt giá trị lớn nhất tại 10%kl PVA. Điều này chứng tỏ PVA có khả năng cải thiện sự phân tán BT trên nền PA11, góp phần làm tăng độ bền kéo. Khi hàm lượng PVA vượt quá 10%, PVA làm tăng sự phân tách pha của vật liệu và làm giảm kết dính của PA với BT của vật liệu. Điều này dẫn đến độ bền kéo đứt giảm nhanh ngay cả khi sử dụng PVA cho cả 2 phương pháp biến tính hoặc trộn nóng chảy.

Bảng 1. Độ bền kéo đứt (MPa).

Tỷ lệ khối lượng PA/BT	0%kl PVA	5%kl PVA		10%kl PVA		15%kl PVA	
	Trộn nóng chảy trực tiếp	Trộn nóng chảy trực tiếp	Phương pháp biến tính	Trộn nóng chảy trực tiếp	Phương pháp biến tính	Trộn nóng chảy trực tiếp	Phương pháp biến tính
70/30	35,6	35,8	36,1	36,3	37,7	34,7	34,9
60/40	39,1	39,6	40,5	40,6	41,5	39,9	40,8
50/50	36,5	37,4	37,6	38,2	39,6	37,3	37,5

So sánh giữa phương pháp trộn nóng chảy trực tiếp và phương pháp biến tính (như đã mô tả trong phần thực nghiệm), độ bền kéo đứt của các mẫu compozit sử dụng BT biến tính cao hơn. Đặc biệt, tại tỷ lệ PA/BT (60/40) có biến tính bởi 10%kl PVA, độ bền kéo đứt đạt giá trị lớn nhất là 41,5 Mpa, cao hơn so với mẫu trộn nóng chảy trực tiếp (40,6 MPa). Sự gia tăng này được hiểu là do trong dung dịch khả năng phân tán và bám dính của PVA lên BT đều hơn so với phương pháp nóng chảy. Do vậy hiệu quả gia cường cho BT tốt hơn so với phương pháp trộn nóng chảy.

Độ dẫn dài khi đứt (R_m): Kết quả thí nghiệm về độ dẫn dài khi đứt của vật liệu compozit được trình bày ở bảng 2. Từ số liệu thu được cho thấy, khi tăng hàm lượng BT độ dẫn dài khi đứt giảm dần. Mẫu PA11 có độ dẫn dài khi đứt là 35,9%. Khi hàm lượng BT là 50%kl, giá trị này còn 5,2%. Sự suy giảm độ bền kéo đứt là do tính đồng nhất của nhựa nền giảm khi có mặt BT. Tuy nhiên, độ dẫn dài khi đứt có sự gia tăng nhẹ khi xuất hiện PVA. Các mẫu sử dụng BT biến tính có độ dẫn dài khi đứt cao hơn so với mẫu chế tạo bằng phương pháp trực tiếp. Tương tự như với độ bền kéo đứt, mẫu sử dụng 10%kl PVA tại tỷ lệ PA/BT (60/40) có độ dẫn dài khi đứt đạt kết quả cao nhất là 6,9%. Kết quả này phản ánh khả năng phân tán và kết dính của chất độn trong nền PA dưới sự hỗ trợ của PVA tạo ra vật liệu compozit có tính đồng nhất cao hơn so với mẫu trộn nóng chảy trực tiếp và mẫu không sử dụng PVA.

Bảng 2. Độ dẫn dài khi đứt (%).

Tỷ lệ PA/ BT	0%kl PVA	5%kl PVA		10%kl PVA		15%kl PVA	
	Trộn nóng chảy trực tiếp	Trộn nóng chảy trực tiếp	Phương pháp biến tính	Trộn nóng chảy trực tiếp	Phương pháp biến tính	Trộn nóng chảy trực tiếp	Phương pháp biến tính
70/30	5,8	6,2	6,6	6,8	6,9	6,3	6,4
60/40	5,6	6,0	6,4	6,5	6,9	6,2	6,3
50/50	5,2	5,4	6,4	6,4	6,5	6,1	6,2

Độ ngấm nước

Do bản chất của PA và BT đều có tính phân cực, nên khả năng ngấm nước của vật liệu compozit này cao hơn so với nhựa nhiệt dẻo thông thường. Kết quả khảo sát khả năng ngấm nước của vật liệu polymer compozit PA11/BT trong 24 h được chỉ ra trong bảng 3.

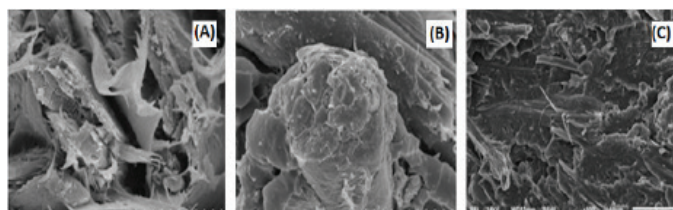
Bảng 3. Độ ngấm nước (%kl) trong 24 h của vật liệu polyme compozit PA11/BT được chế tạo theo 2 phương pháp khác nhau.

Tỷ lệ PA/BT	Phương pháp trực tiếp				Phương pháp biến tính			
	0%kl PVA	5%kl PVA	10%kl PVA	15%kl PVA	0%kl PVA	5%kl PVA	10%kl PVA	15%kl PVA
70/30	1,43	1,55	1,61	1,65	1,43	1,50	1,56	1,60
60/40	2,32	2,43	2,84	2,93	2,32	2,38	2,80	2,85
50/50	2,63	2,51	2,58	3,01	2,63	2,42	2,82	2,95

Kết quả cho thấy, khả năng hấp thụ nước của vật liệu polymer compozit tăng theo hàm lượng BT và theo thời gian. Tại 24 h đầu tiên, mẫu compozit PA/BT (70/30) có hàm lượng nước là 1,43%, giá trị này tăng lên 2,63% khi tỷ lệ PA/BT là 50%kl. Điều này là do BT có nhiều mao quản rỗng nên nước dễ dàng xâm nhập vào trong vật liệu. Đối với các mẫu phối trộn nóng chảy trực tiếp có mặt PVA, hàm lượng nước bị hấp thụ có xu hướng tăng nhẹ theo hàm lượng PVA và đạt giá trị lớn nhất tại hàm lượng PVA là 15%kl. Ví dụ, tại tỷ lệ PA/BT là 60/40, mẫu compozit không sử dụng PVA có hàm lượng nước hấp thụ là 2,32%, giá trị này tăng dần từ 2,43% lên tới 2,93% tương ứng với hàm lượng PVA từ 5%kl lên 15%kl. Các mẫu compozit sử dụng phương pháp biến tính BT cũng cho thấy hàm lượng nước hấp thụ có xu hướng tương tự. Tuy vậy, các giá trị này nhỏ hơn so với phương pháp trộn nóng chảy trực tiếp, điều này là nhờ khả năng phân tán đều của BT đã xử lý trong nền PA11.

Hình thái cấu trúc của mẫu PA/BT

Hình thái cấu trúc của bề mặt mẫu sau phá vỡ được khảo sát bằng phương pháp FESEM được giới thiệu trên hình 2(A) bộc lộ sự kết dính giữa BT và nhựa nền kém, trên bề mặt xuất hiện nhiều vết nứt và lỗ trống, bên cạnh đó trên bề mặt phân tách pha giữa chất độn và nền là khá rõ. Do đó các ứng suất tập trung tại các khuyết tật gây ra sự suy giảm tính chất cơ học của mẫu compozit PA/BT.



Hình 2. Ảnh cấu trúc bề mặt của các mẫu: (A). Compozit PA/BT, (B). PA/PVA/BT, (C). PA/BT biến tính PVA.

Từ hình 2(B) có thể thấy, khi có mặt PVA, tương tác của BT với nhựa nền PA được cải thiện, giới hạn pha trở nên không rõ ràng. Điều này là nhờ PVA có khả năng tương thích với nhựa nền PA và BT tốt, cải thiện khả năng kết dính giữa các cấu phần của vật liệu. Sau khi compozit bị phá vỡ bởi lực tác động mạnh, các lớp nhựa PA11 vẫn bao phủ xung quanh sợi gỗ.

Việc xử lý BT bởi PVA trong dung dịch dẫn tới bề mặt BT đã được bao phủ một lớp PVA. Các lớp này đã cải thiện đáng kể khả năng kết dính giữa các thành phần. Tại bề mặt pha cho thấy, có sự đồng nhất pha giữa pha nền và BT như trên hình 2(C). Điều này giải thích tại sao các tính chất của các mẫu compozit PA/BT biến tính cao hơn so với các mẫu còn lại và độ ngấm nước của mẫu giảm.

Kết luận

Từ kết quả thu được cho thấy, các mẫu compozit được chế tạo từ BT biến tính PVA trong dung dịch có độ bền kéo và độ dẫn dài khi đứt cao hơn so với các mẫu compozit sử dụng phương pháp phối trộn nóng chảy trực tiếp và đạt giá trị lớn nhất là 41,5 MPa và 6,9% tại tỷ lệ PA11/BT 60/40 sử dụng 10%kl PVA. Độ ngấm nước của vật liệu compozit tăng khi sử dụng PVA, tuy nhiên điều này cũng được hạn chế một phần nhờ phương pháp xử lý bề mặt BT với PVA trước khi trộn nóng chảy với PVA. Nghiên cứu cấu trúc bề mặt của vật liệu compozit bằng phương pháp SEM đã chỉ ra, nhờ có mặt PVA đã cải thiện khả năng tương hợp giữa PA11 với BT. Điều này giải thích cho sự gia tăng giá trị độ bền kéo, độ giãn dài khi đứt và hạn chế sự hấp thụ nước vào trong mẫu. Hiệu quả này còn được thể hiện rõ hơn khi sử dụng phương pháp biến tính BT với PVA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dagang Liu, Jianwei Song, P. Debbie Anderson, R. Peter Chang, Yan Hua (2012), "Bamboo fiber and its reinforced composites: Structure and properties", *Cellulose*, **19**, pp.1449-1480.
- [2] B.D. Agarwal, L.J. Broutman, K. Chandrashekhara (2006), "Analysis and performance of fiber composites", *Analysis and Performance of Fiber Composites*, Wiley, New York.
- [3] Nguyễn Hoàng Nghĩa (2005), *Tre trúc Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [4] Malte Winnacker, Bernhard Rieger (2016), "Biobased Polyamides: Recent Advances in Basic and Applied Research", *Macromol. Rapid Commun.*, DOI:10.1002/marc.201600181.
- [5] Patrick Zierdt, Torsten Theumer, Gaurav Kulkarni, Veronika Däumlich, Jessica Klehm, Ulrike Hirsch, Andreas Weber (2015), "Sustainable wood-plastic composites from bio-based polyamide 11 and chemically modified beechfibers", *Sustainable Materials and Technologies*, **6**, pp.6-14.
- [6] Geoffrey Haddou, Jany Dandurand, Eric Dantras, Huynh Mai Duc, Hoang Thai, Nguyen Vu Giang, Tran Huu Trung, Philippe Pontains, Colette Lacabanne (2017), "Physical structure and mechanical properties of polyamide/bamboo composites", *J. Therm. Anal. Calorim.*, pp.1-7.
- [7] Stoyko Fakirov (2015), "Biodegradable Polyesters", *John Wiley & Sons, Technology & Engineering*.
- [8] Mai Duc Huynh, Tran Huu Trung, Tran Thi Mai, Nguyen Thi Thu Trang, Nguyen Thuy Chinh, Do Van Cong, Vu Manh Tuan, Doan Thanh Ngoc, Thai Hoang, Nguyễn Vũ Giang (2016), "Effect of bamboo flour content on the mechanical properties, thermal stability and morphology of polyamide11/bamboo flour composites", *Tạp chí Hoá học*, **54(6E1)**, tr.249.

Nghiên cứu sử dụng carbon nanotube tăng cường tính chất cơ lý cho cao su mặt lốp xe máy trong hệ cao su thiên nhiên và cao su tổng hợp styrene-butadien

Nguyễn Trần Hà¹, Nguyễn Thị Minh Nguyệt¹,
Vương Vĩnh Đạt^{1,2}, Lê Văn Thắng^{1*}

¹Phòng thí nghiệm trọng điểm Đại học Quốc gia về công nghệ vật liệu, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

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

Ngày nhận bài 10/7/2017; ngày chuyển phản biện 12/7/2017; ngày nhận phản biện 8/8/2017; ngày chấp nhận đăng 18/8/2017

Tóm tắt:

Nghiên cứu này khảo sát hàm lượng độn tăng cường carbon nanotubes (CNTs) từ 0 đến 5% khối lượng vào hỗn hợp cao su thiên nhiên và tổng hợp styrene-butadien được làm cao su mặt lốp xe máy đến tính chất cơ lý của vật liệu cao su. Kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng, khi thêm chất độn CNTs thì thời gian lưu hóa tối ưu T_{90} giảm, tốc độ lưu hóa tăng và các tính chất cơ lý như độ cứng, độ bền kéo đứt, độ bền xé, độ bền uốn gập, khả năng kháng mài mòn tăng hiệu quả. Ngoài ra, hình thái học của vật liệu nanocomposite trên cơ sở cao su/CNTs đã được quan sát hình thái học qua phương pháp SEM và TEM. Các tính chất nhiệt của vật liệu nanocomposite cũng được khảo sát bằng giản đồ phân tích nhiệt khối lượng (TGA). Các kết quả thu được cho thấy, vật liệu nanocomposite cao su/CNTs với khả năng phân tán tốt CNTs sẽ là vật liệu tiềm năng cho việc ứng dụng trong công nghiệp sản xuất các sản phẩm lốp xe có tuổi thọ cao.

Từ khóa: Cao su styrene-butadien, cao su thiên nhiên, nano composite, NR/SBR blends, ống cacbon nano.

Chỉ số phân loại: 2.5

Đặt vấn đề

Việc pha trộn cao su tự nhiên với cao su tổng hợp có tầm quan trọng về mặt thương mại và kỹ thuật vì có nhiều ưu điểm, tạo khả năng phối hợp các tính chất mà một loại cao su không thể đạt được [1-7]. Trong các loại hỗn hợp cao su, cao su tự nhiên (NR) và cao su tổng hợp styrene-butadien (SBR) được sử dụng nhiều trong công nghiệp sản xuất lốp xe do có độ bền kéo, độ bền xé, tính bền nhiệt và khả năng chống mài mòn cao [5]. Bên cạnh đó, các tính chất cơ lý của hỗn hợp cao su được tăng cường bằng cách sử dụng chất độn khác nhau. Than đen được sử dụng nhiều trong công thức phối trộn cao su vì giá thành thấp, tính chất cơ lý tốt. Hiện nay xu hướng nghiên cứu sử dụng chất độn nano với hàm lượng thấp trong cao su nhằm tăng cường tính chất cơ lý của sản phẩm đang được quan tâm [8-10]. Trong các chất độn nano hiện nay, carbon nanotubes (CNTs) đang được quan tâm nhiều bởi có nhiều tính chất vượt trội khi được đưa vào cao su chỉ với hàm lượng thấp.

Trên thế giới, nhiều nghiên cứu nhằm tìm ra phương pháp tăng cường khả năng phân tán CNTs vào hỗn hợp cao su đã được thực hiện. X. Zhou và các cộng sự nghiên cứu việc đưa CNTs vào hỗn hợp SBR (SBR/CNTs) bằng phương pháp ép nóng để so sánh với mẫu latex SBR/than

đen, kết quả cho thấy SBR/CNTs có tính chất cơ lý cao hơn và cải thiện đáng kể tính chất gia công của SBR [11]. Năm 2008, A. Das cũng đã công bố ảnh hưởng của hàm lượng CNTs từ 0-10% trong hỗn hợp 50:50 SBR và cao su butadiene (BR) đến tính chất điện, nhiệt của nó. Kết quả cho thấy CNTs với hàm lượng 3-5% trong hỗn hợp SBR/BR cho sản phẩm có tính chất cơ lý tốt, đặc biệt ở hàm lượng 5% có tính chất cơ lý tốt nhất và đáp ứng được yêu cầu gia công [12]. Năm 2006, K. Kueseng cùng cộng sự đã công bố phương pháp đưa CNTs vào hỗn hợp cao su nitrile để tăng cường cơ tính của sản phẩm và tính kháng trương trong dung môi của cao su [10].

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của hàm lượng chất độn CNTs trong hỗn hợp NR/SBR (w/w: 70/30) đến khả năng kháng mài mòn và các tính chất cơ lý hướng tới ứng dụng vào các sản phẩm cao su kỹ thuật lốp ô tô, xe máy.

Vật liệu và phương pháp

Vật liệu

Cao su thiên nhiên (SVR3L), SBR 1502 với hàm lượng 25% styrene, được cung cấp lần lượt bởi Công ty Cao su Việt Nam, Kumho Petrochemical (Hàn Quốc). CNTs (NanocylTM NC7000) được cung cấp từ Nanocyl

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

Investigation of carbon nanotubes as fillers to enhance the mechanical properties of motorbike tire rubber based on natural rubber and synthetic styrene-butadiene rubber

Tran Ha Nguyen¹, Thi Minh Nguyet Nguyen¹,
Vinh Dat Vuong^{1,2}, Van Thang Le^{1*}

¹Material Technologies Laboratory, Ho Chi Minh City University of Technology

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology

Received 10 July 2017; accepted 18 August 2017

Abstract:

In this research, we investigated the carbon nanotubes (CNTs) as reinforced fillers with the concentration of 0-5% into the mixture of natural rubber (NR) and synthetic styrene-butadiene rubber (SBR) for motorbike tires. The research exhibited that when we increase the CNTs content in the rubber mixture, the optimal rubber vulcanization time (T_{c90}) has been decreased from 4.28 min to 2.83 min, which increases the rate of vulcanization about 28-34%. The physical properties of the rubber mixture after vulcanization including shore A, tear load, and tensile strength have been improved, especially abrasion resistance testing increased by 31%. Besides, the morphologies of the resulting rubber nanocomposites were determined via SEM and TEM. The thermal properties of the resulting rubber nanocomposites were investigated via thermal gravimetric analysis (TGA). Based on our results, the nanocomposites based on rubber/CNTs with the well-dispersed CNTs in the matrix will be potential materials for long-life rubber tires.

Keywords: Carbon nanotubes, nanocomposite, natural rubber, NR/SBR blends, styrene-butadiene rubber.

Classification number: 2.5

S.A. In. có hàm lượng carbon 90%, đường kính CNTs ~ 9,5 nm, chiều dài sợi CNTs ~ 1,5 μ m và diện tích bề mặt riêng (BET) 250-300 m²/g. Than đen N330 được cung cấp từ OCI Company Ltd, kích thước hạt khoảng 26-30 nm, diện tích bề mặt riêng (BET) là 75-105 m²/g. Chất trợ xúc tiến ZnO, axit stearic, chất chống lão hóa 2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (RD-TMQ), chất hóa dẻo dioctyl phthalat (DOP) và parafin, chất trợ phân tán polyethylene glycol 4000 (PEG 4000), chất xúc tiến

diphenyl guanidine (DPG), xúc tiến n-cyclohexyl-2-benzothiazole sulfenamide (CBS), xúc tiến tetramethyl thiuram disulphide (TMTD) và lưu huỳnh S8, các dung môi hữu cơ được cung cấp từ hãng Rubber Malaysia.

Phương pháp

Chuẩn bị hỗn hợp CNTs/NR: Cho PEG vào ethanol khuấy trộn trong 30 phút, tốc độ 1.000 vòng/phút, tiếp đó CNTs được phân tán vào trong PEG và ethanol theo tỷ lệ khối lượng 1:10. Tiếp theo hỗn hợp CNTs/PEG được cho vào máy siêu âm trong 2,5 giờ ở nhiệt độ phòng. Tiếp đó, hỗn hợp được cán trộn với NR trên máy cán hai trục ở nhiệt độ 80°C trong 10 phút.

Chuẩn bị hỗn hợp cao su thử nghiệm: Hỗn hợp CNTs/NR tiếp tục được cán luyện trên máy cán hai trục với SBR và các hóa chất theo thứ tự ZnO, acid stearic, chất chống lão hóa nhiệt RD, chất độn than đen N330, dầu parafin, dầu DOP và hệ lưu hóa CBS, DPG, TMTD, lưu huỳnh theo tỷ lệ như đơn pha chế ở bảng 1, thời gian cán luyện là 20 phút, ở nhiệt độ 80°C. Sau đó hỗn hợp được giữ ổn định trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng. Đường cong lưu hóa của hỗn hợp cao su được xác định ở nhiệt độ 150°C dựa trên tiêu chuẩn ASTM D2084:2004. Các mẫu thử nghiệm được lưu hóa ở nhiệt độ 150°C theo thời gian tối ưu T_{c90} và mẫu được lưu trữ ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ trước khi kiểm tra các tính chất cơ lý.

Bảng 1. Thành phần đơn pha chế của CNTs/NR/SBR.

Thành phần đơn pha chế	1	2	3
SVR 3L	70	70	70
SBR 1502	30	30	30
CNTs	—	3	5
Acid stearic	2	2	2
Phòng lão RD	1,5	1,5	1,5
ZnO	5	5	5
Chất độn than đen N330	40-45	40	40
Chất trợ phân tán PEG 4000	0,75	0,75	0,75
Dầu hóa dẻo parafin	5	5	5
Dầu hóa dẻo DOP	1,6	1,6	1,6
Chất xúc tiến CBS	0,5	0,5	0,5
Chất xúc tiến DPG	0,25	0,25	0,25
Chất xúc tiến TMTD	0,25	0,25	0,25
Lưu huỳnh S8	2	2	2

Phương pháp kiểm tra các tính chất cơ lý của hỗn hợp nanocomposite cao su/CNTs

Đường cong lưu hóa cao su dựa trên tiêu chuẩn ASTM D2084:2004 được xác định bằng máy lưu biến kế đĩa nón

Rheometer. Độ cứng Shore A được xác định theo tiêu chuẩn ASTM D2240:2004, độ bền kéo đứt và độ bền xé của sản phẩm cao su được xác định lần lượt theo tiêu chuẩn ASTM D412:2004 mẫu loại C và ASTM D624:2004 với tốc độ kéo 500 mm/phút. Độ kháng nứt và sự phát triển vết nứt của mẫu cao su được xác định theo tiêu chuẩn ASTM D430:2004 với vận tốc 300 chu kỳ/phút. Tỷ trọng và độ mài mòn của hỗn hợp cao su được xác định theo tiêu chuẩn ASTM D297:2004 và ASTM D5963:2004.

Kết quả và bàn luận

Xác định thông số quá trình lưu hóa

Các thông số đặc trưng của quá trình lưu hóa cao su như thời gian bắt đầu lưu hóa T_{s2} (scorch time), thời gian lưu hóa tối ưu T_{c90} (optimum cure time), lực xoắn cực đại M_H (maximum torque), lực xoắn cực tiểu M_L (minimum torque) và tốc độ lưu hóa CRI (cure rate index: $100/(T_{c90} - T_{s2})$) với hàm lượng CNTs khác nhau trong hỗn hợp NR/SBR được xác định bởi máy Rheometer ở 150°C (bảng 2).

Bảng 2. Ảnh hưởng hàm lượng CNTs đến tính chất lưu hóa hỗn hợp NR/SBR.

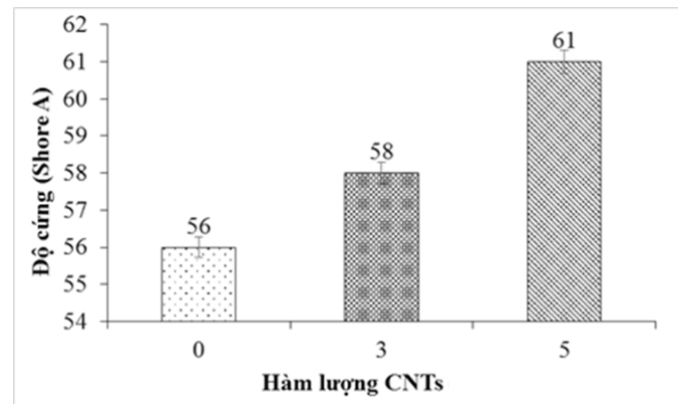
Hàm lượng CNTs (%)	0	3	5
T_{s2} (phút)	2,12	1,65	1,47
T_{c90} (phút)	4,28	3,08	2,83
M_H (Nm)	25,05	26,66	27,62
M_L (Nm)	1,78	2,22	1,51
$M_H - M_L$ (Nm)	23,27	24,44	26,11
CRI	46,30	69,93	73,53

Kết quả cho thấy thời gian bắt đầu lưu hóa T_{s2} và thời gian lưu hóa tối ưu T_{c90} giảm dần khi lượng CNTs tăng dần từ 0-5% khối lượng. Bên cạnh đó, lực xoắn cực đại M_H , hiệu số $M_H - M_L$ và tốc độ lưu hóa của hỗn hợp cao su cùng tăng khi lượng CNTs tăng dần. Điều này có thể giải thích bởi sự gia tăng hàm lượng CNTs, được xử lý với ethanol bằng rung siêu âm, làm tăng sự phân bố và phân tán của CNTs vào các mạch cao su, kết quả là hỗ trợ tăng cường tính chất cơ lý của cao su. Hơn nữa, trong cấu trúc sợi và bề mặt của CNTs luôn tồn tại các liên kết đôi không bão hòa và các nhóm chức hóa học ($-\text{COOH}$, $-\text{CHO}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$...), vì vậy trong quá trình lưu hóa các liên kết đôi này và các nhóm cùng tham gia vào phản ứng tạo liên kết nối mạng làm tăng cường mật độ nối mạng trong hỗn hợp cao su. Dựa vào các kết quả trên, chúng tôi sử dụng các thông số gia công với thời gian lưu hóa là 2,83 phút cho mẫu chứa 5% CNTs và 3,08 phút cho mẫu 3% CNTs, cho

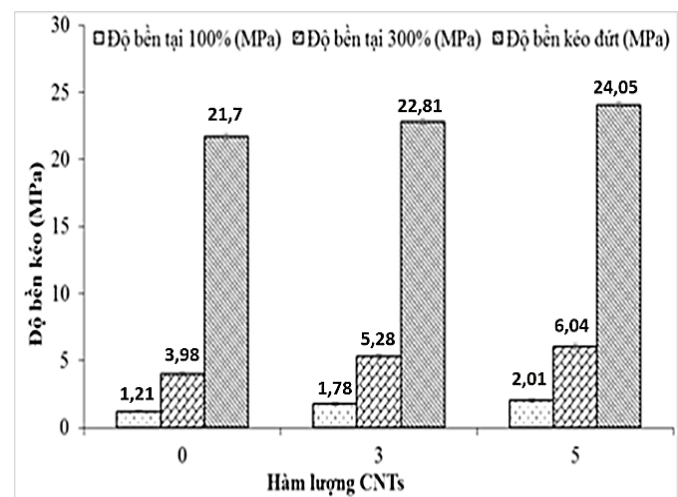
việc chuẩn bị mẫu đánh giá các bước khảo sát tiếp theo.

Các tính chất cơ lý

Kết quả đạt được về độ cứng, độ bền dãn dài tại 100%, 300% và độ bền kéo đứt được trình bày ở hình 1 và hình 2. Kết quả cho thấy các tính chất trên đều tăng dần khi tăng hàm lượng CNTs từ 0% lên 5%.

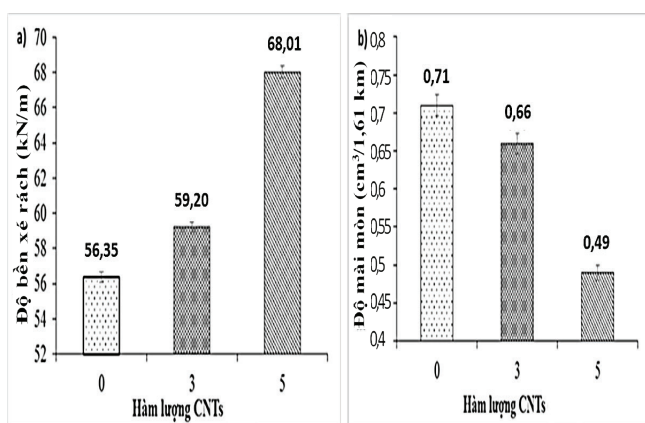


Hình 1. Ảnh hưởng hàm lượng CNTs đến độ cứng.



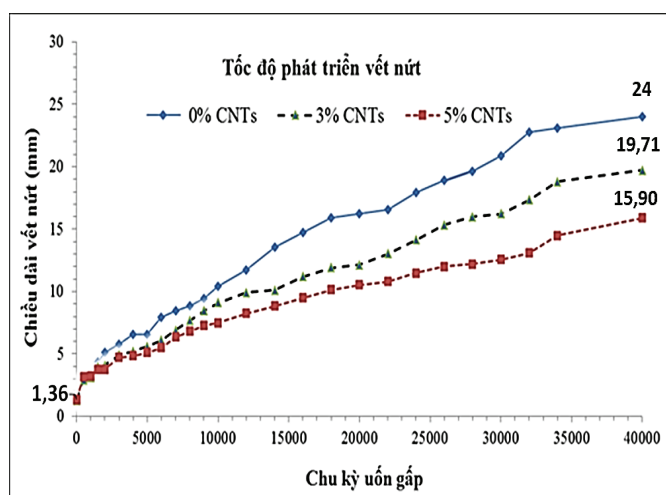
Hình 2. Ảnh hưởng hàm lượng CNTs đến độ bền kéo 100%, 300% và độ bền kéo đứt.

Bên cạnh đó, độ bền xé cũng tăng đáng kể (tăng 20,7%) khi tăng hàm lượng CNTs lên 5%, được trình bày trên hình 3(a). Ảnh hưởng của hàm lượng CNTs đến khả năng kháng mài mòn được thể hiện ở hình 3(b), kết quả cho thấy độ mài mòn giảm nhiều (31%) khi tăng hàm lượng CNTs lên 5%, cụ thể là ở hàm lượng 5% CNTs thì độ mài mòn chỉ mất $0,49 \text{ cm}^3$ khi thử nghiệm 1,61 km. Kết quả này được giải thích là khi tăng lượng CNTs trong hỗn hợp NR/SBR tạo ra hỗn hợp nanocomposite có mật độ lưu hóa cao, gia tăng sự liên kết giữa mạch cao su và chất độn tăng cường (CNTs và than đen), điều này làm tăng khả năng kháng mài mòn của hỗn hợp cao su nanocomposite.



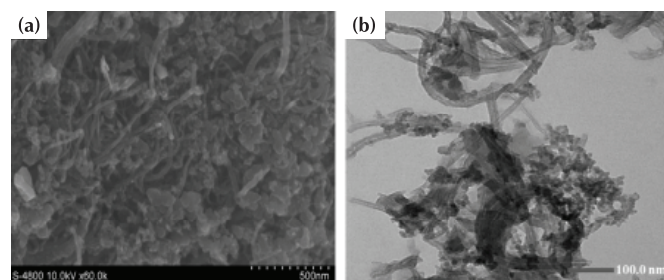
Hình 3. Ảnh hưởng hàm lượng CNTs đến độ bền xé rách (a), độ mài mòn (b).

Thông số độ bền uốn gấp bao gồm vết nứt xuất hiện đầu tiên và tốc độ phát triển vết nứt là các thông số cơ tính quan trọng đối với sản phẩm cao su. Các mẫu được thực hiện trong cùng 40.000 chu kỳ uốn gấp theo tiêu chuẩn ASTM được trình bày ở hình 4. Kết quả cho thấy vết nứt đầu tiên xuất hiện ở 10.000 chu kỳ uốn gấp trong mẫu chứa 3% CNTs, trong khi mẫu không có CNTs vết nứt xuất hiện ở 8.000 chu kỳ uốn gấp, và khi tăng hàm lượng CNTs lên 5% thì vết nứt đầu tiên xuất hiện ở 16.000 chu kỳ. Bên cạnh đó, tốc độ phát triển vết nứt giảm dần khi tăng hàm lượng CNTs. Với mẫu không có CNTs thì vết nứt tăng nhanh từ 1,36 lên 24 mm (chiều rộng tối đa của mẫu uốn gấp), còn mẫu với 3% CNTs thì tốc độ phát triển chậm hơn, từ 1,36 lên 19,71 mm, trong khi đó với mẫu 5% CNTs thì tốc độ phát triển vết nứt chỉ tăng từ 1,36 lên 15,90 mm. Như vậy, khi sử dụng CNTs trong hỗn hợp NR/SBR giúp tăng cường đáng kể tính chất cơ lý của vật liệu.



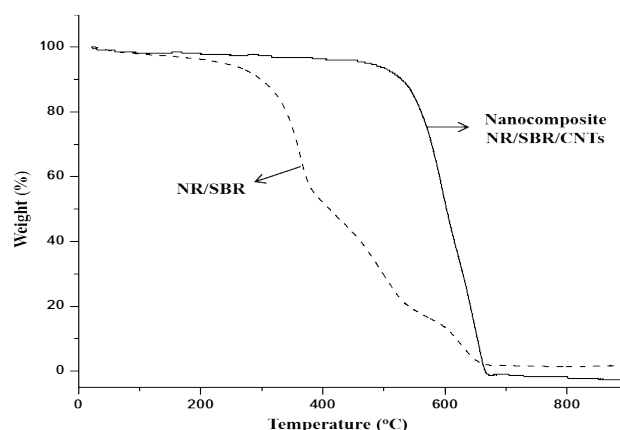
Hình 4. Ảnh hưởng hàm lượng CNTs đến tốc độ phát triển vết nứt.

Hình thái học của hỗn hợp nanocomposite NR/SBR/CNTs được khảo sát bằng phương pháp chụp SEM và TEM. Kết quả quan sát bằng SEM của mẫu nanocomposite NR/SBR/CNTs cho thấy mức độ phân tán đồng đều của CNTs và than đen trong hỗn hợp cao su. Bên cạnh đó, hình ảnh TEM (hình 5b) của mẫu nanocomposite cũng thể hiện rõ sự phân tán của CNTs trong hỗn hợp và cấu trúc của CNTs vẫn duy trì dạng sợi, không bị phá hủy trong quá trình chế tạo mẫu cao su.



Hình 5. Hình ảnh SEM (a) và TEM (b) của nanocomposite NR/SBR/CNTs.

Khả năng bền nhiệt của vật liệu nanocomposite NR/SBR/CNTs được đánh giá qua phương pháp nhiệt khối lượng (TGA) trong môi trường khí N₂ với bước nhiệt 10°C/phút (xem hình 6). Kết quả phân tích nhiệt cho thấy: Mẫu NR/SBR không sử dụng CNTs bắt đầu phân hủy ở 250°C, đạt đến hàm lượng phân hủy 40% khối lượng ở 400°C, phân hủy 80% khối lượng ở 520°C và phân hủy hoàn toàn ở 650°C. Trong khi đó, đối với mẫu nanocomposite NR/SBR/CNTs sử dụng 5% CNTs thì nhiệt độ bắt đầu phân hủy của hỗn hợp đạt đến 400°C và khi nhiệt độ lên đến 650°C thì nanocomposite NR/SBR/CNTs phân hủy hoàn toàn. Như vậy, chất độn CNTs giúp tăng đáng kể tính bền nhiệt của vật liệu cao su. Điều này có thể lý giải bởi mật độ liên kết ngang cao trong hỗn hợp nanocomposite cao su.



Hình 6. Giảm đồ TGA của hỗn hợp cao su NR/SBR và nanocomposite NR/SBR/CNTs.

Kết luận

Khi đưa chất độn CNTs với hàm lượng nhỏ (khoảng 5%) vào hỗn hợp NR/SBR thì tính chất cơ lý được cải thiện đáng kể. Thời gian lưu hóa tối ưu giảm từ 4,28 phút xuống 2,83 phút, tốc độ lưu hóa tăng từ 28-34%. Các tính chất cơ lý như độ cứng, độ bền kéo đứt, độ bền xé và độ bền uốn gấp tăng đáng kể (từ 20-30%) khi tăng hàm lượng CNTs. Về khả năng kháng mài mòn, khi đưa CNTs với hàm lượng 5% vào NR/SBR thì độ mài mòn đạt giá trị 0,49 cm³ trên 1,61 km. Khả năng bền nhiệt của vật liệu nanocomposite NR/SBR/CNTs cải thiện đáng kể so với hỗn hợp cao su không sử dụng CNTs.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ thường xuyên theo chức năng số TX2017-20-03 và được hỗ trợ phân tích kết quả bởi Phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia vật liệu Polyme & Composit - Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] I. Franta (1989), *Elastomers and Rubber Compounding Materials*, SNTL-Publishers of Technical Literature.
- [2] Anil K. Bhowmick, Howard L. Stephens (2001), *Handbook of Elastomers*, USA.
- [3] Robert C. Klingender (2008), *Handbook of Specialty Elastomers*, CRC Press.

[4] Andrew J. Tinker, Kevin P. Jones (1998), *Blends of Natural Rubber: Novel Techniques for Blending with Specialty Polymers*, Springer.

[5] Soney C. George, K.N. Ninan, Gabriel Groeninckx, Sabu Thomas (2000), "Styrene butadiene rubber/natural rubber blends: Morphology, transport behavior, and dynamic mechanical and mechanical properties", *J. Appl. Polym. Sci.*, **78(6)**, pp.1280-1303.

[6] R. Rajasekar, K. Pal, G. Heinrich, A. Das, C.K. Das (2009), "Development of nitrile butadiene rubber-nanoclay composites with epoxidized natural rubber as compatibilizer", *Mater. Des.*, **30(9)**, pp.3839-3845.

[7] A. Zulfiqar, H.L. Hai, I. Sybill, T.A. Thomas, R. Hans-Joachim (2010), "Morphology development and compatibilization effect in nanoclay filled rubber blends", *Polymer*, **51(20)**, pp.4580-4588.

[8] X.L. Xie, Y.W. Mai, X. Ping (2005), "Dispersion and alignment of carbon nanotubes in polymer matrix: a review", *Mater. Sci. Eng.*, **49(4)**, pp.89-112.

[9] A.M. Shanmugharaj, J.H. Bae, K.Y. Lee, W.H. Noh, S.H. Lee, S.H. Ryu (2007), "Physical and chemical characteristics of multiwalled carbon nanotubes functionalized with aminosilane and its influence on the properties of natural rubber composites", *Compos. Sci. Technol.*, **67(9)**, pp.1813-1822.

[10] K. Kueseng, K.I. Jacob (2006), "Natural rubber nanocomposites with SiC nanoparticles and carbon nanotubes", *Eur. Polym. J.*, **42(1)**, pp.220-227.

[11] X.W. Zhou, Y.F. Zhu, J. Liang (2007), "Preparation and properties of styrene-butadiene rubber of powder composites filled with carbon black and carbon nanotubes", *Materials Research Bulletin*, **42(3)**, pp.456-464.

[12] A. Das, et al. (2008), "Modified and unmodified multiwalled carbon nanotubes in high performance solution-styrene-butadiene and butadiene rubber blends", *Polymer*, **49(24)**, pp.5276-5283.

Tuyển chọn vi khuẩn acetic chịu nhiệt ứng dụng trong lên men acid acetic

Huỳnh Xuân Phong¹, Nguyễn Mỹ Vi¹, Nguyễn Ngọc Thanh¹, Bùi Hoàng Đăng Long¹, Toshiharu Yakushi², Kazunobu Matsushita², Ngô Thị Phương Dung^{1*}

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

²Khoa Nông nghiệp, Đại học Yamaguchi, Yamaguchi, Nhật Bản

Ngày nhận bài 18/7/2017; ngày chuyển phản biện 21/7/2017; ngày nhận phản biện 22/8/2017; ngày chấp nhận đăng 28/8/2017

Tóm tắt:

Acid acetic là một acid hữu cơ quan trọng được ứng dụng rộng rãi trong nhiều ngành công nghiệp, đặc biệt là công nghiệp chế biến thực phẩm. Nghiên cứu nhằm mục đích tuyển chọn và định danh các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt và xác định các điều kiện lên men acid acetic. Kết quả khảo sát khả năng lên men trong môi trường YPGD bổ sung 4% (v/v) ethanol của 20 chủng vi khuẩn acetic ở 37°C đã tuyển chọn được 9 chủng vi khuẩn acetic với hàm lượng acid acetic sinh ra trong khoảng 1,72-2,04% (w/v). Chủng vi khuẩn acetic A18 có khả năng lên men mạnh nhất ở 39°C với hàm lượng acid acetic đạt 2,56% (w/v) và được tuyển chọn thử nghiệm các điều kiện lên men bao gồm hàm lượng ethanol bổ sung, pH và giống chủng ban đầu. Chín chủng vi khuẩn thuộc chi *Acetobacter*, bao gồm *A. pasteurianus*, *A. tropicalis*, *A. orientalis* và *A. sicerae*. Kết quả khảo sát điều kiện lên men acid acetic của chủng *A. sicerae* A18 ở 39°C cho thấy điều kiện lên men acid acetic thích hợp khi môi trường YPGD có ethanol được bổ sung ở nồng độ 4,32%, pH 4,0 và số lượng tế bào giống vi khuẩn là 10^5 tế bào/ml, hàm lượng acid acetic đạt 2,61% (w/v).

Từ khóa: *Acetobacter*, acid acetic, lên men acid acetic, vi khuẩn acetic chịu nhiệt.

Chỉ số phân loại: 2.8

Đặt vấn đề

Hiện nay, acid acetic là một trong những loại acid hữu cơ quan trọng được ứng dụng rộng rãi trong đời sống cũng như trong sản xuất công nghiệp, đặc biệt là công nghiệp thực phẩm và công nghiệp chế biến mủ cao su. Acid acetic có thể được chế biến từ nhiều nguồn nguyên liệu khác nhau như mật rỉ, nước hoa quả chín, tinh bột, cồn... và được ứng dụng trong sản xuất các sản phẩm như giấm, sorbose, dihydroxyacetone, gluconate, keto-D-gluconates... [1]. Ngoài ra, acid acetic còn được dùng trong sản xuất chất màu, chất thơm, dung môi hữu cơ, trong tổng hợp chất dẻo, tơ sợi... Việt Nam là một nước thuộc khu vực nhiệt đới nên rất dồi dào về các nguồn nguyên liệu có thể ứng dụng trong sản xuất acid acetic. Ở nước ta, acid acetic dùng để làm thực phẩm trong gia đình thường được lên men một cách tự nhiên không sử dụng vi khuẩn acetic thuần chủng và ở quy mô hộ gia đình. Vi khuẩn acetic thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm hiếu khí bắt buộc, với khả năng oxy hóa ethanol thành acid acetic cho phép chúng có thể sinh trưởng ở các môi trường có chứa ethanol [2]. Vi khuẩn acetic thuộc họ Acetobacteraceae và được phân loại thành 10 giống: *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Acidomonas*, *Gluconacetobacter*,

Asaia, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Saccharibacter*, *Neoasaia* và *Granulibacter* [3-5]. Trong đó *Acetobacter* và *Gluconobacter* được sử dụng lên men acid acetic phổ biến nhất vì chúng có khả năng oxy hóa ethanol tạo acid acetic với nồng độ cao.

Bản chất của quá trình lên men acetic là sự chuyển hóa ethanol thành acid acetic được thực hiện bởi vi khuẩn acetic và có sinh nhiệt, do vậy trong quá trình sản xuất acid acetic bằng phương pháp lên men luôn phải thực hiện quá trình làm lạnh để duy trì nhiệt độ tối ưu. Công đoạn này sẽ tiêu tốn nhiều năng lượng, do vậy cần tuyển chọn chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt có khả năng sinh acid cao ở điều kiện nhiệt độ cao sẽ giảm được chi phí để làm mát hệ thống lên men. Ngoài ra, quá trình lên men ở nhiệt độ cao sẽ giúp cho quá trình lên men diễn ra nhanh hơn cũng như hạn chế khả năng nhiễm vi khuẩn không mong muốn. Hơn nữa, việc gia tăng nhiệt độ toàn cầu dẫn đến một số thách thức nghiêm trọng trong việc lên men với quy mô công nghiệp vì những hệ thống làm lạnh lớn tiêu tốn quá nhiều năng lượng để giữ ở nhiệt độ tối ưu. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men acid acetic trong khoảng 30°C và quá trình lên men này luôn được giữ ổn định để đảm bảo quá trình lên men tối ưu. Nhiệt độ gia tăng thêm chỉ khoảng 2-3°C cũng là nguyên nhân gây bất lợi không chỉ cho mức độ lên men mà còn ảnh hưởng

*Tác giả liên hệ: ntpdung@ctu.edu.vn

The selection of thermotolerant acetic acid bacteria and their applications for acetic acid fermentation

Xuan Phong Huynh¹, My Vi Nguyen¹,
Ngoc Thanh Nguyen¹, Hoang Dang Long Bui¹,
Toshiharu Yakushi², Kazunobu Matsushita²,
Thi Phuong Dung Ngo^{1*}

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

²Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yamaguchi, Japan

Received 18 July 2017; accepted 28 August 2017

Abstract:

Acetic acid is an important organic acid used in many industries, especially in food processing. The objectives of this study were to select the thermotolerant acetic acid bacteria having the high acid producing capacity and to study the fermentation conditions for acetic acid production at high temperature. In this study, nine thermotolerant acetic acid bacterial isolates were selected from 20 strains based on their high acetic acid production ranging from 1.72% to 2.04% (w/v) at 37°C. These strains were dominated by representatives from the *Acetobacter* genus including *A. pasteurianus*, *A. tropicalis*, *A. orientalis*, and *A. sicerae*. Strain A18 was determined as the most effectively fermentative bacterial strain at 39°C with the acetic acid production of 2.56% (w/v) and productivity of 62.19%. The favorable conditions for acetic acid fermentation by the selected target strain *Acetobacter sicerae* A18 were determined at the pH of 4.0, the ethanol concentration of 4.32% (v/v), and the starter density of 10⁵ cells/ml. The total acid content of 2.61% (w/v) was achieved after 6 days of fermentation at 39°C.

Keywords: *Acetic acid, acetic acid fermentation, acetobacter, thermotolerant acetic acid bacteria.*

Classification number: 2.8

đến hiệu quả lên men [6]. Do đó, việc nghiên cứu để tìm ra các chủng vi khuẩn có đặc tính chịu nhiệt và lên men tốt từ các nguồn nguyên liệu có triển vọng như ca cao lên men, men rượu, trái cây, giấm, rau quả,... để từ đó có định hướng ứng dụng vào sản xuất ở quy mô lớn đạt được năng suất và hiệu quả kinh tế là rất có ý nghĩa ở nước ta hiện nay và trong tương lai. Nghiên cứu nhằm tuyển chọn, định danh một số chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt triển vọng và thử nghiệm điều kiện lên men acid acetic ở nhiệt độ cao.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu và hóa chất

- Hai mươi chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt (phân lập từ giấm, men rượu và các sản phẩm lên men acid acetic) được tuyển chọn và lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học thực phẩm, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ sinh học. Chủng đối chứng *Acetobacter pasteurianus* SKU1108 (Đại học Yamaguchi, Nhật Bản).

- Các hóa chất khác: yeast extract, peptone, glycerol, D-glucose, agar, CaCO₃, ethanol, phenolphthalein, NaOH... được mua từ Merck (Đức) và HiMedia Laboratories (Ấn Độ).

- Môi trường YPGD (yeast extract 5 g/l, peptone 5 g/l, glycerol 5 g/l, D-glucose 5 g/l) và môi trường PM (5 g/l D-glucose, 20 g/l glycerol, 10 g/l yeast extract, 10 g/l peptone, 10% (v/v) dịch trích khoai tây) [7].

Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá khả năng lên men của vi khuẩn acetic ở 37°C: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Các chủng vi khuẩn acetic được nuôi tăng sinh trong ống nghiệm có chứa 5 ml môi trường YPGD bổ sung 10% dịch trích khoai tây trong 48 giờ, lắc 150 vòng/phút ở 30°C, số lượng tế bào giống vi khuẩn khoảng 10⁷ tế bào/ml (tb/ml). Môi trường lên men YPGD được khử trùng ở 121°C trong 20 phút và sau đó được bổ sung 4% (v/v) ethanol. Chủng 300 µl dịch tăng sinh vi khuẩn (tương ứng 1% (v/v) giống chủng) vào 30 ml dịch lên men trong ống falcon 50 ml. Ủ lắc 150 vòng/phút ở 37°C. Hàm lượng acid trong 7 ngày lên men được xác định bằng phương pháp chuẩn độ với NaOH 0,1 N. pH được xác định bằng pH kế (Sartorius, PB-20, Đức) và hàm lượng đường được xác định bằng phương pháp DNS [8].

Đánh giá khả năng lên men của vi khuẩn acetic ở 38°C và 39°C: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên sử dụng các chủng vi khuẩn acetic được tuyển chọn từ thử nghiệm khả năng lên men ở 37°C. Thử nghiệm được thực hiện ở 2 mức nhiệt độ (38°C và 39°C), lặp lại 3 lần với thể tích lên men 30 ml. Môi trường được chuẩn bị, các bước thực hiện và chỉ tiêu theo dõi tương tự như thử nghiệm ở 37°C với các chủng vi khuẩn được

tuyển chọn. Ủ lactic 150 vòng/phút ở 38 và 39°C.

Định danh các chủng vi khuẩn acetic được tuyển chọn: Các chủng vi khuẩn acetic tuyển chọn được tách chiết DNA và định danh với cặp mồi để khuếch đại trình tự vùng bảo tồn trên 16S rDNA của nhóm α -Proteobacteria: 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1525R (5'-AAAGGAGGTGATCCAGCC-3') [7]. Sản phẩm PCR được giải trình tự sử dụng hệ thống giải trình tự ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems, USA). Dựa trên trình tự 16S rDNA để phân tích và so sánh với trình tự các chủng vi khuẩn trên ngân hàng dữ liệu NCBI. Xây dựng cây phả hệ gene 16S rDNA dựa trên phương pháp neighbor-joining, chương trình MEGA 6 với chỉ số bootstrap 1.000 lần lặp lại [9].

Khảo sát điều kiện lên men của vi khuẩn acetic chịu nhiệt được tuyển chọn: Thí nghiệm gồm 3 nhân tố: Hàm lượng ethanol, số lượng tế bào giống vi khuẩn và pH ban đầu. Chủng vi khuẩn tuyển chọn được nuôi tăng sinh trong 5 ml môi trường PM trong 48 giờ, lactic 150 vòng/phút ở 30°C, số lượng tế bào vi khuẩn đạt 10^8 tb/ml. Môi trường YPGD được điều chỉnh pH ở 3 mức (4, 5, 6), khử trùng ở 121°C trong 20 phút. Ethanol được bổ sung ở các mức (4, 5 và 6% v/v) và được chủng giống để đạt các mức độ thử nghiệm (10^4 , 10^5 và 10^6 tb/ml). Lên men ở 39°C và theo dõi các chỉ tiêu trong 7 ngày. Các điều kiện thích hợp tiếp tục được thử nghiệm để xác nhận mô hình tối ưu ở quy mô 1 lít dịch lên men.

Phương pháp phân tích thống kê: Kết quả được xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA). Số liệu được xử lý thống kê bằng chương trình Statgraphics Centurion XV ver 15.1.02 (Statpoint Technologies, Inc., USA).

Kết quả

Khả năng lên men của vi khuẩn acetic chịu nhiệt ở 37°C

Kết quả lên men trong môi trường YPGD có bổ sung 4% (v/v) ethanol trong 7 ngày ở nhiệt độ 37°C của 20 chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt và chủng vi khuẩn *A. pasteurianus* SKU1108 được thể hiện ở bảng 1. Kết quả lên men cho thấy vào ngày thứ 4, hàm lượng acid acetic tăng lên đến khoảng 1,30-1,94% (w/v) và sau đó giảm nhẹ, hàm lượng acid đạt giá trị cao nhất vào ngày lên men thứ 7 (1,36-2,04% w/v).

Ở ngày lên men thứ 7, hàm lượng acid acetic sinh ra từ các chủng trong khoảng 1,32-2,04% (w/v) và hiệu suất lên men trong khoảng 32,07-49,56%. Trong đó, 9 chủng A1, A3, A8, A18, A23, A47, A49, A50 và A52 có hàm lượng acid acetic sinh ra khá cao và khác biệt không ý nghĩa với độ tin cậy 95%, hàm lượng acid trong khoảng 1,72-2,04% (w/v) và hiệu suất lên men trong khoảng 41,78-49,56%.

Bảng 1. Hàm lượng acid của 21 chủng vi khuẩn acetic trong 7 ngày lên men ở 37°C.

Chủng	Hàm lượng acid (% w/v) theo ngày lên men ở 37°C							Hiệu suất (%)
	1	2	3	4	5	6	7	
A1	1,08 ^a	1,04 ^f	1,24 ^f	1,40 ^{bc}	1,24 ^{bcd}	1,16 ^{bcd}	1,76 ^{abc}	42,75
A3	1,04 ^a	1,00 ^f	1,44 ^{def}	1,80 ^{abc}	1,52 ^a	1,48 ^a	2,04 ^a	49,56
A8	1,08 ^a	1,12 ^{ef}	1,48 ^{def}	1,80 ^{abc}	1,36 ^{abc}	1,36 ^{ab}	1,84 ^{ab}	44,70
A11	1,12 ^a	1,08 ^{ef}	1,24 ^f	1,30 ^c	1,04 ^{abc}	1,04 ^{bc}	1,48 ^{cde}	35,95
A13	1,16 ^a	1,12 ^{ef}	1,32 ^f	1,40 ^{bc}	1,12 ^{abc}	1,04 ^{bc}	1,36 ^{de}	33,04
A16	1,20 ^a	0,96 ^f	1,36 ^{ef}	1,68 ^{abc}	1,24 ^{bcd}	1,16 ^{bcd}	1,56 ^{bcd}	37,90
A18	1,12 ^a	1,08 ^{ef}	1,36 ^{ef}	1,60 ^{abc}	1,44 ^{ab}	1,20 ^{bcd}	1,76 ^{abc}	42,75
A19	1,20 ^a	1,08 ^{ef}	1,24 ^f	1,30 ^c	1,08 ^{abc}	1,08 ^{abc}	1,48 ^{cde}	35,95
A22	1,16 ^a	0,92 ^f	1,24 ^f	1,48 ^{bc}	1,28 ^{bcd}	1,00 ^c	1,60 ^{bcd}	38,87
A23	1,76 ^{ab}	1,64 ^{abcd}	1,76 ^{abc}	1,80 ^{abc}	1,28 ^{bcd}	1,20 ^{bcd}	1,72 ^{abc}	41,78
A24	1,68 ^{abc}	1,68 ^{abc}	1,76 ^{abc}	1,76 ^{abc}	1,32 ^{abcd}	1,28 ^{abcd}	1,60 ^{bcd}	38,87
A28	1,80 ^a	1,88 ^a	1,88 ^a	1,84 ^{ab}	1,36 ^{abc}	1,40 ^{ab}	1,60 ^{bcd}	38,87
A29	1,44 ^a	1,72 ^{abc}	1,80 ^{ab}	1,80 ^{abc}	1,28 ^{bcd}	1,16 ^{bcd}	1,52 ^{bcd}	36,92
A31	1,60 ^{bcd}	1,52 ^{bcd}	1,52 ^{bcd}	1,64 ^{abc}	1,32 ^{abcd}	1,32 ^{abcd}	1,56 ^{bcd}	37,90
A46	1,16 ^a	1,36 ^{de}	1,40 ^{def}	1,56 ^{bc}	1,24 ^{bcd}	1,16 ^{bcd}	1,56 ^{bcd}	37,90
A47	1,20 ^a	1,76 ^{ab}	1,76 ^{abc}	1,80 ^{abc}	1,52 ^a	1,28 ^{bcd}	2,04 ^a	49,56
A49	1,80 ^a	1,56 ^{bcd}	1,68 ^{abcd}	1,68 ^{abc}	1,36 ^{abc}	1,20 ^{bcd}	1,80 ^{abc}	43,73
A50	1,56 ^{cd}	1,44 ^{cd}	1,60 ^{bcd}	1,64 ^{abc}	1,32 ^{abcd}	1,32 ^{abcd}	1,80 ^{abc}	43,73
A52	1,60 ^{bcd}	1,44 ^{cd}	1,76 ^{abc}	1,94 ^a	1,32 ^{abcd}	1,28 ^{abcd}	1,76 ^{abc}	42,75
A55	1,52 ^{cd}	1,56 ^{bcd}	1,52 ^{bcd}	1,52 ^{bc}	1,28 ^{bcd}	1,16 ^{bcd}	1,68 ^{bcd}	40,81
BC	1,16 ^a	1,08 ^{ef}	1,28 ^f	1,36 ^c	0,96 ^{abc}	1,04 ^{bc}	1,36 ^{de}	32,07
CV (%)	2,78	4,82	7,33	5,91	4,87	3,87	5,29	

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 5% (p-value < 0,05).

Khả năng lên men của vi khuẩn acetic chịu nhiệt ở 38 và 39°C

Hàm lượng acid acetic sau lên men trong môi trường YPGD có bổ sung 4% (v/v) ethanol ở nhiệt độ 38°C và 39°C được trình bày ở bảng 2 và bảng 3. Kết quả cho thấy, hàm lượng acid đạt cực đại vào ngày thứ 6 ở 38°C và ngày thứ 3 ở 39°C. Do đó, 2 mốc thời gian lên men này được chọn để thống kê hàm lượng acid sinh ra của các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt ở 2 mức nhiệt độ thử nghiệm. Hàm lượng acid đạt khoảng 1,24-2,08% (w/v) và hiệu suất trong khoảng 30,12-51,50% khi lên men ở 38°C. Hàm lượng acid đạt trong khoảng 1,20-2,04% (w/v) khi kết thúc lên men vào ngày thứ 7. Kết quả lên men ở 39°C cho hàm lượng acid đạt cao nhất vào ngày thứ 3, hàm lượng acid và hiệu suất tương ứng là 1,52-2,56% (w/v) và 36,92-62,19%. Khi kết thúc lên men vào ngày thứ 7, hàm lượng acid trong khoảng 1,50-2,28% (w/v).

Bảng 2. Hàm lượng acid của 10 chủng vi khuẩn acetic trong 7 ngày lên men ở 38°C.

Chủng	Hàm lượng acid (% w/v) theo ngày lên men ở 38°C							Hiệu suất (%)
	1	2	3	4	5	6	7	
A1	1,08 ^c	1,20 ^{cd}	1,28 ^{abc}	1,48 ^{ab}	1,60 ^{ab}	1,84 ^{abc}	1,92 ^{ab}	44,70
A3	1,44 ^b	1,40 ^{bc}	1,28 ^{abc}	1,36 ^{ab}	1,52 ^{ab}	1,64 ^c	1,88 ^{ab}	39,84
A8	1,08 ^a	1,24 ^{cd}	1,40 ^{ab}	1,56 ^a	1,60 ^{ab}	1,80 ^{bc}	2,00 ^a	43,73
A18	1,68 ^a	1,60 ^{ab}	1,48 ^a	1,56 ^a	1,52 ^{ab}	1,80 ^{bc}	1,88 ^{ab}	43,73
A23	1,72 ^a	1,68 ^a	1,56 ^a	1,72 ^a	1,68 ^{ab}	2,04 ^{ab}	1,96 ^a	49,56
A47	1,04 ^c	1,08 ^d	1,04 ^c	1,12 ^b	1,44 ^b	1,80 ^{bc}	1,76 ^b	43,73
A49	1,84 ^a	1,68 ^a	1,44 ^a	1,56 ^a	1,80 ^a	2,08 ^{ab}	2,04 ^a	50,53
A50	1,80 ^a	1,64 ^a	1,44 ^a	1,60 ^a	1,68 ^{ab}	1,88 ^{abc}	1,96 ^a	45,67
A52	1,72 ^a	1,60 ^{ab}	1,44 ^a	1,72 ^a	1,68 ^{ab}	2,12 ^a	1,92 ^a	51,50
BC	1,36 ^b	1,24 ^{cd}	1,12 ^{bc}	1,36 ^{ab}	1,36 ^b	1,24 ^d	1,20 ^c	30,12
CV (%)	2,58	6,93	6,14	7,37	2,81	5,78	6,59	

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 5% (p-value < 0,05).

Bảng 3. Hàm lượng acid của 10 chủng vi khuẩn acetic trong 7 ngày lên men ở 39°C.

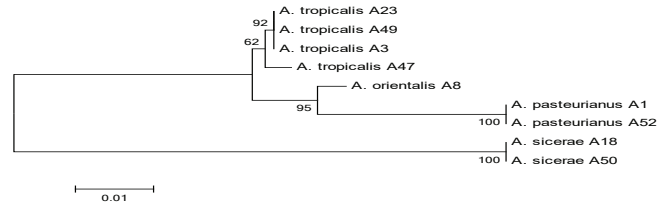
Chủng	Hàm lượng acid (% w/v) theo ngày lên men ở 39°C							Hiệu suất (%)
	1	2	3	4	5	6	7	
A1	0,92 ^{bc1}	1,08 ^{abc}	2,52 ^a	2,44 ^{ab}	2,56 ^a	2,48 ^a	2,28 ^a	61,22
A3	0,80 ^c	0,88 ^{bcd}	2,08 ^{abcd}	2,56 ^a	2,36 ^a	2,28 ^{abc}	2,20 ^a	50,53
A8	0,88 ^{bc}	1,20 ^a	2,40 ^{ab}	2,08 ^{bcd}	2,16 ^{ab}	2,16 ^{abc}	2,04 ^{abc}	58,30
A18	1,00 ^{abc}	0,76 ^d	2,56 ^a	2,20 ^{abc}	2,40 ^a	2,28 ^{abc}	2,12 ^{ab}	62,19
A23	1,20 ^a	1,12 ^{ab}	2,12 ^{abcd}	1,88 ^{cde}	1,64 ^c	1,72 ^d	1,68 ^{bc}	51,50
A47	0,84 ^c	0,84 ^{cd}	1,52 ^d	1,72 ^{de}	2,40 ^a	2,32 ^{ab}	2,20 ^a	36,92
A49	1,08 ^{ab}	1,08 ^{abc}	1,76 ^{bcd}	1,52 ^{de}	1,68 ^c	1,88 ^{cd}	2,08 ^{ab}	42,75
A50	1,08 ^{ab}	1,00 ^{abcd}	1,68 ^{cd}	1,80 ^{cde}	1,92 ^{bc}	2,04 ^{bcd}	2,12 ^{ab}	40,81
A52	1,20 ^a	1,16 ^a	1,76 ^{bcd}	1,72 ^{de}	1,76 ^{bc}	1,68 ^d	1,50 ^c	42,75
ĐC	0,80 ^c	1,04 ^{abc}	2,28 ^{abc}	2,48 ^{ab}	2,36 ^a	2,48 ^a	2,28 ^a	55,39
CV(%)	5,21	7,05	3,04	1,90	3,12	6,31	4,70	

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 5% (p-value < 0,05).

Định danh các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt

Chín chủng vi khuẩn acetic với khả năng sinh acid cao ở 37°C là A1, A3, A8, A18, A23, A47, A49, A50 và A52 được giải trình tự DNA và so sánh mức độ tương đồng với trình tự của các chủng vi khuẩn acetic trong ngân hàng gene trên NCBI cho thấy, tất cả các chủng đều thuộc chi *Acetobacter*. Trong đó, 2 chủng A1 và A52 là *A. pasteurianus*, 4 chủng A3, A23, A47 và A49 được xác định là *A. tropicalis*, 2 chủng A18 và A50 là *A. sicerae* và chủng A8 là *A. orientalis* với mức độ tương đồng so sánh BLAST trên cơ sở dữ liệu đạt 98-100%.

Trình tự DNA các chủng phân lập được sử dụng để vẽ cây phân loại gene 16S rDNA dựa trên multiple alignment, chương trình MEGA 6 (theo thông số neighbor - joining) với độ tin cậy của nhánh phả hệ có chỉ số bootstrap 1.000 (hình 1). Cây phân loại được xây dựng phù hợp với kết quả định danh của 9 chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt. Do các chủng này đều thuộc chi *Acetobacter* nên mối quan hệ di truyền của chúng khá gần nhau, trong đó 3 chủng cùng loài A3, A23 và A49 thuộc *A. tropicalis* có chỉ số bootstrap lên đến 92%, tuy nhiên 3 chủng này có khác về mặt trình tự so với chủng *A. tropicalis* A47. Chủng A18 và A50 thuộc *A. sicerae* mức độ tin cậy về mối quan hệ gần gũi đến 100%. Kết quả tương tự đối với 2 chủng *A. pasteurianus* A1 và A52, chủng *A. orientalis* A8 có quan hệ gần gũi với *A. pasteurianus* hơn so với *A. tropicalis* và *A. sicerae*.

**Hình 1. Cây phân loại di truyền của 9 chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt.**

Điều kiện lên men acid acetic của vi khuẩn acetic chịu nhiệt được tuyển chọn

Chủng *A. sicerae* A18 được tuyển chọn và thử nghiệm các điều kiện lên men ở 39°C do có khả năng sinh ra acid acetic cao hơn ở thời gian lên men ngắn hơn so với các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt được thử nghiệm. Ảnh hưởng của hàm lượng ethanol bổ sung, pH và số lượng tế bào giống vi khuẩn đến khả năng sinh acid acetic của chủng *A. sicerae* A18 được theo dõi trong 7 ngày lên men và kết quả được trình bày ở bảng 4. Kết quả cho thấy, ở nghiệm thức 10 vào ngày thứ 6 (pH 4,0, 5% ethanol và 10⁴ tb/ml) sinh ra hàm lượng acid acetic cao nhất là 2,70% (w/v), không khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức 3 và 12 cũng cho hàm lượng acid acetic cao (2,64% w/v) cùng với các nghiệm thức 11, 1 và 2 có hàm lượng acid acetic lần lượt là 2,52%; 2,46% và 2,46% (w/v).

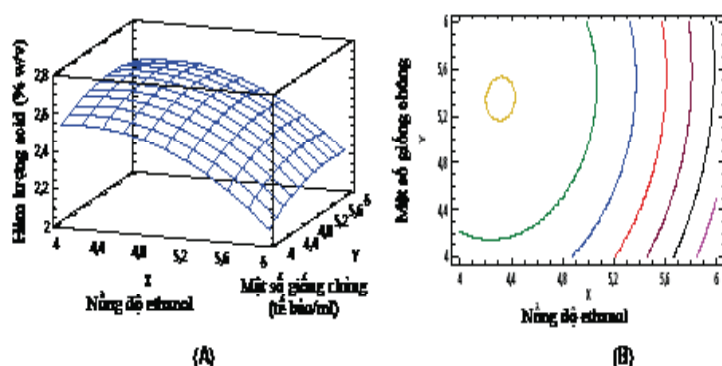
Bảng 4. Hàm lượng acid acetic của chủng A18 trong 7 ngày lên men ở 39°C.

Nghiệm thức	Hàm lượng acid (% w/v) theo ngày lên men ở 39°C							Hiệu suất (%)
	1	2	3	4	5	6	7	
4%-pH4-10 ⁴ (1)	2,10	2,16	2,10	2,10	2,04	2,46 ^{ab1}	1,98	59,76
4%-pH4-10 ⁴ (2)	2,16	2,10	2,04	2,04	2,10	2,46 ^{ab}	1,62	59,76
4%-pH4-10 ⁴ (3)	2,22	2,28	2,22	2,22	2,34	2,64 ^a	2,10	64,13
4%-pH5-10 ⁴ (4)	0,9	0,96	0,78	0,96	0,96	1,62 ^{gh}	0,78	39,35
4%-pH5-10 ⁴ (5)	1,08	1,08	1,20	0,96	1,32	1,74 ^{gh}	1,20	42,27
4%-pH5-10 ⁴ (6)	1,02	0,96	0,96	1,02	1,20	1,68 ^{gh}	1,14	40,81
4%-pH6-10 ⁴ (7)	0,96	1,14	1,56	1,50	1,32	1,74 ^{gh}	1,62	42,27
4%-pH6-10 ⁴ (8)	1,14	1,26	1,80	1,38	1,50	1,80 ^{fg}	1,44	43,73
4%-pH6-10 ⁴ (9)	1,44	1,68	1,92	1,86	1,74	1,80 ^{fg}	1,56	43,73
5%-pH4-10 ⁴ (10)	2,04	1,92	1,92	1,74	1,86	2,70 ^a	1,80	65,59
5%-pH4-10 ⁴ (11)	2,34	2,10	2,10	2,10	1,74	2,52 ^a	1,32	61,22
5%-pH4-10 ⁴ (12)	1,98	1,98	2,04	1,86	1,74	2,64 ^a	1,44	64,13
5%-pH5-10 ⁴ (13)	1,02	0,96	1,02	0,78	0,90	1,50 ^{hj}	1,02	36,44
5%-pH5-10 ⁴ (14)	1,08	1,02	0,96	0,78	0,90	1,62 ^{gh}	1,38	39,35
5%-pH5-10 ⁴ (15)	1,14	1,02	0,78	0,78	0,84	1,50 ^{hj}	0,96	36,44
5%-pH6-10 ⁴ (16)	0,96	1,14	1,50	1,62	1,50	1,68 ^{gh}	1,50	40,81
5%-pH6-10 ⁴ (17)	0,78	0,96	1,02	1,32	1,32	2,10 ^{cd}	1,62	51,01
5%-pH6-10 ⁴ (18)	1,02	1,32	1,56	1,68	1,74	1,86 ^{efg}	1,80	45,18
6%-pH4-10 ⁴ (19)	1,08	1,02	1,14	1,44	1,98	1,98 ^{def}	1,74	48,10
6%-pH4-10 ⁴ (20)	0,96	0,90	0,78	0,84	1,14	2,22 ^{bc}	1,74	53,93
6%-pH4-10 ⁴ (21)	0,84	0,90	1,20	1,44	1,56	2,22 ^{bc}	1,56	53,93
6%-pH5-10 ⁴ (22)	1,08	1,02	0,84	0,96	0,84	1,32 ^j	0,96	32,07
6%-pH5-10 ⁴ (23)	0,72	0,84	0,72	0,78	0,96	1,38 ^{ij}	0,78	33,52
6%-pH5-10 ⁴ (24)	1,02	1,02	0,84	0,96	0,90	1,38 ^{ij}	1,02	33,52
6%-pH6-10 ⁴ (25)	0,96	1,02	1,14	1,38	1,44	1,74 ^{gh}	1,14	42,27
6%-pH6-10 ⁴ (26)	1,02	1,20	1,08	0,9	1,08	1,74 ^{gh}	1,32	42,27
6%-pH6-10 ⁴ (27)	1,26	1,08	1,14	1,38	1,14	1,68 ^{gh}	1,38	40,81
CV (%)						2,34		

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 5% (p-value < 0,05).

Từ kết quả ở bảng 4 cho thấy, nghiệm thức 10 (pH 4,0, 5% ethanol và 10^4 tb/ml) cho hàm lượng acid acetic cao nhất 2,70% (w/v) nhưng để đạt được kết quả tốt hơn thì các thông số hàm lượng ethanol bổ sung, pH và số lượng tế bào giống vi khuẩn tối ưu cần được tìm ra thông qua phân tích hồi quy dựa trên số liệu thu thập được để xác định được các nghiệm thức tối ưu với độ tin cậy 95%. Dựa vào 3 nhân tố trên, đồ thị mặt đáp ứng (surface plotting) và đồ thị đường mức (contour) được xác định dựa vào phương trình hồi quy thay thế giá trị pH bằng 4, hàm lượng ethanol bổ sung = X (4-6% v/v) và mật số giống chủng = Y (4-6 tương đương 10^4 - 10^6 tế bào/ml).

Phương trình hồi quy nhiều biến: Hàm lượng acid acetic = $17,5081 + 0,4025 \times \text{ethanol} + 0,140833 \times \text{giống chủng} - 7,0375 \times \text{pH} - 0,146667 \times \text{ethanol} \times \text{ethanol} + 0,1075 \times \text{ethanol} \times \text{giống chủng} + 0,1925 \times \text{ethanol} \times \text{pH} - 0,0566667 \times \text{giống chủng} \times \text{giống chủng} + 0,0975 \times \text{giống chủng} \times \text{pH} + 0,583333 \times \text{pH} \times \text{pH} - 0,0225 \times \text{ethanol} \times \text{giống chủng} \times \text{pH}$.



Hình 2. Đồ thị mặt đáp ứng (A) và đường mức (B) thể hiện mối tương quan giữa nồng độ ethanol và số lượng tế bào giống vi khuẩn đến quá trình tạo acid acetic.

Dựa vào phương trình trên, thay thế pH là 4,0. Giải phương trình hồi quy bằng cách lấy đạo hàm lần lượt theo X (hàm lượng ethanol) và Y (số lượng tế bào giống vi khuẩn), được kết quả: X = 4,32 và Y = 5,35. Thay thế X = 4,32 và Y = 5,35 vào phương trình thu được hàm lượng acid acetic là 2,64% (w/v). Đồ thị mặt đáp ứng và đường mức từ phương trình hồi quy được thể hiện ở hình 2. Từ đồ thị có được, điều kiện tối ưu cho lên men acid acetic được xác định với chủng *A. sicerae* A18 ở 39°C là bổ sung ethanol với nồng độ 4,32% (v/v), pH 4,0 và số lượng tế bào giống vi khuẩn là 10^5 tb/ml. Kết quả lên men với chủng *A. sicerae* A18 trong 1 lít môi trường YPGD với các thông số từ thử nghiệm tối ưu hóa cho hàm lượng acid acetic đạt 2,61% (w/v) sau 6 ngày lên men ở 39°C. Sau lên men, giá trị pH của thành phẩm là 3,13 và hiệu suất lên men đạt được là 63,4%.

Thảo luận

Khi lên men ở 37°C, hàm lượng acid ở ngày lên men thứ 7 đạt khá cao và giá trị này khác biệt có ý nghĩa thống kê (bảng 1). Kết quả cho thấy ở nhiệt độ này thì chủng đối chứng (ĐC) là *A. pausterianus* SKU1108 phát triển tương đối yếu hơn so với 20 chủng còn lại. Hàm lượng acid tăng vào ngày thứ 4, giảm vào ngày thứ 5, 6 và sau đó tiếp tục tăng đến giá trị cao nhất vào ngày thứ 7. Lý do là các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt thích nghi nhanh ở nhiệt độ 37°C nên chỉ đến ngày lên men thứ 4 thì chúng đã phát triển mạnh và sinh hàm lượng acid acetic cao. Sau khi lên men, hàm lượng acid acetic sinh ra đã làm giảm pH của môi trường lên men, trong đó môi trường lên men của chủng A18 có pH thấp nhất là 4,20 và của chủng đối chứng là cao nhất 4,64. Chín chủng vi khuẩn acetic được tuyển chọn từ kết quả lên men ở 37°C bao gồm A1, A3, A8, A18, A23, A47, A47, A50 và A52 có hàm lượng acid acetic đạt trong khoảng 1,72-2,04% (w/v). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Kanchanarach, et al. [7] trên *A. pasteurianus* MSU10, IFO3191 và SKU1108 trong môi trường YPGD có bổ sung 4-6% (v/v) ethanol, các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt phát triển ở nhiệt độ 37°C và hàm lượng acid sinh ra trong khoảng 2-3% (w/v).

Điều đáng chú ý là kết quả lên men ở nhiệt độ 39°C cho thấy hầu hết các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt đều sinh ra hàm lượng acid cao hơn ở 38°C (bảng 2 và bảng 3), điều này có thể được hiểu rằng với nhiệt độ cao hơn thì vi khuẩn acetic chịu nhiệt sinh trưởng nhanh hơn, làm cho tốc độ lên men diễn ra mạnh hơn nên thời gian lên men có thể được rút ngắn. Tương tự, hàm lượng acid khi lên men ở nhiệt độ 38°C (bảng 2) của các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt này đều tăng so với khi lên men ở 37°C (bảng 1). Theo nghiên cứu của Sossou, et al. [10], quá trình tổng hợp acid có liên quan đến sự tăng sinh khối của vi khuẩn acetic để bắt đầu chuyển hóa ethanol thành acid khi gia tăng nhiệt độ lên men. Theo Madigan, et al. [11], tại thời điểm pha chậm (pha lag), vi sinh vật cần thời gian để thích ứng nên hoạt động lên men của chúng chưa mạnh, do đó hàm lượng acid sinh ra không cao. Chuyển sang pha tăng trưởng (pha log), lúc này vi khuẩn đủ năng lượng và được sử dụng để tổng hợp acid. Tuy nhiên, thời gian để tạo được lượng acid cao nhất ở 38°C cũng không quá dài (ngày thứ 6). Trong khi đó, ở 39°C thì các chủng A1, A3, A8, A18, A23, A47, A49, A50, A52 và *A. pausterianus* thích nghi rất nhanh với mức nhiệt độ lên men này và ở ngày thứ 3, chúng đã sinh nhiều acid hơn so với ngày đầu tiên và duy trì hàm lượng cao trong quá trình lên men. Kết quả cho thấy, chủng A18 sinh ra lượng acid cao nhất (2,56% w/v) vào ngày thứ 3 với hiệu suất 62,19% (bảng 3). Với chủng *A. tropicalis* DK4, hàm lượng acid là tương đồng nhưng với thời gian ngắn hơn so với Phong, et al. [12], hàm lượng acid đạt 2,52% (w/v) vào ngày thứ 7 trong môi trường YPGD bổ sung 4% (v/v) ethanol ở 39°C.

Kết quả định danh cho thấy, các chủng vi khuẩn acetic được

tuyển chọn thuộc chi *Acetobacter*, bao gồm *A. pasteurianus* (A1 và A5), *A. tropicalis* (A3, A23, A47 và A49), *A. sicerae* (A18 và A50) và *A. orientalis* (A8). Các loài vi khuẩn acetic này được tìm thấy phổ biến trong quá trình lên men acid acetic và nhiều nghiên cứu cho thấy đây là các chủng có khả năng chịu nhiệt trong quá trình lên men. Matsushita [1] đã tuyển chọn được các chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt như *A. tropicalis* SKU1100 và *A. pasteurianus* SKU1108 có khả năng lên men acid acetic ở 42°C và Ndoye, et al. [13] đã chọn lọc được 2 chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt là *A. tropicalis* CWBI-B418 và *A. pasteurianus* CWBI-B419 phân lập từ trái cây có khả năng lên men tốt ở 38°C.

Kết quả các chỉ tiêu theo dõi ở bảng 4 cho thấy, quá trình hấp thụ đường được cung cấp từ môi trường YPGD cho sự tăng sinh khối của vi khuẩn và giá trị pH cuối thay đổi rất phù hợp đối với sự lên men, từ đó cho thấy ở các mức độ đặt ra của từng nhân tố thì chủng *A. sicerae* A18 có thể phát triển và lên men khá tốt. Từ đồ thị ở hình 2 đã xác định được điều kiện tối ưu cho lên men acid acetic với hàm lượng ethanol bổ sung là 4,32% (v/v), số lượng tế bào giống vi khuẩn là 5,24 (tương đương 10^5 tb/ml), pH 4,0 và hàm lượng acid đạt 2,64% (w/v). Với hàm lượng ethanol bổ sung là 4,32% (v/v), kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Gullo, et al. [14] và Beheshti, et al. [15] về khả năng phát triển tốt của các chủng vi khuẩn acetic ở môi trường có bổ sung 5% (v/v) ethanol với hiệu suất chuyển hóa ethanol thành acid acetic là cao nhất.

Kết quả hàm lượng acid của thí nghiệm sản xuất thử nghiệm với 1 lít dịch lên men (2,61% w/v) thấp hơn không đáng kể so với kết quả lý thuyết tính được theo phương trình hồi quy (2,64% w/v) và trong khoảng có giá trị hàm lượng acid cao (2,46-2,70% w/v) của các nghiệm thức từ kết quả thực nghiệm (bảng 4). Điều này cho thấy, khi lên men với thể tích lớn hơn (1 lít) vẫn có thể đạt được giá trị hàm lượng acid theo mô hình tối ưu hóa. Kết quả cho thấy tiềm năng ứng dụng trong sản xuất acid ở điều kiện nhiệt độ tăng cao mà không cần chi phí để duy trì nhiệt độ tối ưu cho quá trình lên men trong các hệ thống lên men ở quy mô sản xuất.

Kết luận

Nghiên cứu đã tuyển chọn được 9 chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt lên men ở 37°C với hàm lượng acid acetic đạt được trong khoảng 1,72-2,04% (w/v). Tuyển chọn được chủng A18 với hàm lượng acid đạt 2,56% (w/v) và hiệu suất lên men 62,19% chỉ sau 3 ngày lên men ở 39°C. Chín chủng vi khuẩn acetic chịu nhiệt được xác định thuộc chi *Acetobacter*, bao gồm *A. pasteurianus*, *A. tropicallis*, *A. sicerae* và *A. orientalis*. Điều kiện lên men acid acetic của chủng *A. sicerae* A18 ở 39°C được xác định với nồng độ ethanol ban đầu 4,32%, pH 4,0 và số lượng tế bào giống vi khuẩn là 10^5 tb/ml, hàm lượng acid acetic đạt 2,61% (w/v).

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 khoa học trong Chương trình Công nghệ sinh học tiên tiến Trường Đại học Cần Thơ (2016) và Chương trình CCP (New Core to Core Program, 2014-2019).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] K. Matsushita (2009), "Thermotolerant acetic acid bacteria: Its physiological features and application for high temperature oxidative fermentation", *Proceedings of The Satellite Seminar of Asian Core Program*, p.17.
- [2] Phẩm Lương Đức (1998), *Công nghệ vi sinh vật*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
- [3] I. Cleenwerck, K. Vandemeulebroecke, D. Janssens, and J. Swings (2002), "Re-examination of the genus *Acetobacter*, with descriptions of *Acetobacter cerevisiae* sp. nov. and *Acetobacter malorum* sp. nov.", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **52**(5), pp.1551-1558.
- [4] Y. Jojima, Y. Mihara, S. Suzuki, K. Yokozeki, S. Yamanaka, and R. Fudou (2004), "*Saccharibacter floricola* gen. nov., sp. nov., a novel osmophilic acetic acid bacterium isolated from pollen", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **54**(6), pp.2263-2267.
- [5] D.E. Greenberg, S.F. Porcella, F. Stock, A. Wong, P.S. Conville, P.R. Murray, S.M. Holland, and A.M. Zelazny (2006), "*Granulibacter bethesdensis* gen. nov., sp. nov., a distinctive pathogenic acetic acid bacterium in the family *Acetobacteraceae*", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **56**(11), pp.2609-2616.
- [6] A. Saeki, G. Theeragool, K. Matsushita, H. Toyama, N. Lotong and O. Adachi (1997), "Development of thermotolerant acetic acid bacteria useful for Vinegar Fermentation at higher temperatures", *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **61**(1), pp.138-145.
- [7] W. Kanchanarach, G. Theeragool, T. Yakushi, H. Toyama, A. Adachi, and K. Matsushita (2010), "Characterization of thermotolerant *Acetobacter pasteurianus* strains and quinoprotein alcohol dehydrogenases", *Applied Microbial and Biotechnology*, **85**(3), pp.741-751.
- [8] C. Bennett (1971), "Spectrophotometric acid dichromate method for the determination of ethyl alcohol", *The American Journal of Medical Technology*, **37**(6), p.217.
- [9] K. Tamura, G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar (2013), "MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0", *Molecular Biology and Evolution*, **30**(12), pp.2725-2729.
- [10] S.K. Sossou, Y. Ameyapoh, S.D. Karou, C. de Souza (2009), "Study of pineapple peels processing into vinegar by biotechnology", *Pakistan Journal Biological Sciences*, **12**(11), pp.859-865.
- [11] Madigan, T. Michael, M. John Martinko, A. David Stahl, P. David Clark (2012). *Brock Biology of Microorganisms (13th Edition)*, Pearson Education, Inc., Benjamin Cummings, San Francisco, California.
- [12] Phong Huynh Xuan, Chanhom Loinheuang, Gunjana Theeragool, Kazunobu Matsushita, Toshiharu Yakushi (2012), "Geographical distribution of thermo-tolerant acetic acid bacteria", *Summary Book of Asian Core Program*, pp.77-80, International Exchange Core Program in Yamaguchi University, Yamaguchi, Japan.
- [13] B. Ndoye, S. Lebecque, R. Dubois-Dauphin, L. Tounkara, A.T. Guirou, C. Kere, B. Diarawa, and P. Thonart (2006), "Thermoresistant properties of acetic acid bacteria isolated from tropical products of Sub-Saharan Africa and destined to industrial vinegar", *Enzyme and Microbial Technology*, **39**(4), pp.916-923.
- [14] M. Gullo, C. Caggia, L.D. Vero and P. Giudici (2006), "Characterization of acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar", *International Journal of Food Microbiology*, **106**(2), pp.209-212.
- [15] M.K. Beheshti, and R. Shafiee (2009), "Isolation and identification of an *Acetobacter* strain from Iranian white-red cherry with high acetic acid productivity as a potential strain for cherry vinegar production in food and agriculture biotechnology", *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, **3**(6), pp.281-283.

Sàng lọc chủng nấm men *Saccharomyces Cerevisiae* có khả năng tích lũy kẽm cao

Nguyễn Thị Trang*, Lê Đức Mạnh, Nguyễn Thị Minh Khanh,
Trịnh Thanh Hà, Lê Thị Thắm, Phạm Thu Trang, Lê Hồng Quang

Viện Công nghiệp Thực phẩm, Bộ Công thương

Ngày nhận bài 26/4/2017; ngày chuyển phản biện 28/4/2017; ngày nhận phản biện 29/5/2017; ngày chấp nhận đăng 15/6/2017

Tóm tắt:

Được biết đến với khả năng tích lũy các nguyên tố vi lượng, nấm men có khả năng chuyển hóa kẽm từ dạng vô cơ thành dạng hữu cơ nhờ sự hình thành các mối liên kết với các đại phân tử trong tế bào. Dạng tồn tại này của kẽm trong nấm men làm tăng khả năng hấp thu kẽm của cơ thể con người. Trong nghiên cứu này, 96 chủng nấm men thuộc bộ sưu tập giống vi sinh vật đã được sàng lọc và xác định khả năng tích lũy kẽm. Các chủng nấm men được nuôi cấy trong môi trường cơ bản Sabouraud có bổ sung 1000 mg/l $Zn(NO_3)_2$, ở 28°C trong 72 giờ. Kết quả cho thấy, có mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ kẽm bổ sung vào môi trường nuôi cấy và hàm lượng kẽm tích lũy trong sinh khối. Chủng nấm men *S. cerevisiae* 2049 có khả năng tích lũy kẽm hữu cơ với hàm lượng cao nhất, đạt 8916 mg/kg sinh khối. Với khả năng này, chủng *S. cerevisiae* 2049 sẽ là một chủng tiềm năng cho sản xuất nấm men giàu kẽm trên quy mô công nghiệp ở Việt Nam.

Từ khóa: Kẽm, nấm men, *Saccharomyces cerevisiae*, tích lũy kẽm.

Chỉ số phân loại: 2.8

Mở đầu

Kẽm từ lâu đã được biết đến là một trong những nguyên tố vi lượng quan trọng đối với cơ thể con người. Kẽm tham gia vào thành phần cấu trúc tế bào, hệ thống các enzyme, tác động đến hầu hết các quá trình sinh học trong cơ thể [1]. Trên thế giới, tình trạng thiếu kẽm ở trẻ em đang diễn ra rất phổ biến, đặc biệt là các nước đang phát triển với khoảng 2 tỷ người bị thiếu kẽm [2]. Nguy cơ thiếu kẽm tương đối cao và tập trung chủ yếu ở khu vực Nam Á, tiếp theo là Bắc Phi và Trung Đông. Đông Nam Á (trong đó có Việt Nam) là khu vực có nguy cơ thiếu kẽm cao đứng thứ 3 trên thế giới [3]. Chính vì vậy, việc tìm ra nguồn thực phẩm giàu kẽm bổ sung vào chế độ dinh dưỡng hàng ngày là hết sức cần thiết.

Nấm men từ lâu đã được xem là một trong các đối tượng nghiên cứu chính của ngành công nghiệp thực phẩm. Thành phần dinh dưỡng trong nấm men hết sức phong phú, có đầy đủ các yếu tố dinh dưỡng cơ bản như protein, khoáng chất và nguồn vitamin dồi dào [4]. Chúng có đặc tính dễ nuôi cấy, có thể thu được một lượng lớn sinh khối trong khoảng thời gian ngắn, đặc biệt là khả năng tích lũy các nguyên tố vi lượng khi được nuôi cấy trong môi trường tối ưu cao hơn gấp nhiều lần trong điều kiện sinh lý bình thường [5]. Hướng nghiên cứu tạo nấm men giàu kẽm ứng dụng trong sản xuất thực phẩm chức năng đã và

đang được quan tâm nghiên cứu rộng rãi trên thế giới [6-8]. Tuy nhiên ở Việt Nam, hiện có rất ít các nghiên cứu đi sâu khai thác tiềm năng này.

Để khai thác và tận dụng một cách hiệu quả nguồn giống các chủng nấm men *Sacharomyces* sẵn có trong bộ sưu tập giống vi sinh vật của Viện Công nghiệp Thực phẩm, chúng tôi đã tiến hành sàng lọc các chủng nấm men có khả năng tích lũy kẽm cao từ 96 chủng nấm men nhằm tiến tới sản xuất bột nấm men giàu kẽm trên quy mô công nghiệp. Các kết quả nghiên cứu cụ thể được trình bày dưới đây.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

96 chủng nấm men *Sacharomyces* được thu nhận từ Trung tâm Vi sinh vật công nghiệp, Viện Công nghiệp Thực phẩm.

$Zn(NO_3)_2$, glucose có nguồn gốc từ hãng Merck (Đức) và các hóa chất phân tích khác được cung cấp bởi các hãng Sigma (Mỹ), BDH (Anh).

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định nồng độ muối kẽm phù hợp cho sàng lọc các chủng nấm men có khả năng tích lũy kẽm cao:

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

Screening of highly organic zinc enriched *Saccharomyces Cerevisiae*

Thi Trang Nguyen*, Duc Manh Le,
Thi Minh Khanh Nguyen, Thanh Ha Trinh,
Thi Tham Le, Thu Trang Pham, Hong Quang Le

Food Industries Research Institute, Ministry of Industry and Trade

Received 26 April 2017; accepted 15 June 2017

Abstract:

Saccharomyces has a certain enrichment ability for metal elements. It can convert inorganic zinc to organic form and can be used as a zinc carrier. Zinc that is bound to different macromolecules in yeast cells has been proven to have a better absorbability in the human body. In this study, a large number of strains (96 strains) belonging to the genus *Saccharomyces* were screened, and their ability of zinc accumulation was determined. The cultivations were performed on the Sabouraud dextrose broth medium with the addition of zinc nitrate at the concentration of 1000 mg/l, incubated at 28°C on a rotary shaker (150 rpm) for 72 hours. The results showed that there was a linear correlation between the zinc nitrate supplementation in the culture medium and the amount of zinc accumulated in the biomass. The highest organic zinc accumulation of 8916 mg/kg was observed in the strain *S. cerevisiae* 2049. It would be a promising candidate for production of zinc enriched yeasts at the industrial scale in Vietnam.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, yeast, zinc, zinc accumulation.

Classification number: 2.8

Lựa chọn một cách ngẫu nhiên 6 chủng trên tổng số 96 chủng nấm men cần được sàng lọc khả năng tích lũy kẽm. Môi trường cơ bản Sabouraud có bổ sung $Zn(NO_3)_2$ ở các nồng độ 0, 250, 500, 1000, 2000 mg/l được sử dụng để khảo sát nhằm tìm ra nồng độ muối kẽm phù hợp. Tỷ lệ tiếp giống là 10%, quá trình lên men được thực hiện trong các bình tam giác dung tích 250 ml với thể tích môi trường lên men là 100 ml, pH của môi trường được điều chỉnh tới 4,5 bằng HCl 0,1M. Các điều kiện cho quá trình lên men được tiến hành trong máy lắc 150 vòng/phút, ở 28°C trong 72 h. Sau khi nuôi cấy, tiến hành ly tâm 6000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Rửa 3 lần sinh khối nấm men bằng nước khử ion để loại bỏ môi trường và muối kẽm bám trên bề mặt tế bào [7].

Tốc độ phát triển của nấm men được tiến hành đánh giá trên hệ thống máy quang phổ bước sóng 620 nm. Ở thời điểm cuối thí nghiệm, ly tâm dịch sau lên men, rửa sinh khối và thu cặn tế bào. Thu sinh khối khô bằng phương pháp sấy 2 pha, đầu tiên sấy ở điều kiện 60°C trong 2 h, sau đó kết thúc quá trình sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi. Sinh khối tế bào được tính bằng số gram chất khô/100 ml môi trường [7].

Phương pháp tách hợp chất kẽm hữu cơ từ sinh khối nấm men giàu kẽm:

Bổ sung nước khử ion vào sinh khối khô, chỉnh pH tới 11 bằng dung dịch NaOH 1N. Khuấy trong 15 phút, sau đó chỉnh pH về 7. Làm ẩm dung dịch trong 30 phút ở 65°C và quan sát sự phá vỡ tế bào nấm men bằng kính hiển vi, ly tâm ở 6000 vòng trong 10 phút. Cặn có chứa kẽm hữu cơ, trong khi phần dung dịch có chứa cả hai loại kẽm dạng vô cơ và hữu cơ. Để kết tủa tiếp kẽm hữu cơ, NaCl (100 g/l) được thêm vào dung dịch, ly tâm ở 6000 vòng/phút trong 10 phút. Phần kết tủa chứa kẽm hữu cơ, còn phần dung dịch chứa kẽm vô cơ. Thu kết tủa và sử dụng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) để xác định hàm lượng kẽm hữu cơ trong mẫu [9].

Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử (AAS):

Mẫu phân tích được xử lý bằng phương pháp Demirci [10]. Cho 0,1 g sinh khối nấm men vào bình định mức 300 ml, thêm 5 ml dung dịch acid nitric. Sau khi kết thúc phản ứng thêm 2 ml dung dịch acid sulphuric, tiếp tục làm nóng và duy trì phản ứng oxy hóa bằng cách nhỏ từ từ dung dịch acid nitric đến khi dung dịch mất màu hoàn toàn. Quá trình gia nhiệt được tiếp tục cho đến khi lượng acid bay hơi hết. Lượng chất khô được hòa loãng với 20 ml nước cất, tiến hành lọc vào bình định mức 50 ml và hòa loãng mẫu đã xử lý trong nước cất. Mẫu sau khi xử lý được đưa vào hệ thống máy đo phổ hấp thụ nguyên tử và tiến hành phân tích hàm lượng kẽm ở bước sóng 213,9 nm.

Phương pháp xử lý số liệu:

Các số liệu được xử lý trên Excel, thuật toán thống kê Student t-test, Fisher test và phương pháp phân tích phương sai một nhân tố ngẫu nhiên (one way ANOVA). Nếu $p < 0,05$ được coi là sai khác có ý nghĩa, nếu $p > 0,05$ sự sai khác là không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả và thảo luận

Kết quả lựa chọn nồng độ muối kẽm phù hợp cho quá trình sàng lọc chủng nấm men tích lũy kẽm

Theo quan điểm của Agate, đặc tính quan trọng quyết định khả năng hấp thu kim loại của vi sinh vật là tính kháng kim loại của các sinh vật đó [11]. Hầu hết các chủng vi sinh vật có khả năng kháng kim loại tốt đều có khả năng liên kết hiệu quả với kim loại đó [12]. Do đó, việc tuyển chọn, phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng kháng kim loại chính là bước quan trọng để tìm ra các chủng có khả năng tích lũy kim loại với hàm lượng cao.

Các chủng nấm men *S. cerevisiae* được biết đến có khả năng tích lũy các kim loại, trong đó có nguyên tố vi lượng kẽm, mỗi chủng nấm men lại có khả năng đề kháng với kẽm ở các nồng độ khác nhau. Để sàng lọc và chọn được chủng nấm men có khả năng tích lũy kẽm cao một cách nhanh và hiệu quả nhất thì việc tìm ra nồng độ muối kẽm phù hợp cho quá trình sàng lọc là vấn đề tiên quyết. Chính vì vậy, việc khảo sát sự ảnh hưởng của các nồng độ $Zn(NO_3)_2$ tới mối tương quan của hai nhân tố được nghiên cứu là hàm lượng kẽm tích lũy trong sinh khối và khối lượng sinh khối nấm men giàu kẽm thu được là hết sức cần thiết.

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ $Zn(NO_3)_2$ tới hàm lượng kẽm trong sinh khối khô của các chủng nấm men (mg/kg).

Chủng nấm men	Nồng độ $Zn(NO_3)_2$ bổ sung vào môi trường nuôi cấy (mg/l)				
	0	250	500	1000	2000
<i>S. cerevisiae</i> 1041	320 $\pm$ 18	678 $\pm$ 28	996 $\pm$ 237	1800 $\pm$ 229	3567 $\pm$ 237
<i>S. cerevisiae</i> 1043	318 $\pm$ 19	558 $\pm$ 47	855 $\pm$ 203	1055 $\pm$ 216	2965 $\pm$ 203
<i>S. cerevisiae</i> 1062	332 $\pm$ 20	349 $\pm$ 35	547 $\pm$ 24	556 $\pm$ 27	962 $\pm$ 28
<i>S. cerevisiae</i> 2049	365 $\pm$ 21	1657 $\pm$ 209	4982 $\pm$ 294	8916 $\pm$ 204	12936 $\pm$ 279
<i>S. cerevisiae</i> 2050	336 $\pm$ 19	1084 $\pm$ 164	2538 $\pm$ 178	3501 $\pm$ 198	5597 $\pm$ 173
<i>S. cerevisiae</i> 2075	338 $\pm$ 23	1274 $\pm$ 223	2918 $\pm$ 228	5891 $\pm$ 294	7891 $\pm$ 211

Ghi chú: mức sai khác $p < 0,05$; giá trị $\pm$ là độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ $Zn(NO_3)_2$ tới khối lượng sinh khối khô của các chủng nấm men (g/100 ml).

Chủng nấm men	Nồng độ $Zn(NO_3)_2$ bổ sung vào môi trường nuôi cấy (mg/l)				
	0	250	500	1000	2000
<i>S. cerevisiae</i> 1041	0,92 $\pm$ 0,09	0,90 $\pm$ 0,11	0,88 $\pm$ 0,09	0,65 $\pm$ 0,10	0,12 $\pm$ 0,01
<i>S. cerevisiae</i> 1043	0,91 $\pm$ 0,09	0,91 $\pm$ 0,21	0,89 $\pm$ 0,19	0,78 $\pm$ 0,10	0,11 $\pm$ 0,01
<i>S. cerevisiae</i> 1060	0,93 $\pm$ 0,12	0,93 $\pm$ 0,19	0,92 $\pm$ 0,18	0,88 $\pm$ 0,10	0,11 $\pm$ 0,05
<i>S. cerevisiae</i> 2049	0,98 $\pm$ 0,11	0,98 $\pm$ 0,10	0,98 $\pm$ 0,12	0,94 $\pm$ 0,11	0,14 $\pm$ 0,04
<i>S. cerevisiae</i> 2050	0,96 $\pm$ 0,12	0,96 $\pm$ 0,10	0,96 $\pm$ 0,10	0,91 $\pm$ 0,09	0,10 $\pm$ 0,03
<i>S. cerevisiae</i> 2075	0,98 $\pm$ 0,12	0,98 $\pm$ 0,09	0,98 $\pm$ 0,12	0,95 $\pm$ 0,13	0,13 $\pm$ 0,04

Ghi chú: mức sai khác $p < 0,05$; giá trị $\pm$ là độ lệch chuẩn, $n = 3$.

Có thể nhận thấy, có mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ kẽm bổ sung vào môi trường nuôi cấy và hàm lượng kẽm tích lũy trong sinh khối của các chủng nấm men được nghiên cứu (bảng 1). Nồng độ kẽm trong môi trường càng cao thì hàm lượng kẽm tích lũy trong sinh khối càng nhiều ($p < 0,05$). Ở nồng độ $Zn(NO_3)_2$ là 1000 mg/l hàm lượng kẽm tích lũy trong sinh khối của các chủng nấm men có sự phân cấp và khác biệt nhau rõ rệt.

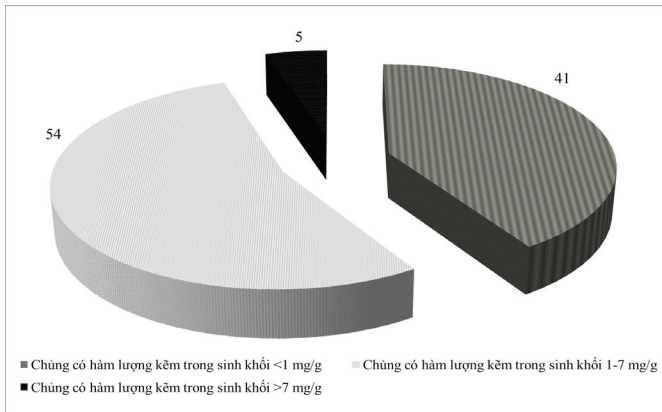
Tuy nhiên, khả năng đề kháng với các nồng độ kẽm ngày càng cao ở mỗi chủng nấm men là khác nhau (bảng 2). Cụ thể trên chủng *S. cerevisiae* 1041 thể hiện khả năng sinh trưởng phát triển kém thông qua sự sụt giảm khối lượng sinh khối ở nồng độ kẽm là 250 mg/l. Trong khi đó, ở *S. cerevisiae* 2049 nồng độ kẽm trong môi trường nuôi cấy phải lên tới 1000 mg/l mới thể hiện sự ức chế sinh trưởng ($p < 0,05$). Với nồng độ kẽm là 2000 mg/l hầu hết các chủng được khảo sát đều không có khả năng đề kháng và sinh trưởng trong điều kiện này. Chúng tôi nhận thấy, ở nồng độ kẽm 1000 mg/l là vừa đủ để phát hiện khả năng tích kẽm của các chủng nấm men nên mức bổ sung kẽm này được lựa chọn làm nồng độ chuẩn cho việc tìm kiếm và sàng lọc các chủng nấm men có khả năng tích kẽm hữu cơ với hàm lượng cao.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về ảnh hưởng của việc bổ sung muối kẽm vào môi trường nuôi cấy tới hàm lượng kẽm tích lũy và khối lượng sinh khối thu được cũng phù hợp với các kết quả nghiên cứu khác trên thế giới [13]. Theo Eide và cộng sự, kẽm là một nguyên tố vi lượng thiết yếu, cần thiết để duy trì chức năng của hơn 3% hệ protein nấm men [14]. Mặc dù ở điều kiện sinh lý, kẽm không có hoạt tính oxy hóa khử nhưng lượng kẽm dư thừa có thể gây độc cho tế bào. Độc tính của kẽm biểu hiện thông qua liên kết trung gian của cation với các vị trí không tương thích trên phân tử protein hoặc các cofactor. Kẽm dư thừa có thể gây trở ngại cho hoạt động của enzyme aconitase ty thể làm giảm hô hấp, tế bào sinh trưởng phát triển chậm [15].

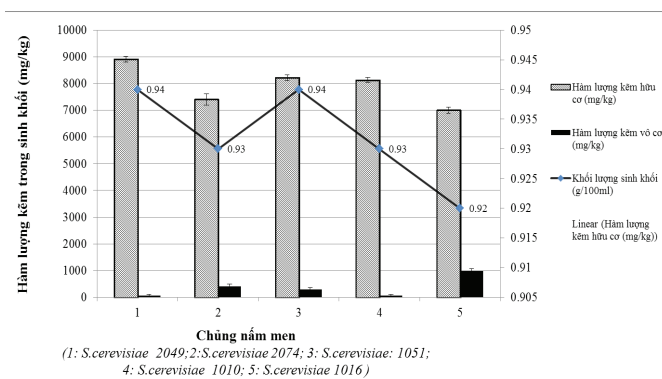
Kết quả sàng lọc chủng nấm men tích lũy kẽm hữu cơ cao

96 chủng nấm men *Sacharomyces* thu nhận từ Trung tâm Vi sinh vật công nghiệp, Viện Công nghiệp Thực phẩm được sàng lọc và tìm kiếm khả năng tích lũy kẽm trên môi trường Sabouraud có bổ sung $Zn(NO_3)_2$ ở nồng độ 1000 mg/l. Tỷ lệ tiếp giống là 10%, pH của môi trường được điều chỉnh tới 4,5 bằng HCl 0,1M, quá trình lên men được tiến hành trong máy lắc 150 vòng/phút, ở 28°C trong 72 h. Kết quả cho thấy, trong tổng số 96 chủng nấm men được nghiên cứu có 39 chủng thể hiện khả năng tích lũy kẽm thấp (dưới 1 mg/g sinh khối khô), chiếm tỷ lệ 41%, 52 chủng tích lũy kẽm trong khoảng từ 1-7 mg/g sinh khối,

chiếm tỷ lệ 54% và 5 chủng có khả năng tích lũy kẽm với hàm lượng cao trên 7 mg/g sinh khối, chiếm tỷ lệ 5% (hình 1). Các chủng nấm men này được tiếp tục sàng lọc phân tích thành phần kẽm có trong sinh khối.



Hình 1. Khả năng tích lũy kẽm của 96 chủng nấm men được sàng lọc.



Hình 2. Dạng kẽm tích lũy trong các chủng nấm men chứa hàm lượng kẽm cao.

Kết quả hình 2 cho thấy, dạng kẽm tồn tại trong sinh khối 5 chủng nấm men giàu kẽm được nghiên cứu phần lớn đều ở dạng hữu cơ. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Azad và cộng sự.

S. cerevisiae 2049 cho khả năng tích lũy kẽm cao nhất và khả năng chịu kẽm tốt trong điều kiện bổ sung muối kẽm với nồng độ cao thể hiện ở lượng sinh khối đạt cao nhất trong các chủng được nghiên cứu nên được sử dụng cho nghiên cứu nhằm tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy, tiến tới sản xuất nấm men giàu kẽm quy mô công nghiệp.

Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy nồng độ muối kẽm bổ sung vào môi trường nuôi cấy tỷ lệ thuận với hàm lượng kẽm tích lũy trong sinh khối nấm men. Nồng độ 1000 mg/l muối kẽm khi bổ sung vào môi trường nuôi

cấy là nồng độ phù hợp nhất cho quá trình sàng lọc chủng nấm men tích lũy kẽm cao.

Chủng nấm men *S. cerevisiae* 2049 cho khả năng tích lũy kẽm với hàm lượng cao, đạt 8916 mg/kg, khả năng đề kháng tốt với kẽm đã được lựa chọn và tiến tới nghiên cứu lựa chọn các điều kiện phù hợp để sản xuất nấm men giàu kẽm trên quy mô lớn.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài nghiên cứu thuộc nhiệm vụ khoa học và công nghệ cấp quốc gia: “Nghiên cứu công nghệ sản xuất bột nấm men giàu kẽm hữu cơ làm nguyên liệu sản xuất thực phẩm chức năng”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R.S. Mac Donald (2000), “The role of zinc in growth and cell proliferation”, *J. Nutr.*, **130**(5), pp.1500-1508.
- [2] A.S. Prasad (2003), “Zinc deficiency: Has been known of for 40 years but ignored by global health organisations”, *BMJ*, **326**(7386), pp.409-410.
- [3] N.F. Kreb (1998), “Zinc requirements and zinc intakes of breast - fed infants. Complementary feeding of young children in developing countries: a review of current scientific knowledge”, *Am. J. Clin. Nutr.*, **43**, pp.288-292.
- [4] J. Mrvic, D. Stanzer, V. Stehlik-Tomas, D. Skevin, S. Grba (2007), “Optimization of bioprocess for production of copper - enriched biomass of industrially important microorganism *Saccharomyces cerevisiae*”, *J. Biosci. Bioeng.*, **103**, pp.331-337.
- [5] V. Stehlik-Thomas, S. Grba, D. Stanzer, N. Vahcic, V.G. Zetic (2003), “Uptake of iron by yeast cells and its impact on biomass production”, *Acta Aliment.*, **32**, pp.279-287.
- [6] Z.H. Wang, J. Zhang, T. Su, Z.H. Guan, M. Ji (2011), “Screening of iron and zinc - enriched yeast strain and optimization of cultivation conditions”, *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, **41**(3), pp.278-286.
- [7] S.K. Azad, F. Shariatmadari, M. Amir, K. Torshizi (2014), “Production of zinc - enriched biomass of *Saccharomyces cerevisiae*”, *J. Elem.*, pp.313-326.
- [8] S. Šillerová, B. Lavová, D. Urmínská, A. Poláková, A. Vollmannová, L. Harangozo (2012), “Preparation of zinc enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) by cultivation with different zinc salts”, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, **1**, pp.689-695.
- [9] C.B.S. Roepcke, L.P.S. Vandenberghe, C.R. Soccol (2011), “Optimized production of *Pichia guilliermondii* biomass with zinc accumulation by fermentation”, *Animal Feed Science and Technology*, **163**, pp.33-42.
- [10] A. Demirci, A.L. Pometto (2000), “Enhanced organically bound chromium yeast production”, *J. Arg. Food Chem.*, **48**(2), pp.531-536.
- [11] A.D. Agate, S. Roussos, C.R. Soccol, A. Pandey, C. Augur (2003), “Bioremediation and biobeneficiation of metal”, *New Horizons in Biotechnology*, pp.215-220.
- [12] A. Malik (2004), “Metal bioremediation through growing cells”, *Environ. Int.*, **30**, pp.261-278.
- [13] Z.H. Wang, J. Zhang, T. Su, Z.H. Guan, M. Ji (2014), “Screening of iron and zinc - enriched yeast strain and optimization of cultivation conditions”, *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, **41**(3), pp.278-286.
- [14] D. Eide (1997), “Molecular biology of iron and zinc uptake in eukaryotes”, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **9**, pp.573-577.
- [15] L.C. Costello, Y. Liu, R.B. Franklin, M.C. Kennedy (1997), “Zinc inhibition of mitochondrial aconitase and its importance in citrate metabolism of prostate epithelial cells”, *J. Biol. Chem.*, **272**, pp.28875-28881.

Tổng hợp với hiệu suất cao carbon nano ống bằng phương pháp lắng đọng từ pha hơi và sử dụng hơi nước

Trương Hữu Trì, Bùi Thị Lập, Nguyễn Đình Lâm*

Trường Đại học Bách khoa, Đại học Đà Nẵng

Ngày nhận bài 8/7/2017; ngày chuyển phản biện 12/7/2017; ngày nhận phản biện 7/8/2017; ngày chấp nhận đăng 16/8/2017

Tóm tắt:

Trong hơn 2 thập niên vừa qua, vật liệu carbon nano ống (CNTs) đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trên thế giới. Nhờ vào những tính chất đặc biệt mà chúng được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Ở nghiên cứu này, CNTs được tổng hợp bằng phương pháp kết tụ hóa học trong pha hơi (CVD - Chemical vapor deposition) trên chất xúc tác Fe/ γ - Al_2O_3 sử dụng khí dầu mỏ hóa lỏng (LPG) làm nguồn carbon và có sự tham gia của hơi nước thay cho hydro trong môi trường phản ứng với chức năng làm sạch sản phẩm. Hiệu suất thu sản phẩm lên đến 434% khối lượng so với khối lượng của xúc tác được sử dụng sau 2 giờ tổng hợp. Ảnh thu được bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) cho thấy sản phẩm CNTs có đường kính ống khá đồng nhất. Diện tích bề mặt riêng BET của sản phẩm được xác định bằng phương pháp hấp phụ, giải hấp phụ đẳng nhiệt nitơ. Ngoài ra, mức độ khuyết tật của vật liệu CNTs đã được đánh giá bằng quang phổ Raman và thành phần nguyên tố được phân tích bằng quang phổ điện tử tia X (XPS).

Từ khóa: BET, CNTs, phương pháp CVD, Raman, SEM, TEM, XPS.

Chỉ số phân loại: 2.9

Giới thiệu chung

CNTs đã nhận được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trong hơn 2 thập niên vừa qua nhờ các tính chất vật lý cũng như hóa học ưu việt của chúng [1]. Các kết quả nghiên cứu được công bố cho thấy, loại vật liệu này có thể ứng dụng vào nhiều lĩnh vực khác nhau như làm chất mang cho xúc tác trong các phản ứng hóa học, thiết bị điện tử, lưu trữ năng lượng, làm sạch nước [1-3]. Với những triển vọng trong nghiên cứu và ứng dụng như vừa nêu, loại vật liệu này đã được tổng hợp bằng nhiều phương pháp khác nhau như sử dụng hồ quang điện [4], cắt bằng tia laser [5] hay phương pháp CVD các hợp chất có chứa carbon với sự có mặt của xúc tác kim loại [6]. Trong đó, CVD là phương pháp thường được sử dụng vì có nhiều ưu điểm như nhiệt độ tiến hành của quá trình thấp hơn so với các phương pháp khác, dễ triển khai ở quy mô lớn với chi phí thấp [1].

Ở phương pháp CVD, carbon được sử dụng có thể từ nhiều nguồn khác nhau, tồn tại ở trạng thái khí như ethane [7, 8], ethyne [9], acetylene [10], ở trạng thái lỏng như ethanol [11], xylene [12] và có thể ở dạng rắn như naphthalene, anthracene [13]. Xúc tác sử dụng cho quá trình tổng hợp là các kim loại chuyển tiếp như sắt (Fe), coban (Co), các xúc tác có thể được dùng trực tiếp hoặc đưa lên trên các chất mang khác nhau như oxide nhôm,

oxide silic [10, 14]. Trong quá trình tổng hợp, cùng với quá trình tạo thành CNTs, các sản phẩm của carbon không mong muốn khác như carbon ở dạng vô định hình hoặc carbon ở dạng hạt (particles) cũng được hình thành, làm giảm độ tinh khiết của sản phẩm, do đó làm giảm chất lượng của CNTs thu được [15-17]. Để khắc phục nhược điểm này có nhiều giải pháp khác nhau, được chia làm 2 nhóm chính. Ở nhóm giải pháp thứ nhất, sản phẩm sau khi tổng hợp sẽ được loại bỏ các thành phần không mong muốn bằng quá trình oxy hóa [12] hay quá trình thủy nhiệt [18], còn trong nhóm giải pháp thứ 2 thì quá trình tổng hợp CNTs và làm sạch được tiến hành đồng thời. Ở nhóm giải pháp thứ 2 này, nguồn khí cung cấp carbon được đưa vào thiết bị phản ứng dưới dạng hỗn hợp với khí hydro và các khí trơ khác [7, 12, 18]. Khi đó, sản phẩm thu được sẽ có độ tinh khiết cao hơn nhờ vào sự pha loãng nồng độ của carbon trong môi trường phản ứng. Ngoài ra, ở nhiệt độ cao, khí hydro có thể tác dụng với carbon ở dạng vô định hình hoặc ở dạng hạt để tạo thành dạng hợp chất khác, các chất này sẽ theo dòng khí thoát ra khỏi sản phẩm CNTs, làm tăng độ sạch của sản phẩm cuối cùng. So với phương pháp làm sạch sau khi tổng hợp, phương pháp làm sạch đồng thời sẽ hiệu quả hơn và giá thành thấp hơn [19]. Tuy vậy, sự có mặt của hydro trong môi trường phản ứng ở nhiệt độ cao gây nguy cơ cháy nổ nếu có sự rò rỉ không khí, do đó việc thay thế hydro bằng một tác nhân làm sạch

*Tác giả liên hệ: Email: ndlam@dut.udn.vn

Highly efficient water-assisted synthesis of carbon nanotubes by the chemical vapor deposition method

Huu Tri Truong, Thi Lap Bui, Dinh Lam Nguyen*

University of Science and Technology, The University of DaNang

Received 8 July 2017; accepted 16 August 2017

Abstract:

Carbon nanotubes (CNTs) have attracted the scientific community over two last decades. Due to their novel properties, carbon nanotubes have been applied in different areas. In this research, carbon nanotubes were synthesized on Fe/ γ -Al₂O₃ catalyst by the chemical vapor deposition (CVD) method using liquefied petroleum gas (LPG) as a carbon source and steam instead of hydrogen in the reaction medium. The steam plays a role as a cleaning agent for the product. The CNTs yield of this synthesis process is high, up to 434% in mass in relation to the used mass of catalyst under 2 hours of synthesis. The images obtained by scanning electron microscopy (SEM) and transparent electron microscopy (TEM) showed that the obtained product was carbon nanotubes with quite homogeneous diameters. The BET specific surface area of the obtained product was determined by nitrogen isothermal adsorption-desorption using the Brunauer-Emmett-Teller method. In addition, the structural defects of CNTs were characterized by Raman spectroscopy, and the elemental composition was analyzed by X-ray electron spectroscopy (XPS).

Keywords: BET, CNTs, CVD method, Raman, SEM, TEM, XPS.

Classification number: 2.9

khác có mức độ rủi ro thấp hơn là rất cần thiết khi triển khai sản xuất với số lượng lớn. Việc sử dụng hơi nước thay thế cho hydro là một trong những phương án có tính khả thi cao. Khi phân tích vai trò của nước trong quá trình tổng hợp CNTs bằng phương pháp CVD cho thấy, sự có mặt của hơi nước sẽ tạo ra môi trường oxy hóa yếu ở nhiệt độ cao cho phép làm sạch sản phẩm và hạn chế khuyết tật trong cấu trúc mạng tinh thể (structural defects) của CNTs hình thành [15, 16]. Ngoài ra, nước còn có vai trò kéo dài thời gian phát triển của CNTs nên sản phẩm thu được có kích thước dài hơn.

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả trình bày kết quả tổng hợp CNTs bằng phương pháp CVD trên xúc tác Fe/ γ -Al₂O₃, với nguồn carbon được sử dụng là khí dầu mỏ hóa lỏng (LPG) - nguồn nguyên liệu phổ biến ở Việt nam, và sử dụng hơi nước làm tác nhân làm sạch. Sản phẩm CNTs được đánh giá các đặc trưng bằng một số phương pháp phân tích hóa lý hiện đại như hấp phụ và giải hấp phụ đẳng nhiệt nitơ, xử lý số liệu theo lý thuyết BET (Brunauer - Emmett - Teller), quang phổ điện tử tia X (XPS: X - Ray Photoelectron Spectroscopy), kính hiển vi điện tử quét (SEM: Scanning Electron Microscopy), kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM: Transmission Electron Microscopy) và quang phổ Raman nhằm khảo sát tính chất, hình thái bề mặt và vi cấu trúc cũng như thành phần nguyên tố của CNTs.

Thực nghiệm

Tổng hợp xúc tác

Nguyên vật liệu ban đầu: Tiền chất của pha hoạt tính được sử dụng là muối nitrat sắt (Fe(NO₃)₃·9H₂O) có độ tinh khiết trên 98%; chất mang được sử dụng là γ -Al₂O₃ (CK 300B Ketjen) có bề mặt riêng 220 m²/g, chất mang ở dạng ép đùn có đường kính 1 mm và chiều dài 3 mm sẽ được nghiền nhỏ nhằm thu được các hạt có kích thước nằm trong khoảng 40-80 μ m. Nguồn carbon được sử dụng trong nghiên cứu này là LPG được cung cấp bởi Tổng công ty PVGas, đạt tiêu chuẩn TCVN 6486:2008, có thành phần các hợp chất hydrocarbon được xác định theo tiêu chuẩn ASTM D-2163 (tương ứng với tiêu chuẩn TCVN 8360), với hàm lượng pentane và các hợp chất hydrocarbon nặng hơn nhỏ hơn 2%mol, hàm lượng các hợp chất olefin nhỏ hơn 10%mol, hàm lượng butadien nhỏ hơn 0,5%mol, ngoài ra hàm lượng lưu huỳnh tổng nhỏ hơn 140 mg/kg theo tiêu chuẩn ASTM D-2784.

Quá trình tổng hợp xúc tác: Xúc tác được chuẩn bị bằng phương pháp tẩm ướt theo bốn công đoạn sau:

- Đưa pha hoạt tính lên bề mặt chất mang: Trước hết muối nitrat sắt được hòa tan trong nước cất, sau đó dùng

pipet để đưa dung dịch muối thấm lên bề mặt chất mang, tiếp theo chất mang đã được thấm dung dịch muối sẽ được sấy khô. Quá trình này được lặp lại vài lần để bảo đảm toàn bộ bề mặt xúc tác được thấm đều.

- Sấy khô: Đưa chất mang đã được thấm muối vào tủ sấy để được sấy khô ở 110°C trong 14 h.

- Nung: Quá trình này được thực hiện ở 350°C trong 4 h trong không khí nhằm chuyển muối sang dạng oxide tương ứng;

- Khử: Quá trình này được thực hiện ở 400°C trong 2 h trong dòng khí H₂ nhằm chuyển oxide sắt sang sắt kim loại, quá trình được thực hiện ngay trong thiết bị tổng hợp CNTs nhằm tránh cho Fe bị oxy hóa trở lại nếu bị tiếp xúc với không khí.

Tổng hợp CNTs bằng phương pháp CVD

Nguyên liệu được sử dụng trong nghiên cứu này là LPG, H₂, N₂ và H₂O. Trước khi đi vào hệ thống, các khí được đưa qua lưu lượng kế để đo lưu lượng. Chất xúc tác Fe/γ-Al₂O₃ (hàm lượng của pha hoạt tính bằng 20% khối lượng) được phân tán đều trên bề mặt của thuyền bằng sứ, rồi đặt vào trong ống phản ứng bằng thạch anh (quartz) có đường kính 42 mm và chiều dài 1600 mm đã được đặt trong lò gia nhiệt. Khí N₂ được sử dụng (với lưu lượng 100 ml/phút) để đuổi không khí trong hệ thống trong thời gian 1 h, sau đó được thay bằng khí H₂ (với lưu lượng 100 ml/phút) và tiến hành nâng nhiệt độ của hệ thống lên nhiệt độ khử xúc tác ở 400°C, quá trình khử được thực hiện trong 2 h. Sau đó, khí H₂ được thay bằng N₂, tiếp tục gia nhiệt hệ thống với tốc độ 10°C/phút đến nhiệt độ tổng hợp CNTs. Khi đã đạt nhiệt độ mong muốn, hỗn hợp khí tổng hợp gồm LPG và N₂ được sục qua bình đựng nước nhằm bảo hòa hơi nước trong nguyên liệu rồi đi vào thiết bị tổng hợp. Bình đựng nước sử dụng ở nghiên cứu này là bình 2 cổ, một cổ có ống dẫn nhằm đảm bảo cho hỗn hợp khí được sục vào trong nước, cổ còn lại để dẫn hỗn hợp khí và hơi nước ra ngoài, bình này đặt trong phòng thí nghiệm nên nhiệt độ của nước trong bình được xem là bằng với nhiệt độ trong phòng thí nghiệm. Quá trình tổng hợp được tiến hành trong 2 h, sau đó hệ thống được làm lạnh đến nhiệt độ môi trường dưới dòng khí nitơ, rồi tiến hành thu gom sản phẩm và cân khối lượng thu được. Phần trăm lượng sản phẩm tạo thành được tính theo công thức sau:

$$\% \text{CNTs} = \frac{w_1 - w_2}{w_2} \cdot 100 \quad (1)$$

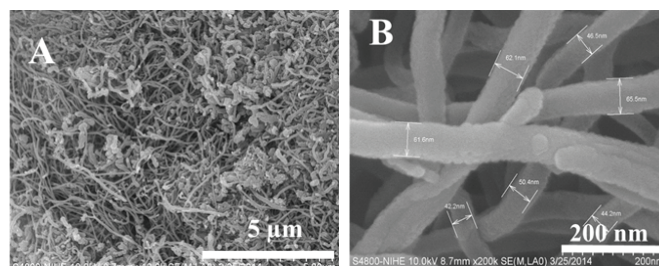
Trong đó, %CNTs là tỷ lệ CNTs tổng hợp được (% khối lượng); w₁ là tổng khối lượng của mẫu thu gom được (g); w₂ là khối lượng của xúc tác sử dụng (g).

Phân tích và đánh giá đặc trưng của CNTs

Trước hết sản phẩm từ quá trình tổng hợp được chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) trên thiết bị FESEM-S-4800 và kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) trên thiết bị JEM1010-JEOL, nhằm quan sát hình thái bề mặt và vi cấu trúc. Tiếp đến, sản phẩm được phân tích quang phổ Raman trên máy RENISHAW nhằm xác định đặc trưng về mức độ khuyết tật trong cấu trúc (mức độ này được tính bằng tỷ số cường độ I_D/I_G, với I_D và I_G là cường độ pic tại đỉnh D và G). Quang phổ điện tử tia X (XPS) được đo trên máy Multilab 2000 (Thermo Electron) với điện cực Al Kα (hν = 1486,6 eV) nhằm phân tích thành phần nguyên tố của carbon và oxy trên bề mặt sản phẩm. Cuối cùng, bề mặt riêng được xác định bằng phương pháp hấp phụ và giải hấp phụ đẳng nhiệt nitơ, xử lý số liệu theo lý thuyết BET (Brunauer - Emmett - Teller) trên thiết bị ASAP-2020.

Kết quả và thảo luận

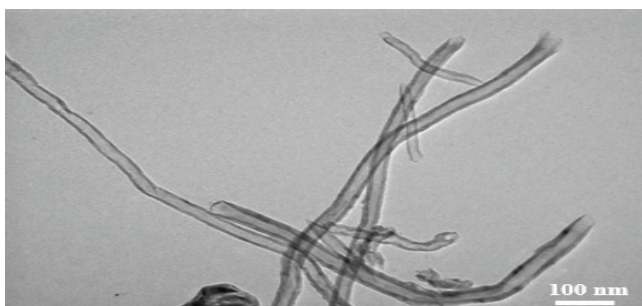
Ở nhiên cứu này, nhóm tác giả đã tiến hành quá trình tổng hợp CNTs ở nhiệt độ 650°C với lưu lượng 100 ml/phút, tỷ lệ LPG/N₂ là 3:7. Cân sản phẩm thu được để xác định tổng khối lượng thu được sau phản ứng, sử dụng công thức (1) để tính toán tỷ lệ sản phẩm tạo thành so với lượng xúc tác sử dụng. Kết quả cho thấy, tỷ lệ sản phẩm tạo thành rất cao, đạt 434% khối lượng so với khối lượng xúc tác đã sử dụng. Để đánh giá tính chất của sản phẩm thu được, trước hết nhóm tác giả tiến hành chụp ảnh mẫu bằng kính hiển vi điện tử quét, ảnh SEM được trình bày trên hình 1.



Hình 1. Ảnh kính hiển vi điện tử quét.

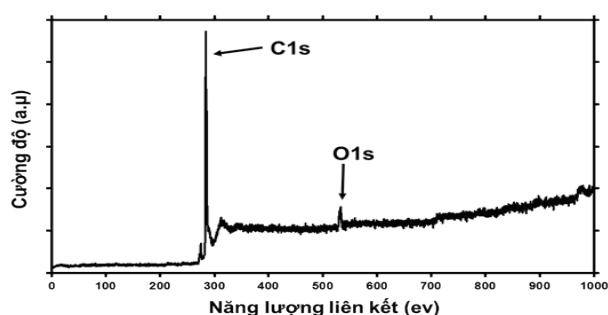
Quan sát ảnh SEM của sản phẩm trên hình 1A cho thấy, sản phẩm có hình thái bên ngoài hoàn toàn giống với CNTs đã được công bố [8, 20], có kích thước đồng đều với mật độ rất cao bên cạnh hình ảnh của một số cấu trúc khác đến từ xúc tác hoặc các dạng carbon khác. Theo tác giả Sylvain và các cộng sự [15], thành phần carbon khác có thể là carbon vô định hình hoặc carbon ở dạng hạt nhỏ (particles). Hình 1B trình bày ảnh với mức độ phân giải cao cho thấy mức độ đồng đều về kích thước của sản phẩm, đường kính ngoài của các ống nằm trong khoảng từ 42-65 nm.

Để thấy rõ hơn hình dạng của CNTs, nhóm tác giả đã tiến hành chụp ảnh sản phẩm bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM), kết quả trình bày trên hình 2. Từ ảnh thu được cho phép khẳng định sản phẩm thu được ở dạng ống.



Hình 2. Ảnh kính hiển vi điện tử truyền qua.

Thành phần nguyên tố của sản phẩm tạo thành được xác định thông qua kết quả phân tích mẫu bằng quang phổ điện tử tia X, giản đồ quang phổ được trình bày ở hình 3. Thông qua giản đồ quang phổ XPS thu được cho thấy, trong thành phần của sản phẩm ngoài carbon thì oxy cũng đã xuất hiện trong sản phẩm.



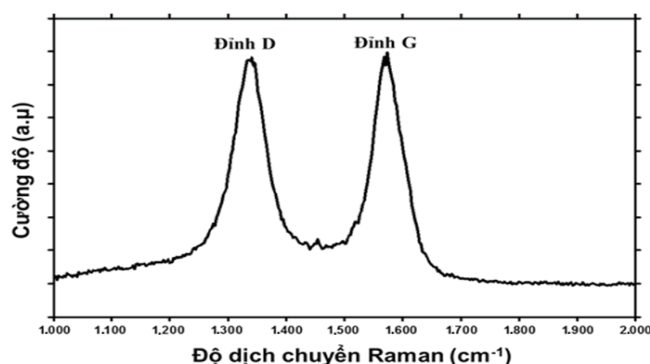
Hình 3. Giản đồ quang phổ XPS.

Tính toán thành phần nguyên tố của các cấu tử trong sản phẩm CNTs dựa vào giản đồ XPS, kết quả được trình bày ở bảng 1. Như vậy, ngoài thành phần chính là carbon thì oxy cũng chiếm một hàm lượng nhỏ trong thành phần sản phẩm. So với kết quả được công bố trước của cùng tác giả [7] thì hàm lượng oxy trong CNTs tăng từ 3,7 đến 6,5%kl. Sự gia tăng hàm lượng oxy trong CNTs có thể giải thích là do sự có mặt của oxy trong hơi nước, tuy nhiên để khẳng định được điều này cần có thêm nhiều nghiên cứu chuyên sâu khác.

Bảng 1. Thành phần nguyên tố của carbon và oxy thu được bằng phân tích XPS.

Thành phần nguyên tố (% khối lượng)	
Carbon	Oxy
93,5	6,5

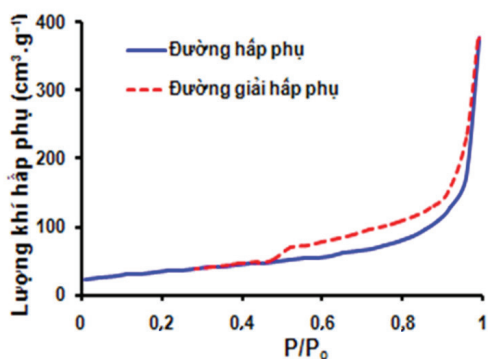
Tiến hành phân tích sản phẩm bằng phổ Raman, kết quả được trình bày trên hình 4. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, đỉnh D (ở số sóng 1356 cm^{-1}) đặc trưng cho mức độ khuyết tật trong mạng lưới cấu trúc của CNTs và sự có mặt của các dạng tồn tại khác của carbon như carbon vô định hình hoặc carbon ở dạng hạt rắn, đỉnh G (ở số sóng 1592 cm^{-1}) đặc trưng cho cấu trúc mạng lưới tinh thể của sản phẩm [9, 11]. Do đó, tỷ số cường độ I_D/I_G được sử dụng để đánh giá mức độ khuyết tật của sản phẩm, tỷ số này càng lớn thì mức độ khuyết tật càng cao và ngược lại. Tính toán tỷ lệ cường độ I_D/I_G đối với CNTs, giá trị thu được bằng 0,96 chứng tỏ tồn tại các khuyết tật trong cấu trúc mạng lưới tinh thể của CNTs và cũng có thể đến từ các dạng khác của carbon trong sản phẩm thu được. So sánh tỷ lệ cường độ I_D/I_G của CNTs thu được trong nghiên cứu này với giá trị của CNTs thu được khi tổng hợp ở 700°C trong nghiên cứu của Dikio và các cộng sự [21] thì tỷ lệ này rất gần nhau. Tuy nhiên, khi so sánh với kết quả của nhóm Liu và các cộng sự [15], tỷ số I_D/I_G thu được ở nghiên cứu này khá lớn (0,96 so với 0,41).



Hình 4. Giản đồ độ dịch chuyển Raman.

Có nhiều nguyên nhân dẫn đến sự khác nhau trong mức độ khuyết tật của sản phẩm, ngoài yếu tố thành phần khí mang (ở nghiên cứu này không có mặt hydro như trong nghiên cứu của Liu) thì một nguyên nhân quan trọng khác là nhiệt độ tiến hành phản ứng, 650°C ở nghiên cứu này so với 850°C ở nghiên cứu của Liu. Ở nghiên cứu của Murphy [22], nhóm tác giả đã tiến hành xử lý làm sạch CNTs với nguyên liệu ban đầu có thành phần 85% CNTs, 10% carbon vô định hình và 5% NiO và FeO, tác nhân được sử dụng cho quá trình làm sạch là acid HNO_3 nồng độ 70%. Kết quả tính toán tỷ lệ cường độ I_D/I_G của mẫu trước và sau xử lý cho thấy tỷ lệ này đã giảm từ 1,21 về 0,97. Sự thay đổi tỷ lệ cường độ này cũng được tìm thấy trong nghiên cứu của Roberta và các cộng sự [23] khi hàm lượng CNTs trong mẫu phân tích tăng lên thì tỷ số này giảm xuống. Như vậy, với kết quả của 2 nhóm nghiên cứu vừa nêu thì có thể thấy hàm lượng của thành phần carbon không phải CNTs trong mẫu phân tích như carbon vô định

hình hay carbon ở dạng hạt có ảnh hưởng lớn đến giá trị tỷ lệ cường độ I_D/I_G thu được. Do đó, khi tiến hành quá trình tổng hợp ở nhiệt độ cao thì tốc độ phản ứng của hơi nước và carbon vô định hình hoặc carbon ở dạng hạt sẽ tăng lên, kết quả làm cho sản phẩm có độ tinh khiết tăng lên và góp phần làm giảm tỷ lệ cường độ I_D/I_G .



Hình 5. Đường hấp phụ và giải hấp phụ đẳng nhiệt nitơ.

Bề mặt riêng được xác định bằng phương pháp hấp phụ và giải hấp phụ đẳng nhiệt nitơ, giá trị BET thu được bằng $124 \text{ m}^2/\text{g}$. Đường đẳng nhiệt hấp phụ và giải hấp phụ của sản phẩm được trình bày trên hình 5. Kết quả này cho thấy có sự xuất hiện một vòng trễ kiểu IV theo phân loại của IUPAC. Vì vậy, có thể khẳng định rằng CNTs thu được là một loại vật liệu mao quản.

Kết luận

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả bước đầu đã thành công trong việc tổng hợp vật liệu carbon nano ống CNTs có hiệu suất cao trên xúc tác là $\text{Fe}/\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ từ nguồn nguyên liệu là LPG sử dụng hơi nước (đóng vai trò tác nhân làm sạch). Việc sử dụng hơi nước thay cho hydro trong nguyên liệu như các kỹ thuật sản xuất CNTs truyền thống sẽ làm giảm rủi ro cháy nổ và góp phần giảm giá thành sản phẩm. CNTs thu được đã được đánh giá các đặc trưng quan trọng và xác nhận cấu trúc nano ống bằng ảnh TEM. Kết quả bước đầu thu được ở nghiên cứu này mở ra một hướng nghiên cứu mới trong việc sử dụng hơi nước để tổng hợp, điều chỉnh kích thước ống của loại vật liệu CNTs và là tiền đề để chế tạo vật liệu CNTs với số lượng lớn phục vụ các ứng dụng trong nghiên cứu và sản xuất công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Takashi Onoe, Shinji Iwamoto, Masashi Inoue (2007), "Synthesis and activity of the Pt catalyst supported on CNT", *Catalysis Communications*, **8**, pp.701-706.
- [2] G. Louie, M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, P. Avouris (Eds.) (2001), "Carbon Nano-tubes: Synthesis, Structure, Properties, and Applications", *Springer*, New York.
- [3] N.Z. Muradov, T.N. Veziroglu (2005), "From hydrocarbon to hydrogen-carbon to hydrogen economy", *International Journal of Hydrogen Energy*, **30**(3), pp.225-237.
- [4] T.W. Ebbesen, P.M. Ajayan (1992), "Large-scale synthesis of carbon

nanotubes", *Nature*, **358**, p.220-222.

- [5] T. Guo, P. Nikolaev, A. Thess, D.T. Colbert, R.E. Smalley (1995), "Catalytic growth of single-walled nanotubes by laser vaporization", *Chem. Phys. Lett.*, **243**, pp.49-54.
- [6] S. Cui, C.Z. Lu, Y.L. Qiao, L. Cui (1999), "Large-scale preparation of carbon nanotubes by nickel catalyzed decomposition of methane at 600°C ", *Carbon*, **37**(12), pp.2070-2073.
- [7] Trương Hữu Trì (2014), "Tổng hợp carbon nano ống bằng phương pháp kết tụ hóa học trong pha hơi sử dụng ethane làm nguồn carbon", *Tạp chí Khoa học công nghệ, Đại học Đà Nẵng*, **7**(80), tr.63-66.
- [8] G. Giuseppe, V. Ricardo, A. Julien, N. Patrick, J.L. Marc, G. Signorino, C. Gabriele, P.H. Cuong (2005), " C_2H_6 as an active carbon source for a large scale synthesis of carbon nanotubes by chemical vapour deposition", *Applied Catalysis A: General*, **279**, pp.89-97.
- [9] E.D. Dikio, F.T. Thema, C.W. Dikio, F.M. Mtunzi (2010), "Synthesis of carbon nanotubes by catalytic decomposition of ethyne using Co-Zn-Al catalyst", *Int. J. Nanotech. Appl.*, **4**, pp.117-124.
- [10] Y.H. Mo, A.K.M.F. Kibria, K.S. Nahm (2001), "The growth mechanism of carbon nanotubes from thermal cracking of acetylene over nickel catalyst supported on alumina", *Synthetic Metals*, **122**, pp.443-447.
- [11] J. Liu, M. Shao, X. Chen, W. Yu, X. Liu, Y. Qian (2003), "Large-scale synthesis of carbon nanotubes by an ethanol thermal reduction process", *J. Am. Chem. Soc.*, **125**(27), pp.8088-8089.
- [12] Y.S. Park, Y.C. Choi, K.S. Kim, D.C. Chung, D.J. Bae, K.H. An, S.C. Lim, X.Y. Zhu, Y.H. Lee (2001), "High yield purification of multiwalled carbon nanotubes by selective oxidation during thermal annealing", *Carbon*, **39**, pp.655-661.
- [13] Q. Li, H. Yan, J. Zhang, Z. Lui (2004), "Effect of hydrocarbons precursors on the formation of carbon nanotubes in chemical vapor deposition", *Carbon*, **42**, pp.829-835.
- [14] N. Su, B. Zheng, J. Liu (2000), "A scalable CVD method for the synthesis of single - walled carbon nanotubes with high catalyst productivity", *Chemical Physics Letters*, **322**, pp.321-326.
- [15] Hao Liu, Yong Zhang, Ruying Li, Xueliang Sun, Fengping Wang, Zhifeng Ding, Philippe Mérel, Sylvain Desilets (2010), "Aligned synthesis of multi-walled carbon nanotubes with high purity by aerosol assisted chemical vapor deposition: Effect of water vapor", *Applied Surface Science*, **256**, pp.4692-4696.
- [16] Qingwen Li, Xiefei Zhang, Raymond F. DePaula, Lianxi Zheng, Yonghao Zhao, Liliana Stan, Terry G. Holesinger, Paul N. Arendt, Dean E. Peterson, Yuntian T. Zhu (2006), "Sustained Growth of Ultralong Carbon Nanotube Arrays for Fiber Spinning", *Adv. Mater.*, **18**, pp.3160-3163.
- [17] Placidus B. Amama, Cary L. Pint, Laura McJilton, Seung Min Kim, Eric A. Stach, P. Terry Murray, Robert H. Hauge, Benji Maruyama (2009), "Role of Water in Super Growth of Single-Walled Carbon Nanotube Carpets", *Nano Lett.*, **9**, pp.44-49.
- [18] K. Tohji, H. Takahashi, Y. Shinoda, N. Shimizu, B. Jayadevan, I. Matsuoka (2007), "Purification procedure for single-walled nanotubes", *J. Phys. Chem. B*, **101**, pp.1974-1978.
- [19] A. Cao, X. Zhang, C. Xu, J. Liang, D. Wu, B. Wei (2001), "Aligned carbon nanotube growth under oxidative ambient", *J. Mater. Res.*, **16**, pp.3107-3110.
- [20] I. Mohamed, G. Kay, "Fabrication of micro pillars using multiwall carbon nanotubes/polymer nanocomposites", *J. Micromech. Microeng.*, **23**(5), pp.055012-055017.
- [21] Ezekiel Dixon Dikio and Nolutkanyo Bixa (2011), "Carbon Nanotubes Synthesis by Catalytic Decomposition of Ethyne Using Fe/Ni Catalyst on Aluminium Oxide Support", *International Journal of Applied Chemistry*, **7**, pp.35-42.
- [22] H. Murphy, P. Papakonstantinou, T.I.T. Okpalugo (2006), "Raman study of multiwalled carbon nanotubes functionalized with oxygen groups", *JVST B - Microelectronics and Nanometer Structures*, **24**, pp.715-720.
- [23] Roberta A. DiLeo, Brian J. Landi, Ryne P. Raffaele (2007), "Purity assessment of multiwalled carbon nanotubes by Raman spectroscopy", *Journal of Applied Physics*, **101**(064307), pp.1-5.

Chế tạo hạt nanocapsules Chitosan chứa thuốc Curcumin bằng phương pháp Coaxial electrospraying

Đoàn Ngọc Hoan¹, Phạm Ngọc Sinh², Võ Phong Phú¹, Hoàng Minh Sơn³, Huỳnh Đại Phú^{1,2*}

¹Khoa Công nghệ vật liệu, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

²Phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia Vật liệu Polymer và Composite, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

³Khoa Công nghệ hóa học, Trường Đại học Công nghiệp TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 8/6/2017; ngày chuyển phản biện 12/6/2017; ngày nhận phản biện 10/7/2017; ngày chấp nhận đăng 12/7/2017

Tóm tắt:

Hạt nanocapsule Chitosan chứa thuốc curcumin được chế tạo thành công bằng phương pháp Coaxial electrospraying - phương pháp cho phép chế tạo các hạt polymer nhiều lớp có kích thước nano bằng cách sử dụng kim đồng tâm. Sức căng bề mặt của các dung dịch Chitosan với hàm lượng Chitosan khác nhau được xác định nhằm đánh giá khả năng tạo thành cấu trúc lõi - vỏ của các hạt thu được. Nồng độ Chitosan trong dung dịch và thông số vận hành - hiệu điện thế sử dụng - được khảo sát để đánh giá ảnh hưởng của các yếu tố này đến quá trình hình thành hạt nanocapsule. Hình thái và kích thước của hạt được đánh giá bằng phương pháp kính hiển vi điện tử quét (SEM). Cấu trúc lõi - vỏ của hạt được đánh giá bằng phương pháp kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM). Các hạt tạo thành có bề mặt bằng phẳng và kích thước trong khoảng từ 15 đến 235 nm. Các kết quả cho thấy Coaxial electrospraying là phương pháp đơn giản và hiệu quả để chế tạo hạt nanocapsule.

Từ khóa: Chitosan, Coaxial electrospraying, Curcumin, nanocapsules.

Chỉ số phân loại: 2.9

Đặt vấn đề

Curcumin (diferuloylmethane) là một hợp chất polyphenol có màu vàng. Hợp chất này được coi là chất mang tính chất được lý chính trong củ nghệ vàng. Những nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng Curcumin có nhiều tính chất được lý, đặc biệt là khả năng kháng và tiêu diệt các tế bào ung thư [1, 2]. Tuy nhiên, tác dụng của Curcumin bị hạn chế nhiều trong quá trình sử dụng do khả năng hòa tan kém, nhanh bị đào thải khỏi cơ thể người [3]. Để tăng khả năng điều trị của Curcumin, một hướng tiếp cận thu hút được nhiều sự chú ý đó là kết hợp Curcumin vào các hệ mang thuốc như các hạt polymer có kích thước nano, liposome, hydrogel... [4, 5].

Chitosan là một polymer thiên nhiên thu được bằng cách deacetyl hóa chitin, một loại polysaccharide thu được từ các loại vỏ tôm, cua và một số loại giáp xác. Trong các nguyên liệu sử dụng làm hệ mang thuốc, Chitosan được xem như là một trong những polymer tốt nhất với các tính chất: Khả năng tương thích sinh học tốt, có khả năng phân hủy sinh học và có khả năng kháng khuẩn [6-8].

Trong nghiên cứu trước đây [7, 9], Electrospinning là phương pháp được áp dụng để kết hợp các loại thuốc và protein vào các hạt dẫn truyền thuốc có kích thước nanomet. Tuy nhiên, các hạt mang thuốc này có nhược

điểm là không kiểm soát được vị trí của thuốc ở trên bề mặt hạt. Do đó thường xảy ra hiện tượng nhả thuốc bùng nổ từ các hạt chế tạo bằng phương pháp này. Để khắc phục nhược điểm đó, phương pháp Coaxial electrospraying được cải tiến dựa trên phương pháp Electrospraying. So với các hạt nano tạo bằng các phương pháp Electrospraying, hạt nano tạo thành từ phương pháp Coaxial electrospraying có nhiều ưu điểm vượt trội. Với cấu trúc lõi - vỏ, hạt tạo thành từ phương pháp này có thể kiểm soát được vị trí của thuốc trong hạt, hạn chế tối đa lượng thuốc nằm ngoài hạt. Nhờ đó, hệ mang thuốc hạn chế được sự bùng nhả thuốc ở thời điểm ban đầu so với hạt không có cấu trúc lõi - vỏ [10]. Đây là một phương pháp đầy hứa hẹn để có thể chế tạo các hạt mang thuốc kích thước nano có cấu trúc lõi - vỏ. Tuy nhiên, phương pháp này bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như: Sức căng bề mặt của dung dịch và nồng độ dung dịch hay các thông số của quá trình Coaxial electrospraying (hiệu điện thế sử dụng, lưu lượng sử dụng, kích thước đầu kim...) [11, 12].

Trong nghiên cứu này, hạt nanocapsule Chitosan chứa thuốc Curcumin được chế tạo bằng phương pháp Coaxial electrospraying. Các thí nghiệm được tiến hành để dự đoán khả năng hình thành cấu trúc lõi - vỏ của hạt và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tạo hạt bao gồm: Nồng độ Chitosan, hiệu điện thế sử dụng (U), lưu lượng

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

Fabrication of Curcumin-loaded Chitosan nanocapsules using the Coaxial electrospraying method

Ngoc Hoan Doan¹, Ngoc Sinh Pham², Phong Phu Vo¹, Minh Son Hoang³, Dai Phu Huynh^{1, 2*}

¹Faculty of Materials Technology, HCMUT - VNUHCM

²National Key Laboratory of Polymer and Composite Materials, HCMUT - VNUHCM

³Faculty of Chemical Engineering, IUH

Received 8 June 2017; accepted 12 July 2017

Abstract:

Chitosan nanocapsules loaded with curcumin were fabricated using coaxial electrospraying - an electrohydrodynamic process that generates multi-layer nanoparticles by utilizing coaxial electrified jets. The surface tensions of polymer solutions in various chitosan concentrations were measured to predict the formation of the core-shell structure of the observed nanoparticles. The effects of chitosan concentrations and process parameters such as the applied voltage and flow rate on the nanoparticle generation and the morphology of final nanoparticles were examined using scanning electron microscopy (SEM). The core-shell structure of produced nanocapsules was analyzed using transmission electron microscopy (TEM). Fabricated chitosan nanocapsules had a smooth surface with the diameter ranging from 15 nm to 235 nm. Results suggested that the coaxial electrospraying is a simple and efficient technique for nanocapsules production.

Keywords: Chitosan, coaxial electrospraying, Curcumin, nanocapsules.

Classification number: 2.9

sử dụng (Q).

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

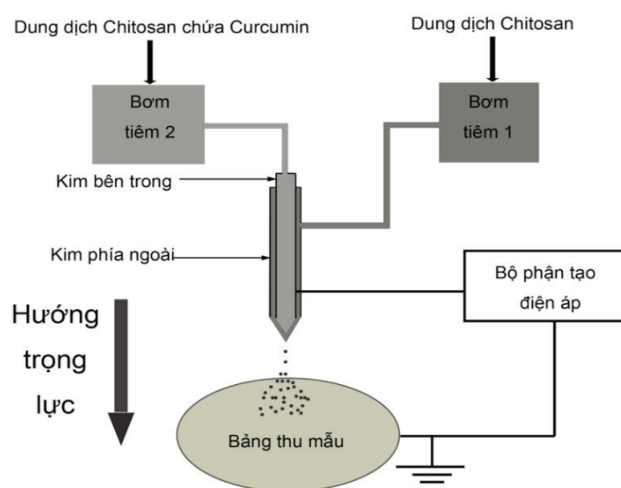
Chitosan với độ deacetyl hóa: 80-85%, trọng lượng phân tử $M_w = 100.000-300.000$ (g/mol) được mua của hãng Acros Organics (Bi). Curcumin được mua từ Viện Dược liệu (Việt Nam). Acid acetic được cung cấp bởi Prolabo chemicals. Tất cả các hóa chất được sử dụng trực tiếp mà không tiến hành thêm bất cứ phương pháp làm

tinh khiết nào khác.

Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị dung dịch Chitosan và dung dịch Chitosan chứa thuốc Curcumin: Cho Chitosan và acid acetic 90% vào lọ thủy tinh có nắp vặn. Sau đó sử dụng máy khuấy từ để hòa tan Chitosan ở nhiệt độ phòng trong vòng 24 h để Chitosan hòa tan hết trong acid acetic (dung dịch trở nên đồng nhất). Một phần ba dung dịch Chitosan ở trên được chiết ra lọ thủy tinh khác, sau đó thêm thuốc Curcumin với hàm lượng 10 wt% so với hàm lượng Chitosan. Hỗn hợp trên được khuấy từ trong vòng 1 h để hòa tan hoàn toàn thuốc Curcumin vào dung dịch.

Tạo hạt Chitosan chứa Curcumin bằng phương pháp Coaxial electrospraying: Quá trình chế tạo hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin được thực hiện bằng thiết bị Coaxial electrospraying tự chế (home-made). Việc cài đặt và thực hiện quá trình Coaxial được mô tả ở hình 1. Các dung dịch sau khi được hòa tan hoàn toàn được cho vào xilanh 20 ml nối với kim tiêm đồng tâm và được đặt vào thiết bị bơm tiêm điện. Dung dịch Chitosan sẽ được đưa vào đầu kim phía ngoài, dung dịch Chitosan chứa Curcumin được đưa vào vào đầu kim phía trong. Collector được bọc màng (phôi) nhôm để dễ dàng thu sản phẩm. Tiến hành quá trình Coaxial electrospraying với nhiệt độ 40°C, độ ẩm khoảng 80%.



Hình 1. Sơ đồ quá trình tạo hạt Chitosan chứa Curcumin bằng phương pháp Coaxial electrospraying.

Phương pháp phân tích: Sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan và dung dịch Chitosan chứa Curcumin được xác định bằng máy Dataphysics OCA 20. Mẫu được phân tích tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Polymer và Composite.

Hình thái của hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin được phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM - Hitachi S4800, Khu công nghệ cao TP Hồ Chí Minh). Đường kính hạt được xác định bằng phần mềm Image-J. Cấu trúc lõi - vỏ của hạt thu được được phân tích bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM - JEOL JEM 1400, Phòng thí nghiệm trọng điểm Polymer và Composite).

Kết quả và thảo luận

Dự đoán khả năng tạo thành cấu trúc core-shell của hạt thu được bằng cách đánh giá sức căng bề mặt và sức căng liên diện của dung dịch

Sức căng bề mặt và sức căng liên diện của 2 dung dịch sử dụng để phun có ảnh hưởng rất lớn đến cấu trúc của hạt thu được. Để đạt được cấu trúc lõi - vỏ như mong muốn, hệ số che phủ của dung dịch pha ngoài - dung dịch Chitosan lên dung dịch pha trong - dung dịch Chitosan chứa thuốc Curcumin ($\lambda_{\text{shell/core}}$) phải là dương [10, 13]. Nghĩa là:

$$\lambda_{\text{shell/core}} = \gamma_{\text{core}} - \gamma_{\text{shell}} - \gamma_{\text{shell/core}} > 0 \quad (1)$$

Trong đó γ_{core} là sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan chứa Curcumin, γ_{shell} là sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan, $\gamma_{\text{shell/core}}$ là sức căng liên diện giữa 2 pha. Trong trường hợp này, do dung dịch trong 2 pha là hai dung dịch có khả năng hòa tan vào nhau nên sức căng liên diện giữa 2 pha sẽ có giá trị gần bằng không ($\gamma_{\text{shell/core}} \approx 0$). Do đó hệ số che phủ có thể tính bằng công thức:

$$\lambda_{\text{shell/core}} = \gamma_{\text{core}} - \gamma_{\text{shell}} \quad (2)$$

Bảng 1 trình bày giá trị sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan (γ_{shell}) và sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan có chứa thuốc Curcumin (γ_{core}) với những nồng độ Chitosan khác nhau, đồng thời cũng đưa ra giá trị tính toán hệ số che phủ của pha dung dịch Chitosan lên pha dung dịch Chitosan chứa thuốc Curcumin ($\lambda_{\text{shell/core}}$).

Bảng 1. Sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan, dung dịch Chitosan chứa thuốc Curcumin và hệ số che phủ tương ứng.

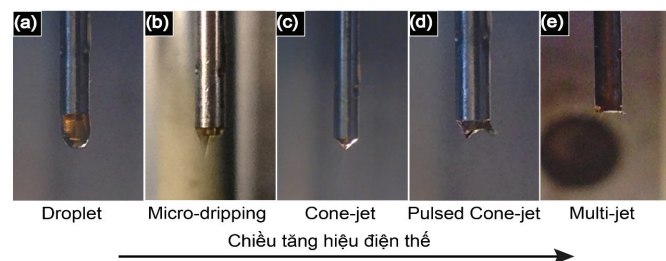
Chitosan concentration (wt%)	γ_{core}	γ_{shell}	$\lambda_{\text{shell/core}}$
2	31,47 ($\pm 0,52$)	34,44 ($\pm 2,0$)	2,97
3	31,25 ($\pm 0,42$)	32,13 ($\pm 1,12$)	0,88
4	31,58 ($\pm 0,04$)	32,16 ($\pm 0,47$)	0,58
5	31,68 ($\pm 0,09$)	32,60 ($\pm 0,48$)	0,92

Kết quả đo sức căng bề mặt của các dung dịch cho thấy không có sự khác biệt nhiều về sức căng bề mặt giữa dung dịch Chitosan và dung dịch Chitosan chứa thuốc Curcumin. Dựa vào biểu thức (2), hệ số che phủ ($\lambda_{\text{shell/core}}$) cũng được tính toán. Kết quả cho thấy các giá trị

hệ số che phủ ($\lambda_{\text{shell/core}}$) đều dương với các dung dịch chứa Chitosan nồng độ từ 2 wt% tới 5 wt%. Điều này cho thấy các cặp dung dịch đều phù hợp để tiến hành chế tạo hạt nanocapsule có cấu trúc lõi - vỏ.

Khảo sát quá trình tạo thành chế độ phun

Trong quá trình Coaxial electrospraying, chế độ phun đóng vai trò rất quan trọng đối với sự hình thành cấu trúc lõi - vỏ của hạt thu được [14, 15]. Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng hạt thu được có hình dạng tốt và có cấu trúc lõi - vỏ rõ ràng khi được tạo thành với chế độ phun là “cone-jet”. Ngoài ra, một số nghiên cứu gần đây về phương pháp Coaxial electrospraying cũng cho thấy chế độ phun bị ảnh hưởng chủ yếu bởi hiệu điện thế đưa vào hệ [10]. Do đó, phần này tập trung vào khảo sát việc hình thành các chế độ phun trên đầu kim bằng cách thay đổi hiệu điện thế áp vào hệ và giữ nguyên các thông số khác của quá trình phun như khoảng cách phun và lưu lượng phun. Hiệu điện thế với giá trị từ 5 kV đến 25 kV, độ tăng hiệu điện thế là 2,5 kV, được sử dụng để khảo sát việc hình thành các chế độ phun trên đầu kim của hệ.



Hình 2. Năm chế độ phun: (a) droplet, (b) micro-dripping, (c) stable cone-jet, (d) pulsed cone-jet, (e) multi-jet, đặt được tương ứng với các hiệu điện thế tăng dần: 5, 10, 12,5, 20 và 25 kV. Thông số Coaxial electrospraying: L = 10 cm, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2$ ml/h. Nồng độ Chitosan: 5 wt%.

Hình 2 trình bày các chế độ phun thu được khi thay đổi hiệu điện thế áp vào. Khi hiệu điện thế áp vào khá nhỏ, $U = 5$ kV, lực điện trường không đủ lớn để có thể thắng được sức căng bề mặt và lực nhớt của dung dịch, dẫn đến việc hình thành một giọt lớn trên đầu kim (hình 2 a), chế độ phun này được gọi là “droplet”. Theo thời gian, giọt polymer này phát triển ngày càng lớn. Khi kích thước của giọt polymer đủ lớn, trọng lực và lực tĩnh điện đủ lớn để thắng được sức căng bề mặt và lực nhớt của dung dịch, giọt polymer này sẽ rơi xuống màng thu và tạo thành một lớp phim mỏng. Chế độ phun này tiếp tục được ghi nhận khi hiệu điện thế tăng lên $U = 7,5$ kV. Tuy nhiên, các hạt polymer rơi xuống có kích thước nhỏ hơn với tốc độ lớn hơn so với trường hợp hiệu điện thế sử dụng $U = 5$ kV.

Chế độ phun “micro-dripping” thu được khi tăng hiệu

điện thế lên 10 kV (hình 2 b). Hiện tượng này xảy ra là do tác động của chế độ phun của đầu kim trong lên chế độ phun của đầu kim ngoài. Với hiệu điện thế này, lực điện trường chỉ đủ lớn để hình thành chế độ cone-jet ở dòng polymer phía bên ngoài. Trong khi đó, chế độ phun của dòng polymer phía bên trong vẫn đang tồn tại ở dạng giọt (droplet). Do đó cản trở sự phân tán thành các hạt nhỏ của dòng polymer phía bên ngoài. Kết quả là hình thành các giọt có kích thước micromet - nên gọi là chế độ micro-dripping.

Khi tiếp tục tăng hiệu điện thế lên đến 12,5 kV, giọt polymer ở đầu kim đã được định hình thành nón Taylor có hình côn, chế độ phun đạt được là chế độ “cone-jet”. Ở hiệu điện thế này, lực điện trường đã đủ lớn để có thể thắng được sức căng bề mặt của dung dịch polymer trong cả 2 pha, tạo thành chế độ phun “cone-jet” cho cả hai dòng polymer (hình 2 c). Đây là chế độ thích hợp để tiến hành chế tạo hạt có cấu trúc lõi - vỏ. Ngoài ra, chế độ này được duy trì khi tiếp tục tăng hiệu điện thế lên 15 kV và 17,5 kV.

Khi hiệu điện thế sử dụng tăng lên 20 kV, chế độ phun chuyển thành “pulsed cone-jet”. Ở chế độ phun này, hiệu điện thế lớn làm mất ổn định chế độ phun. Với hiệu điện thế tương đối lớn, giọt polymer ở đầu kim bị chia ra thành hai hoặc ba tia, mỗi tia là 1 “cone-jet” nhỏ, nhưng những tia này xuất hiện theo từng đợt (theo xung) theo thời gian (hình 2 d).

Khi hiệu điện thế tăng lên đến 25 kV, nón Taylor ở trên đầu kim đã biến mất, thay vào đó là hàng loạt các tia polymer có kích thước rất nhỏ xuất hiện trên đầu kim, chế độ phun này được gọi là “multi-jet” (hình 2 e). Khi hiệu điện thế quá lớn so với sức căng và lực nhớt của dung dịch, giọt polymer bị phân tách thành các tia nhỏ. Ở chế độ phun này, pha lõi và pha vỏ bị tách biệt hoàn toàn. Do đó không phù hợp để có thể tạo được cấu trúc lõi - vỏ như mong muốn.

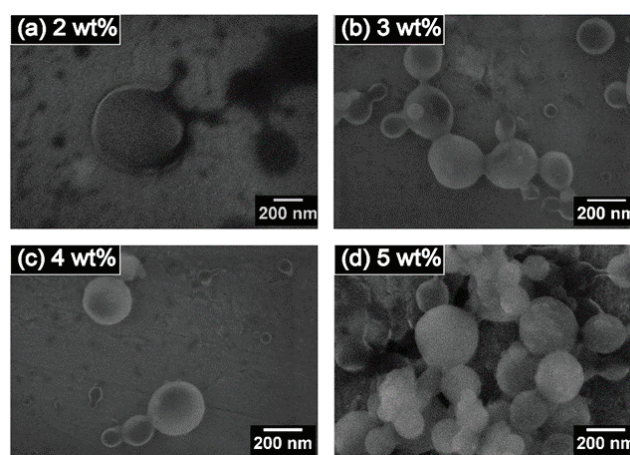
Qua quá trình khảo sát ảnh hưởng của hiệu điện thế đến chế độ phun cho thấy, chế độ phun “cone-jet” là chế độ thích hợp để tạo được hạt có cấu trúc lõi - vỏ, đạt được khi hiệu điện thế nằm trong khoảng 12,5 đến 17,5 kV. Do đó hiệu điện thế sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo sẽ nằm trong khoảng từ 12,5 đến 17,5 kV.

Ảnh hưởng của nồng độ Chitosan đến hình thái và kích thước hạt thu được

Trong phần này, sự ảnh hưởng của nồng độ Chitosan trong dung dịch đến hình thái và kích thước hạt sẽ được khảo sát và đánh giá. Dung dịch với nồng độ Chitosan từ 2 wt% đến 5 wt% được sử dụng để tiến hành tạo hạt. Các thông số Coaxial electrospraying khác được giữ nguyên trong quá trình khảo sát: $L = 10 \text{ cm}$, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2 \text{ ml/h}$, $U = 12,5 \text{ kV}$. Hình 3 là ảnh SEM của các mẫu hạt thu

được với các nồng độ Chitosan khác nhau.

Kết quả ảnh SEM cho thấy, ở nồng độ 2 wt% mẫu thu được không phải ở dạng hạt mà ở dạng màng mỏng (hình 3 a). Ở nồng độ 2 wt%, số lượng chuỗi polymer trong dung dịch không đủ lớn để hình thành nên các chuỗi rối, dung dịch nằm trong khoảng “dilute regime”, kết quả là các giọt polymer tạo thành trong quá trình Coaxial electrospraying khi di chuyển đến bảng cực thu trong quá trình bay hơi dung môi thì bị xẹp lại do các chuỗi polymer kết hợp lại với nhau không đủ để hình thành bộ xương nâng đỡ.



Hình 3. Ảnh SEM của hạt nanocapsules Chitosan chứa Curcumin thu được với nồng độ Chitosan khác nhau: (a) 2 wt%, (b) 3 wt%, (c) 4 wt%, (d) 5 wt%. Thông số Coaxial electrospraying: $L = 10 \text{ cm}$, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2 \text{ ml/h}$, $U = 12,5 \text{ kV}$.

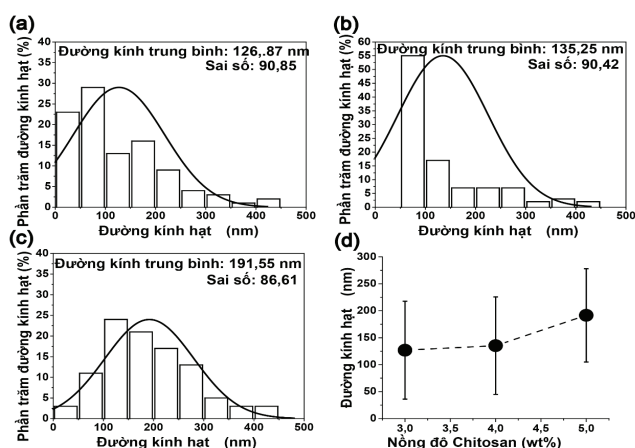
Khi nồng độ Chitosan trong dung dịch tăng lên 3 wt%, mẫu thu được đã có hình dạng hình cầu rõ ràng, bề mặt các hạt khá trơn nhẵn tuy có một phần nhỏ bị dính vào nhau. Kết quả này cho thấy, với nồng độ Chitosan là 3 wt%, dung dịch đã đạt được lượng chuỗi rối nhất định, dung dịch đã nằm trong vùng “semi-dilute moderately entangled regime”, bộ xương nâng đỡ là các chuỗi polymer liên kết với nhau đã hình thành đủ, giúp cho hạt trong quá trình bốc bay dung môi không bị thay đổi hình dạng. Kết quả không có nhiều sự khác biệt khi tăng nồng độ Chitosan từ 3 wt% lên đến 4 wt% (hình 3 b và 3 c).

Tuy nhiên, khi nồng độ tăng lên đến 5 wt%, hạt thu được có xu hướng bị dính chùm vào nhau, trên bề mặt hạt lớn xuất hiện nhiều những hạt nhỏ vệ tinh bám trên bề mặt (hình 3 d). Ở nồng độ này, tuy sức căng bề mặt không thay đổi nhiều, nhưng lực nhớt của dung dịch polymer lại tăng lên, khiến cho lực tĩnh điện không còn khả năng tách các hạt này phân tán rời ra. Kết quả là các hạt bị dính vào nhau trong quá trình bay đến màng thu.

Sự thay đổi nồng độ cũng ảnh hưởng đến kích thước

hạt thu được. Như được trình bày ở hình 4, đường kính trung bình của các hạt tăng nhẹ từ 126,87 ($\pm 90,85$) nm lên 135 ($\pm 90,42$) nm khi nồng độ Chitosan thay đổi từ 3 wt% lên 4 wt%. Tuy nhiên, khi nồng độ tăng lên 5 wt% thì có một sự thay đổi mạnh về kích thước hạt thu được, đường kính trung bình hạt tăng lên 191,55 ($\pm 86,61$) nm. Sự thay đổi về độ nhớt của dung dịch polymer được cho là nguyên nhân dẫn đến sự thay đổi kích thước hạt thu được khi thay đổi nồng độ Chitosan. Khi dung dịch có độ nhớt lớn hơn, sự tác động của điện trường lên giọt dung dịch bị giảm đi do lực nhớt của dung dịch lớn hơn, khiến cho khả năng phân tách giọt polymer bị giảm đi, kết quả là hình thành các hạt cầu polymer có kích thước lớn hơn.

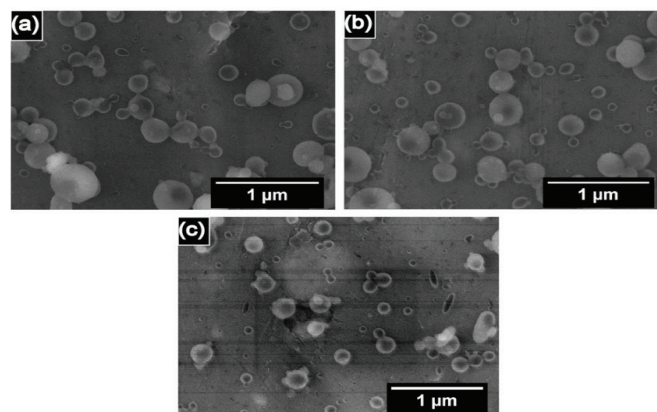
Những kết quả trên cho thấy, với nồng độ Chitosan là 3 wt%, hạt thu được có dạng hình cầu, bề mặt của hạt trơn nhẵn, kích thước hạt thu được là nhỏ nhất và gần nhất với giá trị yêu cầu là từ 70 đến 200 nm. Do đó giá trị nồng độ Chitosan 3 wt% sẽ được lựa chọn để tiếp tục tiến hành khảo sát sự ảnh hưởng của hiệu điện thế đến hình dạng và kích thước hạt trong phần tiếp theo.



Hình 4. Sự phân bố kích thước và đường kính trung bình của hạt nanocapsules Chitosan chứa Curcumin tạo thành bởi dung dịch polymer có nồng độ Chitosan khác nhau: (a) 3, (b) 4, và (c) 5 wt%. Hình (d) biểu diễn sự ảnh hưởng của nồng độ Chitosan đến kích thước trung bình hạt thu được.

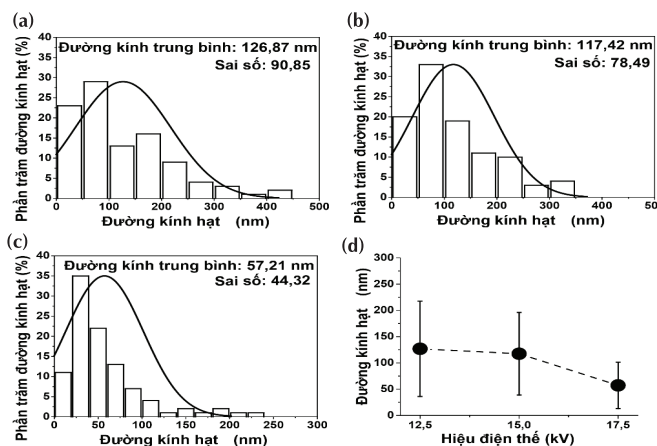
Ảnh hưởng của hiệu điện thế sử dụng đến hình dạng và kích thước hạt thu được

Trong phần này, sự ảnh hưởng của hiệu điện thế đến hình dạng và kích thước hạt của sản phẩm thu được sẽ được tiến hành khảo sát và đánh giá. Dung dịch Chitosan với nồng độ 3% được sử dụng để tiến hành thí nghiệm. Giá trị hiệu điện thế sử dụng lần lượt là các hiệu điện thế mà chế độ phun đạt được là chế độ “cone-jet”: 12,5, 15, 17,5 kV. Các thông số Coaxial electrospraying khác sẽ được giữ nguyên trong suốt quá trình khảo sát: $L = 10$ cm, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2$ ml/h.



Hình 5. Ảnh SEM của hạt nanocapsules Chitosan chứa Curcumin thu được với hiệu điện thế sử dụng khác nhau: (a) 12,5, (b) 15 và (c) 17,5 kV.

Hình 5 là ảnh SEM của mẫu hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin tạo thành với các hiệu điện thế khác nhau. Nhìn chung hình dạng của các hạt thu được ở các hiệu điện thế khác nhau không có nhiều sự khác biệt. Các hạt thu được có dạng hình cầu rõ ràng, bề mặt các hạt khá trơn nhẵn. Khi tăng hiệu điện thế sử dụng, các hạt thu được có xu hướng tách rời nhau hơn. Với sự gia tăng hiệu điện thế, lực điện trường trong quá trình Coaxial electrospraying được tăng cường, giúp cho quá trình phân tách giọt polymer được thực hiện dễ dàng, lực đẩy Coulomb trong trường hợp này cũng cao hơn nên các hạt thu được sẽ dễ dàng phân tách trong quá trình bay đến màng thu.



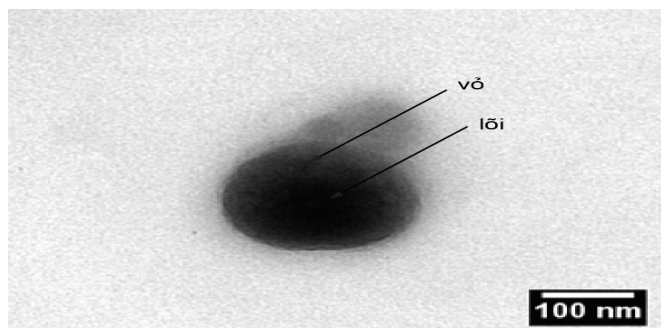
Hình 6. Sự phân bố kích thước và đường kính trung bình của hạt nanocapsules Chitosan chứa Curcumin thu được với hiệu điện thế sử dụng khác nhau: (a) 12,5, (b) 15 và (c) 17,5 kV. Hình (d) biểu diễn sự ảnh hưởng của nồng độ Chitosan đến kích thước trung bình hạt thu được.

Hiệu điện thế cũng ảnh hưởng đến kích thước hạt nanocapsule thu được. Trên ảnh SEM của 3 mẫu hạt thu ở ba hiệu điện thế khác nhau (hình 5) có thể thấy kích thước của các hạt thu được có xu hướng nhỏ hơn khi hiệu điện

thể tăng lên. Sự thay đổi về kích thước khi hiệu điện thế thay đổi được trình bày chi tiết ở hình 6. Khi hiệu điện thế thay đổi từ 12,5 kV lên 15 kV, chỉ có một sự thay đổi nhỏ về đường kính trung bình của hạt thu được, từ 126,87 ($\pm 90,85$) xuống 117,42 ($\pm 78,49$) nm. Tuy nhiên, có một sự thay đổi lớn về kích thước hạt khi hiệu điện thế tăng lên 17,5 kV: Đường kính hạt trung bình giảm chỉ còn 57,21 ($\pm 44,32$) nm. Sự thay đổi về hiệu điện thế dẫn đến sự thay đổi hình dạng nón Taylor. Với sự tăng lên về hiệu điện thế, nón Taylor có xu hướng trở nên nhọn, tạo điều kiện cho việc phân tách giọt polymer trên đầu nón trở nên dễ dàng hơn, kết quả là sự thay đổi về kích thước hạt thu được.

Cấu trúc lõi - vỏ của hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin

Cấu trúc của hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin được phân tích bằng kính hiển vi điện tử truyền qua TEM. Hình 7 là ảnh TEM của hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin được tạo thành bằng cách sử dụng các thông số Coaxial electrospraying: $L = 10$ cm, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2$ ml/h, $U = 17,5$ kV, nồng độ Chitosan: 3 wt%.



Hình 7. Ảnh TEM của hạt nanocapsule Chitosan chứa Curcumin. Thông số Coaxial electrospraying: $L = 10$ cm, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2$ ml/h, $U = 17,5$ kV, nồng độ Chitosan: 3 wt%.

Kết quả ảnh TEM cho thấy hạt nanocapsule thu được đã đạt được cấu trúc lõi - vỏ như mong muốn. Tuy nhiên, biên giới giữa pha lõi và pha vỏ trong hạt thu được không rõ ràng. Hiện tượng này xảy ra là do hai dung dịch sử dụng trong pha lõi và pha vỏ là hai dung dịch có khả năng hòa tan vào nhau. Do đó, trong quá trình Coaxial electrospraying, hai pha dung dịch này có xu hướng khuếch tán vào nhau. Kết quả hạt khi thu được có pha lõi và pha vỏ khuếch tán một phần vào nhau. Ngoài ra, do sự khác biệt không nhiều về thành phần pha - chỉ khác biệt một phần nhỏ lượng thuốc đưa vào - nên khả năng phân biệt hai pha bằng phương pháp TEM vẫn còn nhiều hạn chế.

Kết luận

Hạt nanocapsules Chitosan chứa Curcumin đã được chế tạo thành công bằng phương pháp Coaxial electrospraying. Việc phân tích sức căng bề mặt của dung dịch Chitosan

và dung dịch Chitosan chứa Curcumin cho thấy hệ dung dịch sử dụng có thể tạo được hạt có cấu trúc lõi - vỏ. Thông số tốt nhất để tiến hành tạo hạt bằng phương pháp Coaxial electrospraying là: Nồng độ Chitosan: 3 wt%, $L = 10$ cm, $Q_{\text{core}}/Q_{\text{shell}} = 0,1/0,2$ ml/h, $U = 17,5$ kV. Các hạt nanocapsule được chế tạo từ bộ thông số này có kích thước từ 15 đến 235 nm. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng phương pháp Coaxial electrospraying là một phương pháp hiệu quả để chế tạo hệ mang thuốc có kích thước nano có cấu trúc lõi - vỏ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số B2015-20a-01. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Anand, C. Sundaram, S. Jhurani, A.B. Kunnumakkara & B.B. Aggarwal (2008), "Curcumin and cancer: An 'old-age' disease with an 'age-old' solution", *Cancer letters*, **267**(1), pp.133-164.
- [2] R. Wilken, M.S. Veena, M.B. Wang & E.S. Srivatsan (2011), "Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma", *Molecular cancer*, **10**(1), p.12.
- [3] P. Anand, A.B. Kunnumakkara, R.A. Newman & B.B. Aggarwal (2007), "Bioavailability of curcumin: problems and promises", *Molecular pharmaceutics*, **4**(6), pp.807-818.
- [4] S. Bisht, G. Feldmann, S. Soni, R. Ravi, C. Karikar, A. Maitra & A. Maitra (2007), "Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): A novel strategy for human cancer therapy", *Journal of nanobiotechnology*, **5**(1), p.3.
- [5] N.S. Rejinold, M. Muthunayanan, V.V. Divyarani, P.R. Sreerekha, K.P. Chennazhi, S.V. Nair & R. Jayakumar (2011), "Curcumin-loaded biocompatible thermoresponsive polymeric nanoparticles for cancer drug delivery", *Journal of colloid and interface science*, **360** (1), pp.39-51.
- [6] M. Rinaudo (2006), "Chitin and chitosan: properties and applications", *Progress in polymer science*, **31**(7), pp.603-632.
- [7] T.D. Nguyen, N.H. Doan, D.P. Huynh (2015), "Research on micro-nano Chitosan spheres fabricated by electrospraying for insulin delivery system", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **53**(2b), pp.11-20.
- [8] S.A. Agnihotri, N.N. Mallikarjuna & T.M. Aminabhavi (2004), "Recent advances on chitosan-based micro-and nanoparticles in drug delivery", *Journal of controlled release*, **100**(1), pp.5-28.
- [9] L.V.N. Vu, N.H. Tran, D.P. Huynh (2017), "Electrospray method: Processing parameters influence on morphology and size of PCL particles", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **55**(1b), pp.209-215.
- [10] L. Zhang, J. Huang, T. Si, R.X. Xu (2012), "Coaxial electrospray of microparticles and nanoparticles for biomedical applications", *Expert review of medical devices*, **9**(6), pp.595-612.
- [11] Y.K. Hwang, U. Jeong, E.C. Cho (2008), "Production of Uniform-Sized Polymer Core-Shell Microcapsules by Coaxial Electrospraying", *Langmuir*, **24**(6), pp.2446-2451.
- [12] M. Zamani, M.P. Prabhakaran, E. San Thian, S. Ramakrishna (2014), "Protein encapsulated core-shell structured particles prepared by coaxial electrospraying: investigation on material and processing variables", *International journal of pharmaceutics*, **473**(1), pp.134-143.
- [13] L. Zhang, J. Huang, T. Si, R.X. Xu (2012), "Coaxial electrospray of microparticles and nanoparticles for biomedical applications", *Expert review of medical devices*, **9**(6), pp.595-612.
- [14] T. Si, L. Zhang, G. Li, C.J. Roberts, X. Yin & R. Xu (2013), "Experimental design and instability analysis of coaxial electrospray process for microencapsulation of drugs and imaging agents", *Journal of biomedical optics*, **18**(7), pp.075003-075003.
- [15] X. Chen, L. Jia, X. Yin, J. Cheng, J. Lu (2005), "Spraying modes in coaxial jet electrospray with outer driving liquid", *Physics of fluids*, **17**(3), 032101.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI VIẾT ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

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

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

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

Tên bài báo

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

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

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

Tóm tắt

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

Dẫn nhập/đặt vấn đề

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

Đối tượng và phương pháp

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

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

Kết quả

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

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

Bàn luận

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

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

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

Kết luận

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

Chú thích và tài liệu tham khảo

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Tòa soạn không trả lại bản thảo.

- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.

- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng: kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của Y - dược học

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 59 - Number 9 - September 2017

Nghiên cứu xác định các tạp chất bằng ICP-MS sau khi tách chúng khỏi nền Zr(IV) bằng phương pháp chiết dung môi với TBP/Toluen.

Chu Mạnh Nhung, Nguyễn Thị Mai Phương, Nguyễn Văn Trung

Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy nhân tạo đến sinh trưởng phát triển của nấm *Cordyceps militaris*.

Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Thị Phương Đoài, Trần Thị Thu Hà, Trần Đăng Khánh, Khuất Hữu Trung

Nghiên cứu thực nghiệm khả năng chống chọc thủng của sàn phẳng bê tông cốt thép được gia cường bởi cốt sợi kim loại vô định hình.

Đặng Công Thuật, Đinh Ngọc Hiếu, Trương Gia Toại

Ảnh hưởng của các thông số búa rung thủy lực đến lực cản của đất và độ dịch chuyển của cọc thép trong quá trình hạ cọc.

Vũ Văn Trung, Thái Hà Phi, Trần Quang Hùng

Tính toán cân bằng nước xác định quy mô các ao trong khu nuôi tôm thâm canh.

Nguyễn Phú Quỳnh

Nghiên cứu giải pháp bơm rửa vùng lắng đọng trong đường ống vận chuyển dầu trong điều kiện không dừng khai thác.

Nguyễn Hoài Vũ, Phạm Thành Vinh, Trần Xuân Đào, Nguyễn Thế Vinh

Nghiên cứu một số tính chất của vật liệu polyme compozit PA11/bột tre có sử dụng chất tương hợp PVA.

Nguyễn Vũ Giang, Mai Đức Huỳnh, Trần Hữu Trung, Đỗ Quang Thắm

Nghiên cứu sử dụng carbon nanotube tăng cường tính chất cơ lý cho cao su mặt lốp xe máy trong hệ cao su thiên nhiên và cao su tổng hợp styrene-butadien.

Nguyễn Trần Hà, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Vương Vĩnh Đạt, Lê Văn Thăng

Tuyển chọn vi khuẩn acetic chịu nhiệt ứng dụng trong lên men acid acetic.

Huỳnh Xuân Phong, Nguyễn Mỹ Vi, Nguyễn Ngọc Thanh, Bùi Hoàng Đăng Long, Toshiharu Yakushi, Kazunobu Matsushita, Ngô Thị Phương Dung

Sàng lọc chủng nấm men *Saccharomyces Cerevisiae* có khả năng tích lũy kẽm cao.

Nguyễn Thị Trang, Lê Đức Mạnh, Nguyễn Thị Minh Khanh, Trịnh Thanh Hà, Lê Thị Thắm, Phạm Thu Trang, Lê Hồng Quang

Tổng hợp với hiệu suất cao carbon nano ống bằng phương pháp lắng đọng từ pha hơi và sử dụng hơi nước.

Trương Hữu Trì, Bùi Thị Lập, Nguyễn Đình Lâm

Chế tạo hạt nanocapsules Chitosan chứa thuốc Curcumin bằng phương pháp Coaxial electrospraying.

Đoàn Ngọc Hoan, Phạm Ngọc Sinh, Võ Phong Phú, Hoàng Minh Sơn, Huỳnh Đại Phú

1 Determination of impurities by ICP-MS after separating them from the Zr(IV) matrix by solvent extraction with TBP/Toluene.

Manh Nhung Chu, Thi Mai Phuong Nguyen, Van Trung Nguyen

6 Effect of the nutritional medium and environment on artificial fruiting body formation of *Cordyceps militaris*.

Minh Duc Nguyen, Thi Phuong Doai Nguyen, Thi Thu Ha Tran, Dang Khanh Tran, Huu Trung Khuat

13 Experimental study on the punching shear capacity of flat slab reinforced with amorphous steel fibers.

Cong Thuat Dang, Ngoc Hieu Dinh, Gia Toai Truong

18 Surveying the effect of hydraulic vibrator parameters on the resistance between steel piles and soils when installing.

Van Trung Vu, Ha Phi Thai, Quang Hung Tran

24 Water balance calculation to determine the sizes of intensive shrimp ponds.

Phu Quynh Nguyen

31 Method of cleaning deposition in gas and oil transportation pipeline without interrupting production process.

Hoai Vu Nguyen, Thanh Vinh Pham, Xuan Dao Tran, The Vinh Nguyen

35 A study on properties of PA11/bamboo flour composites using PVA compatibilizer.

Vu Giang Nguyen, Duc Huynh Mai, Huu Trung Tran, Quang Tham Do

39 Investigation of carbon nanotubes as fillers to enhance the mechanical properties of motorbike tire rubber based on natural rubber and synthetic styrene-butadiene rubber.

Tran Ha Nguyen, Thi Minh Nguyet Nguyen, Vinh Dat Vuong, Van Thang Le

44 The selection of thermotolerant acetic acid bacteria and their applications for acetic acid fermentation.

Xuan Phong Huynh, My Vi Nguyen, Ngoc Thanh Nguyen, Hoang Dang Long Bui, Toshiharu Yakushi, Kazunobu Matsushita, Thi Phuong Dung Ngo

50 Screening of highly organic zinc enriched *Saccharomyces Cerevisiae*.

Thi Trang Nguyen, Duc Manh Le, Thi Minh Khanh Nguyen, Thanh Ha Trinh, Thi Tham Le, Thu Trang Pham, Hong Quang Le

54 Highly efficient water-assisted synthesis of carbon nanotubes by the chemical vapor deposition method.

Huu Tri Truong, Thi Lap Bui, Dinh Lam Nguyen

59 Fabrication of Curcumin-loaded Chitosan nanocapsules using the Coaxial electrospraying method.

Ngoc Hoan Doan, Ngoc Sinh Pham, Phong Phu Vo, Minh Son Hoang, Dai Phu Huynh