



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

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

B

Tập 61 - Số 8 - Tháng 8 năm 2019

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 thạch học và sự biến đổi sau trầm tích của đá móng carbonate tuổi Paleozoic ở phía tây bắc bể Sông Hồng

Liêu Kim Phụng^{1*}, Bùi Thị Luận¹, Vũ Thị Tuyền²

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

²Viện Dầu khí Việt Nam

Ngày nhận bài 12/2/2019; ngày chuyển phản biện 18/2/2019; ngày nhận phản biện 22/3/2019; ngày chấp nhận đăng 28/3/2019

Tóm tắt:

Đá móng carbonate tuổi Paleozoic khu vực tây bắc bể Sông Hồng trong những năm gần đây đã khai thác được dòng dầu có giá trị thương mại. Đây là đối tượng đang được quan tâm của các công ty trong hoạt động tìm kiếm, thăm dò và khai thác dầu khí. Tuy nhiên, đá móng carbonate khu vực này chưa được nghiên cứu chi tiết về đặc tính thạch học và sự biến đổi sau trầm tích. Vì thế, nội dung của bài báo này chủ yếu tập trung phân tích và nghiên cứu chi tiết về thành phần thạch học nhằm xác định tướng đá carbonate cũng như sự biến đổi sau trầm tích.

Các tướng đá carbonate ở phía đông bắc vùng nghiên cứu là đá vôi kết tinh, đá vôi packstone, đá vôi wackestone và đá bùn vôi, chúng hiếm khi bị dolomite hoá. Ở phía tây bắc của vùng đa phần là tướng đá vôi kết tinh và đá vôi packstone. Đá vôi trong khu vực bị biến đổi mạnh, tạo thành đá dolomite do ảnh hưởng của hoạt động núi lửa. Khối đá móng carbonate bị nén ép và hoà tan tạo thành kiến trúc kiểu dạng đường khâu và các dạng lỗ rỗng: lỗ rỗng nứt nẻ, lỗ rỗng hoà tan và lỗ rỗng giữa các khoáng dolomite.

Trên cơ sở kết quả phân tích thạch học và đối sánh với kết quả phân tích foraminifera cho thấy, đá móng carbonate ở khu vực nghiên cứu được lắng đọng trong môi trường trầm tích biển nông.

Từ khóa: bể Sông Hồng, biến đổi sau trầm tích, đá carbonate, môi trường trầm tích, tướng thạch học.

Chỉ số phân loại: 1.5

Giới thiệu chung

Bể Sông Hồng là bể lớn nhất ở Việt Nam nằm trong khoảng 105°30'-110°30' kinh độ Đông, 14°30'-21°00' vĩ độ Bắc, với tổng diện tích khoảng 250.000 km². Bể được thành tạo từ giai đoạn Eocene đến Oligocene do ảnh hưởng của tách giãn trong khu vực theo hướng bắc - nam. Sự tách giãn xảy ra khi mảng Ấn Độ va chạm với mảng Âu Á [1-3] làm cho khối Đông Dương bị trượt về phía đông nam và quay theo chiều kim đồng hồ (hình 1). Sự hình thành và tiến hoá của bể Sông Hồng đến ngày nay do ảnh hưởng của tách giãn biển Đông và hệ thống đứt gãy Sông Hồng. Bể Sông Hồng được hình thành từ địa hào qua quá trình lắng đọng trầm tích của sông và hồ. Giai đoạn Miocene trung - Miocene muộn, bể trải qua hàng loạt chuyển động kiến tạo nghịch và hút chìm nhiệt [4]. Bể Sông Hồng có cấu trúc địa chất phức tạp và thay đổi theo hướng đông bắc - tây nam và nam.

Địa tầng của bể Sông Hồng có thay đổi từ bắc vào nam, trong đó địa tầng khu vực phía bắc bể Sông Hồng (hình 2) bao gồm đá móng carbonate có xen kẹp cát kết, đá biến chất, đá magma trước Đệ tam và phủ bên trên là trầm tích Paleogene, Neogene và Đệ tứ [5]. Đá móng carbonate nứt nẻ phía tây bắc bể Sông Hồng là đối tượng tìm kiếm và thăm dò dầu khí có tiềm năng.

Gần đây đã phát hiện dòng dầu có trữ lượng thương mại trong đá móng carbonate nứt nẻ ở bể Sông Hồng, vì thế các công ty dầu khí trong và ngoài nước cùng với Viện Dầu khí Việt Nam [6] đẩy mạnh nghiên cứu và tìm kiếm, thăm dò dầu khí tại khu vực này. Để phục vụ cho việc tìm kiếm, thăm dò dầu khí đạt hiệu quả cao hơn, chúng tôi nghiên cứu chi tiết về đặc tính của các tướng đá carbonate khu vực tây bắc bể Sông Hồng và sự biến đổi sau trầm tích của chúng.

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

Petrographic studies and diagenetic evolution of Paleozoic carbonate basement rock in the northwest Song Hong basin

Kim Phuong Lieu^{1*}, Thi Luan Bui¹, Thi Tuyen Vu²

¹University of Science - Vietnam National University, Ho Chi Minh City

²Vietnam Petroleum Institute

Received 12 February 2019; accepted 28 March 2019

Abstract:

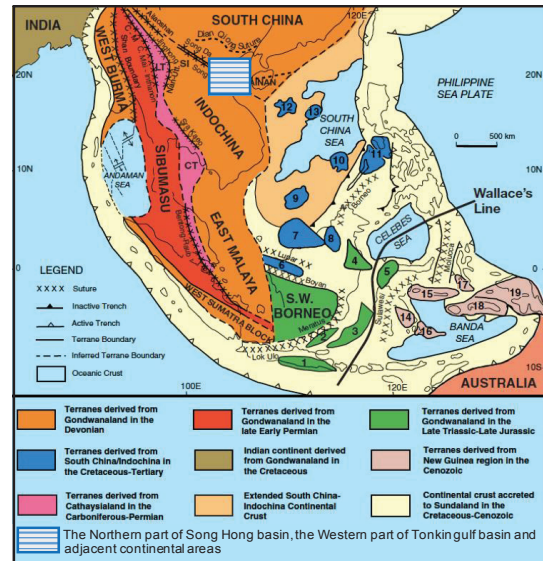
In recent years, commercial oils have been exploited in the Paleozoic carbonate basement rock of the northwest Song Hong basin. This is one of objects that are paid more attention by oil companies in oil exploration and exploitation. However, the carbonate basement rock in the area has not still been studied thoroughly in terms of petrographic characteristics and post-depositional alteration. Hence, the article focuses on revealing the detailed petrographic component to determine the lithofacies and diagenetic evolution.

In the northeast of the study area, the carbonate basement rock is composed mainly of crystalline limestone, packstone, wackestone, and mudstone, and they are rarely dolomitized. In the northwest of the study area, the major compositions of rock are crystalline limestone and packstone. These rocks have been strongly dolomitized forming dolostone that interbeds in the carbonate mass due to the influence of volcanic activities. The carbonate basement mass has been experienced squeezing and dissolution, which produces stylolite texture, fractured pores, vuggy pores and pores in dolomite crystals.

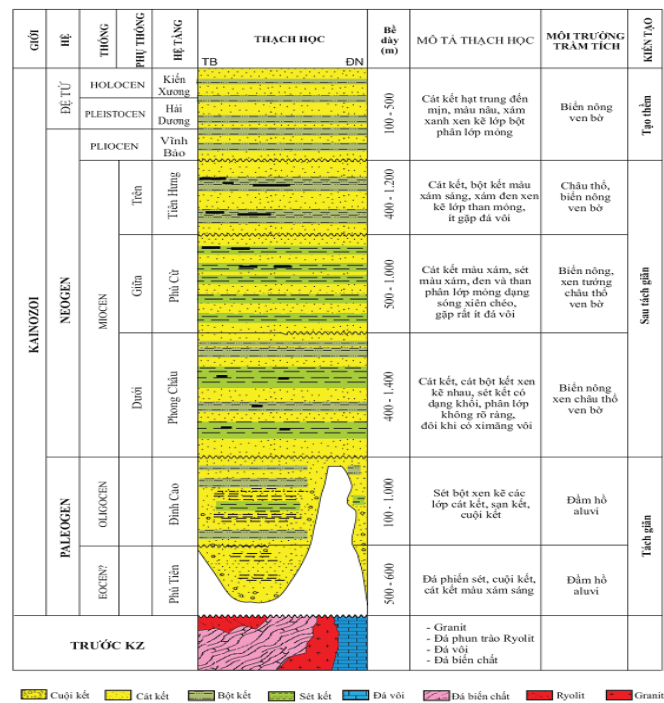
According to the petrographic analytic results and presence of foraminiferal assemblages, the carbonate basement rock has been accumulated in the shallow depositional environment.

Keywords: carbonate rock, depositional environment, diagenesis, lithofacies, Song Hong basin.

Classification number: 1.5



Hình 1. Bản đồ kiến tạo bể Sông Hồng [7] và vị trí vùng nghiên cứu.



Hình 2. Cột địa tầng bắc bể Sông Hồng [5].

Phương pháp nghiên cứu

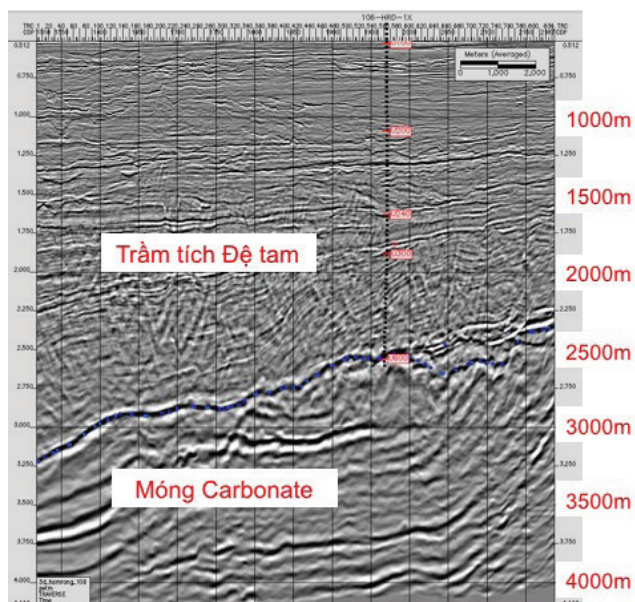
- Tổng hợp các tài liệu địa chất, địa chấn, địa vật lý và thạch học của các giếng khoan trong khu vực nghiên cứu từ các nghiên cứu trước và các công ty dầu khí.

- Kết hợp với kết quả phân tích lát mỏng thạch học dưới kính hiển vi phân cực và kính hiển vi điện tử của các mẫu vụn và mẫu lõi/sườn của các giếng khoan để xác định tương đá và sự thay đổi sau trầm tích của đá móng carbonate ở phía tây bắc bể Sông Hồng. Mục đích của phân tích lát

mỏng thạch học nhằm xác định phần trăm thể tích của đá, thành phần khoáng vật, thành phần mảnh vụn sinh vật, xi măng, độ rỗng nhìn thấy được trên mỗi lát mỏng [8, 9]. Mô tả kiến trúc đá và phân loại đá [10]. Các khoáng vật thuộc nhóm carbonate được phân biệt bằng phương pháp nhuộm màu [11]. Kết quả nhận diện các khoáng vật dưới kính hiển vi phân cực: calcite không chứa sắt có màu hồng nhạt - đỏ; calcite chứa sắt có màu tím hoa cà, màu tím, xanh hoàng gia; dolomite không chứa sắt không màu và dolomite chứa sắt có màu lam nhạt đến lam đậm. Hình thái của các khoáng vật, các dạng lỗ rỗng, vi lỗ rỗng và mối tương quan của chúng được phân tích bằng kính hiển vi điện tử, ở độ phóng đại lớn.

Kết quả nghiên cứu

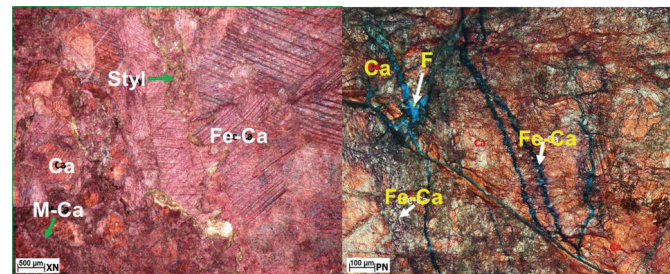
Những mẫu vụn và mẫu sườn/lõi của đá móng carbonate được lấy ở độ sâu trong khoảng 1700 m đến 4100 m từ 05 giếng khoan: T-1X, T-2X, R-2X, RN-1X và RD-1X ở phía tây bắc bể Sông Hồng. Giếng khoan T-1X và T-2X ở phía đông bắc của khu vực nghiên cứu, có địa hình cao và giếng khoan R-2X, RN-1X và RD-1X ở phía tây bắc của vùng, có địa hình thấp hơn. Đá móng carbonate không đồng nhất, bị dolomite hoá, đôi khi chúng bị xen kẽ bởi đá phun trào, các lớp mỏng cát kết hạt mịn, đai mạch silic và chúng được phân bố ở phía tây bắc của vùng nghiên cứu. Phủ bất chỉnh hợp bên trên là trầm tích Đệ tam có thành phần sét kết, bột kết và cát kết (hình 3). Dựa trên kết quả phân tích thành phần thạch học, đá móng carbonate có thể được chia thành 05 tướng thạch học: đá vôi kết tinh, đá vôi packstone, đá vôi wackestone, đá bùn vôi và đá dolomite.



Hình 3. Mặt cắt địa chấn thể hiện phản xạ của bề mặt móng carbonate và trầm tích Đệ tam [12].

Đá vôi kết tinh

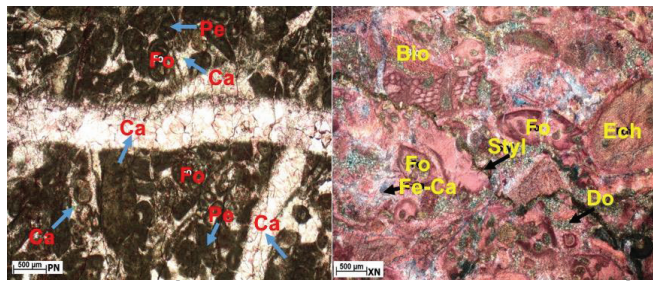
Tướng đá này phân bố phổ biến trong khoảng độ sâu 1750-1800 m, ở phần trên cùng phía đông bắc và từ độ sâu ≥ 3500 m ở phía tây bắc của khu vực nghiên cứu (hình 4). Ngoài ra, đá vôi kết tinh còn lấp vào các đường nứt nẻ, đôi khi chúng xen kẽ trong đá bùn vôi và đá vôi wackestone. Đá có thành phần chính là khoáng calcite kết tinh không chứa sắt, có màu hồng và đôi chỗ có sự hiện diện của calcite chứa sắt, có màu tím do nhuộm màu. Những mảnh vụn sinh vật như foraminifera, echinoderm, algae hiện diện trong đá. Đá bị nứt nẻ và có kiến trúc dạng đường khâu (stylolite: đường nứt ngoằn ngoèo được tạo ra do sự hoà tan khoáng vật). Các khoáng vật kết tinh sau quá trình lắng đọng trầm tích như thạch anh thứ sinh trám vào các nứt nẻ của đá. Các lỗ rỗng của đá được tạo ra do sự hoà tan (vuggy pores) và nứt nẻ (fractured pores) còn được bảo tồn.



Hình 4. Đá vôi kết tinh bắt gặp ở độ sâu 3800 và 3860 m trong giếng khoan RD-1X và RN-1X. Thành phần chính của đá là khoáng calcite không chứa sắt (M-Ca, Ca) có màu hồng, đôi chỗ là calcite chứa sắt (Fe-Ca) có màu tím hoa cà do nhuộm màu. Đá bị nứt nẻ tạo ra các lỗ rỗng nứt nẻ (F) và kiến trúc dạng đường khâu (Styl). Đôi khi nứt nẻ được lấp đầy bởi calcite chứa sắt có màu xanh (Fe-Ca).

Đá vôi packstone

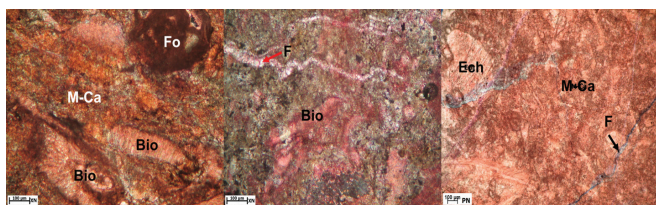
Ở phía đông bắc vùng nghiên cứu, tướng đá packstone hiện diện ở bên dưới tướng đá bùn vôi kết tinh và về phía tây bắc của vùng, tướng đá này bị chen kẽ bởi đá vôi wackestone, đá dolomite và chúng bị dolomite hoá (hình 5). Mảnh vụn sinh vật như foraminifera: nhóm *Fusulinid*, *Boultonia* sp., *Nodosinelloides* sp., *Palaeotextularia* sp. Ngoài ra, còn có sự hiện diện của algae, coral, echinoderm, bryozoa, brachiopod, mảnh vụn đá vôi và kết hạch vôi (peloids) có dạng cầu vôi thành phần là bùn và mảnh khoáng vật vụn có nguồn gốc từ lục địa, chiếm hàm lượng $>10\%$ trong tổng thành phần của đá, chúng tiếp xúc nhau và được gắn kết bởi bùn vôi và bùn vôi kết tinh thành microspar calcite (4-10 μm), pseudospar calcite (10-50 μm) [13] và đôi khi chúng bị dolomite hoá. Đá bị nứt nẻ và có kiến trúc dạng đường khâu, những nứt nẻ của đá phần nào được lấp đầy bởi khoáng calcite không chứa sắt có màu hồng và calcite chứa sắt có màu tím nhạt và xanh lam. Các lỗ rỗng của đá là những nứt nẻ còn sót lại và những lỗ rỗng giữa các tinh thể dolomite.



Hình 5. Đá vôi packstone bắt gặp ở độ sâu 3500 và 3950 m trong giếng khoan RD-1X và RN-1X. Đá chứa mảnh vụn sinh vật foraminifera (Fo), echinoderm (Ech), kết hạch vôi (Pe) và mảnh vỡ sinh vật (Bio). Những mảnh vụn sinh vật chiếm >10% trong tổng thành phần của đá, tiếp xúc nhau và được gắn kết bởi microspar calcite (Ca). Đôi chỗ đá bị dolomite hoá (Do). Đá bị nứt nẻ và có kiến trúc dạng đường khâu (Styl), những nứt nẻ của đá phần nào được lấp đầy bởi khoáng calcite không chứa sắt có màu hồng (Ca).

Đá vôi wackestone

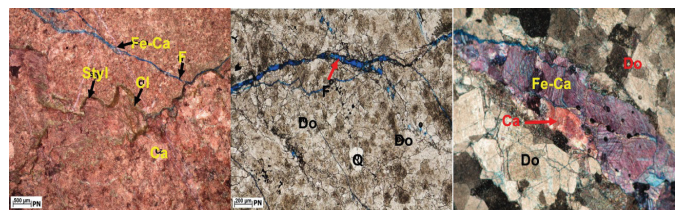
Ở phía đông bắc của khu vực nghiên cứu, đá vôi wackestone phân bố ở bên dưới đá vôi packstone, trong khoảng độ sâu 2315-2400 m (hình 6). Ở phía tây bắc của vùng, tướng đá này xen kẽ trong đá vôi kết tinh, đá vôi packstone và đá dolomite. Đá vôi wackestone chứa mảnh vụn sinh vật foraminifera: *Nodosinelloides* sp., *Palaeotextularia* sp. Ngoài ra, còn có sự hiện diện của algae, echinoderm, kết hạch vôi (peloids) và mảnh vụn đá vôi (intraclasts: những mảnh vụn calcite hoặc đá vôi có trước), chúng trôi nổi trên nền bùn vôi có kiến trúc vi hạt, đôi chỗ bùn vôi biến đổi silic. Thành phần mảnh vụn chiếm khoảng 10% trong tổng thành phần phần trăm của đá. Đá bị nứt nẻ, có kiến trúc dạng đường khâu, đôi chỗ đá bị dolomite hoá tạo thành khoáng dolomite không chứa sắt và thỉnh thoảng bùn vôi tái kết tinh tạo thành khoáng calcite (microspar) không chứa sắt, có màu hồng. Những nứt nẻ của đá được trám bởi khoáng calcite không chứa sắt. Các lỗ rỗng của đá là những khe nứt còn sót lại.



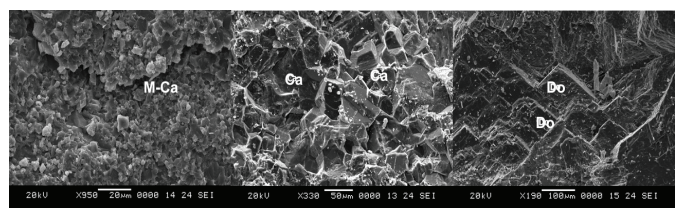
Hình 6. Đá vôi wackestone bắt gặp ở độ sâu 2330, 2345 và 3782 m trong các giếng khoan T-1X, T-2X và RD-1X. Thành phần của đá bùn vôi có kiến trúc vi hạt (M-Ca), đôi chỗ bùn vôi biến đổi silic (ảnh giữa) và mảnh vụn sinh vật echinoderm (Ech), foraminifera (Fo), mảnh vỡ sinh vật (Bio), chúng trôi nổi trên nền bùn vôi. Đá bị nứt nẻ (F) và những nứt nẻ của đá được trám bởi khoáng calcite không chứa sắt.

Đá bùn vôi

Ở phía đông bắc của khu vực nghiên cứu, tướng đá bùn vôi phân bố ở bên dưới đá vôi wackestone, bắt gặp trong khoảng độ sâu 2500-2540 m. Ở phía tây bắc của vùng, tướng đá này thỉnh thoảng xen kẽ trong đá vôi packstone, đá vôi kết tinh và đá dolomite. Đá có thành phần phổ biến là bùn vôi có kiến trúc vi hạt và một ít là bùn vôi kết tinh thành khoáng calcite có kích thước microspar và kích thước micrite (<4 μ m) (hình 7 và 8). Mảnh vụn sinh vật như foraminifera và những mảnh vỡ sinh vật không xác định; chúng chiếm <10% trong tổng thành phần phần trăm của đá, có kiến trúc trôi nổi trên nền bùn vôi.



Hình 7. Đá bùn vôi và đá dolomite bắt gặp ở độ sâu 3740, 3500 và 3780 m trong các giếng khoan RD-1X và RN-1X. Đá bùn vôi (ảnh trái) có thành phần phổ biến là bùn vôi vi hạt (micrite calcite), đôi chỗ là bùn vôi kết tinh thành khoáng microspar calcite (Ca) và rất ít mảnh vụn sinh vật hiện diện. Đá bị nén ép tạo nứt nẻ (F) và kiến trúc dạng đường khâu (Styl), chúng được trám bởi sét (Cl) và khoáng calcite chứa sắt (Fe-Ca). Đá dolomite có thành phần là khoáng dolomite mịn hạt (ảnh giữa), dạng nửa tự hình (Do), mờ đục thay thế vào calcite vi hạt và kết tinh trước. Dolomite thô hạt hơn (ảnh phải), trong suốt, tự hình hơn (Do), thành tạo sau dolomite mịn hạt. Đá bị nứt nẻ (F) và nứt nẻ được lấp đầy bởi khoáng calcite chứa sắt (Fe-Ca). Dolomite hóa tạo ra các lỗ rỗng giữa các tinh thể dolomite.



Hình 8. Ảnh SEM thể hiện hình dạng tinh thể của các khoáng calcite vi hạt (M-Ca), kích thước phổ biến <5 μ m, có kiến trúc tha hình và nửa tự hình và khoáng calcite (Ca) thô hạt hơn với kích thước >20 μ m, có kiến trúc tự hình hơn. Dolomite (Do) có dạng hình thoi tự hình với kích thước >50 μ m.

Đá dolomite

Tướng đá này thành tạo từ những đá vôi packstone, wackestone và đá vôi kết tinh bị dolomite hoá trong quá trình biến đổi sau trầm tích. Bùn vôi và khoáng calcite bị thay thế và biến đổi thành khoáng dolomite có dạng hình thoi tự hình và nửa tự hình (hình 7 và 8). Kiến trúc của đá

nửa tự hình (planar-subhedral). Đá dolomite phân bố xen kẽ trong đá vôi packstone và đá vôi wackestone, chúng thường phổ biến trong các giếng khoan ở khu vực tây bắc của vùng nghiên cứu. Mảnh vụn sinh vật trong đá hầu hết bị dolomite hoá. Sự dolomite hoá tạo ra các lỗ rỗng hiện diện giữa các khoáng dolomite.

Đa phần đá móng carbonate bị hoà tan và nén ép tạo ra các đường nứt nẻ và kiến trúc dạng đường khâu. Nứt nẻ phần nào đó được trám bởi khoáng calcite và vật chất silic. Ở khu vực đông bắc, tương đá carbonate thay đổi theo độ sâu tăng dần như đá vôi kết tinh, đá vôi packstone, đá vôi wackestone, đá bùn vôi, chúng hiếm khi bị dolomite hoá. Tuy nhiên, phía tây bắc vùng nghiên cứu phổ biến là tương đá vôi kết tinh và đá vôi packstone bị dolomite hoá mạnh tạo thành các lớp đá dolomite. Ngoài ra, chúng còn bị xen kẽ bởi đá vôi wackestone, đá bùn vôi. Qua kết quả phân tích thạch học và sự hiện diện của các dấu vết cổ sinh vật, đặc biệt là các tổ hợp giống loài của foraminifera cho thấy đá bùn vôi và đá vôi wackestone có thành phần bùn vôi mịn hạt, chứa ít mảnh vụn sinh vật phổ biến lắng đọng trong môi trường biển có năng lượng thấp, nước tương đối yên tĩnh như vùng vịnh (lagoon). Đá vôi packstone chứa mảnh vụn sinh vật và mảnh vụn đá vôi nhiều hơn, chúng được lắng đọng trong môi trường biển có năng lượng thay đổi thấp - cao. Đá vôi kết tinh với thành phần chính là khoáng calcite, kết tinh trong giai đoạn bùn vôi bị mất CO₂ do bốc hơi, tạo thành những lớp đá vôi kết tinh phủ bên trên đá vôi packstone ở đông bắc vùng nghiên cứu. Ngoài ra, đá vôi kết tinh còn xen kẽ trong đá vôi ở vùng tây bắc của khu vực nghiên cứu.

Tóm lại, về môi trường trầm tích của đá carbonate khu vực nghiên cứu, dựa trên đặc tính thạch học của đá, mảnh vụn khoáng có nguồn gốc lục địa, kết hạch vôi và mảnh vụn sinh vật foraminifera (nhóm *Fusulinid*, *Boultonia* sp., *Nodosinelloides* sp., *Palaeotextularia* sp.), ngoài ra còn có sự hiện diện của algae, coral, echinoderm, bryozoa, brachiopod, có thể kết luận rằng đá carbonate lắng đọng trong môi trường biển nông, ven bờ.

Sự thay đổi sau trầm tích

Dựa trên kết quả nghiên cứu thạch học, đá móng carbonate phía tây bắc bể Sông Hồng trải qua quá trình biến đổi sau trầm tích như sự kết tinh của bùn vôi thành khoáng calcite, sự dolomite hoá. Quá trình nén ép và hoà tan tạo những đường nứt nẻ và dạng đường khâu, đôi chỗ khoáng calcite và thạch anh thứ sinh lấp vào những đường nứt nẻ.

Sự kết tinh của bùn vôi thành khoáng calcite

Thành phần bùn vôi của đá vôi kết tinh thành những khoáng calcite có kích thước từ micrite (<4 μm) đến pseudospar (10-50 μm), chúng không có sự thay đổi về

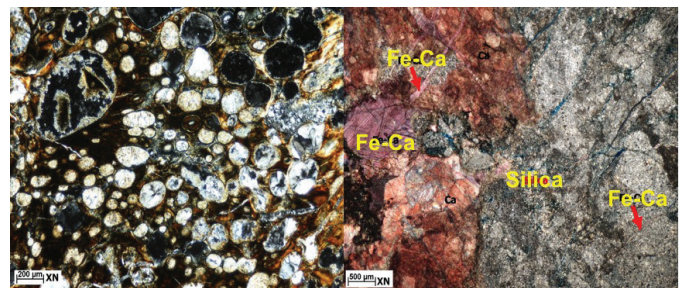
thành phần hoá học và khoáng vật. Thành phần bùn vôi bên trong mảnh vụn sinh vật kết tinh thành khoáng calcite vi hạt và những khoáng calcite hạt thô bao quanh mảnh vụn sinh vật tạo thành kiến trúc khâu.

Dolomite hoá

Đá dolomite với thành phần là khoáng dolomite có kích thước mịn - thô, chúng thay thế vào khoáng calcite, mảnh vụn sinh vật và đôi khi lấp vào những đường nứt nẻ. Khoáng dolomite gồm dolomite hạt mịn, mờ đục, chúng thay thế vào calcite vi hạt và kết tinh trước. Dolomite hạt thô, tự hình hơn, trong suốt và được thành tạo sau, trong giai đoạn chôn vùi. Dolomite hoá tạo ra các lỗ rỗng và vi lỗ rỗng giữa các tinh thể dolomite, làm gia tăng độ rỗng của đá.

Nứt nẻ và kiến trúc dạng đường khâu

Những đường nứt nẻ và dạng đường khâu xảy ra sau quá trình dolomite hoá do ảnh hưởng của hoạt động kiến tạo. Đường nứt cắt xuyên qua khối đá vôi, mảnh vụn sinh vật và đá dolomite, chúng được trám bởi calcite hạt thô. Ngoài ra, ở phía tây bắc vùng nghiên cứu, đá móng carbonate bị xuyên cắt bởi đá tuff (hình 9) do ảnh hưởng của hoạt động núi lửa trong khu vực, đá có kiến trúc porphyry và bị biến đổi silic, chlorite, calcite, sét hoá và đôi khi là vật chất có thành phần silic có dạng mạch (hình 9) tiêm nhập vào khối đá carbonate. Đá móng carbonate bị hoà tan tạo các lỗ rỗng (vuggy, mouldic pores) và kiến trúc dạng đường khâu do những khoáng vật sét có trong đá bị hoà tan.



Hình 9. Đá tuff (ảnh trái) và đai mạch silic (silica) tiêm nhập trong đá carbonate bắt gặp ở phía tây bắc vùng nghiên cứu trong giếng khoan RN-1X và RD-1X ở độ sâu 3390 và 3790 m. Đá tuff có kiến trúc porphyry, nên vi tinh bị chlorite và sét hoá, trong khi đó ban tinh bị biến đổi silic. Đôi chỗ đai mạch silic bị thay thế bởi calcite chứa sắt (Fe-Ca).

Thảo luận và kết luận

Đá móng carbonate có cấu tạo dạng khối, bị biến đổi sau trầm tích và làm tăng độ rỗng của đá [14, 15]. Một phần lỗ rỗng nứt nẻ bị lấp đầy bởi khoáng calcite, dolomite thành tạo trong các giai đoạn sau [16]. Ngoài ra, trong nghiên cứu này đã phát hiện các đai mạch silic và đá tuff tiêm nhập vào đá móng carbonate, chúng có thể là nguyên nhân dẫn đến đá móng carbonate bị dolomite hoá, làm tăng độ rỗng thứ

sinh của đá. Đây là vấn đề cần tiếp tục nghiên cứu chi tiết sau này.

Từ kết quả nghiên cứu kết hợp với báo cáo thạch học [17], đá móng carbonate khu vực tây bắc bể Sông Hồng có sự thay đổi về thành phần thạch học với các tướng đá bùn vôi kết tinh, đá vôi packstone, đá vôi wackestone, đá bùn vôi và đá dolomite, chúng được lắng đọng trong môi trường trầm tích biển nông, ven bờ, yên tĩnh, năng lượng thấp. Sự thành tạo đá này do ảnh hưởng trực tiếp của sự thay đổi mực nước biển dâng toàn cầu [18]. Điều này phù hợp với bối cảnh địa chất khu vực và sự tiến hoá của bể trầm tích, Sông Hồng [6]. Sau khi bùn vôi được lắng đọng trầm tích, chúng trải qua quá trình tạo đá và biến đổi sau trầm tích như bị dolomite hoá tạo thành những lớp đá dolomite xen kẽ trong khối đá vôi. Dolomite gồm 2 thể hệ: dolomite hạt mịn, mờ đục kết tinh trước và sau đó là dolomite hạt thô, tự hình, trong suốt kết tinh sau trong giai đoạn chôn vùi [19]. Đá carbonate bị hoà tan và nén ép tạo đường nứt, lỗ rỗng và dạng đường khâu. Các đường nứt phần nào được trám bởi calcite hạt thô, vật chất silic. Các lỗ rỗng của đá bao gồm lỗ rỗng nứt nẻ (fractured pores), lỗ rỗng hoà tan (vuggy & mouldic pores) và lỗ rỗng giữa các khoáng dolomite (intergranular pores).

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: C2019-18-28; sự hỗ trợ tài liệu của Viện Dầu khí Việt Nam, Tổng công ty Thăm dò và Khai thác Dầu khí (PVEP). Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P. Tapponnier, R. Armijo, I. Manighetti, and V. Courtillot (1990), "Bookshelf faulting and horizontal block rotations between overlapping rifts in southern Afar", *Geophysical Research Letters*, **7(1)**, pp.1-4.
- [2] Huchon, et al. (1994), "Indochina peninsula and collision of India and Eurasia", *Geology*, **22**, pp.27-30.
- [3] G.H. Lee, L.A. Lawver (1995), "Cenozoic plate reconstruction of Southeast Asia", *Tectonophysics*, **251**, pp.85-138.
- [4] B.T.T. Huyen, Y. Yamada, T. Matsuoka (2004), "Reconstruction of the Tectonic Evolution of the North Song Hong Basin offshore area in Vietnam based on Seismic interpretation", *Journal Geological Society of India*, **69**, pp.889-905.
- [5] Nguyễn Hiệp, Nguyễn Văn Đắc (Chủ biên) (2005), *Địa chất và tài nguyên dầu khí Việt Nam*, Tập đoàn Dầu khí Việt Nam, tr.189-219.

[6] Nguyễn Giang Vũ (2013), "Những vấn đề về tiến trình phát triển cấu tạo lô 102 và 106 bể Sông Hồng liên quan đến tiềm năng dầu khí", *Tuyển tập báo cáo Hội nghị khoa học và công nghệ, Viện Dầu khí Việt Nam 25 năm xây dựng và trưởng thành*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr.283-309.

[7] I. Metcalfe (2011), *Palaeozoic-Mesozoic history of SE Asia*, The SE Asian Gateway, pp.7-35, 61.

[8] M. Soloman, R. Green, Geol Rundsch (1966), "A chart for designing modal analysis by point counting", *International Journal of Earth Science*, **55**, pp.844-848.

[9] L. van der Plas and A.C. Tobi (1965), "A chart for judging the reliability of point counting results", *American Journal of Science*, **263**, pp.87-90.

[10] R.J. Dunham (1962), "Classification of Carbonate Rocks according to Depositional Textures", *American Association of Petroleum Geologist (AAPG) Memoir*, **1**, pp.108-121.

[11] J.A.D. Dickson (1965), "A modified staining technique for carbonates in thin section", *Nature*, **205**, p.587.

[12] PVEP-ITC (2014), *Đề án nghiên cứu địa chất, địa vật lý của móng carbonat trước Kainozoi ở các lô 102/10 và 106/10*.

[13] M.E. Tucker (1985), "Shallow-marine carbonate facies and facies models", *Geological Society*, **18**, pp.147-169.

[14] Lê Trung Tâm, Cù Minh Hoàng và Phạm Văn Tuấn (2014), "Đặc điểm thạch học trầm tích thành tạo carbonate trước Kainozoi mô Hầm Rỗng, Đông Bắc bể Sông Hồng", *Tạp chí Dầu khí Việt Nam*, **5**, tr.23-30.

[15] Lê Trung Tâm, Phạm Văn Tuấn và Ngô Văn Hưng (2015), "Đặc trưng tầng chứa đá carbonate Mesozoic ở cụm cấu tạo Hầm Rỗng, lô 106 thềm lục địa Việt Nam", *Tạp chí Dầu khí Việt Nam*, **5**, tr.26-31.

[16] Nguyễn Văn Hoàng và Nguyễn Anh Đức (2014), "Nghiên cứu đá móng carbonate nứt nẻ khu vực lô 102-106 bằng tài liệu địa vật lý giếng khoan", *Tạp chí Dầu khí Việt Nam*, **11**, tr.23-28.

[17] Viện Dầu khí Việt Nam (2005, 2009, 2011, 2014, 2015), *Báo cáo thạch học*.

[18] M.E. Tucker, V.P. Wright, J.A.D. Dickson (1990), *Carbonate Sedimentology*, Blackwell Science Ltd, USA, pp.101-227.

[19] Peter A. Scholle and Dana S. Ulmer-Scholle (2003), *A color guide to the petrography of carbonate rocks: Grains, textures, porosity, diagenesis*, AAPG Memoir 77, The American Association of Petroleum Geologist Tulsa, Oklahoma, USA. pp.372-375.

Hệ thống học nhóm Thông đất và Dương xỉ ở Việt Nam theo hệ thống PPG (Pteridophyte Phylogeny Group) I

Đỗ Văn Trường*

Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 14/11/2018; ngày chuyển phản biện 19/11/2018; ngày nhận phản biện 17/12/2018; ngày chấp nhận đăng 21/12/2018

Tóm tắt:

Theo hệ thống PPG I, nhóm Thông đất và Dương xỉ ở Việt Nam được sắp xếp trong 2 lớp, 3 phân lớp, 14 bộ, 37 họ và 136 chi, trong đó có 6 họ được ghi nhận mới cho Việt Nam, gồm: Cystopteridaceae, Rhachidosaraceae, Diplaziopsidaceae, Didymochlaenaceae, Hypodematiaceae và Nephrolepidaceae. Bên cạnh đó, giới hạn và vị trí của một số chi và họ theo quan điểm của PPG I tương đối khác so với các nghiên cứu trước đó.

Từ khóa: Dương xỉ, hệ thống học, Khuyết thực vật, PPG I.

Chỉ số phân loại: 1.6

Classification of the Lycophytes and Ferns of Vietnam following the classification scheme of PPG I

Van Truong Do*

Vietnam National Museum of Nature,
Vietnam Academy of Science and Technology

Received 14 November 2018; accepted 21 December 2018

Abstract:

According to the PPG (Pteridophyte Phylogeny Group) I, totally there are 2 classes, 3 subclasses, 14 orders, 37 families, and 136 genera of the lycophytes and ferns in Vietnam, of which the six following families were newly recorded: Cystopteridaceae, Rhachidosaraceae, Diplaziopsidaceae, Didymochlaenaceae, Hypodematiaceae, and Nephrolepidaceae. Furthermore, the delimitation and location of some families and genera of the lycophytes and ferns in Vietnam according to the classification scheme of PPG I were rather different from the previous studies.

Keywords: classification, Fern, Lycophytes, PPG I.

Classification number: 1.6

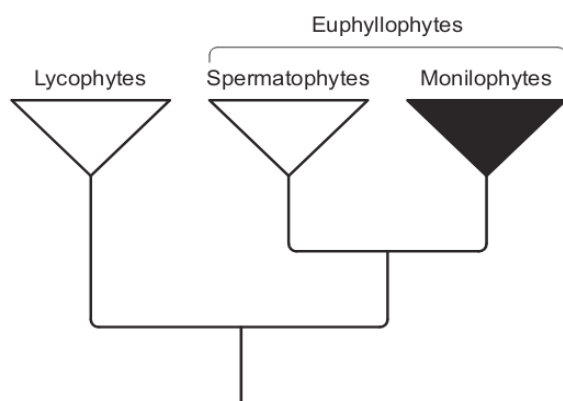
Đặt vấn đề

Ở nước ta, phần lớn các tài liệu nghiên cứu về hệ thống học và phân loại thực vật được biên soạn từ đầu thế kỷ trước, trong đó khối lượng và vị trí các họ được thừa nhận và sắp xếp theo các hệ thống Bentham & Hooker (1862-1883) [1], Takhtajan (1973) [2], Cronquist (1981) [3], Brummitt (1992) [4] trên cơ sở hình thái học đã không phản ánh được đầy đủ mối quan hệ và nguồn gốc phát sinh loài. Kể từ khi kỹ thuật PCR được hình thành và phát triển, đã góp phần quan trọng trong nghiên cứu mối quan hệ phát sinh loài và tiến hóa sinh vật, đồng thời là cơ sở quan trọng để hình thành và phát triển hệ thống phân loại hiện đại. Trong đó, APG (Angiosperm Phylogeny Group) [5-8], đã và đang được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu và đào tạo tại các trường đại học, viện nghiên cứu.

Theo quan điểm hình thái học truyền thống, nhóm thực vật bậc cao có mạch được chia thành 2 nhóm: nhóm Khuyết thực vật hay còn gọi là nhóm thực vật bậc cao sinh sản bằng bào tử bao gồm 4 ngành: ngành Lá thông (Psilotophyta), ngành Thông đất (Lycopodiophyta), ngành Cỏ thấp bút (Equisetophyta) và ngành Dương xỉ (Polypodiophyta); nhóm thực vật có hạt (Spermatophytes) bao gồm: ngành Hạt kín (Angiospermae) và ngành Hạt trần (Gymnospermae). Kết quả nghiên cứu gần đây về mối quan hệ phát sinh chủng loại của thực vật bậc cao có mạch, các tác giả đã chứng minh rằng, ngành Thông đất (Lycopodiophyta) là nhóm khởi nguồn cho thực vật bậc cao có mạch, có quan hệ “chị-em” với các nhóm Euphyllophytes (Spermatophytes + Monilophytes (gồm Psilotophyta, Equisetophyta,

*Email: dovantruong_btn@yahoo.com.

Polypodiophyta)) [9-13] (hình 1). Trong các nghiên cứu hay xuất bản gần đây, danh pháp của nhóm Monilophytes thường được sử dụng là Pteridophytes hay “ferns and fern allies”.



Hình 1. Sự phân chia các nhóm chính của thực vật bậc cao có mạch [13].

Trên cơ sở những nghiên cứu về sinh học phân tử kết hợp với đặc điểm hình thái, Smith và cs (2006) [13] đã đề xuất một hệ thống hiện đại của nhóm Dương xỉ, tạm gọi là PPG (Pteridophyte Phylogeny Group), bao gồm 4 lớp (classes), 11 bộ (orders), 37 họ (families), và bước đầu đưa ra quan điểm về vị trí của các chi trong mỗi họ. Tuy nhiên, vị trí và mối quan hệ của một số chi và họ vẫn chưa rõ ràng. Trải qua 1 thập kỷ, những kết quả nghiên cứu sinh học phân tử gần đây đã củng cố thêm bằng chứng về vị trí và mối quan hệ giữa các taxa và đóng góp quan trọng trong việc hình thành PPG I [14]. Trong hệ thống này, các tác giả đã đề xuất một hệ thống hiện đại cho nhóm Khuyết thực vật (ngành Lá thông, ngành Thông đất, ngành Cỏ tháp bút, và ngành Dương xỉ), bao gồm: 2 lớp, 14 bộ, 51 họ, và 337 chi. Như vậy, cho đến nay đây là hệ thống bao quát và hiện đại nhất cho ngành Thông đất và nhóm Dương xỉ trên thế giới.

Hệ thống học nhóm Khuyết thực vật ở Việt Nam đầu tiên phải kể đến công trình của Phạm Hoàng Hộ (1999) [15]. Ông đã liệt kê 139 chi của 33 họ thuộc nhóm Khuyết thực vật, tuy nhiên tác giả đã không chỉ ra tên hệ thống được lựa chọn. Trong “Danh lục các loài thực vật Việt Nam”, Phan Kế Lộc [16] sử dụng một loạt hệ thống khác nhau để sắp xếp nhóm Dương xỉ ở Việt Nam trong 143 chi, 34 họ thuộc 4 ngành thực vật, trong đó ngành Lá thông (Psilotophyta) và Cỏ tháp bút (Equisetophyta) đều có 1 họ duy nhất, ngành Thông đất (Lycopodiophyta) gồm 3 họ, và ngành Dương xỉ (Polypodiophyta) đa dạng nhất với 29 họ. Gần đây nhất, trên cơ sở hệ thống của Smith và cs (2006) [13], Phan Kế Lộc (2010) [17] đã sắp xếp 717 loài của nhóm Dương xỉ ở Việt Nam vào 135 chi, 28 họ, 11 bộ và 4 lớp: Khuyết lá

thông (Psilotopsida), Cỏ tháp bút (Equisetopsida), Dương xỉ tảo sen (Marattiopsida) và Dương xỉ (Polypodiopsida). Đây là một công trình có tính hệ thống và đầy đủ về các họ thực vật các ngành Lá thông, Thông đất, Cỏ tháp bút, và Dương xỉ ở Việt Nam so với các nghiên cứu trước đó [15, 16]. Tuy nhiên, tác giả chưa so sánh hay đánh giá sự khác biệt về vị trí và giới hạn của các taxa (họ và chi) theo quan điểm hệ thống PPG với các nghiên cứu trước đó [15, 16].

Như vậy, ngành Thông đất và nhóm Dương xỉ ở Việt Nam bước đầu đã được sắp xếp theo hệ thống phân loại, tuy nhiên các hệ thống đó hoặc đã lạc hậu, không có sự cập nhật, hoặc là các hệ thống phân loại truyền thống được xây dựng chủ yếu dựa vào các đặc điểm hình thái và giải phẫu, chưa xét đến mối quan hệ phát sinh chủng loại và tiến hóa của các họ thực vật. Do đó, tiếp cận với các kết quả nghiên cứu mới và lựa chọn một hệ thống hiện đại, thích hợp để sắp xếp các nhóm thực vật trên ở Việt Nam là cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng hệ thống PPG I làm cơ sở để sắp xếp các taxa nhóm Thông đất và Dương xỉ đã được ghi nhận ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần vào việc đánh giá tính đa dạng của khu hệ Dương xỉ ở Việt Nam, tiếp cận với sự phát triển của nền khoa học thế giới, đồng thời để nâng cao sự hiểu biết về giới hạn và vị trí các taxa phục vụ cho việc sắp xếp các mẫu tiêu bản trong hệ thống các phòng tiêu bản ở Việt Nam, thuận tiện cho quá trình nghiên cứu và trao đổi mẫu vật với các phòng tiêu bản trên thế giới.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Nhóm Khuyết thực vật ở Việt Nam gồm: ngành Lá thông, ngành Thông đất, ngành Cỏ tháp bút, ngành Dương xỉ.

Phương pháp nghiên cứu

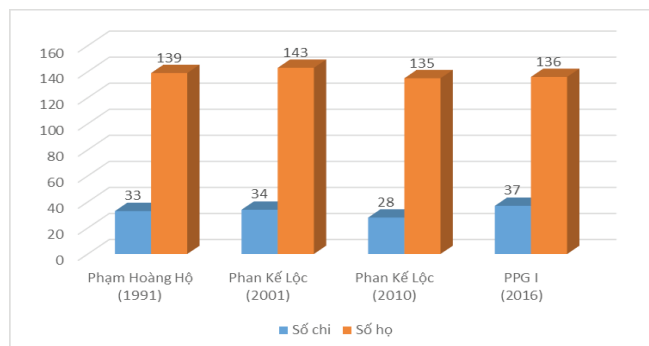
Trên cơ sở kế thừa tài liệu từ các nghiên cứu trước đó về hệ thống học nhóm Khuyết thực vật ở Việt Nam của các tác giả Phạm Hoàng Hộ (1999) [15], Phan Kế Lộc (2001, 2010) [16, 17], chúng tôi tiến hành phân tích, tổng hợp, so sánh và sắp xếp các họ và chi nhóm Khuyết thực vật ở Việt Nam theo hệ thống hiện đại PPG I [14].

Kết quả và thảo luận

Quan điểm về giới hạn và vị trí các taxa thực vật ngành Lá thông, Thông đất, Cỏ tháp bút, và Dương xỉ ở Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ [15], và Phan Kế Lộc [16], là tương đối đồng nhất, mặc dù vẫn có một số điểm khác biệt về giới hạn của một số họ giữa 2 quan điểm này (bảng 1). Vị trí và giới hạn của các chi và họ thực vật ngành Lá thông, Cỏ tháp bút, và Dương xỉ ở Việt Nam theo quan điểm trước đó [15, 16] có nhiều sự khác biệt so với quan điểm của Phan Kế Lộc

[17] khi tác giả dựa trên hệ thống hiện đại PPG của Smith và cs [13]. Tuy nhiên, ngành Thông đất chưa được đề cập đến trong nghiên cứu của Phan Kế Lộc [17] (bảng 1).

So sánh các họ và chi thực vật ngành Lá thông, Thông đất, Cỏ tháp bút, và Dương xỉ ở Việt Nam theo quan điểm của Phạm Hoàng Hộ [15], Phan Kế Lộc [16, 17] với hệ thống PPG I [14] cho thấy, các nhóm thực vật trên ở Việt Nam được sắp xếp trong 2 lớp, 3 phân lớp, 14 bộ, 37 họ và 136 chi (bảng 1, biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Số lượng các họ và chi nhóm Khuyết thực vật ở Việt Nam theo các quan điểm khác nhau.

Giới hạn và vị trí các taxa theo quan điểm của PPG I là khá tương đồng với quan điểm của Phan Kế Lộc [17], mặc dù vị trí của một số taxa có sự thay đổi như: chi *Acystopteris* trước đây thuộc họ Woodsiaceae nay được chuyển sang họ Cystopteridaceae; chi *Rhachidosorus* (Woodsiaceae) được chuyển sang họ Rhachidosoraceae; chi *Diplaziopsis* (Woodsiaceae) được chuyển sang họ Diplaziopsidaceae; chi *Athyrium*, *Deparia*, *Diplazium* (Woodsiaceae) được chuyển sang họ Athyriaceae; chi *Didymochlaena* (Dryopteridaceae) được chuyển sang họ Didymochlaenaceae; chi *Hypodematium* (Dryopteridaceae hoặc Woodsiaceae), *Leucostegia* (Dryopteridaceae hoặc Davalliaceae) được chuyển sang họ Hypodematiaceae; chi *Nephrolepis* (Lomariopsidaceae hoặc Oleandraceae hoặc Davalliaceae) được chuyển sang họ Nephrolepidaceae; giới hạn một số chi trong phân họ Thelypteridoideae (Thelypteridaceae), phân họ Dryopteridoideae (Dryopteridaceae), phân họ Microsorioideae (Polypodiaceae) có sự thay đổi so với quan điểm của Phan Kế Lộc [17] (bảng 1).

Bên cạnh đó, theo quan điểm PPG I, số lượng họ thực vật nhóm Thông đất và Dương xỉ ở Việt Nam nhiều hơn so với số họ thực vật được thống kê trong các nghiên cứu trước đó [15-17], trong đó 6 họ được ghi nhận mới cho khu hệ thực vật Việt Nam, gồm: Cystopteridaceae, Rhachidosaraceae, Diplaziopsidaceae, Didymochlaenaceae, Hypodematiaceae, và Nephrolepidaceae (bảng 1, biểu đồ 1).

Bảng 1. Sắp xếp các họ và chi thực vật ngành Thông đất và nhóm Dương xỉ ở Việt Nam theo hệ thống PPG I [15].

Hệ thống PPG I	Hệ thống các chi thực vật ở Việt Nam theo PPG I	Phạm Hoàng Hộ (1999)	Phan Kế Lộc (2001)	Phan Kế Lộc (2010)
LYCOPODIOPSIDA				
A. Bộ Lycopodiales				
1. Họ Lycopodiaceae				
Phân họ Lycopodielloideae	<i>Lycopodiella</i>		<i>Lycopodiella</i>	Không đề cập đến
Phân họ Lycopodiodeae	<i>Lycopodium</i>	<i>Lycopodium</i>	<i>Lycopodium</i>	Không đề cập đến
Phân họ Huperziodeae	<i>Huperzia</i>	<i>Huperzia</i>	<i>Huperzia</i>	Không đề cập đến
B. Bộ Isoetales				
2. Họ Isoetaceae	<i>Isoetes</i>	<i>Isoetes</i>	<i>Isoetes</i>	Không đề cập đến
C. Bộ Selaginellales				
3. Họ Selaginellaceae	<i>Selaginella</i>	<i>Selaginella</i>	<i>Selaginella</i>	Không đề cập đến
POLYPODIOPSIDA				
Phân lớp Equisetidae				
D. Bộ Equisetales				
4. Họ Equisetaceae	<i>Equisetum</i>	<i>Equisetum</i>	<i>Equisetum</i>	<i>Equisetum</i>
Phân lớp Ophioglossidae				
E. Bộ Psilotales				
5. Họ Psilotaceae	<i>Psilotum</i>	<i>Psilotum</i>	<i>Psilotum</i>	<i>Psilotum</i>
F. Bộ Ophioglossales				
6. Họ Ophioglossaceae				
Phân họ Helminthostachyoideae	<i>Helminthostachys</i>	<i>Helminthostachys</i>	<i>Helminthostachys</i>	<i>Helminthostachys</i>
Phân họ Ophioglossodeae	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>	<i>Ophioglossum</i>
Phân họ Botrychioideae	<i>Botrychium</i>	<i>Botrychium</i>	<i>Botrychium</i>	<i>Botrychium</i>
Phân lớp Marattiales				
G. Bộ Marattiales				
7. Họ Marattiaceae	<i>Angiopteris</i> (gồm <i>Archangiopteris</i>) <i>Christensenia</i> <i>Marattia</i>	<i>Angiopteris</i> (gồm <i>Archangiopteris</i>) <i>Christensenia</i> <i>Marattia</i>	<i>Angiopteris</i> <i>Christensenia</i> <i>Marattia</i>	<i>Angiopteris</i> <i>Christensenia</i> <i>Marattia</i>
Phân lớp Polypodiidae				
H. Bộ Osmundales				
8. Họ Osmundaceae	<i>Osmunda</i>	<i>Osmunda</i>	<i>Osmunda</i>	<i>Osmunda</i>
I. Bộ Hymenophyllales				
9. Họ Hymenophyllaceae				
Phân họ Trichomanoideae	<i>Abrodictyum</i>			<i>Abrodictyum</i>
	<i>Cephalomanes</i>	<i>Cephalomanes</i>	<i>Cephalomanes</i>	<i>Cephalomanes</i>
	<i>Crepidomanes</i>	<i>Crepidomanes</i>	<i>Crepidomanes</i>	<i>Crepidomanes</i>
	<i>Didymoglossum</i>			<i>Didymoglossum</i>
	<i>Trichomanes</i>	<i>Trichomanes</i>	<i>Trichomanes</i>	<i>Trichomanes</i>
	<i>Vandenboschia</i>	<i>Vandenboschia</i>		<i>Vandenboschia</i>
Phân họ Hymenophylloideae	<i>Hymenophyllum</i>	<i>Hymenophyllum</i>	<i>Hymenophyllum</i>	<i>Hymenophyllum</i>
J. Bộ Gleicheniales				
10. Họ Dipteridaceae	<i>Cheiropleuria</i>	<i>Cheiropleuria</i> (Cheiropleuriaceae)	<i>Cheiropleuria</i> (Cheiropleuriaceae)	<i>Cheiropleuria</i>
	<i>Dipteris</i>	<i>Dipteris</i>	<i>Dipteris</i>	<i>Dipteris</i>
11. Họ Gleicheniaceae	<i>Dicranopteris</i>	<i>Dicranopteris</i>	<i>Dicranopteris</i>	<i>Dicranopteris</i>
	<i>Diplopterygium</i>	<i>Diplopterygium</i>	<i>Diplopterygium</i>	<i>Diplopterygium</i>
	<i>Gleichenia</i>	<i>Gleichenia</i>	<i>Gleichenia</i>	<i>Gleichenia</i>
K. Bộ Schizaeales				
12. Họ Lygodiaceae	<i>Lygodium</i>	<i>Lygodium</i> (Schizaeaceae)	<i>Lygodium</i> (Schizaeaceae)	<i>Lygodium</i>
13. Họ Schizaeaceae	<i>Schizaea</i>	<i>Schizaea</i>	<i>Schizaea</i>	<i>Schizaea</i>
M. Bộ Salviniaceae				
14. Họ Salviniaceae	<i>Azolla</i>	<i>Azolla</i> (Azollaceae)	<i>Azolla</i> (Azollaceae)	<i>Azolla</i>
	<i>Salvinia</i>	<i>Salvinia</i>	<i>Salvinia</i>	<i>Salvinia</i>
15. Họ Marsileaceae	<i>Marsilea</i>	<i>Marsilea</i>	<i>Marsilea</i>	<i>Marsilea</i>

N. Bộ Cyatheales				
16. Họ Plagiogyriaceae	<i>Plagiogyria</i>	<i>Plagiogyria</i>	<i>Plagiogyria</i>	<i>Plagiogyria</i>
17. Họ Cibotiaceae	<i>Cibotium</i>	<i>Cibotium</i> (Thyrsopteridaceae)	<i>Cibotium</i> (Dicksoniaceae)	<i>Cibotium</i>
18. Họ Cyatheaceae	<i>Alsophila</i>	<i>Cyathea</i>	<i>Cyathea</i>	<i>Cyathea</i>
	<i>Sphaeropteris</i>			<i>Sphaeropteris</i>
O. Bộ Polypodiales				
Phân bộ Lindsaeineae				
19. Họ Lindsaeaceae	<i>Lindsaea</i>	<i>Lindsaea</i> (Dennstaedtiaceae)	<i>Lindsaea</i> (Dennstaedtiaceae)	<i>Lindsaea</i>
	<i>Sphenomeris</i>	<i>Sphenomeris</i> (Dennstaedtiaceae)	<i>Sphenomeris</i> (Dennstaedtiaceae)	<i>Sphenomeris</i>
	<i>Tapeinidium</i>	<i>Tapeinidium</i> (Dennstaedtiaceae)	<i>Tapeinidium</i> (Dennstaedtiaceae)	<i>Tapeinidium</i>
Phân bộ Pteridineae				
20. Họ Pteridaceae	<i>Acrostichum</i>	<i>Acrostichum</i>	<i>Acrostichum</i>	<i>Acrostichum</i>
Phân họ Parkerioideae	<i>Ceratopteris</i>	<i>Ceratopteris</i> (Parkeriaceae)	<i>Ceratopteris</i> (Parkeriaceae)	<i>Ceratopteris</i>
Phân họ Cryptogrammoideae	<i>Coniogramme</i>	<i>Coniogramme</i> (Adiantaceae)	<i>Coniogramme</i> (Adiantaceae)	<i>Coniogramme</i>
Phân họ Pteridoideae				
	<i>Anogramma</i>			<i>Anogramma</i>
	<i>Onychium</i>	<i>Onychium</i> (Adiantaceae)	<i>Onychium</i> (Adiantaceae)	<i>Onychium</i>
	<i>Pityrogramma</i>	<i>Pityrogramma</i> (Adiantaceae)	<i>Pityrogramma</i> (Adiantaceae)	<i>Pityrogramma</i>
	<i>Pteris</i>	<i>Pteris</i>	<i>Pteris</i>	<i>Pteris</i>
	<i>Syngamma</i>	<i>Syngamma</i> (Adiantaceae)	<i>Syngamma</i> (Adiantaceae)	<i>Syngamma</i>
	<i>Taenitis</i>	<i>Taenitis</i> (Adiantaceae)	<i>Taenitis</i> (Adiantaceae)	<i>Taenitis</i>
Phân họ Vittarioideae				
	<i>Adiantum</i>	<i>Adiantum</i> (Adiantaceae)	<i>Adiantum</i> (Adiantaceae)	<i>Adiantum</i>
	<i>Antrophyum</i>	<i>Antrophyum</i> (Vittariaceae)	<i>Antrophyum</i> (Vittariaceae)	<i>Antrophyum</i>
	<i>Vittaria</i>	<i>Vittaria</i> (Vittariaceae)	<i>Vittaria</i> (Vittariaceae)	<i>Vittaria</i>
Phân họ Cheilanthesoideae				
	<i>Aleuritopteris</i>			<i>Aleuritopteris</i>
	<i>Hemionitis</i>	<i>Hemionitis</i> (Adiantaceae)	<i>Hemionitis</i> (Adiantaceae)	<i>Hemionitis</i>
	<i>Mildella</i>	<i>Mildella</i> (Adiantaceae)	<i>Mildella</i> (Adiantaceae)	<i>Mildella</i>
	<i>Notholaena</i>	<i>Notholaena</i> (Adiantaceae)	<i>Notholaena</i> (Adiantaceae)	<i>Notholaena</i>
21. Họ Dennstaedtiaceae				
	<i>Dennstaedtia</i>	<i>Dennstaedtia</i>	<i>Dennstaedtia</i>	<i>Dennstaedtia</i>
	<i>Histiopteris</i>	<i>Histiopteris</i>	<i>Histiopteris</i>	<i>Histiopteris</i>
	<i>Hypolepis</i>	<i>Hypolepis</i>	<i>Hypolepis</i>	<i>Hypolepis</i>
	<i>Microlepia</i>	<i>Microlepia</i>	<i>Microlepia</i>	<i>Microlepia</i>
	<i>Monachosorum</i>	<i>Monachosorum</i>	<i>Monachosorum</i>	<i>Monachosorum</i>
	<i>Pteridium</i>	<i>Pteridium</i>	<i>Pteridium</i>	<i>Pteridium</i>
Phân bộ Aspleniineae				
22. Họ Cystopteridaceae	<i>Acystopteris</i>			<i>Acystopteris</i> (gồm <i>Cystopteris</i>)
	<i>Cystopteris</i>	<i>Cystopteris</i> (Aspleniaceae)	<i>Cystopteris</i> (Woodsiaceae)	
23. Họ Rhachidosoraceae	<i>Rhachidosorus</i>			<i>Rhachidosorus</i> (Woodsiaceae)
24. Họ Diplaziosidaceae	<i>Diplaziopsis</i>		<i>Diplaziopsis</i> (Woodsiaceae)	<i>Diplaziopsis</i> (Woodsiaceae)
25. Họ Aspleniaceae	<i>Asplenium</i>	<i>Asplenium</i>	<i>Asplenium</i>	<i>Asplenium</i>
	<i>Hymenaspium</i>			<i>Hymenaspium</i>
26. Họ Blechnaceae				
Phân họ Stenochlaenoideae	<i>Stenochlaena</i>		<i>Stenochlaena</i>	<i>Stenochlaena</i>
Phân họ Woodwardioideae	<i>Woodwardi</i>		<i>Woodwardi</i>	<i>Woodwardi</i>

Phân họ Blechnoideae	<i>Blechnum</i>	<i>Blechnum</i>	<i>Blechnum</i>	<i>Blechnum</i>
	<i>Brainea</i>	<i>Brainea</i>	<i>Brainea</i>	<i>Brainea</i>
	<i>Athyrium</i>	<i>Athyrium</i> (Aspleniaceae)	<i>Athyrium</i> (Woodsiaceae)	<i>Athyrium</i> (Woodsiaceae)
27. Họ Athyriaceae	<i>Deparia</i>	<i>Deparia</i> (gồm <i>Lunathyrium</i>)		<i>Deparia</i> (Woodsiaceae)
	<i>Diplazium</i>	<i>Diplazium</i> (Aspleniaceae)	<i>Diplazium</i> (Woodsiaceae)	<i>Diplazium</i> (Woodsiaceae)
28. Họ Thelypteridaceae				
Phân họ Phegopteridoideae	<i>Macrothelypteris</i>		<i>Macrothelypteris</i>	<i>Macrothelypteris</i>
	<i>Phegopteris</i>		<i>Phegopteris</i>	<i>Phegopteris</i>
	<i>Pseudophegopteris</i>	<i>Pseudophegopteris</i>	<i>Pseudophegopteris</i>	<i>Pseudophegopteris</i>
	<i>Ampelopteris</i>	<i>Ampelopteris</i>	<i>Ampelopteris</i>	
	<i>Christella</i>	<i>Christella</i>	<i>Christella</i>	
	<i>Coryphopteris</i>	<i>Coryphopteris</i>	<i>Coryphopteris</i>	
	<i>Cyclogramma</i>	<i>Cyclogramma</i>	<i>Cyclogramma</i>	
	<i>Cyclosorus</i>	<i>Cyclosorus</i>	<i>Cyclosorus</i>	<i>Cyclosorus</i> (gồm <i>Ampelopteris</i> , <i>Christella</i> , <i>Cyclogramma</i> , <i>Glaphyopteridopsis</i> , <i>Pneumatopteris</i> , <i>Pronephrium</i> , <i>Pseudocyclosorus</i> , <i>Stegnogramma</i> , <i>Trigonospora</i>)
Phân họ Thelypteridoideae				
	<i>Glaphyopteridopsis</i>		<i>Glaphyopteridopsis</i>	
	<i>Metathelypteris</i>	<i>Metathelypteris</i>	<i>Metathelypteris</i>	
	<i>Parathelypteris</i>		<i>Parathelypteris</i>	
	<i>Pneumatopteris</i>	<i>Pneumatopteris</i>	<i>Pneumatopteris</i>	
	<i>Pronephrium</i>	<i>Pronephrium</i>	<i>Pronephrium</i>	
	<i>Pseudocyclosorus</i>	<i>Pseudocyclosorus</i>	<i>Pseudocyclosorus</i>	
	<i>Stegnogramma</i>	<i>Stegnogramma</i>	<i>Stegnogramma</i>	
	<i>Thelypteris</i>	<i>Thelypteris</i>	<i>Thelypteris</i>	<i>Thelypteris</i> (gồm <i>Thelypteris</i> , <i>Metathelypteris</i> , <i>Parathelypteris</i>)
	<i>Trigonospora</i>	<i>Trigonospora</i>	<i>Trigonospora</i>	
29. Họ Didymochlaenaceae	<i>Didymochlaena</i>	<i>Didymochlaena</i> (Dryopteridaceae)	<i>Didymochlaena</i> (Dryopteridaceae)	<i>Didymochlaena</i> (Dryopteridaceae)
30. Họ Hypodematiaceae	<i>Hypodematium</i>		<i>Hypodematium</i> (Woodsiaceae)	<i>Hypodematium</i> (Dryopteridaceae)
	<i>Leucostegia</i>	<i>Leucostegia</i> (Davalliaceae)	<i>Leucostegia</i> (Davalliaceae)	<i>Leucostegia</i> (Dryopteridaceae)
31. Họ Dryopteridaceae				
Phân họ Polybotryoideae	<i>Polystichopsis</i>		<i>Polystichopsis</i>	
	<i>Bolbitis</i>	<i>Bolbitis</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Bolbitis</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Bolbitis</i>
	<i>Elaphoglossum</i>	<i>Elaphoglossum</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Elaphoglossum</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Elaphoglossum</i>
	<i>Lomagramma</i>		<i>Lomagramma</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Lomagramma</i>
Phân họ Elaphoglossoideae	<i>Pleocnemia</i>		<i>Pleocnemia</i>	<i>Pleocnemia</i>
	<i>Rumohra</i>	<i>Rumohra</i> (Davalliaceae)	<i>Rumohra</i> (Davalliaceae)	<i>Rumohra</i>
	<i>Teratophyllum</i>	<i>Teratophyllum</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Teratophyllum</i> (Lomariopsidaceae)	<i>Teratophyllum</i>
	<i>Arachniodes</i>	<i>Arachniodes</i>	<i>Arachniodes</i>	<i>Arachniodes</i> (gồm <i>Polystichopsis</i>)
	<i>Ctenitis</i>	<i>Ctenitis</i>	<i>Ctenitis</i>	<i>Ctenitis</i>
	<i>Cyrtomium</i>	<i>Cyrtomium</i>	<i>Cyrtomium</i>	<i>Cyrtomium</i>
Phân họ Dryopteridoideae				<i>Acrophorus</i>
	<i>Dryopteris</i> (gồm <i>Acrophorus</i> , <i>Acrorumohra</i> , <i>Dryopsis</i>)	<i>Dryopteris</i>	<i>Dryopteris</i>	<i>Acrorumohra</i>
	<i>Polystichum</i>	<i>Polystichum</i>	<i>Polystichum</i>	<i>Polystichum</i>

32. Họ Nephrolepidaceae	<i>Nephrolepis</i>	<i>Nephrolepis</i> (Davalliaceae)	<i>Nephrolepis</i> (Oleandraceae)	<i>Nephrolepis</i> (Lomariopsidaceae)
33. Họ Lomariopsidaceae	<i>Cyclopetlis</i>	<i>Cyclopetlis</i> (Dryopteridaceae)	<i>Cyclopetlis</i> (Dryopteridaceae)	<i>Cyclopetlis</i>
	<i>Lomariopsis</i>	<i>Lomariopsis</i>	<i>Lomariopsis</i>	<i>Lomariopsis</i>
	<i>Arthropteris</i>	<i>Arthropteris</i> (Davalliaceae)	<i>Arthropteris</i> (Oleandraceae)	<i>Arthropteris</i>
34. Họ Tectariaceae	<i>Pteridrys</i>	<i>Pteridrys</i> (Dryopteridaceae)	<i>Pteridrys</i> (Dryopteridaceae)	<i>Pteridrys</i>
	<i>Tectaria</i>	<i>Tectaria</i> (Dryopteridaceae)	<i>Tectaria</i> (Dryopteridaceae)	<i>Tectaria</i>
35. Họ Oleandraceae	<i>Oleandra</i>	<i>Oleandra</i> (Davalliaceae)	<i>Oleandra</i>	<i>Oleandra</i>
36. Họ Davalliaceae	<i>Davallia</i>	<i>Davallia</i> (gồm <i>Araiostegia</i> , <i>Davallodes</i>)	<i>Davallia</i> (gồm <i>Araiostegia</i> , <i>Davallodes</i>)	<i>Davallia</i> (gồm <i>Araiostegia</i> , <i>Davallodes</i>)
37. Họ Polypodiaceae				
Phân họ Loxogrammoideae	<i>Loxogramme</i>	<i>Loxogramme</i> (Grammitidaceae)	<i>Loxogramme</i>	<i>Loxogramme</i>
Phân họ Platycerioidae	<i>Platycerium</i>	<i>Platycerium</i>	<i>Platycerium</i>	<i>Platycerium</i>
	<i>Pyrrosia</i>	<i>Pyrrosia</i>	<i>Pyrrosia</i>	<i>Pyrrosia</i>
Phân họ Drynarioideae	<i>Aglaomorpha</i>	<i>Aglaomorpha</i> (gồm <i>Photinopteris</i>)	<i>Aglaomorpha</i>	<i>Aglaomorpha</i>
	<i>Arthromeris</i>	<i>Arthromeris</i>	<i>Arthromeris</i>	<i>Arthromeris</i>
	<i>Gymnogrammitis</i>	<i>Gymnogrammitis</i> (Davalliaceae)	<i>Gymnogrammitis</i> (Davalliaceae)	<i>Gymnogrammitis</i>
	<i>Selliguea</i>	<i>Selliguea</i>	<i>Selliguea</i>	<i>Selliguea</i>
	<i>Goniophlebium</i>	<i>Goniophlebium</i>	<i>Goniophlebium</i>	<i>Goniophlebium</i>
	<i>Lecanopteris</i>	<i>Lecanopteris</i>	<i>Lecanopteris</i>	<i>Lecanopteris</i>
				<i>Caobangia</i>
Phân họ Microsorioideae	<i>Lemmaphyllum</i> (gồm <i>Caobangia</i>)	<i>Lemmaphyllum</i>	<i>Lemmaphyllum</i>	<i>Lemmaphyllum</i>
	<i>Lepisorus</i>	<i>Lepisorus</i>	<i>Lepisorus</i>	<i>Lepisorus</i>
				<i>Kontumia</i>
	<i>Leptochilus</i> (gồm <i>Kontumia</i>)	<i>Leptochilus</i>	<i>Leptochilus</i>	<i>Leptochilus</i>
	<i>Microsorium</i>	<i>Microsorium</i>	<i>Microsorium</i>	<i>Microsorium</i>
	<i>Neocheiropteris</i>	<i>Neocheiropteris</i>	<i>Neocheiropteris</i>	<i>Neocheiropteris</i>
	<i>Paragramma</i>	<i>Paragramma</i>	<i>Paragramma</i>	<i>Paragramma</i>
Phân họ Polypodioidae	<i>Polypodium</i>	<i>Polypodium</i>	<i>Polypodium</i>	<i>Polypodium</i>
	<i>Acrosorus</i>	<i>Acrosorus</i> (Grammitidaceae)	<i>Acrosorus</i> (Grammitidaceae)	<i>Acrosorus</i>
	<i>Calymmodon</i>	<i>Calymmodon</i> (Grammitidaceae)	<i>Calymmodon</i> (Grammitidaceae)	<i>Calymmodon</i>
Phân họ Grammitidoideae	<i>Cochlidium</i>	<i>Cochlidium</i> (gồm <i>Xiphopteris</i>)	<i>Cochlidium</i> (gồm <i>Xiphopteris</i>)	<i>Cochlidium</i>
	<i>Grammitis</i>	<i>Grammitis</i> (Grammitidaceae)	<i>Grammitis</i> (Grammitidaceae)	<i>Grammitis</i>
	<i>Prosaptia</i>	<i>Prosaptia</i> (Grammitidaceae)	<i>Prosaptia</i> (Grammitidaceae)	<i>Prosaptia</i>
	<i>Scleroglossum</i>	<i>Scleroglossum</i> (Grammitidaceae)	<i>Scleroglossum</i> (Grammitidaceae)	<i>Scleroglossum</i>

*Tên latin của họ thực vật được in đậm trong PPG I là những họ mới được ghi nhận cho Việt Nam; các họ trong ngoặc đơn chứa đựng các chi tương ứng theo các quan điểm trước đó.

Kết luận

Dựa trên hệ thống PPG I, nhóm Thông đất và Dương xỉ ở Việt Nam được sắp xếp trong 2 lớp, 3 phân lớp, 14 bộ, 37 họ và 136 chi. Theo quan điểm này, số lượng họ thực vật nhiều hơn so với các nghiên cứu trước đó, trong đó 6 họ được ghi nhận mới cho Việt Nam, gồm: Cystopteridaceae, Rhachidosaraceae, Diplaziopsidaceae, Didymochlaenaceae, Hypodematiaceae, và Nephrolepidaceae. Bên cạnh đó, giới hạn và vị trí của của một số chi và họ theo quan điểm của PPG I tương đối khác so với quan điểm của Phạm Hoàng Hộ (1999), Phan Kế Lộc (2001, 2010). Sử dụng hệ thống PPG I cho việc sắp xếp mẫu ở các phòng tiêu bản thực vật của Việt Nam theo trình tự sau: các mẫu tiêu bản sắp xếp theo các chi, các chi đặt trong các họ tương ứng và các họ sắp xếp theo alphabet (A-Z).

LỜI CẢM ƠN

Tác giả trân trọng cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nhiệm vụ khoa học này theo chương trình hỗ trợ cán bộ trẻ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G. Bentham & J.D. Hooker (1862-1883), *Genera plantarum ad exemplaria imprimis in herbariis kewensibus servata definite*, London: L Reeve & Co.
- [2] A. Takhtajan (1973), *Evolution und Ausbreitung der Blütenpflanzen*, Stuttgart.
- [3] A. Cronquist (1981), *An integrated system of classification of flowering plants*, New York: Columbia University Press.
- [4] R.K. Brummitt (1992), *Vascular Plant Families and Genera*, Royal Botanic Gardens, Kew.
- [5] Angiosperm Phylogeny Group (AGP) I (1998), "An ordinal classification for the families of flowering plants", *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **85**, pp.531-553.
- [6] Angiosperm Phylogeny Group (AGP) II (2003), "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II", *Botanical Journal of the Linnean Society*, **41**, pp.399-436.
- [7] Angiosperm Phylogeny Group (AGP) III (2009), "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III", *Botanical Journal of the Linnean Society*, **161**, pp.105-112.
- [8] Angiosperm Phylogeny Group (AGP) IV (2016), "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV", *Botanical Journal of the Linnean Society*, **181**, pp.1-20.
- [9] K.M. Pryer, H. Schneider, S. Magallón (2004), "The radiation of vascular plants", *Assembling the Tree of Life*, Oxford Univ. Press, New York, pp.138-153.
- [10] K.M. Pryer, E. Schuettpelz, P.G. Wolf, H. Schneider, A.R. Smith, R. Cranfill (2004), "Phylogeny and evolution of ferns (monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences", *Amererica Journal of Botany*, **91**, pp.1582-1598.
- [11] K.M. Pryer, H. Schneider, A.R. Smith, R. Cranfill, P.G. Wolf, J.S. Hunt, S.D. Sipes (2001), "Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants", *Nature*, **409**, pp.618-622.
- [12] K.M. Pryer, A.R. Smith, J.S. Hunt, J.Y. Dubuisson (2001), "rbcl data reveal two monophyletic groups of filmy ferns (Filicopsida: Hymenophyllaceae)", *Amererica Journal of Botany*, **88**, pp.1118-1130.
- [13] A.R. Smith, K.M. Pryer, E. Schuettpelz, P. Korall, H. Schneider, P.G. Wolf (2006), "A classification for extant ferns", *Taxon*, **55**, pp.705-731.
- [14] The Pteridophyte Phylogeny Group (PPG I) (2016), "A community-derived classification for extant lycophytes and ferns", *Journal of Systematics and Evolution*, **54**, pp.563-603.
- [15] Phạm Hoàng Hộ (1999), *Cây cỏ Việt Nam*, **Tập 1**, NXB Trẻ.
- [16] Phan Kế Lộc (2001), *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, **Tập 1**, NXB Nông nghiệp.
- [17] Phan Ke Loc (2010), "The updaed checklist of the fern flora of Vietnam following the classification scheme of A. Smith, et al. (2006)", *Journal of Fairylake Botanical Garden*, **9**, pp.1-13.

Tối ưu điều kiện sinh tổng hợp protease từ vi khuẩn *Bacillus subtilis* Bs04 và xác định đặc tính của enzyme

Nguyễn Hữu Tuyển*, Phạm Tiến Dũng, Phan Thị Kim Ngân, Ngô Võ Kế Thành

Trung tâm Nghiên cứu triển khai, Khu Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 10/12/2018; ngày chuyển phản biện 20/12/2018; ngày nhận phản biện 14/2/2019; ngày chấp nhận đăng 26/2/2019

Tóm tắt:

Protease là enzyme được sử dụng rộng rãi và phổ biến trong nhiều lĩnh vực như y dược, công nghiệp, nông nghiệp... Trong nghiên cứu này, các tác giả tiến hành tối ưu các điều kiện lên men từ chủng *Bacillus subtilis* Bs04 nhằm thu nhận enzyme có hàm lượng và hoạt độ cao nhất. Các thành phần dinh dưỡng, yếu tố hóa - lý và đặc tính protease thu nhận lần lượt được khảo sát. Kết quả cho thấy, điều kiện tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp protease từ chủng Bs04: nguồn carbon và nitơ tốt nhất là glucose-anhydrous và cao nấm men với nồng độ tương ứng là 2% và 2,5%; pH môi trường 7,5; thu nhận enzyme sau 36 giờ lên men. Enzyme được thu nhận với hoạt độ cao nhất bằng phương pháp tủa muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ với độ bão hòa 70%. Kết quả điện di SDS-PAGE cho thấy thu nhận được enzyme với kích thước 24 kDa và 38 kDa.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, đặc tính protease, protease, tối ưu môi trường.

Chỉ số phân loại: 1.6

Đặt vấn đề

Protease là một trong những enzyme có nhiều ứng dụng rộng rãi phục vụ cho đời sống, trong các ngành công nghiệp thực phẩm, dệt may, dược phẩm. Protease có thể thu nhận từ các nguồn: thực vật, động vật và vi sinh vật. Trong đó, vi sinh vật là nguồn cho protease phong phú nhất. Một số loài vi sinh vật có khả năng tổng hợp protease như *B. subtilis*, *B. cereus*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces rimosus* và *Aspergillus oryzae*... Mặc dù có nhiều nguồn vi khuẩn có sẵn để sản xuất protease nhưng chỉ có một số ít được nghiên cứu sử dụng trong sản xuất thương mại. Trong đó, lượng protease từ vi khuẩn *Bacillus* sp. được sản xuất với sản lượng lớn nhất [1-3].

Vi khuẩn *B. subtilis* có khả năng thích nghi cao và sinh tổng hợp được nhiều loại enzyme cần thiết trong quá trình sinh trưởng để thích nghi với điều kiện môi trường như protease, amylase, glucanase... Hàm lượng và hoạt tính protease tổng hợp từ *B. subtilis* phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: chủng vi khuẩn, điều kiện nuôi cấy, phương pháp thu nhận... Vì vậy, để thu nhận protease có hàm lượng và hoạt tính cao cần lựa chọn nguồn phân lập phù hợp và tối ưu về phương pháp, các điều kiện nuôi cấy, đặc biệt là thành phần và cơ chất cảm ứng trong môi trường nuôi [1, 2, 4-6]... Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm chủ động được nguồn protease từ chủng hoang dại để kết hợp với màng cellulose được

sinh tổng hợp từ vi khuẩn (bacterial cellulose) *Acetobacter xylinum* [7] phục vụ việc tạo vật liệu y sinh ứng dụng làm màng bao hỗ trợ phục hồi vết thương do bỏng gây ra. Trên cơ sở đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tối ưu điều kiện trong quá trình nuôi lên men chủng vi khuẩn hoang dại Bs04 để thu protease với hàm lượng và hoạt độ cao, đây là tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng sau này.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguồn vi khuẩn và điều kiện nuôi

Vi khuẩn *subtilis* Bs04 (phân lập từ đất) đã được nhóm tác giả sàng lọc dựa trên khả năng sinh tổng hợp protease từ 136 chủng vi khuẩn thu nhận từ đất, nước, nhà máy chế biến thủy hải sản tại các khu vực khác nhau ở TP Hồ Chí Minh và các tỉnh khu vực Đồng bằng sông Cửu Long và được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Trung tâm Nghiên cứu triển khai, Khu Công nghệ cao TP Hồ Chí Minh.

Môi trường sử dụng trong quá trình lên men và tối ưu thành phần dinh dưỡng là môi trường NB chứa: glucose 1%; casein 0,5%; yeast extract 0,5%; KH_2PO_4 0,2%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2% (w/v). Môi trường đối chứng là TSB. Các nghiệm thức khảo sát được nuôi ở 37°C với tốc độ lắc 150 vòng/phút. Sau 48 giờ, protease thô được thu nhận và xác định hoạt độ theo phương pháp Anson cải tiến [8].

*Tác giả liên hệ: Email: tuyen.nguyenhuu@shiplabs.org

Optimisation of the conditions for protease synthesis from *Bacillus subtilis* Bs04 and characterisation of the enzyme

Huu Tuyen Nguyen*, Tien Dung Pham,
Thi Kim Ngan Phan, Vo Ke Thanh Ngo

Saigon Hi-Tech Park Research Laboratories

Received 10 December 2018; accepted 26 February 2019

Abstract:

Proteases are the most commonly used enzyme in many fields such as medicine, industry, agriculture, etc. In this study, we optimized fermentative conditions from *Bacillus subtilis* Bs04 to obtain the highest concentration and activity of the secreted protease. The effects of main medium ingredient, physicochemical parameter and characteristics of the protease were investigated. The result showed the optimal conditions for protease production from Bs04: the best organic carbon and nitrogen source are glucose-anhydrous and yeast extract with concentration of 2% and 2.5%, respectively; medium pH 7.5; enzyme obtained after 36 hours of fermentation. Maximum activity was obtained by ammonium sulfate precipitation method with the 70% saturation. The results of SDS-PAGE showed two bands with a molecular weight of 24 kDa and 38 kDa, respectively.

Keywords: *Bacillus subtilis*, medium optimization, protease, protease characteristics.

Classification number: 1.6

Phương pháp tối ưu nguồn dinh dưỡng trong môi trường lên men

Tối ưu nguồn carbon:

Ảnh hưởng của nguồn carbon trong quá trình sinh tổng hợp protease được xác định bằng cách lên men chủng Bs04 trong môi trường TSA và môi trường NB có thay đổi các nguồn saccharose, glucose-anhydrous, tinh bột, manitol, sucrose theo tỷ lệ 1% (w/v).

Sau khi xác định nguồn carbon phù hợp, tiến hành tối ưu

nồng độ nguồn carbon cho hiệu quả sinh tổng hợp protease có hoạt độ cao nhất. Nồng độ nguồn carbon khảo sát từ 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 và 3%.

Tối ưu nguồn nitơ:

Ảnh hưởng của nguồn nitơ trong quá trình sinh tổng hợp protease được xác định bằng cách lên men chủng Bs04 trong môi trường TSA và môi trường NB có thay đổi các nguồn meat extract, yeast extract, peptone, glycine và trypton theo tỷ lệ 1% (w/v).

Sau khi xác định nguồn nitơ phù hợp, tiến hành tối ưu nồng độ nguồn nitơ cho hiệu quả sinh tổng hợp protease có hoạt độ cao nhất. Nồng độ nguồn nitơ khảo sát từ 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 và 3%.

Phương pháp tối ưu các điều kiện hóa - lý trong quá trình lên men

Môi trường NB đã tối ưu thành phần dinh dưỡng được sử dụng trong quá trình khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện hóa - lý.

Tối ưu pH của môi trường:

Tiến hành lên men chủng Bs04 trong các nghiệm thức chứa môi trường NB với các giá trị pH lần lượt là 6; 6,5; 7; 7,5; 8 và 8,5.

Ảnh hưởng của độ thoáng khí trong quá trình lên men:

Độ thoáng khí được tính bằng tỷ lệ thể tích bình trống (không chứa môi trường) trên thể tích toàn bình, độ thoáng khí càng cao thì nồng độ oxy hòa tan vào môi trường càng lớn. Chủng Bs04 được lên men trong các bình 300 ml chứa môi trường với thể tích lần lượt 30; 60; 90; 120; 150 ml.

Tối ưu thời điểm thu nhận enzyme:

Tại mỗi thời điểm khác nhau của quá trình sinh trưởng, vi khuẩn sẽ sử dụng các nguồn cơ chất trong môi trường nuôi cấy bằng các enzyme thủy phân đặc hiệu. Tiến hành lên men chủng Bs04 trong môi trường NB đã tối ưu thành phần dinh dưỡng, giá trị pH và độ thoáng khí. Thu nhận và xác định hoạt độ protease ở các thời điểm 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 và 96 giờ.

Phương pháp xác định đặc tính protease tổng hợp từ chủng Bs04

Phương pháp tủa enzyme từ dịch enzyme thô:

Protease được tủa từ dịch enzyme thô với ethanol 96%, acetone và muối ammonium sunfate. Tỷ lệ dịch enzyme thô: dung môi lần lượt khảo sát là 1:2; 1:3; 1:4 và 1:5 (v/v) với dung môi ethanol và acetone. Phương pháp tủa với muối ammonium sunfate được tủa theo độ bão hòa từ 30 đến 80%. Sau đó dung dịch tủa được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Loại bỏ dịch nổi, sau đó hòa tan cặn với dung dịch đệm muối phosphate (PBS) 1X, thẩm tách loại tác nhân tủa và xác định hoạt độ enzyme.

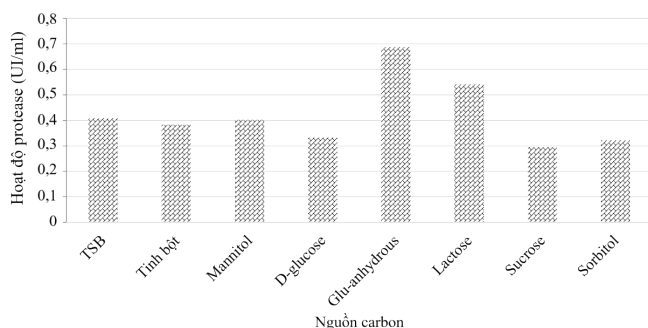
Phương pháp điện di SDS-PAGE:

Dịch protease được chạy điện di SDS-PAGE trên gel polyacrylamide 12% để xác định đặc điểm, kích thước enzyme theo thang protein chuẩn.

Kết quả

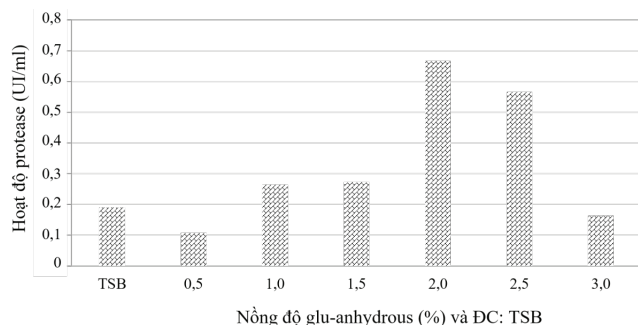
Tối ưu nguồn dinh dưỡng

Nguồn carbon:



Hình 1. Ảnh hưởng của các nguồn carbon đến hoạt độ protease.

Kết quả (hình 1) cho thấy, quá trình sinh tổng hợp protease của *B. subtilis* Bs04 đạt hiệu quả cao nhất khi sử dụng glucose-anhydrous là nguồn carbon chính với hoạt độ thu nhận được là 0,688 UI/ml. Tiếp tục khảo sát nồng độ nguồn glucose-anhydrous cho thấy, hiệu quả sinh tổng hợp protease từ Bs04 cao nhất ở nồng độ 2% (hình 2). Nồng độ glucose-anhydrous thấp hơn (0,5 đến 1,5%) không đủ để kích thích quá trình sinh tổng hợp protease mạnh, hoạt độ thu nhận được khoảng 0,107 đến 0,272 UI/ml. Ngược lại, khi bổ sung nồng độ cao, glucose-anhydrous sẽ ức chế quá trình sinh tổng hợp protease và hoạt độ enzyme thu nhận giảm (đạt 0,566 và 0,163 UI/ml) (hình 2). Trên cơ sở đó, glucose-anhydrous 2% được chọn là nguồn carbon cho các thí nghiệm khảo sát tiếp theo.

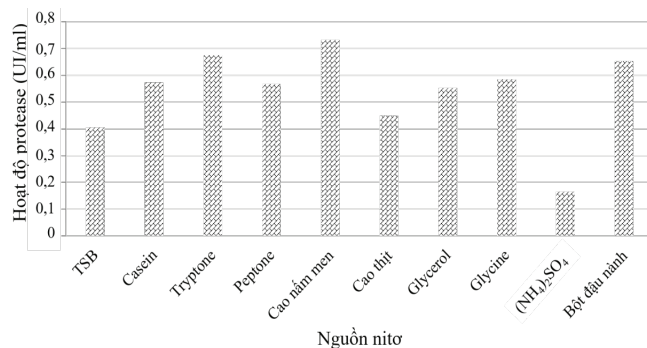


Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ glucose-anhydrous đến hoạt độ protease.

Nguồn nitơ:

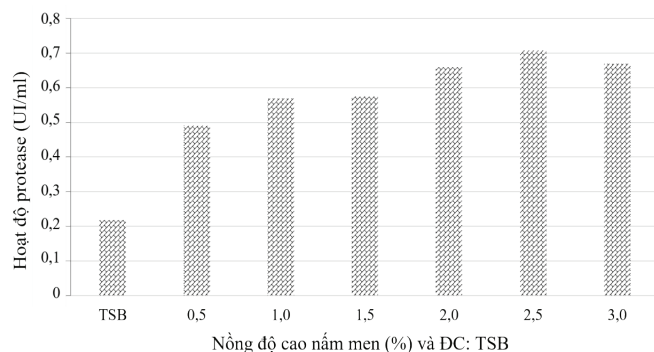
Sau khi kết luận được nguồn cacbon và nồng độ tối ưu trong môi trường cho hiệu quả sinh tổng hợp protease cao

nhất, tiến hành khảo sát nguồn nitơ phù hợp bằng cách thay thế peptone 0,5% trong môi trường bằng các thành phần khác như casein, tryptone, cao nấm men, cao thịt, glycerol, glycine, bột đậu nành, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và đối chứng TSB. Kết quả cho thấy nguồn cao nấm men cho enzyme với hoạt độ tốt nhất (hình 3).



Hình 3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến hoạt độ protease.

Sau khi kết luận được cao nấm men là nguồn nitơ hiệu quả nhất trong quá trình nuôi *B. subtilis* Bs04 thu nhận protease, tiến hành khảo sát nhằm chọn nồng độ cao nấm men tối ưu thu nhận protease cho hoạt độ enzyme cao nhất. Kết quả hình 4 cho thấy, với nồng độ 2,5% cao nấm men trong môi trường nuôi, *B. subtilis* Bs04 sẽ cho hiệu quả sinh tổng hợp protease hoạt độ enzyme cao nhất (đạt 0,708 UI/ml).

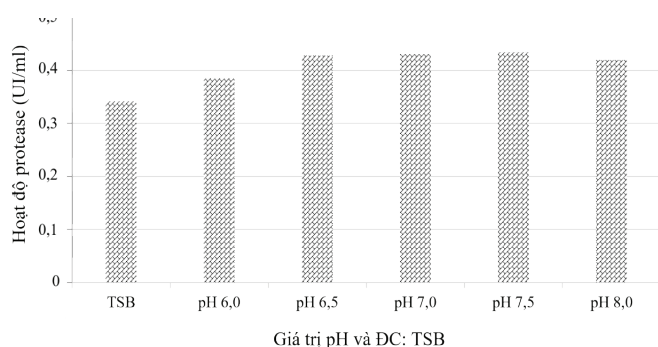


Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ cao nấm men đến hoạt độ protease.

Tối ưu điều kiện hóa - lý

Tối ưu pH môi trường lên men:

Quá trình sinh tổng hợp protease từ *B. subtilis* khi sử dụng phương pháp nuôi cấy chìm (nuôi cấy sâu), pH môi trường có ảnh hưởng lớn đến sự tổng hợp và tích lũy protease trong môi trường. Tùy vào chủng vi sinh vật sử dụng trong quá trình sinh tổng hợp enzyme khác nhau mà giá trị pH ban đầu sẽ khác nhau.

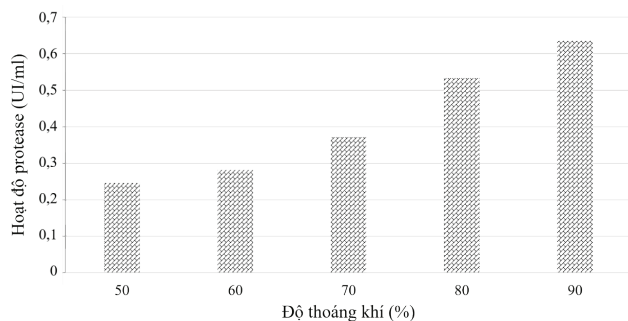


Hình 5. Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi đến hoạt độ protease.

Kết quả cho thấy, hoạt độ protease thu nhận được khi nuôi cấy trong môi trường pH khác nhau từ 6 đến 8 có sự chênh lệch không đáng kể. Hoạt độ enzyme cao nhất ghi nhận được ở pH 7,5 đạt 0,434 UI/ml (hình 5).

Tối ưu độ thoáng khí trong quá trình lên men:

B. subtilis là vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí tùy nghi, vì vậy nồng độ oxy hòa tan trong quá trình nuôi ảnh hưởng lớn đến sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn. Thông thường, đối với các vi khuẩn hiếu khí nồng độ oxy cao làm tăng khả năng sinh trưởng, rút ngắn pha tiềm phát. Nồng độ oxy thấp có thể ức chế, làm suy giảm khả năng sinh trưởng của vi sinh vật. Tuy nhiên, tùy từng mục đích thí nghiệm và tùy từng chủng vi khuẩn. Trong điều kiện môi trường thiếu oxy sẽ suy giảm khả năng sinh trưởng nhưng có thể kích thích sự sinh tổng hợp enzyme.



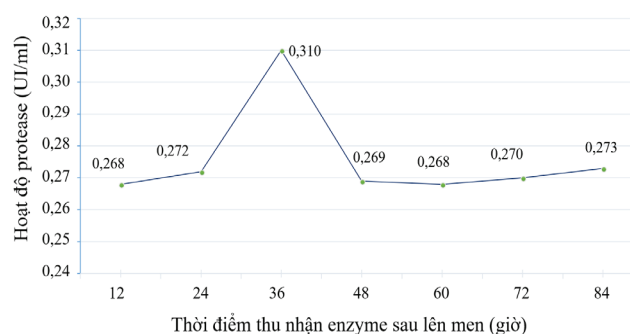
Hình 6. Ảnh hưởng của độ thoáng khí đến hoạt độ protease.

Kết quả ở hình 6 cho thấy, hoạt độ protease của chủng *B. subtilis* Bs04 sinh tổng hợp tỷ lệ thuận với độ thoáng khí trong bình nuôi. Hoạt độ protease cao nhất đạt 0,636 UI/ml khi nuôi cấy trong bình có độ thoáng khí 90%. Với đặc tính là vi khuẩn hiếu khí mạnh nên sự thoáng khí nhiều sẽ kích thích sự sinh trưởng và sinh tổng hợp protease ở vi khuẩn *B. subtilis* Bs04.

Tối ưu thời điểm thu nhận enzyme:

Protease thu nhận từ *B. subtilis* là enzyme ngoại bào được vi sinh vật sinh tổng hợp và tiết ra ngoài môi trường

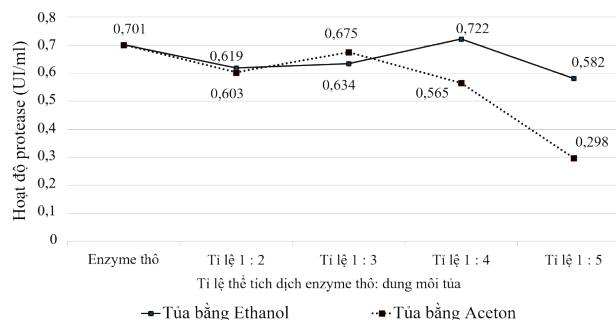
trong quá trình sinh trưởng. Mỗi thời điểm trong chu kỳ sinh trưởng vi khuẩn sẽ sinh tổng hợp enzyme với nồng độ và hoạt độ khác nhau. Nếu thu nhận enzyme quá sớm, nồng độ và hoạt độ enzyme sẽ thấp. Ngược lại, nếu kéo dài thời điểm thu nhận enzyme thì lượng enzyme tiết ra môi trường quá nhiều sẽ ảnh hưởng lẫn nhau và enzyme chịu tác động của các yếu tố môi trường bên ngoài sẽ làm giảm hoạt độ hay phá hủy cấu trúc tự nhiên của enzyme. Qua hình 7 cho thấy, hoạt độ protease cao nhất được thu nhận tại thời điểm 36 giờ sau nuôi cấy (đạt 0,31 UI/ml).



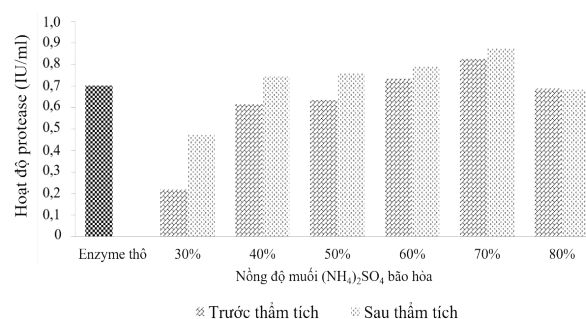
Hình 7. Ảnh hưởng của thời điểm thu nhận đến hoạt độ protease.

Đặc tính enzyme protease:

Sau khi thu nhận dịch protease thô từ canh trường nuôi cấy, tiến hành sử dụng các dung môi ethanol, acetone và muối ammonium sulfate nhằm tủa protease ngoại bào từ dịch enzyme thô.



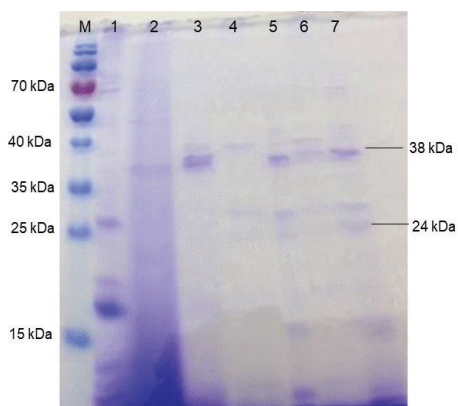
Hình 8. Hoạt độ protease khi tủa bằng ethanol và acetone.



Hình 9. Hoạt độ protease khi tủa bằng (NH₄)₂SO₄.

Kết quả cho thấy, khi rửa bằng dung môi hữu cơ hiệu quả tốt nhất khi sử dụng tỷ lệ 1:4 (v/v) với ethanol và 1:3 (v/v) với acetone. Hoạt độ protease thu nhận được lần lượt là 0,722 UI/ml và 0,675 UI/ml (hình 8). Đối với phương pháp rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, hiệu quả cao nhất khi sử dụng nồng độ 70% bão hòa, hoạt độ enzyme sau khi thẩm tách đạt 0,874 UI/ml (hình 9). Từ kết quả hình 8 và hình 9 cho thấy, sử dụng muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ rửa protease từ dịch enzyme thô cho hiệu quả tốt hơn sử dụng ethanol và acetone. Nồng độ muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 70% bão hòa cho hiệu quả tốt nhất.

Sau khi thu nhận protease, tiến hành điện di SDS-PAGE nhằm xác định kích thước protease thu nhận. Qua hình 10 cho thấy, ở các giếng 2 đến giếng 7, dịch enzyme thô và enzyme sau khi rửa đều có sự hiện diện của băng protein với kích thước khoảng 24 kDa và 38 kDa. Qua đó cho thấy, trong nghiên cứu này đã thu nhận được protease ngoại bào của *B. subtilis* với kích thước 24 kDa và 38 kDa.



Hình 10. Kết quả điện di SDS-PAGE.

Giếng M: thang opti-protein; giếng 1: protein tổng số của *B. subtilis* Bs04; giếng 2, 3: dịch enzyme protease thô sau 1 và 2 ngày nuôi; giếng 4: enzyme sau khi rửa với $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trước thẩm tách; giếng 5: enzyme sau khi rửa với $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sau thẩm tách; giếng 6: enzymes sau khi rửa với ethanol; giếng 7: enzyme sau khi rửa với acetone.

Thảo luận

Vi khuẩn *B. subtilis* có thể sinh tổng hợp nhiều loại enzyme khác nhau trong quá trình sinh trưởng như: amylase, protease, levansucrase, RNase, phosphatase kiềm [9]... Trong quá trình lên men chìm, sự sinh tổng hợp protease chịu ảnh hưởng lớn bởi thành phần dinh dưỡng và chất cảm ứng bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Tùy vào đặc tính của từng chủng vi khuẩn sử dụng trong quá trình thí nghiệm và điều kiện nuôi biểu hiện mà nhu cầu về các thành phần dinh dưỡng sẽ khác nhau trong quá trình sinh tổng hợp enzyme. Trong nghiên cứu này, quá trình tổng hợp protease từ vi khuẩn *B. subtilis* Bs04 được cảm ứng bởi casein, nguồn carbon và nitơ tốt nhất cho quá trình sinh tổng hợp protease từ chủng Bs04 được ghi nhận là glucose-anhydrous và cao nấm men với nồng độ lần lượt là 2,5% và 2% (w/v). Kết quả

này tương đồng với các nghiên cứu trước đó khi thí nghiệm trên chủng *B. subtilis* MTCC 441 và chủng *Bacillus* sp. [3, 10]. Tuy nhiên, tùy mỗi chủng vi khuẩn *Bacillus* sp. khác nhau được phân lập và sử dụng thì nhu cầu phù hợp về thành phần dinh dưỡng có thể sẽ khác nhau. Một số nguồn carbon và nitơ tối ưu cho quá trình sinh tổng hợp protease phổ biến đã được báo cáo như: glucose, galactose, peptone, cao thịt bò [11-13]... Nhìn chung, bổ sung vào môi trường nuôi nguồn dinh dưỡng (carbon, nitơ) hữu cơ cho thấy hiệu quả hơn nguồn vô cơ vì sự đa dạng của các amino acid [2, 5, 12, 13]. Protease thu nhận từ *B. subtilis* trong quá trình lên men chìm có thể thu nhận được ở dãy pH rộng từ 6 đến 11. Trong nghiên cứu này, pH 7,5 được ghi nhận phù hợp nhất trong quá trình sinh tổng hợp protease từ chủng Bs04. Một số điểm pH phù hợp khác đối với từng chủng *B. subtilis* đã được báo cáo như pH 7, pH 10-11 [12, 13]...

Dịch chiết enzyme thô thu nhận từ chủng Bs04 có hoạt độ 0,7 UI/ml. Kết quả này tương đương với một số nghiên cứu đã được báo cáo như: ứng dụng *Bacillus* trong xử lý phế phụ phẩm cá tra, hoạt độ protease được ghi nhận 0,012 UI/mg [14] và 1,15 UI/ml [15]; hay protease được tổng hợp từ *Bacillus* phân lập từ lò giết mổ đạt 0,7 UI/ml [16]. Tuy nhiên, so sánh với một số nghiên cứu khác trên thế giới, hoạt độ protease trong nghiên cứu này vẫn còn tương đối thấp. Một số nghiên cứu điển hình thu nhận protease hoạt độ cao đạt 20,2 UI/ml [5] hay hoạt độ protease đạt 86 UI/ml [17]... Kết quả này có thể do chủng vi khuẩn Bs04 được thu nhận tại khu vực không phải là nơi tối ưu nhất cho hoạt tính sinh protease (từ nguồn đất vườn).

Kích thước protease ngoại bào thu nhận từ *B. subtilis* từ 20-95 kDa tùy vào từng chủng vi khuẩn khác nhau. Trong nghiên cứu này, protease thu nhận từ dịch chiết enzyme thô có kích thước 24 kDa và 38 kDa. Kích thước protease từ một số báo cáo khác được ghi nhận như 32 kDa, 49 kDa, 30,9 kDa, 75 kDa [12, 13, 18, 19]...

Kết luận

Chủng *B. subtilis* Bs04 trong nghiên cứu này cho thấy khả năng sinh tổng hợp enzyme protease cao nhất khi nuôi cấy trong môi trường chứa nguồn carbon và nitơ lần lượt là glucose-anhydrous và cao nấm men với nồng độ tương ứng 2,5% và 2%. Môi trường lên men với pH 7,5 và thời điểm thu nhận enzyme cho hoạt độ cao sau 36 giờ lên men. Enzyme protease thô được thu nhận theo phương pháp ly tâm với hoạt độ đạt 0,7 UI/ml. Kết quả rửa enzyme cho thấy hiệu quả nhất khi sử dụng muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở độ bão hòa 70%. Protease thu nhận được có kích thước 24 kDa và 38 kDa.

Việc tối ưu các thành phần dinh dưỡng, điều kiện lên men giúp cải thiện đáng kể khả năng sinh tổng hợp protease từ chủng vi khuẩn *B. subtilis* Bs04. Điều này mở ra tiềm

năng trong quá trình sản xuất protease từ chủng phân lập thực địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.A. Alekseev, P.K. Koutsenogiy, P.N. Miroshnikov, M.A. Shilova (2014), "Isolation and properties of fibrinolytic subtilisin-like serine protease secreted by the *Bacillus subtilis* strain B-2805", *Dokl. Biochem. Biophys.*, **455**(1), pp.72-75.
- [2] Nguyễn Đức Lượng, Cao Cường, Nguyễn Ánh Tuyết, Lê Thị Thủy Tiên, Tạ Thu Hằng, Huỳnh Ngọc Oanh, Nguyễn Thúy Hương và Phan Thị Huyền (2010), *Công nghệ enzyme*, NXB Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
- [3] S. Navaneeth, B.S. Varun Bhaskar, P. Vijay Kumar, S.K.J. Kandaswamy, Anant Achary (2009), "Optimization of medium for the production of subtilisin from *Bacillus subtilis* MTCC 441", *African Journal of Biotechnology*, **8**(22), pp.6327-6331.
- [4] Khuất Hữu Thanh và Bùi Văn Đạt (2010), "Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn *Bacillus* để tạo chế phẩm sinh học sử dụng trong nuôi trồng thủy sản", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, **48**(5), tr.57-63.
- [5] J.-K. Yang, I.-L. Shih, Y.-M. Tzeng, S.-L. Wang (2000), "Production and purification of protease from a *Bacillus subtilis* that can deproteinize crustacean wastes", *Enzyme Microb. Technol.*, **26**(5-6), pp.406-413.
- [6] M.J. Zhu, J.R. Cheng, H.T. Chen, M.C. Deng, W.H. Xie (2013), "Optimization of neutral protease production from *Bacillus subtilis*: using agroindustrial residues as substrates and response surface methodology", *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **60**(3), pp.336-342.
- [7] N.T.K. Anh, H.T. Dương, T.T.K. Hòa, và N.T.T. Kiều (2016), "Đánh giá khả năng sử dụng màng cellulose do *Acetobacter xylinum* tạo ra làm giá đỡ (scaffold) nuôi cấy tế bào fibroblast chuột nhắt trắng", *Tạp chí Công nghệ sinh học*, **14**(3), tr.427-433.
- [8] M.L. Anson (1938), "The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin", *The Journal of General Physiology*, **22**(1), pp.79-89.
- [9] M. El-Samahy, A. El-Ghobary, and I. Khafagy (2014), "Using Silica Nanoparticles and Neemoil Extract as New Approaches to Control *Tuta absoluta* (Meyrick) in Tomato under Field Conditions", *International Journal of Plant & Soil Science*, **3**, pp.1355-1365.
- [10] R.S. Prakasham, C.S. Rao, and P.N. Sarma (2006), "Green gram husk-an inexpensive substrate for alkaline protease production by *Bacillus* sp. in solid-state fermentation", *Bioresource Technology*, **97**(13), pp.1449-1454.
- [11] K. Adinarayana, and P. Ellaiah (2002), "Response surface optimization of the critical medium components for the production of alkaline protease by a newly isolated *Bacillus* sp.", *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **5**(3), pp.272-278.
- [12] G. Pant, A. Prakash, J.V.P. Pavani, S. Bera, G.V.N.S. Deviram, A. Kumar, M. Panchpuri, and R.G. Prasuna (2015), "Production, optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis*", *Journal of Taibah University for Science*, **9**(1), pp.50-55.
- [13] A. Prihanto, A. Jaziri, and I.Y. Perwira (2016), "Purification and Characterization of Neutral Protease from *Bacillus subtilis* UBT7 Isolated from Terasi, Indonesian Fermented Fish", *Biosciences Biotechnology Research Asia*, **13**(3), pp.1409-1413.
- [14] T.T.H. Nghi, L.T. Hùng, và T.Q. Bình (2012), "Nghiên cứu ứng dụng enzyme protease từ vi khuẩn (*Bacillus subtilis*) để thủy phân phụ phẩm cá tra", *Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp*, **2**, tr.56-61.
- [15] V.H. Thi, N.H. Mỹ, và N.P. Huyền (2012), "Hoạt tính protease của một số chủng *Bacillus* phân lập từ nước thải chế biến thịt và thủy hải sản", *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, **28**, tr.116-124.
- [16] S. Mrudula, A. Apsana Begum, K. Ashwitha, and P.K. Pindi (2012), "Enhanced production of alkaline protease by *Bacillus subtilis* in submerged fermentation", *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **3**(3), pp.619-631.
- [17] K. Krishnaveni, M. Kumar, M.D. Balakumaran, R.S. and P. Kalaichelvan (2012), "Production and optimization of extracellular Alkaline Protease from *Bacillus subtilis* isolated from dairy effluent", *Der Pharmacia Lettre*, **4**(1), pp.98-109.
- [18] P. Chantawannakul, A. Oncharoen, K. Klanbut, E. Chukeatirote and S. Lumyong (2002), "Characterization of proteases of *Bacillus subtilis* strain 38 isolated from traditionally fermented soybean in Northern Thailand", *ScienceAsia*, **28**, pp.241-245.
- [19] B. Williams (2012), "Purification and characterization of neutral protease enzyme from *Bacillus Subtilis*", *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, **2**(4), pp.612-618.

Nghiên cứu mức độ phân bố và tích lũy polychlorinated biphenyl trong trầm tích mặt khu vực hạ lưu sông Đáy

Trịnh Thị Thắm, Bùi Thị Phương, Lê Thị Trinh*

Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

Ngày nhận bài 25/11/2018; ngày gửi phản biện 27/11/2018; ngày nhận phản biện 27/12/2018; ngày chấp nhận đăng 15/2/2019

Tóm tắt:

Nghiên cứu đánh giá mức độ tích lũy và phân bố các hợp chất polychlorinated biphenyl (PCB) nhằm xây dựng bộ dữ liệu phục vụ cho việc đánh giá rủi ro môi trường và rủi ro sinh thái của các nhóm hợp chất này. Trong nghiên cứu, 7 đồng loại PCB được xác định trong 20 mẫu trầm tích thu thập từ khu vực hạ lưu sông Đáy. Hàm lượng tổng PCB nằm trong khoảng 1,72 đến 89,6 ng/g với giá trị trung bình 16,1 ng/g và có xu hướng tăng dần theo hướng từ nội địa ra cửa sông, ven biển. Trong số các đồng loại PCB, PCB-52 là đồng loại được phát hiện với tần suất cao và chiếm tỷ lệ cao so với các đồng loại còn lại, với hàm lượng từ 0,156 ng/g đến 59,6 ng/g trọng lượng khô. Hàm lượng PCB phát hiện trong các mẫu có nồng độ thấp hơn so với giá trị quy định tại Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng trầm tích.

Từ khóa: hạ lưu sông Đáy, polychlorinated biphenyl, trầm tích.

Chỉ số phân loại: 1.7

Đặt vấn đề

Năm 2004, PCB được đưa vào Phụ lục A (Cấm sử dụng) và Phụ lục C (Các chất phát sinh không chủ định) của Công ước Stockholm về quản lý các chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy (POPs), hướng đến mục tiêu loại bỏ hoàn toàn PCB trong môi trường [1]. PCB là nhóm chất có đầy đủ các tính chất của hợp chất POP như độc tính cao, khó phân hủy, khả năng phát tán rộng với cơ chế vận chuyển và phát tán phức tạp, có tiềm năng tích lũy cao trong môi trường và hệ sinh thái [2]. PCB được sử dụng phổ biến trong công nghiệp để làm chất lỏng cách điện trong tụ điện và làm mát trong máy biến thế, dầu thủy lực, các hệ thống trao đổi nhiệt. Ngoài ra, PCB còn được dùng làm chất bôi trơn, chất làm mềm trong nhựa và keo dán, chất tạo màng trong sản xuất giấy, chất chống cháy, phụ gia trong mực in, phẩm màu... [3]. PCB cũng là một chất có thể phát sinh không chủ định từ các hoạt động thiêu đốt chất thải, rác thải, hoạt động đốt hờ ngoài trời phế phẩm nông nghiệp, rác thải sinh hoạt... [4].

Trong quá trình phát triển kinh tế - xã hội, tuy không phải là quốc gia sản xuất PCB nhưng Việt Nam lại nhập khẩu khá nhiều sản phẩm có chứa PCB như các thiết bị điện, tụ điện, máy biến thế... Do vậy, ở rất nhiều khu vực trên cả nước, các đồng loại PCB được phát hiện ở mức nồng độ từ vài ppb đến hàng trăm ppm trong mẫu đất, mẫu trầm tích và mẫu dầu biến thế [5].

Hàm lượng tổng PCB (arochlo 1254) trong trầm tích một số sông, hồ tại Hà Nội dao động từ không phát hiện (ND) đến 40 ng/g trọng lượng khô theo công bố của D.D Nhan và cs (2001) [6]. Kết quả tương tự cũng được chỉ ra trong nghiên cứu của P.M. Hoai và

cs (2010), hàm lượng tổng PCB trong trầm tích sông nội đô tại Hà Nội có giá trị trung bình khoảng 97,6 ng/g trọng lượng khô [7].

PCB đã được tìm thấy trong trầm tích với mức nồng độ thấp ở lưu vực sông Mê Kông (sông Hậu), đầm Thị Nại (Bình Định), cửa sông Sài Gòn - Đồng Nai và một số khu vực so sánh ở Hà Nội và TP Hồ Chí Minh [8-11]. Nồng độ PCB trong trầm tích ở khu vực các bãi tập trung rác thải đô thị Đông Thạnh (TP Hồ Chí Minh) và Tây Mỗ (Hà Nội) có giá trị cao hơn so với khu vực so sánh từ 6 đến 16 lần [8].

Tác giả Lê Thị Trinh và cs (2015) đã tiến hành nghiên cứu xác định hàm lượng và sự phân bố của PCB tại vùng Cửa Đại, Quảng Nam. PCB trong nước và trầm tích tại khu vực Cửa Đại, Quảng Nam đã được khảo sát trong 4 đợt lấy mẫu theo mùa từ 2013 đến 2014. Hàm lượng tổng PCB trong trầm tích tại khu vực này khá cao, dao động từ 192 đến 1.750 ng/g trọng lượng khô. Nồng độ của PCB trong nước thu thập trong mùa mưa có xu hướng cao hơn so với thu thập trong mùa khô, trong khi mức độ tích lũy trong trầm tích không có sự khác nhau nhiều giữa các đợt lấy mẫu [12].

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm cung cấp các thông tin về mức độ tích lũy và phân bố PCB trong trầm tích tại khu vực hạ lưu sông Đáy. Bộ số liệu là cơ sở để tính toán và đánh giá mức độ rủi ro do tồn lưu các chất ô nhiễm hữu cơ bền vững tại khu vực.

Phương pháp nghiên cứu

Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: dung dịch chuẩn được sử dụng trong nghiên

*Tác giả liên hệ: Email: ltrinh05@yahoo.com

Research on accumulation and distribution levels of polychlorinated biphenyl in sediment collected from Day river downstream area

Thi Tham Trinh, Thi Phuong Bui, Thi Trinh Le*

Hanoi University of Natural Resources & Environment

Received 25 November 2018; accepted 15 February 2019

Abstract:

The data on concentration of polychlorinated biphenyl (PCB) accumulated in sediment were investigated in order to assess potential ecological risks of these compounds. In this study, seven PCB congeners were found in 20 sediment samples collected from the downstream area of Day river. Total levels of PCB ranged from 1.72 to 89.6 ng/g dry weight with the average value of 16.1 ng/g and tended to increase in the direction from inland to estuaries and coastal areas. Among PCB congeners, PCB-52 was detected with the high frequency and high proportion as compared to the remaining congeners with the concentration from 0.156 to 59.6 ng/g dry weight. The total levels of PCB in the samples were lower than the value specified in the National Technical Regulation on sediment quality.

Keywords: Day river downstream, polychlorinated biphenyl, sediment.

Classification number: 1.7

cứu này là hỗn hợp chuẩn gồm 7 đồng loại PCB chi thị: 2,4,4'-Trichlorobiphenyl (PCB-28), 2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl (PCB-52), 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (PCB-101), 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl (PCB-138), 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (PCB-153), 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl (PCB-180), 2,2',3,3',4,4',5,5'-Octachlorobiphenyl (PCB-194) (Wellington, Anh). Các dung môi tinh khiết sắc ký bao gồm: n-hexan, axeton, diclometan (Merck, Đức).

Thiết bị: PCB trong mẫu trầm tích được định lượng trên thiết bị sắc ký khí với detector cộng kết điện tử (GC/ECD-2010, Shimadzu, Nhật Bản). Hỗn hợp các PCB được tách trên cột mao quản Equity®-5 (30 m×0,25 mm×0,25 μm) với điều kiện chương trình nhiệt độ lò cột như sau: nhiệt độ ban đầu là 100°C, giữ trong 1 phút; tăng nhiệt độ đến 160°C với tốc độ 15°C/phút; tăng nhiệt độ đến 280°C với tốc độ 5°C/phút, giữ đẳng nhiệt tại nhiệt độ cuối trong 4 phút.

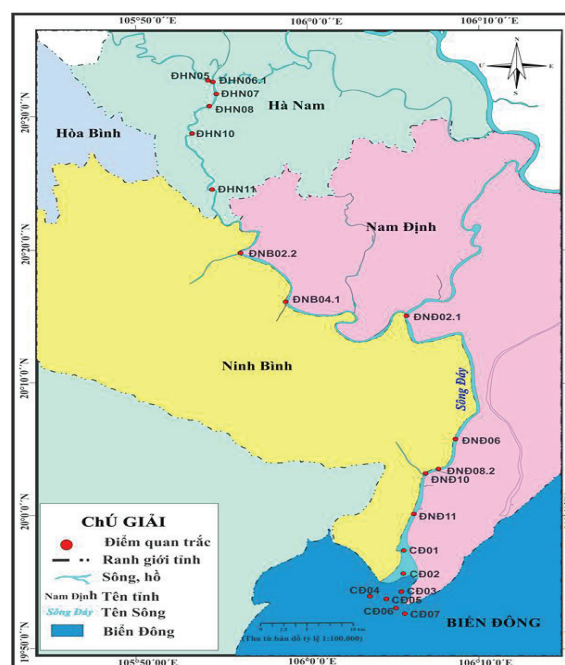
Phương pháp lấy mẫu

Các vị trí lấy mẫu được lựa chọn trong quá trình xây dựng chương trình quan trắc và khảo sát khu vực lấy mẫu dựa trên điều kiện tự nhiên của khu vực, lưu lượng nước, chế độ dòng chảy và đặc điểm của nguồn thải. Sau khi xác định được vị trí lấy mẫu, điểm lấy mẫu được đánh dấu trên bản đồ và lấy chính xác tọa độ trong quá trình lấy mẫu. Bản đồ các điểm lấy mẫu được thể hiện ở hình 1, trong đó ký hiệu mẫu được mã hóa theo khu vực lấy mẫu: ĐHN (mẫu lấy tại khu vực thuộc địa phận tỉnh Hà Nam), ĐNB (mẫu lấy tại khu vực thuộc địa phận tỉnh Ninh Bình), ĐND (mẫu lấy tại khu vực thuộc địa phận tỉnh Nam Định, giáp ranh với Ninh Bình), CD (mẫu lấy tại khu vực cửa Đáy).

Mẫu trầm tích được lấy vào tháng 4/2018 bằng gầu lấy mẫu trầm tích Ekman của Hãng Wildco (Mỹ) ở lớp bề mặt khoảng 0-10 cm, sau đó mẫu được trộn đều, cho vào bình thủy tinh tối màu, làm lạnh bằng đá gel. Sau đó, mẫu sẽ được vận chuyển đến phòng thí nghiệm và được bảo quản theo TCVN 6663-15:2004 (ISO 5667-15:1999) [13].

Phương pháp xử lý mẫu và phân tích [14]

Cân chính xác khối lượng mẫu trầm tích vào ống ly tâm dung tích 50 ml, thêm 40 ml dung môi và tiến hành siêu âm 10 phút, ly tâm 10 phút (tốc độ 3.000 vòng/phút), gạn dịch chiết ra bình cầu. Quá trình này được lặp lại 3 lần. Dịch chiết được cô quay chân không đến thể tích 5 ml. Tiến hành làm sạch trên cột chiết pha rắn nhồi 8 g Florisil (cột chiết thủy tinh dài 40 cm, đường kính 2,2 cm). Rửa giải bằng 40 ml n-hexan để thu được phân đoạn chiết chứa các PCB. Sau đó, cô quay chân không các phần dịch rửa giải về thể tích 2 ml. Tiến hành loại sunfua trong dịch chiết bằng dây đồng đã được hoạt hóa và rửa axit dịch chiết trong ống nghiệm để loại bỏ các chất màu hữu cơ. Sau khi rửa, phần dịch được cô về khoảng



Hình 1. Sơ đồ vị trí lấy mẫu tại hạ lưu sông Đáy.

1 ml dưới dòng khí N_2 và định mức chính xác về 1 ml bằng dung môi n-hexan.

Bơm 1 μ l dung dịch mẫu lên thiết bị GC-ECD để xác định nồng độ của các PCB.

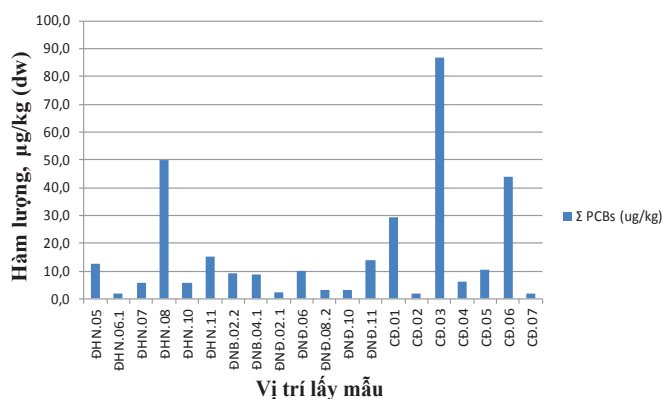
Hàm lượng các đồng loại PCB được tính bằng phương pháp ngoại chuẩn, với đường chuẩn được lập cùng với mỗi mẻ mẫu phân tích. Hàm lượng tổng PCB được tính bằng tổng nồng độ của 7 PCB chỉ thị được sử dụng trong nghiên cứu này (PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-138, PCB-153, PCB-180, PCB-194).

Nghiên cứu này kế thừa quy trình phân tích đã được thẩm định tại Phòng thí nghiệm môi trường, Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội (VILAS 955). Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp được tính toán dựa trên kết quả phân tích lặp lại mẫu trầm tích nồng độ thấp. Độ thu hồi và độ lặp lại được tính toán từ kết quả phân tích mẫu trầm tích thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ khác nhau. Kết quả thẩm định tại phòng thí nghiệm thu được giá trị MDL (giới hạn phát hiện của phương pháp - method detection limit) của các cấu tử PCB biến thiên từ 0,028 đến 0,042 ng/g; độ thu hồi cao nhất là 110% và thấp nhất là 69% [14]. Ngoài ra, độ lặp của các mẫu lặp khi thực hiện nghiên cứu này đều nhỏ hơn 15% và đạt yêu cầu của tiêu chuẩn tham chiếu của US-EPA 8082a.

Kết quả và thảo luận

Hàm lượng PCB trong mẫu trầm tích

Trong nghiên cứu này, hàm lượng của 7 đồng loại PCB được phát hiện trong hầu hết các mẫu trầm tích thu được ở khu vực hạ lưu sông Đáy từ Kim Bảng, Hà Nam đến cửa Đáy, Nghĩa Hưng, Nam Định (hình 2). Tổng hàm lượng của các PCB trong 20 mẫu trầm tích dao động trong khoảng từ 1,72 đến 86,9 ng/g trọng lượng khô (trung bình 16,1 ng/g trọng lượng khô). Trong đó, các mẫu trầm tích được lấy tại khu vực cửa sông ven biển có xu hướng tích lũy PCB cao hơn các mẫu trong nội địa. Tuy nhiên, so với QCVN 43:2017/BTNMT về chất lượng trầm tích, hàm lượng tổng các PCB chưa vượt quá giới hạn về chất lượng trầm tích nước ngọt, nước lợ và nước mặn (277 ng/g và 189 ng/g).

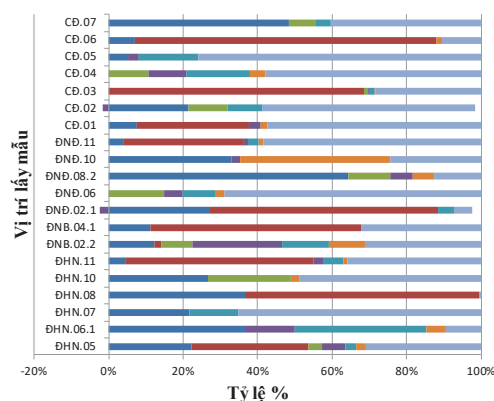


Hình 2. Phân bố hàm lượng tổng PCB trong các mẫu trầm tích.

Hàm lượng tổng PCB cao nhất tại điểm ĐNB.03 là 86,9 ng/g, có thể do khu vực cửa Đáy có diện tích rộng, sâu, dòng chảy xoáy, nên tốc độ lắng đọng trầm tích nhanh và sự xáo trộn ít hơn so với các khu vực khác. Do vậy, sự tích lũy các PCB có xu hướng cao hơn phía trong sông.

Tại vị trí ĐHN.08, hàm lượng tổng PCB khá cao, khoảng 50,1 ng/g, đây là vị trí gần cảng Châu Sơn, nơi có nhiều tàu thuyền neo đậu để vận chuyển đá, khai thác cát. Có thể các hoạt động giao thông thủy phát sinh ra các nguồn thải chứa PCB (ví dụ dầu phanh và dầu thủy lực của tàu bè vận chuyển) ảnh hưởng đến mức độ tích lũy PCB tại khu vực này.

Tỷ lệ phân bố các đồng loại PCB trong mẫu (hình 3)



Hình 3. Tỷ lệ phần trăm các đồng loại PCB.

Hầu hết các đồng loại PCB đều được phát hiện có mặt trong các mẫu trầm tích, đặc biệt PCB-28, PCB-138 và PCB-194 được tìm thấy trong mẫu với tỷ lệ phần trăm khá cao, tương ứng là 85, 75 và 100%. Trong mỗi mẫu trầm tích, hàm lượng PCB-28 và PCB-52 chiếm tỷ lệ cao so với các đồng loại còn lại với phần trăm trung bình chiếm 23,0 và 47,7%, trong đó hàm lượng PCB-52 biến thiên từ 0,156 đến 59,6 ng/g trọng lượng khô.

So sánh hàm lượng PCB trong trầm tích tại một số khu vực

Bảng 1 tổng hợp hàm lượng tổng PCB trong trầm tích sông và ven biển tại một số khu vực khác của Việt Nam và một số nước trên thế giới.

Bảng 1. Hàm lượng tổng PCB trong trầm tích tại một số khu vực.

Khu vực nghiên cứu	Trung bình (ng/g)	Khoảng nồng độ (ng/g)	Tài liệu tham khảo
Khu vực hạ lưu sông Đáy	16,1	1,72-86,9	Nghiên cứu này
Ven biển Nghệ An đến Quảng Nam (tổng 7 PCB chỉ thị)	349	9,72-3728	T.T. Thẩm (2017) [14]
Ven biển miền Bắc, Việt Nam (tổng 13 đồng loại PCB)	7,64	0,40-16,1	Dang Duc Nhan và cs (1999) [15]
Biển xa bờ từ Nghệ An đến Thừa Thiên - Huế (tổng 8 PCB chỉ thị)	0,087	0,036-0,158	Tran Manh Tri và cs (2016) [16]
Vịnh Surabaya, Indonesia (tổng 19 đồng loại PCB)	8,8	0,100-30	M. Ilyas và cs (2013) [17]

Sông Dương Tử, vịnh Hàng Châu, bờ biển phía Đông Trung Quốc (tổng 9 đồng loại PCB)	20,3	ND-63	O. Adedayo và cs (2016) [18]
Cảng du thuyền, Đảo Shelter, vịnh San Diego, Hoa Kỳ (tổng 19 đồng loại PCB)	79	23-153	Carlos Neiraa và cs (2018) [19]
Đảo Harbor phía Tây, vịnh San Diego, Hoa Kỳ (tổng 19 đồng loại PCB)	421	151-1387	Carlos Neiraa và cs (2018) [19]
Đảo Harbor phía Đông, vịnh San Diego, Hoa Kỳ (tổng 19 đồng loại PCB)	101	31-294	Carlos Neiraa và cs (2018) [19]

Kết quả so sánh cho thấy, tổng hàm lượng PCB trong nghiên cứu này khá tương đồng với hàm lượng PCB trong trầm tích vùng ven biển miền Bắc [15], trầm tích lấy tại vịnh Surabaya, Indonesia và sông Dương Tử, vịnh Hàng Châu, bờ biển phía Đông Trung Quốc. Tuy nhiên, kết quả này thấp hơn so với số liệu thu được của nhóm nghiên cứu khi phân tích hàm lượng PCB trong trầm tích ven biển Bắc Trung Bộ và vịnh San Diego, Hoa Kỳ. Tran Manh Tri và cs (2016) cũng cung cấp số liệu PCB (8 đồng loại PCB chi thị) trong trầm tích lấy tại vùng biển xa bờ (cách 20 đến 50 km) thấp hơn rất nhiều so với nghiên cứu này [16]. Điều này là hoàn toàn hợp lý vì nguồn phát sinh PCB từ các hoạt động nội địa chủ yếu được tích lũy trong trầm tích sông và trầm tích biển ven bờ.

Kết luận

Nghiên cứu này đã đưa ra được bộ số liệu ban đầu về mức độ tích lũy PCB trong trầm tích khu vực hạ lưu sông Đáy. Tổng hàm lượng PCB trung bình đo được tại khu vực nghiên cứu là 16,1 ng/g trọng lượng khô (dao động 1,72÷86,9 ng/g). Kết quả này cho thấy mức độ tích lũy PCB trong trầm tích tại khu vực ở mức thấp so với giá trị giới hạn về chất lượng trầm tích quy định tại QCVN 43:2017/BTNMT. Tuy nhiên, PCB là nhóm chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy, tồn tại lâu dài trong môi trường và có khả năng tích lũy sinh học cao. Chính vì vậy, sự tồn tại hàm lượng vết của các đồng loại thuộc nhóm chất này cũng có khả năng tạo ra những rủi ro tiềm ẩn đối với môi trường và sức khỏe con người. Kết quả nghiên cứu này sẽ là cơ sở khoa học cho việc đánh giá các chỉ số rủi ro môi trường, rủi ro sinh thái tiềm ẩn đối với môi trường và sức khỏe con người.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Bộ Tài nguyên và Môi trường thông qua đề tài cấp bộ mã số: TNMT 2017.04.09. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] UNEP, Stockholm Convention on POPs (2010), *The 9 new POPs: an introduction to the nine chemicals added to the Stockholm Convention by the Conference of the Parties at its fourth meeting*.
- [2] US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2000), *Toxicological profile for Polychlorinated Biphenyls*, Public Health Service, Atlanta, GA.
- [3] M.D. Erickson, R.G. Kaley (2011), "Applications of polychlorinated biphenyls", *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **18**, pp.135-151.
- [4] UNEP, Stockholm Convention on POPs (2013), *Toolkit for identification and quantification of releases of Dioxins, Furans and other unintentional POPs*.
- [5] Dự án Quản lý PCB tại Việt Nam (2012), *Sổ tay hỏi đáp về PCB, Phiên*

bản số 1.

- [6] D.D. Nhan, F.P. Carvalho, N.M. Am, N.Q. Tuan, N.T.H. Yen, J.-P. Villeneuve, C. Cattini (2001), "Chlorinated pesticides and PCB in sediments and molluscs from freshwater canals in the Hanoi region", *Environ. Pollut.*, **112**, pp.311-320.
- [7] P.M. Hoai, N.T. Ngoc, N.H. Minh, P.H. Viet, M. Berg, A.C. Alder, W. Giger (2010), "Recent levels of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in sediments of the sewer system in Hanoi, Vietnam", *Environ. Pollut.*, **158**, pp.913-920.
- [8] N.H. Minh, T.B. Minh, N. Kajiwarra, T. Kunisue, A. Subramanian, H. Iwata, T.S. Tana, R. Baburajendran, S. Karupiah, P.H. Viet, B.C. Tuyen, S. Tanabe (2006), "Contamination by persistent organic pollutants in dumping sites of Asian developing countries: implication of emerging pollution sources", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **50**, pp.474-481.
- [9] N.H. Minh, T.B. Minh, N. Kajiwarra, T. Kunisue, H. Iwata, P.H. Viet, N.P.C. Tu, B.C. Tuyen, S. Tanabe (2007a), "Pollution sources and occurrences of selected persistent organic pollutants (POPs) in sediments of the Mekong river delta, South Vietnam", *Chemosphere*, **67**, pp.1794-1801.
- [10] N.H. Minh, T.B. Minh, N. Kajiwarra, T. Kunisue, H. Iwata, P.H. Viet, N.P.C. Tu, B.C. Tuyen, S. Tanabe (2007b), "Persistent organic pollutants in sediments from Sai Gon-Dong Nai river basin, Vietnam: levels and temporal trends", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **52**, pp.458-465.
- [11] S. Romano, R. Piazza, C. Mugnai, S. Giuliani, L.G. Bellucci, N.H. Cu, M. Vecchiato, S. Zambon, D.H. Nhon, M. Frignani (2013), "PBDEs and PCB in sediments of the Thi Nai lagoon (Central Vietnam) and soils from its mainland", *Chemosphere*, **90**, pp.2396-2402.
- [12] Lê Thị Trinh, Trịnh Thị Thắm, Từ Bình Minh (2015), "Đánh giá mức độ tích lũy của các chất polyclo biphenyl trong nước và trầm tích tại Cửa Đại, thành phố Hội An, tỉnh Quảng Nam", *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, **20(4)**, tr.143-151.
- [13] TCVN 6663-15:2004, *Chất lượng nước - Lấy mẫu (ISO 5667-15:1999), Phần 15: Hướng dẫn bảo quản và xử lý mẫu bùn và trầm tích*, Bộ Khoa học và Công nghệ.
- [14] Trịnh Thị Thắm (2017), *Đánh giá tồn lưu của một số hợp chất OCPs, PCB và PBDEs tại các vùng ven biển miền Trung Việt Nam*, Luận án tiến sĩ, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - VNU, Hà Nội.
- [15] Dang Duc Nhan, Nguyen Manh Am, F.P. Carvalho, J.P. Villeneuve, C. Cattini (1999), "Organochlorine pesticides and PCB along the coast of north Vietnam", *The Science of the Total Environment*, **237-238**, pp.363-371.
- [16] Tran Manh Tri, Hoang Quoc Anh, Trịnh Thị Tham, Tran Van Quy, Masafumi Nakamura, Masayo Nishida, Yasuaki Maeda, Luu Van Boi, Tu Binh Minh (2016), "Distribution and depth profiles of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans, and Polychlorinated Biphenyls in sediment collected from offshore waters of Central Vietnam", *Marine Pollution Bulletin*, **106**, pp.341-346.
- [17] M. Ilyas, A. Sudaryanto, I.E. Setiawan, A.S. Riyadi, T. Isobe (2013), "Characterization of polychlorinated biphenyls and polybrominated flame retardants in sludge, sediment and fish from municipal dumpsite at Surabaya, Indonesia", *Chemosphere*, **93**, pp.1500-1510.
- [18] O. Adedayo, Haiyan Jin, Yanan Di, Donghao Li, Jianfang Chen, Ying Ye (2016), "Distribution and ecological risk of organic pollutants in the sediments and seafood of Yangtze estuary and Hangzhou bay, East China sea", *Science of the Total Environment*, **541**, pp.1540-1548.
- [19] Carlos Neiraa, Melissa Valesb, Guillermo Mendozaa, Eunha Hohb, Lisa A. Levina (2018), "Polychlorinated biphenyls (PCB) in recreational marina sediments of San Diego Bay, southern California", *Marine Pollution Bulletin*, **126**, pp.204-214.

Phân tích động lực học vết nứt trong vật liệu lẫn hạt cứng và lỗ rỗng bằng phương pháp phần tử hữu hạn nội suy liên tiếp mở rộng

Trương Tích Thiện^{1*}, Trần Kim Bằng¹, Phan Ngọc Nhân¹, Bùi Quốc Tính²

¹Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

²Khoa Xây dựng Dân dụng và Môi trường, Viện Công nghệ Tokyo, Nhật Bản

Ngày nhận bài 25/1/2019; ngày chuyển phản biện 31/1/2019; ngày nhận phản biện 25/2/2019; ngày chấp nhận đăng 22/3/2019

Tóm tắt:

Vật liệu có lẫn những hạt cứng là một trong những loại vật liệu được sử dụng phổ biến trong nền công nghiệp hiện đại. Vết nứt và khuyết tật xuất hiện sẽ gây ra hiện tượng tập trung ứng suất và làm ảnh hưởng lớn đến độ bền của kết cấu. Các khuyết tật trong vật liệu có thể được mô tả dưới dạng các lỗ trống. Ứng xử của vết nứt trong miền xuất hiện lỗ trống và các hạt cứng sẽ phức tạp hơn dưới tác dụng của tải trọng động. Trong bài báo này, nhóm tác giả phát triển ma trận độ cứng và khối lượng cho các phần tử mô tả vết nứt, lỗ trống và hạt cứng trong vật liệu nền bằng phương pháp phần tử hữu hạn nội suy liên tiếp mở rộng (extended twice-interpolation finite element method - XTFEM) cho bài toán động lực học, tính toán hệ số cường độ ứng suất động theo thời gian, khảo sát sự ảnh hưởng của lỗ trống, hạt cứng gần vết nứt. Các kết quả tính toán hệ số cường độ ứng suất động tại đỉnh vết nứt bằng XTFEM sẽ được so sánh với kết quả đã được công bố trên tạp chí khoa học quốc tế uy tín để kiểm chứng độ tin cậy.

Từ khóa: hạt cứng, lỗ trống, mở rộng, nội suy liên tiếp, tải trọng động, vết nứt, XTFEM.

Chỉ số phân loại: 1.9

Giới thiệu

Độ bền của cấu trúc vật liệu pha hạt cứng phụ thuộc rất nhiều vào sự xuất hiện của các biên bất liên tục. Đối với việc xấp xỉ những lời giải không liên tục, phương pháp phần tử hữu hạn truyền thống sử dụng không gian xấp xỉ đa thức và phụ thuộc rất nhiều vào lưới để đảm bảo độ chính xác của các kết quả gần miền suy biến hay những vùng có gradient cao. Việc mô phỏng các biên bất liên tục như vết nứt, lỗ trống bằng phương pháp phần tử hữu hạn truyền thống đòi hỏi mật độ lưới rất lớn. Và việc làm mịn lưới đòi hỏi một lượng tài nguyên máy tính khá lớn. Hơn nữa, việc làm mịn lưới thường khó có thể tiến hành một cách tự động mà đòi hỏi phải có sự can thiệp thủ công của người dùng. Phương pháp phần tử hữu hạn mở rộng (extended finite element method - XFEM) được giới thiệu bởi Belytschko và Black [1], Moës và các cộng sự [2]. Phương này thừa hưởng nền tảng lý thuyết vững chắc của phương pháp phần tử hữu hạn truyền thống và hạn chế được sự khó khăn trong quá trình làm mịn lưới và chia lưới lại. Gần đây nhất, tác giả Bui và các cộng sự [3] đã thành công trong việc thiết lập phần tử 4 nút nội suy liên tiếp (consecutive-interpolation 4-node quadrilateral element - CQ4), dựa trên ý tưởng theo [4, 5]. Các hàm cơ bản của CQ4 được xây dựng với hai lần nội suy. Lần nội suy thứ nhất hoàn toàn giống với phương pháp

phần tử hữu hạn tiêu chuẩn. Lần nội suy thứ hai, hàm xấp xỉ được nội suy thông qua chuyển vị nút và trung bình đạo hàm chuyển vị tại nút. Do đó, hàm dạng nhận được liên tục và có đa thức bậc cao hơn mà không làm tăng thêm tổng số bậc tự do. Trường ứng suất trở nên liên tục mà không cần những biện pháp xử lý phức tạp, kết quả tính toán có sự hội tụ tăng đáng kể so với phương pháp phần tử hữu hạn truyền thống.

Bài báo này phát triển phần tử làm giàu cho những đối tượng lỗ trống và hạt cứng trong vật liệu dạng hạt dựa trên ý tưởng nội suy liên tiếp mở rộng (extended twice-interpolation finite element method - XTFEM). Điều này sẽ tận dụng được những ưu điểm của ý tưởng phương pháp phần tử hữu hạn nội suy liên tiếp trong phần tử tứ giác bốn nút và ý tưởng làm giàu của XFEM cho những bài toán bất liên tục. Các hàm xấp xỉ của phần tử nội suy liên tiếp sẽ được mở rộng bằng cách thêm các hàm làm giàu mô tả sự bất liên tục của vết nứt, lỗ trống và tạp chất. Kết quả tính toán được so sánh với kết quả đã công bố của bài báo khoa học quốc tế uy tín.

Cơ sở lý thuyết

Phần tử tứ giác, bốn nút nội suy liên tiếp

Theo [3], quá trình nội suy liên tiếp phần tử tứ giác bốn

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

An extended twice-interpolation finite element method applied to simulate dynamic crack behaviour in matrix inclusion materials with random holes

Tich Thien Truong^{1*}, Kim Bang Tran¹,
Ngoc Nhan Phan¹, Quoc Tinh Bui²

¹VNUHCM - Ho Chi Minh City University of Technology

²Department of Civil and Environmental Engineering,
Tokyo Institute of Technology, Japan

Received 25 January 2019; accepted 22 March 2019

Abstract:

Matrix inclusion materials are one of the most commonly used materials in modern industry. The appearance of cracks and defects will cause stress concentration and greatly affect the durability of the structure. Defects in materials can be described as holes. Cracks which appear in the domain containing holes and hard particles have more complicated mechanical behaviours than that under the effect of dynamic loads. In this paper, the authors develop stiffness and mass matrices for elements describing cracks, holes, and hard particles in the matrix materials by extended twice-interpolation finite element method - XTFEM for dynamic problems, computing dynamic stress intensity factor over time and evaluating the impact of holes and hard particles near to cracks. The results of calculating the dynamic stress intensity factor at crack tips by XTFEM will be compared with the results published in a prestigious international scientific journal to verify its reliability.

Keywords: crack, dynamic load, extended, hard particle, hole, twice-interpolation, XTFEM.

Classification number: 1.9

nút bao gồm hai giai đoạn:

Giai đoạn nội suy thứ nhất:

Trong phần tử hữu hạn truyền thống, chuyển vị xấp xỉ tại điểm x được tính như sau:

$$u(x) = N_i u^{[i]} + N_j u^{[j]} + N_k u^{[k]} + N_m u^{[m]} \quad (1)$$

$$N_i = \frac{1}{4}(1-r)(1-s), \quad N_j = \frac{1}{4}(1+r)(1-s) \quad (2)$$

$$N_k = \frac{1}{4}(1+r)(1+s), \quad N_m = \frac{1}{4}(1-r)(1+s)$$

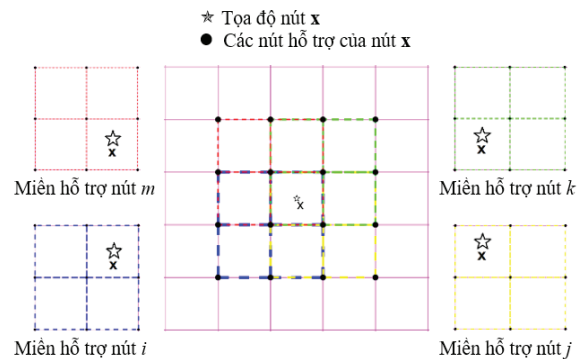
Với $u^{[i]}$, $u^{[j]}$, $u^{[k]}$, $u^{[m]}$ là chuyển vị tại các nút i , j , k , m của phần tử và r , s là tọa độ trong hệ tọa độ tự nhiên của phần tử tứ giác 4 nút.

Miền hỗ trợ nút i , S_i chứa tất cả các phần tử có liên quan nút i . Hàm trọng ω_e được tính như sau:

$$\omega_e = \frac{\Delta_e}{\sum_{e' \in S_i} \Delta_{e'}} \quad (3)$$

Với Δ_e là diện tích của phần tử e .

$\Delta_{e'}$ là diện tích của phần tử e' trong S_i .



Hình 1. Điểm cần nội suy và miền hỗ trợ của nút có tọa độ x .

Đạo hàm trung bình tại nút i có thể viết như sau:

$$\bar{u}_{i,x}^{[i]} = \sum_{e \in S_i} \omega_e u_{i,x}^{[e]} = \sum_{l=1}^{n_i} \left[\sum_{e \in S_i} \left(\omega_e N_{l,x}^{[i][e]} \right) \right] u_l \quad (4)$$

$$\bar{N}_{i,x}^{[i]} = \sum_{e \in S_i} \left(\omega_e N_{l,x}^{[i][e]} \right) \quad (5)$$

Giai đoạn nội suy thứ hai:

Trong giai đoạn nội suy lần hai, giá trị nội suy trên điểm x được tính như sau:

$$\hat{u}(x) = \phi_i u^{[i]} + \phi_{ix} \bar{u}_{i,x}^{[i]} + \phi_{iy} \bar{u}_{i,y}^{[i]} + \phi_j u^{[j]} + \phi_{jx} \bar{u}_{j,x}^{[j]} + \phi_{jy} \bar{u}_{j,y}^{[j]} + \phi_k u^{[k]} + \phi_{kx} \bar{u}_{k,x}^{[k]} + \phi_{ky} \bar{u}_{k,y}^{[k]} + \phi_m u^{[m]} + \phi_{mx} \bar{u}_{m,x}^{[m]} + \phi_{my} \bar{u}_{m,y}^{[m]} \quad (6)$$

Với $\phi_i, \phi_{ix}, \phi_{iy}$ cần đáp ứng các quan hệ sau:

$$\begin{aligned} \phi_i(\mathbf{x}_l) &= \delta_{il}, \quad \phi_{ix}(\mathbf{x}_l) = 0, \quad \phi_{iy}(\mathbf{x}_l) = 0 \\ \phi_{ix}(\mathbf{x}_l) &= 0, \quad \phi_{ix,x}(\mathbf{x}_l) = \delta_{il}, \quad \phi_{ix,y}(\mathbf{x}_l) = 0 \\ \phi_{iy}(\mathbf{x}_l) &= 0, \quad \phi_{iy,x}(\mathbf{x}_l) = 0, \quad \phi_{iy,y}(\mathbf{x}_l) = \delta_{il} \end{aligned} \quad (7)$$

$$\delta_{il} = \begin{cases} 1, & \text{khi } i = l \\ 0, & \text{khi } i \neq l \end{cases} \quad (8)$$

$\phi_j, \phi_{jx}, \phi_{jy}, \phi_k, \phi_{kx}, \phi_{ky}, \phi_m, \phi_{mx}, \phi_{my}$ có quan hệ tương

tự như $\phi_i, \phi_{ix}, \phi_{iy}$.

$\phi_i, \phi_{ix}, \phi_{iy}$ được tính như sau:

$$\phi_i = N_1 + N_1^2 N_2 + N_1^2 N_3 + N_1^2 N_4 - N_1 N_2^2 - N_1 N_3^2 - N_1 N_4^2 \quad (9)$$

$$\begin{aligned} \phi_{ix} &= -(x_1 - x_2)(N_1^2 N_2 + b N_1 N_2 N_3 + b N_1 N_2 N_4) \\ &\quad - (x_1 - x_3)(N_1^2 N_3 + b N_1 N_3 N_4 + b N_1 N_3 N_2) \\ &\quad - (x_1 - x_4)(N_1^2 N_4 + b N_1 N_4 N_2 + b N_1 N_4 N_3) \end{aligned} \quad (10)$$

ϕ_{iy} được tính tương tự bằng cách thay biến x bằng biến y .

Với $b = 1/2$.

Thay thế vào phương trình (6) thì được trường chuyển vị có dạng sau

$$\hat{u}(\mathbf{x}) = \sum_{l=1}^{n_s} \hat{N}_l(\mathbf{x}) u_l \quad (11)$$

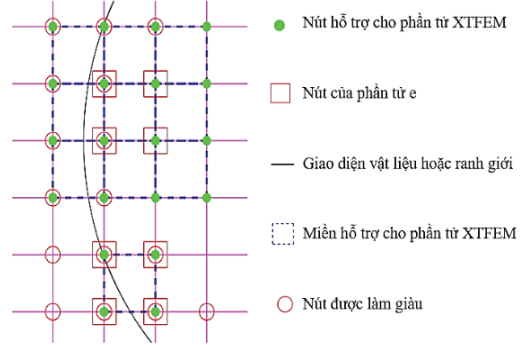
Với các hàm dạng nội suy hai lần liên tiếp được tính như dưới đây:

$$\begin{aligned} \hat{N}_l &= \phi_l N_l^{[i]} + \phi_{ix} \bar{N}_{l,x}^{[i]} + \phi_{iy} \bar{N}_{l,y}^{[i]} + \phi_j N_l^{[j]} + \phi_{jx} \bar{N}_{l,x}^{[j]} + \phi_{jy} \bar{N}_{l,y}^{[j]} \\ &\quad + \phi_k N_l^{[k]} + \phi_{kx} \bar{N}_{l,x}^{[k]} + \phi_{ky} \bar{N}_{l,y}^{[k]} + \phi_m N_l^{[m]} + \phi_{mx} \bar{N}_{l,x}^{[m]} + \phi_{my} \bar{N}_{l,y}^{[m]} \end{aligned} \quad (12)$$

Hàm làm giàu cho biên bất liên tục hình học trong XTFEM

Đối với việc xây dựng các hàm làm giàu cho biên bất liên tục hình học của các phần tử XTFEM hoàn toàn giống với XFEM, chỉ khác là phần tử XTFEM sẽ có miền hỗ trợ lớn hơn. Theo như [3], [5] và [6] thì cần lưu ý rằng, quá trình nội suy liên tiếp trên các nút được làm giàu của các phần tử có biên bất liên tục cắt qua sẽ không thực hiện được do sự gián đoạn. Để giải quyết vấn đề này, một lựa chọn thay thế là cải thiện tính toán của trung bình đạo hàm cho các nút được làm giàu tại các phần tử đó như sau:

$$\bar{N}_{f,x}^{[i]} = N_{f,x}^{[i][e]}, \quad \bar{N}_{f,y}^{[i]} = N_{f,y}^{[i][e]} \quad (13)$$



Hình 2. Miền hỗ trợ cho phần tử làm giàu một phần và làm giàu toàn phần

Nói cách khác, theo công thức (13) và hình 2, những phần tử bị biên bất liên tục cắt qua, tất cả các nút đều được làm giàu (làm giàu toàn phần), sẽ chỉ có miền hỗ trợ là chính phần tử đó thôi. Các ký hiệu trong (13) có ý nghĩa tương tự trong công thức (5).

Hàm làm giàu cho biên bất liên tục là cạnh vết nứt:

Dạng hình học của biên bất liên tục có thể được đặc trưng bởi giá trị 0 của đường cong hàm tập mức $\phi(\mathbf{x}, t) = 0$ và $\phi(\mathbf{x}, t)$ được xác định như sau:

$$\phi(\mathbf{x}, t) = \pm \min_{\mathbf{x}_\Gamma \in \Gamma(t)} \|\mathbf{x} - \mathbf{x}_\Gamma\| \quad (14)$$

Với Γ là biên bất liên tục, t là tập hợp điểm và dấu cộng trừ được định nghĩa bởi dấu của $\mathbf{x} - \mathbf{x}_\Gamma$.

Đối với biên bất liên tục là cạnh vết nứt, hàm làm giàu Heaviside $H(\mathbf{x})$ sẽ được sử dụng.

$$H(\mathbf{x}) = \begin{cases} 1, & \text{khi } \phi(\mathbf{x}) > 0 \\ -1, & \text{khi } \phi(\mathbf{x}) < 0 \end{cases} \quad (15)$$

Ma trận biến dạng - chuyển vị $\mathbf{B}$ của cạnh vết nứt được xác định như sau:

$$\mathbf{B}_i^{spl} = \begin{bmatrix} (\hat{N}_i[H(\xi) - H(\xi_i)])_{,x} & 0 \\ 0 & (\hat{N}_i[H(\xi) - H(\xi_i)])_{,y} \\ (\hat{N}_i[H(\xi) - H(\xi_i)])_{,y} & (\hat{N}_i[H(\xi) - H(\xi_i)])_{,x} \end{bmatrix} \quad (16)$$

Ma trận hàm dạng $\mathbf{N}$ của cạnh vết nứt được xác định như sau:

$$\mathbf{N}_i^{spl} = \begin{bmatrix} \hat{N}_i[H(\xi) - H(\xi_i)] & 0 \\ 0 & \hat{N}_i[H(\xi) - H(\xi_i)] \end{bmatrix} \quad (17)$$

Với $\hat{N}_i$ là hàm dạng nội suy hai lần liên tiếp tại nút được làm giàu i

$H(\xi)$ là hàm Heviside của điểm Gauss đang xét

$H(\xi_i)$ là hàm Heviside của nút i đang xét

Hàm làm giàu cho đỉnh vết nứt:

Hàm làm giàu tại đỉnh vết nứt được định nghĩa theo các thành phần của hệ tọa độ cực địa phương (r, θ) đặt tại đỉnh vết nứt.

$$\left\{ F_a(r, \theta) \right\}_{a=1}^4 = \left\{ \sqrt{r} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right), \sqrt{r} \cos\left(\frac{\theta}{2}\right), \sqrt{r} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \sin(\theta), \sqrt{r} \cos\left(\frac{\theta}{2}\right) \sin(\theta) \right\} \quad (18)$$

Ma trận biến dạng - chuyển vị $\mathbf{B}$ của đỉnh vết nứt được xác định như sau:

$$\mathbf{B}_i^{tip\alpha} = \begin{bmatrix} \left(\hat{N}_i[F_a - F_{ai}] \right)_{,x} & 0 \\ 0 & \left(\hat{N}_i[F_a - F_{ai}] \right)_{,y} \\ \left(\hat{N}_i[F_a - F_{ai}] \right)_{,y} & \left(\hat{N}_i[F_a - F_{ai}] \right)_{,x} \end{bmatrix} \quad \alpha = 1, 2, 3, 4 \quad (19)$$

$$\mathbf{B}_i^{tip} = \begin{bmatrix} \mathbf{B}_i^{tip1} & \mathbf{B}_i^{tip2} & \mathbf{B}_i^{tip3} & \mathbf{B}_i^{tip4} \end{bmatrix} \quad (20)$$

Ma trận hàm dạng $\mathbf{N}$ của đỉnh vết nứt được xác định như sau:

$$\mathbf{N}_i^{tip\alpha} = \begin{bmatrix} \hat{N}_i[F_a - F_{ai}] & 0 \\ 0 & \hat{N}_i[F_a - F_{ai}] \end{bmatrix} \quad \alpha = 1, 2, 3, 4 \quad (21)$$

$$\mathbf{N}_i^{tip} = \begin{bmatrix} \mathbf{N}_i^{tip1} & \mathbf{N}_i^{tip2} & \mathbf{N}_i^{tip3} & \mathbf{N}_i^{tip4} \end{bmatrix} \quad (22)$$

Hàm làm giàu cho biên bất liên tục là lỗ trống:

Đối với biên bất liên tục là lỗ trống, hàm làm giàu Heaviside $V(\mathbf{x})$ vẫn được sử dụng như sau:

$$V(\mathbf{x}) = \begin{cases} 1, & \text{khi } \phi(\mathbf{x}) > 0 \\ 0, & \text{khi } \phi(\mathbf{x}) < 0 \end{cases} \quad (23)$$

Điều đó có nghĩa là những nút nằm bên ngoài lỗ trống sẽ có giá trị $V(\mathbf{x}) = 1$ và những nút nằm bên trong lỗ trống sẽ có giá trị $V(\mathbf{x}) = 0$.

Ma trận biến dạng - chuyển vị $\mathbf{B}$ của biên lỗ trống được xác định như sau:

$$\mathbf{B}_i^{hole} = \begin{bmatrix} \hat{N}_{i,x}[V(\xi) - V(\xi_i)] & 0 \\ 0 & \hat{N}_{i,y}[V(\xi) - V(\xi_i)] \\ \hat{N}_{i,y}[V(\xi) - V(\xi_i)] & \hat{N}_{i,x}[V(\xi) - V(\xi_i)] \end{bmatrix} \quad (24)$$

Ma trận hàm dạng $\mathbf{N}$ của biên lỗ trống được xác định như sau:

$$\mathbf{N}_i^{hole} = \begin{bmatrix} \hat{N}_i[V(\xi) - V(\xi_i)] & 0 \\ 0 & \hat{N}_i[V(\xi) - V(\xi_i)] \end{bmatrix} \quad (25)$$

Hàm làm giàu cho biên bất liên tục là hạt cứng:

Các phần tử bị biên của hạt cứng bất kỳ cắt qua sẽ bị bất liên tục về vật liệu và tính chất này được mô tả bằng cách thêm hàm làm giàu trị tuyệt đối vào trường chuyển vị.

$$\chi = \sum_i \hat{N}_i(\mathbf{x}) |\phi_i(\mathbf{x})| - \left| \sum_i \hat{N}_i(\mathbf{x}) \phi_i(\mathbf{x}) \right| \quad (26)$$

Với ϕ_i là hàm khoảng cách xét dấu tại nút i của một phần tử được làm giàu.

Ma trận biến dạng - chuyển vị $\mathbf{B}$ của biên tạp chất được xác định như sau:

$$\mathbf{B}_i^{inc} = \begin{bmatrix} \hat{N}_{i,x}\chi(\mathbf{x}_i) + \hat{N}_i\chi(\mathbf{x}_i)_{,x} & 0 \\ 0 & \hat{N}_{i,y}\chi(\mathbf{x}_i) + \hat{N}_i\chi(\mathbf{x}_i)_{,y} \\ \hat{N}_{i,y}\chi(\mathbf{x}_i) + \hat{N}_i\chi(\mathbf{x}_i)_{,y} & \hat{N}_{i,x}\chi(\mathbf{x}_i) + \hat{N}_i\chi(\mathbf{x}_i)_{,x} \end{bmatrix} \quad (27)$$

Ma trận hàm dạng $\mathbf{N}$ của biên hạt cứng được xác định như sau:

$$\mathbf{N}_i^{inc} = \begin{bmatrix} \hat{N}_i\chi(\mathbf{x}_i) & 0 \\ 0 & \hat{N}_i\chi(\mathbf{x}_i) \end{bmatrix} \quad (28)$$

Động lực học trong bài toán hỗn hợp nhiều biên bất liên tục:

Xét một điểm có tọa độ $\mathbf{x}$ trong mô hình phần tử hữu hạn. Giả sử có nhiều sự bất liên tục gồm vết nứt, lỗ trống và hạt cứng cùng tồn tại. Theo tài liệu [7], trường chuyển vị xấp xỉ được xác định như sau:

$$\hat{u}^h(\mathbf{x}) = \hat{u}(\mathbf{x}) + \hat{u}^{enr}(\mathbf{x}) = \sum_{j=1}^{n_s} \hat{N}_j(\mathbf{x}) u_j + \sum_{l=1}^{np} \sum_{k=1}^m \hat{N}_k(\mathbf{x}) \hat{\psi}^l(\mathbf{x}) a_k^l \quad (29)$$

Với n_s là số nút hỗ trợ điểm có tọa độ $\mathbf{x}$; np là số điều kiện bất liên tục xảy ra với phần tử chứa điểm có tọa độ $\mathbf{x}$; với phần tử chứa đỉnh vết nứt thì $np = 4$, còn với phần tử có biên bất liên tục là đường nứt, biên lỗ trống, hạt cứng đi qua thì $np = 1$; m là số nút được làm giàu trong mỗi np ; $\hat{\psi}^l$ là hàm làm giàu trong mỗi điều kiện bất liên tục (vết nứt, lỗ trống, hạt cứng) np ; a là bậc tự do ứng với nút được làm giàu.

Bài báo chỉ xét tới độ cứng $\mathbf{K}$, khối lượng $\mathbf{M}$ và bộ qua giảm chấn $\mathbf{C}$. Do đó, phương trình động lực học kết cấu trở thành như sau:

$$\mathbf{M}\ddot{\mathbf{u}}^h + \mathbf{K}\mathbf{u} = \mathbf{F} \quad (30)$$

Với $\mathbf{u}^h$ và $\ddot{\mathbf{u}}^h$ là các vector chuyển vị và gia tốc tại nút phần tử. Với các nút được làm giàu, các bậc tự do làm giàu $\mathbf{a}$ được thêm vào.

$$\mathbf{u}^h = \{\mathbf{u}, \mathbf{a}\}^T; \ddot{\mathbf{u}}^h = \{\ddot{\mathbf{u}}, \ddot{\mathbf{a}}\}^T \quad (31)$$

Ma trận độ cứng $\mathbf{K}$, ma trận khối lượng $\mathbf{M}$ được làm giàu có dạng như sau:

$$\mathbf{K}_{ij}^e = \begin{bmatrix} \mathbf{K}_{ij}^{uu} & \mathbf{K}_{ij}^{ua} \\ \mathbf{K}_{ij}^{au} & \mathbf{K}_{ij}^{aa} \end{bmatrix}; \mathbf{M}_{ij}^e = \begin{bmatrix} \mathbf{M}_{ij}^{uu} & \mathbf{M}_{ij}^{ua} \\ \mathbf{M}_{ij}^{au} & \mathbf{M}_{ij}^{aa} \end{bmatrix} \quad (32)$$

Với

$$\mathbf{K}_{ij}^{rs} = \int_{\Omega} (\mathbf{B}_i^r)^T \mathbf{D} \mathbf{B}_j^s d\Omega \text{ sao cho } r, s = \mathbf{u}, \mathbf{a} \quad (33)$$

Các thành phần trong ma trận khối lượng được tính như sau:

$$\begin{aligned} \mathbf{M}_{ij}^{uu} &= \int_{\Omega} \rho \hat{N}_i \hat{N}_j d\Omega; \mathbf{M}_{ij}^{aa} = \int_{\Omega} \rho \left[\hat{N}_i \hat{\psi}(\mathbf{x}) \right] \left[\hat{N}_j \hat{\psi}(\mathbf{x}) \right] d\Omega \\ \mathbf{M}_{ij}^{ua} &= \int_{\Omega} \rho \hat{N}_i \left[\hat{N}_j \hat{\psi}(\mathbf{x}) \right] d\Omega; \mathbf{M}_{ij}^{au} = \int_{\Omega} \rho \left[\hat{N}_i \hat{\psi}(\mathbf{x}) \right] \hat{N}_j d\Omega \end{aligned} \quad (34)$$

Với $\mathbf{B}$ là các ma trận đạo hàm hàm dạng được tính từ các công thức (16), (19), (24), (27) tùy theo dạng bất liên tục khác nhau; $\mathbf{D}$ là ma trận vật liệu; ρ là khối lượng riêng.

Phương pháp tích phân tương tác cho bài toán động lực học của vết nứt tĩnh:

Để xác định hệ số cường độ ứng suất động, một phương pháp hiệu quả đã được đề xuất bởi Nishioka và Alturi (1984). Theo tài liệu [8], dạng giải tích của tích phân J cho bài toán động lực học với vết nứt tĩnh có dạng như sau:

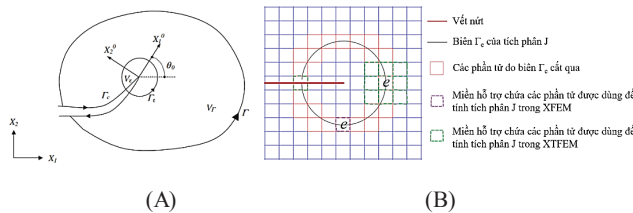
$$J_K = \int_{\Gamma + \Gamma_c} \left((W + K) n_k - t_i \frac{\partial u_i}{\partial x_k} \right) d\Gamma + \int_{V_f - V_e} \left((\rho \ddot{u}_i - f_i) \frac{\partial u_i}{\partial x_k} - \rho \frac{\partial \dot{u}_i}{\partial x_k} \dot{u}_i \right) dA \quad (35)$$

Với u_i , t_i , f_i , n_k và ρ lần lượt là ký hiệu của chuyển vị, áp lực, lực thể tích, vector pháp tuyến và khối lượng riêng.

$$W = (1/2) \rho \sigma_{ij} \varepsilon_{ij} \text{ là mật độ năng lượng biến dạng} \quad (36)$$

K là mật độ năng lượng động học

Phương pháp tính tích phân J của XTFEM dùng trường chuyển vị có nội suy liên tiếp. Số lượng nút và miền hỗ trợ chứa các phần tử khi tính tích phân J trong XTFEM lớn hơn so với XFEM. Sự khác nhau đó được thể hiện như hình 3.



Hình 3. (A) Tọa độ địa phương tại đỉnh vết nứt và (B) Miền hỗ trợ chứa các phần tử được dùng để tính tích phân J trong XFEM và XTFEM.

Mô hình mô phỏng

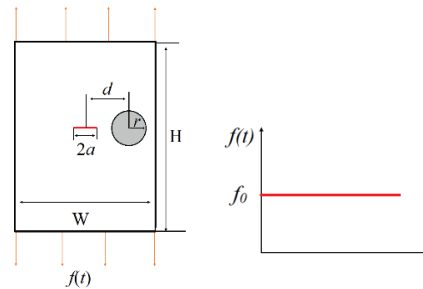
Mô hình 1

Xét bài toán tấm phẳng với chiều rộng $W = 20$ mm, chiều cao $H = 40$ mm, vết nứt nằm ở giữa tấm có kích thước $2a = 4,8$ mm. Lực phân bố đều $f_0 = 1$ N/m ở cạnh trên và dưới của tấm. Mô-đun đàn hồi Young: $E = 199,992$ GPa, hệ số Poisson: $\nu = 0,3$, khối lượng riêng $\rho = 5000$ kg/m³. Bước thời gian là $\Delta t = 0,05$ μ s và tải tác dụng từ 0 đến 13,62 μ s như hình 4. Hạt cứng trong vật liệu nền có bán kính $r = 2$ mm cách tâm vết nứt với khoảng cách $d = 6$ mm theo phương x . Hạt cứng có mô-đun đàn hồi Young: $E = 199,992 \times 10^3$ GPa, hệ số poisson ν của hạt cứng và vật liệu nền đều bằng 0,3. Trường hợp đang xét là biến dạng phẳng. Vận tốc lan truyền sóng dọc $C_d = 7,34$ mm μ s⁻¹. Kết quả tính toán từ XTFEM sẽ được so sánh với kết quả tính theo XFEM, đã được công bố trong tài liệu [9]. Thời gian sẽ được chuẩn hóa như sau:

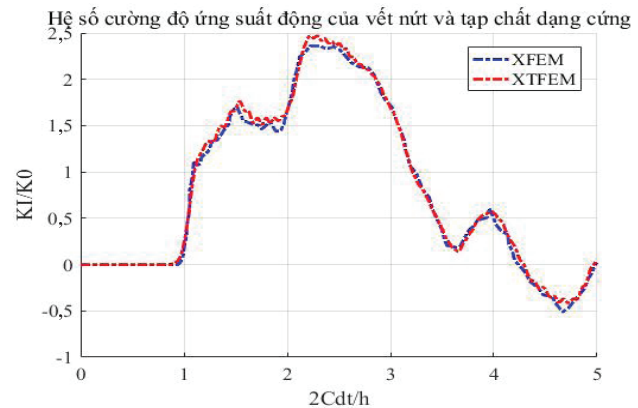
$$t_{\text{chuan_hoa}} = 2C_d t / h \quad \text{với } h = H \text{ là chiều cao tấm}$$

Hệ số cường độ ứng suất động Mode I sẽ được chuẩn hóa như sau:

$$K_I^* = \frac{K_I}{K_0}; \quad K_0 = f_0 \sqrt{\pi a}$$



Hình 4. Tấm phẳng với vết nứt ở giữa gần hạt cứng hình tròn.

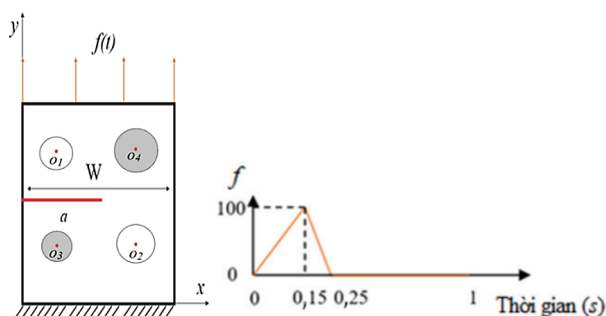


Hình 5. So sánh kết quả hệ số cường độ ứng suất động giữa hai phương pháp.

Sự so sánh các kết quả tính toán giữa hai phương pháp XFEM [9] và XTFEM được thể hiện trong hình 5. Các kết quả hệ số cường độ ứng suất theo thời gian thu được từ XTFEM khá tương đồng với các kết quả được tham khảo từ [9].

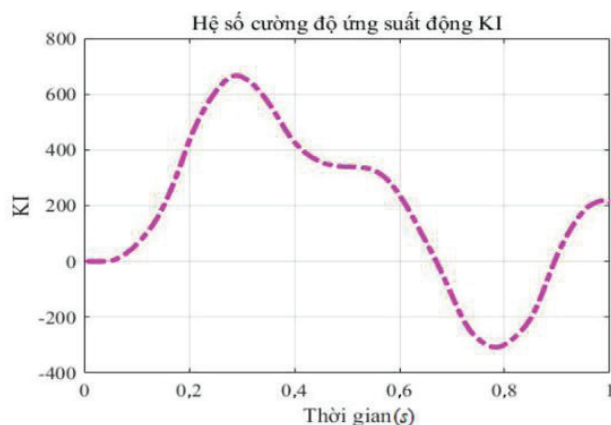
Mô hình 2

Trong ví dụ tiếp theo, xét mô hình tấm phẳng bị nứt có chứa đồng thời lỗ trống và hạt cứng. Các thông số về kích thước, vật liệu và tải trọng được cho tương tự như mô hình 1. Tấm chứa 2 lỗ trống với tọa độ tâm và bán kính lần lượt là: $O_1(1,25; 3,75)$ m, $r_1 = 0,6$ m và $O_2(3,75; 1,25)$ m, $r_2 = 0,7$ m. Tấm chứa 2 hạt cứng với tọa độ tâm và bán kính lần lượt là: $O_3(1,25; 1,25)$ m, $r_3 = 0,55$ m và $O_4(3,75; 3,75)$ m, $r_4 = 0,8$ m. Tấm có vết nứt bắt đầu từ giữa cạnh trái đi về tâm của tấm, với chiều dài vết nứt là $a = 2,5$ m. Lực phân bố cạnh trên theo thời gian như hình 6. Cạnh dưới được ngàm. Trường hợp đang xét là biến dạng phẳng.

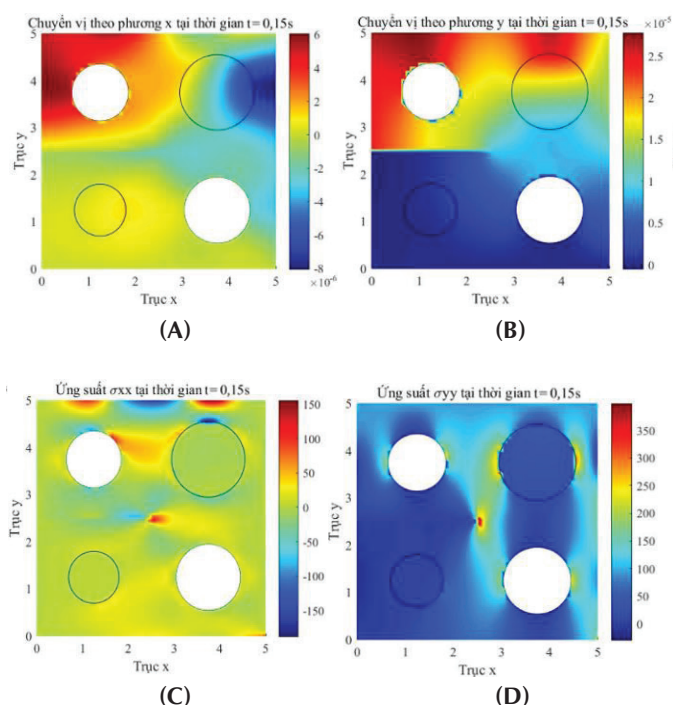


Hình 6. Tấm phẳng chứa vết nứt, lỗ trống và hạt cứng chịu tải theo thời gian.

Đồ thị hệ số cường độ ứng suất động Mode I của tấm theo thời gian và chuyển vị theo phương x , y , trường ứng suất theo hai phương x , y cũng được minh họa qua hình 7 và 8.



Hình 7. Hệ số cường độ ứng suất động mode I của tấm theo thời gian.



Hình 8. (A) Chuyển vị theo phương x ; (B) Chuyển vị theo phương y ; (C) Ứng suất theo phương x ; (D) Ứng suất theo phương y tại thời điểm $t = 0,15$ s.

Tại thời điểm $t = 0,15$ s, lúc tải có giá trị lớn nhất, thì ứng suất chủ yếu tập trung tại đỉnh vết nứt, còn cạnh vết nứt ứng suất gần như bằng 0, từ đó cho thấy trong trường hợp này vết nứt chính là biên bất liên tục dạng mạnh nhất. Ứng suất cũng tập trung ở hạt cứng phía trên vết nứt, gây ảnh hưởng rõ rệt đến hệ số cường độ ứng suất tại đỉnh vết nứt. Với việc sử dụng XTFEM, trường ứng suất khá mịn. Xét về chuyển vị theo phương y , chuyển vị trên và dưới vết nứt có sự đối lập nhau rõ rệt, phần phía trên vết nứt bị kéo ra nên chuyển vị rất lớn.

Kết luận

Trong bài báo này, phương pháp phần tử hữu hạn nội suy liên tiếp mở rộng (XTFEM) đã được áp dụng để xây dựng chương trình mô phỏng bài toán động lực học vết nứt với sự ảnh hưởng của các khuyết tật lỗ rỗng và các hạt cứng phân bố trong vật thể dựa trên ngôn ngữ lập trình Matlab. Phương pháp này có ưu điểm là dễ dàng mô tả được tính chất vật lý của vết nứt, lỗ rỗng và hạt cứng thông qua hàm làm giàu mà không cần phụ thuộc vào lưới mô hình. Đồng thời có thể đem lại một trường ứng suất và biến dạng trơn, liên tục. Điều này sẽ ảnh hưởng đến kết quả tính hệ số cường độ ứng suất tại đỉnh vết nứt. Một vài ví dụ mô phỏng số đã được thực hiện và so sánh để chứng tỏ tính đúng đắn của chương trình. Kết quả thu được từ XTFEM khá tương đồng với kết

quả tham khảo từ tài liệu uy tín [9]. Đề tài này có thể phát triển theo nhiều hướng liên quan đến bài toán nhiều biên bất liên tục với các loại vật liệu khác.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa - Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số To-KHUD-2017-04. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. Belytschko, T. Black (1999), "Elastic crack growth in finite elements with minimal remeshing", *Int. J. Numer. Meth. Eng.*, **45**, pp.601-620.
- [2] N. Moës, J. Dolbow, T. Belytschko (1999), "A finite element method for crack growth without remeshing", *Int. J. Numer. Meth. Eng.*, **46**, pp.131-150.
- [3] Q.T. Bui, Q.D. Vo, Ch. Zhang, D.D. Nguyen (2014), "A consecutive-interpolation quadrilateral element (CQ4)", *Formulation and Applications Finite Elem. Anal. Des.*, **84**, pp.14-31.

[4] C. Zheng, S.C. Wu, X.H. Tang, J.H. Zhang (2010), "A novel twice-interpolation finite element method for solid mechanics problems", *Acta Mech. Sin.*, **26**, pp.265-278.

[5] S.C. Wu, W.H. Zhang, X. Peng, B.R. Miao (2012), "A twice-interpolation finite element method (TFEM) for crack propagation problems", *Int. J. Comput. Methods*, **9**, pp.12-55.

[6] Zuoyi Kang, Tinh Quoc Bui, Du Dinh Nguyen, Takahiro Saitoh, Sohichi Hirose (2015), "An extended consecutive-interpolation quadrilateral element (XCQ4) applied to linear elastic fracture mechanics", *Acta Mech. Sin.*, **80**, pp.17-55.

[7] S. Mohammadi (2012), *XFEM fracture analysis of composites*, John Wiley & Sons.

[8] D. Motamedi and S. Mohammadi (2010), "Dynamic crack propagation analysis of orthotropic media by the XFEM", *Int. J. Fract.*, **161**, pp.21-39.

[9] S. Jiang, C. Du, C. Gu and X. Chen (2014), "XFEM analysis of the effects of voids, inclusions and other cracks on the dynamic stress intensity factor of a major crack", *Fatigue Fract. Eng. Mater. Struct.*, **37**, pp.1-17.

Nghiên cứu ứng dụng hệ lan can liên kết chìm trên các tuyến đường cao tốc ở Việt Nam

Nguyễn Trọng Đồng*, Đặng Ngọc Anh, Đỗ Minh Hiếu, Trần Mỹ Hạnh

Tổng công ty Đầu tư phát triển Đường cao tốc Việt Nam (VEC)

Ngày nhận bài 2/1/2019; ngày chuyển phản biện 7/1/2019; ngày nhận phản biện 21/2/2019; ngày chấp nhận đăng 27/2/2019

Tóm tắt:

Lan can thép với hệ liên kết chìm tăng cường tại vị trí chân cột (lan can liên kết chìm) được ứng dụng tại các tuyến đường cao tốc ở nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là Cộng hòa Pháp, đã chứng tỏ được những ưu thế về mặt kinh tế - kỹ thuật, đồng thời mang lại tính thẩm mỹ bởi kết cấu thanh mảnh. Bài viết nghiên cứu khả năng ứng dụng công nghệ lan can liên kết chìm vào các tuyến đường cao tốc ở Việt Nam.

Từ khóa: lan can cầu, liên kết chìm, kết cấu thép.

Chỉ số phân loại: 2.1

Research into applying sunk-jointed rails for expressways in Vietnam

Trong Dong Nguyen*, Ngoc Anh Dang,
Minh Hieu Do, My Hanh Tran

Vietnam Expressway Corporation (VEC)

Received 2 January 2019; accepted 27 February 2019

Abstract:

Bridge steel rails with sunk joint at the base of the railing column (sunk-jointed rails), which have been applied for expressway projects in many countries around the world, especially in France, have proved their advantages on the economical and technical sides, as well as the aesthetics thank to their slender structure. This article presents an overview of the sunk-jointed rails technology and the ability to apply it for expressways in Vietnam.

Keywords: bridge rails, steel structure, sunk-jointed.

Classification number: 2.1

Đặt vấn đề

Trên các tuyến đường cao tốc của Việt Nam hiện nay, kết cấu lan can được sử dụng chủ yếu là lan can bê tông hoặc lan can liên hợp bê tông - thép [1]. Các lan can này đáp ứng được mức độ ngăn chặn cho các tuyến đường có xe tải trọng lớn lưu thông với tốc độ cao, tuy nhiên còn tồn tại một số nhược điểm là nặng nề (700-1.400 kg/m dài), thời gian thi công dài và thẩm mỹ chưa cao. Các lan can thép có cấu tạo thanh mảnh, nhẹ nhàng nhưng chưa đáp ứng được mức độ ngăn chặn như các lan can bê tông.

Xuất phát từ những đặc điểm trên, Tổng công ty Đầu tư phát triển Đường cao tốc Việt Nam (VEC) đã đề xuất với Bộ Giao thông Vận tải (GTVT) cho phép nghiên cứu một dạng lan can mới khắc phục những nhược điểm của hệ thống lan can cầu hiện nay.

Trên cơ sở tham khảo lan can BN4 của Cộng hòa Pháp, nhóm nghiên cứu đã có những cải tiến để phù hợp với điều kiện thi công tại Việt Nam, từ đó đề xuất lan can thép với hệ liên kết chìm đặt trong bê tông bản mặt cầu nhằm gia cường phần chân cột, đáp ứng mức độ ngăn chặn L4 dành cho các tuyến đường cao tốc [2, 3]. Đồng thời với kết cấu thanh mảnh, trọng lượng nhỏ sẽ làm giảm tải tác dụng lên cánh hẫng dầm biên và tăng tính thẩm mỹ cho công trình.

Với những ưu điểm của mình, kết cấu lan can liên kết chìm hứa hẹn khả năng áp dụng đại trà cho các công trình cầu trên các tuyến đường của Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là lan can thép có hệ liên kết chìm đặt trong bê tông bản mặt cầu.

*Tác giả liên hệ: Email: trongdong.nguyen@gmail.com

Phương pháp nghiên cứu là nghiên cứu lý thuyết, kết hợp với mô phỏng bằng phần mềm và thực nghiệm:

Nghiên cứu lý thuyết để xác định cơ sở thiết kế lan can cầu

Nghiên cứu được thực hiện qua việc nghiên cứu các tiêu chuẩn thiết kế lan can của Mỹ, Anh, châu Âu và Việt Nam [4, 5]; xem xét, đánh giá các quy định về mức độ ngăn chặn, loại phương tiện, vận tốc và góc va xô với lan can; từ đó đề xuất tiêu chuẩn phù hợp áp dụng cho thiết kế các cầu kiện của lan can.

Thông qua việc nghiên cứu các tiêu chuẩn thiết kế khác nhau, nhóm nghiên cứu nhận thấy yêu cầu thiết kế lan can trong các tiêu chuẩn đều dựa trên quy định về mức độ ngăn chặn. Đối với từng nước, do đặc điểm phương tiện tham gia giao thông khác nhau, văn hóa giao thông khác nhau mà quy định về loại xe, tải trọng, vận tốc và chạm, góc va chạm cũng khác nhau.

Theo Tiêu chuẩn thiết kế cầu 22TCN272-05 của Việt Nam quy định mức độ ngăn chặn của lan can cầu trên đường cao tốc phải đạt mức độ ngăn chặn L4, có nghĩa là lan can phải chịu được xe có tải trọng 22 tấn va chạm theo góc 15° với vận tốc 80 km/h. Quy định này phù hợp với điều kiện tại Việt Nam nên nhóm nghiên cứu lựa chọn tiến hành thiết kế tính toán theo Tiêu chuẩn 22TCN272-05 [2].

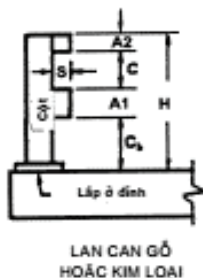
Thiết kế, kiểm toán lan can theo Tiêu chuẩn 22TCN272-05

Việc thiết kế tính toán theo tiêu chuẩn kỹ thuật được thực hiện với trình tự sau: thiết kế cấu tạo hệ thanh - cột lan can, kiểm toán lan can theo điều kiện hình học; kiểm toán lan can theo điều kiện về sức kháng; xác định nội lực hệ lan can bằng phần mềm Midas; thiết kế hệ liên kết chìm, bố trí bulong liên kết; kiểm toán bulong và đường hàn theo các điều kiện trong tiêu chuẩn; thiết kế bố trí cốt thép cho cánh hẫng dầm biên.

Theo tiêu chuẩn, điều kiện đảm bảo về hình học của lan can như sau:

$$\sum A_i/H \geq \sum A_i/H_{\min \text{ tuyệt đối}}$$

Với $\sum A_i/H_{\min \text{ tuyệt đối}}$ được xác định theo Điều 13.7.3.2.2, Tiêu chuẩn 22TCN272-05.



Hình 1. Các kích thước cơ bản của lan can dạng thanh cột.

Trên cơ sở phân tích phi đàn hồi quá trình va chạm của ô tô và lan can, trong mục 13.7.3.4, 22TCN272-05 quy định điều kiện kiểm toán cho hệ lan can gồm 2 nội dung:

Kiểm toán về sức kháng:

$$\sum R_i \geq F_i$$

Kiểm toán về trọng tâm ngoại lực tác dụng:

$Y = \sum (R_i Y_i) / \sum R_i \geq H_c$ - Điều kiện đảm bảo ô tô khi va xô không bị lật ra ngoài lan can.

Trong đó: R_i - Sức kháng của hệ thống lan can (kN); Y_i - Khoảng cách từ mặt cầu tới thanh lan can thứ i .

R_i của lan can cần được tính trong 2 trường hợp:

Khi xe va vào giữa nhịp lan can, dạng phá hoại gồm số lượng nhịp lan can N là lẻ, sức kháng của hệ dầm và cột:

$$R_R = \frac{16M_p + (N-1)(N+1)P_p L}{2NL - L_i}$$

Khi xe va vào cột lan can, dạng phá hoại gồm số lượng nhịp lan can N là chẵn, sức kháng của hệ dầm và cột:

$$R_R = \frac{16M_p + N^2 P_p L}{2NL - L_i}$$

Ngoài các yêu cầu kiểm toán về vật liệu, kiểm toán chi tiết bulong, đường hàn thì đây là các yêu cầu kiểm toán cơ bản và đặc thù trong công tác thiết kế lan can cầu.

Đánh giá khả năng làm việc của lan can

Sau khi thiết kế, khả năng làm việc của lan can có thể đánh giá bằng các phương pháp sau:

Đánh giá bằng thử nghiệm động: việc thử nghiệm động được tiến hành bằng nhiều phương pháp, trong đó phổ biến là sử dụng xe ô tô va vào mô hình lan can cầu được bố trí tại bãi thử (hình 2). Ô tô có tải trọng, vận tốc và góc va tương tự như quy định trong tiêu chuẩn.



Hình 2. Mô hình xe đâm vào lan can.

Ngoài ra, phương pháp sử dụng vật nặng được tạo thế năng tương đương động năng va chạm cũng được sử dụng (hình 3).



Hình 3. Mô hình và chạm bằng con lắc.

Đánh giá bằng thử nghiệm tĩnh: thử nghiệm tĩnh có thể được tiến hành trong phòng thí nghiệm (hình 4) hoặc trực tiếp ngoài công trường (hình 5). Với phương pháp thử nghiệm tĩnh, hệ thống kích, cảm biến đo lực, chuyển vị được sử dụng để đánh giá khả năng chịu lực, quan hệ giữa lực và chuyển vị của lan can [6-9].

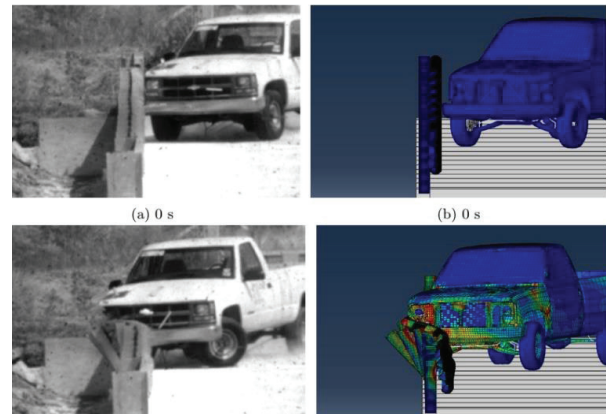


Hình 4. Mô hình thử nghiệm tĩnh trong phòng thí nghiệm.



Hình 5. Mô hình thử nghiệm tĩnh ngoài hiện trường.

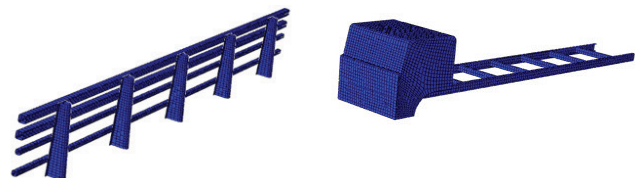
Đánh giá thông qua mô phỏng bằng phần mềm chuyên dụng: với sự phát triển của công nghệ thông tin, hiện có nhiều phần mềm chuyên dụng mô phỏng ứng xử động của kết cấu bằng phương pháp phân tử hữu hạn cho độ chính xác cao [10, 11]. Ví dụ dưới đây là so sánh giữa kết quả thử nghiệm động bằng va xe với mô phỏng bằng phần mềm Abaqus (hình 6) [6].



Hình 6. So sánh mô phỏng và chạm.

Những phân tích nêu trên cho thấy rằng, việc sử dụng phương pháp mô phỏng động để đánh giá khả năng làm việc của kết cấu lan can cho độ tin cậy cao. Chi phí và thời gian thực hiện đối với phương pháp này thấp hơn so với các phương pháp khác. Do đó nhóm nghiên cứu đề xuất lựa chọn phương pháp mô phỏng va chạm động để đánh giá khả năng làm việc của lan can liên kết chìm bằng phần mềm chuyên dụng Abaqus/Explicit - đây là một phần mềm có uy tín dùng để mô phỏng công trình dựa trên phương pháp phân tử hữu hạn, cho phép giải quyết vấn đề từ phân tích tuyến tính đơn giản đến mô phỏng phi tuyến tính phức tạp.

Mô hình lan can và ô tô được mô phỏng dưới dạng phần tử dạng vỏ mỏng theo kích thước thực tế (hình 7).



Hình 7. Mô hình và chạm của xe tải với lan can liên kết chìm.

Mô hình đàn hồi dẻo Von - Mises được sử dụng để mô tả ứng xử cơ bản của các cấu kiện thanh và cột lan can. Hệ số Poisson của thép trong miền biến dạng đàn hồi được lấy là $\nu=0,3$.

Đầu các cột lan can được khai báo chuyển động tự do theo các hướng, chân cột có liên kết dạng ngàm nhằm thiên về an toàn trong tính toán lực tác dụng lên hệ liên kết chìm.

Ô tô mô phỏng được xây dựng theo mẫu ô tô thử tải tiêu chuẩn cho mức độ ngăn chặn L4, vận tốc 80 km/h và xô vào lan can với góc tiếp xúc 15° . Kết quả của mô phỏng là căn cứ kiểm chứng các tính toán, kiểm toán theo tiêu chuẩn kỹ thuật cũng như phục vụ tối ưu hóa thiết kế.

Nghiên cứu về sự làm việc của bộ phận liên kết chìm

Bộ phận liên kết chìm chôn trong bê tông được phân tích,

nguyên cứu bởi mô hình thực nghiệm, trong đó 2 mẫu thử là cột lan can có chiều cao 1,4 m tiết diện chữ H (250 x 250 x 9 mm), liên kết với bản mặt cầu bằng 6 bulong đường kính 24 mm (liên kết thường) hoặc liên kết với bản mặt cầu thông qua hệ liên kết chìm (hình 8).



Hình 8. Bố trí mô hình thực nghiệm.

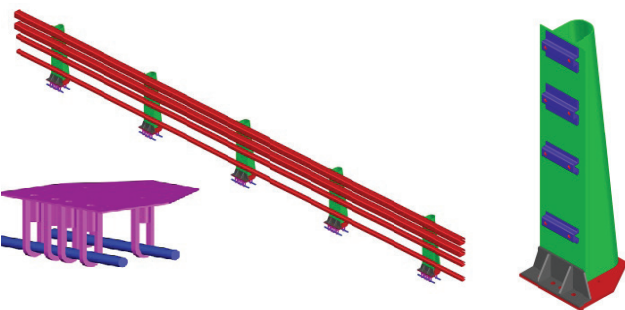
Các mẫu thử chịu tác dụng của ngoại lực của kích thủy lực cho đến khi đạt biến dạng lớn, từ đó phân tích, đánh giá cơ chế hình thành, phát triển vết nứt, sức kháng của từng cột lan can.

Để đo đặc chuyển vị mẫu thử trong quá trình thử nghiệm, nhóm nghiên cứu đã lắp đặt 4 đầu đo chuyển vị, trong đó 1 đầu đo tại vị trí đầu cột và 1 đầu đo tại vị trí chính giữa bản thép tăng cường, 2 đầu đo tại vị trí cạnh bên của bản tập chân cột.

Kết quả và bàn luận

Thiết kế, kiểm toán lan can theo Tiêu chuẩn 22TCN272-05

Thép chế tạo lan can có giới hạn chảy $f_y=400$ MPa, giới hạn bền $f_u=570$ MPa. Cấu tạo lan can có dạng như hình 9, kích thước các thanh được trình bày ở bảng 1.



Hình 9. Cấu tạo điển hình lan can liên kết chìm.

Bảng 1. Kích thước các thanh lan can.

Kích thước (mm)	Thanh 1	Thanh 2	Thanh 3	Thanh 4
B	150	150	100	90
b	64	64	39	39
t	4	4	4	4
R	4	4	4	4

Kết quả kiểm toán theo các nội dung của tiêu chuẩn cho thấy hệ lan can thỏa mãn các điều kiện kiểm toán về hình học:

$$\sum A/H = 0,32 > \sum A/H_{\min \text{ tuyệt đối}} = 0,3$$

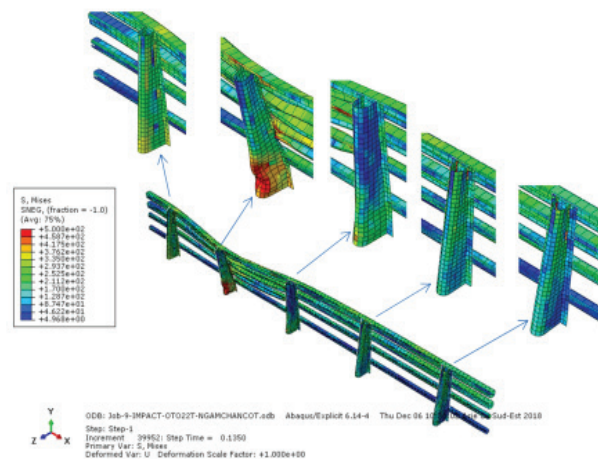
Đồng thời hệ lan can cũng thỏa mãn các điều kiện về kiểm toán sức kháng dưới tác dụng của ngoại lực trong tiêu chuẩn, theo bảng 2.

Bảng 2. Giá trị kiểm toán sức kháng lan can liên kết chìm.

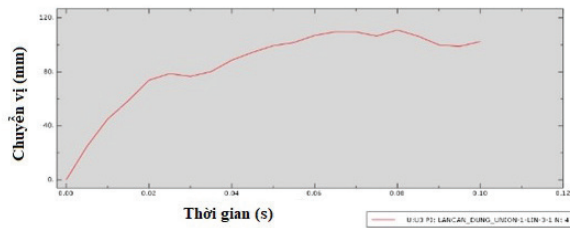
Tổ hợp va xe	Va vào cột lan can		Va vào nhịp lan can	
	R_{tb} (N)	Y_{tb} (mm)	R_{tb} (N)	Y_{tb} (mm)
Giá trị	1.868.914	1.031	1.343.270	1.159
Điều kiện	$R_{tb} \geq F_t = 516.000$ N	$Y_{tb} \geq H_e = 1.020$ mm	$R_{tb} \geq F_t = 516.000$ N	$Y_{tb} \geq H_e = 1.020$ mm
Kiểm toán	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Kết luận	Đạt		Đạt	

Kiểm chứng khả năng làm việc của lan can bằng mô phỏng động

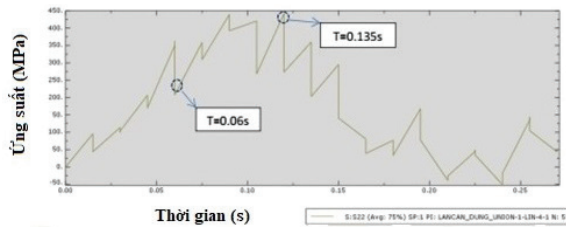
Hệ lan can và ô tô thử tải được mô phỏng theo tỷ lệ 1:1 so với kích thước và khối lượng thực tế. Các thông số về vật liệu được lấy theo thiết kế. Biến dạng các chi tiết hệ lan can thể hiện ở hình 10; chuyển vị đầu cột được thể hiện ở hình 11; ứng suất lớn nhất tại vị trí chân cột được thể hiện ở hình 12 và lực nhỏ bulong chân cột được thể hiện ở hình 13.



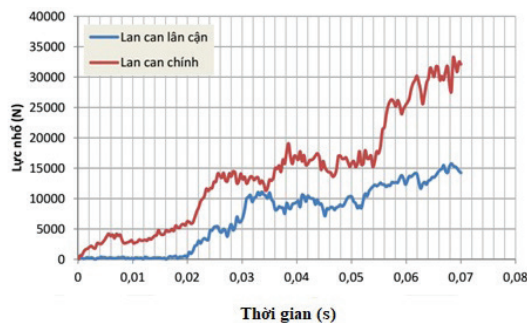
Hình 10. Mô phỏng biến dạng do va xô lan can liên kết chìm.



Hình 11. Biểu đồ chuyển vị đầu cột.



Hình 12. Biểu đồ ứng suất chân cột.



Hình 13. Biểu đồ lực nhổ bulong.

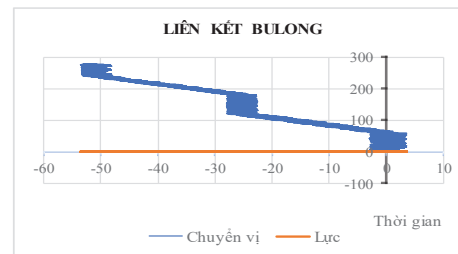
Việc mô phỏng và chạy động cho thấy một số điểm sau đây: nội lực phá hoại xác định bởi mô phỏng động nhỏ hơn nội lực được xác định bởi tính toán theo tiêu chuẩn do tính toán theo tiêu chuẩn bằng phương pháp phân tích lực chưa xem xét sự ảnh hưởng của biến dạng đến quá trình truyền lực. Như vậy, theo tiêu chuẩn hệ liên kết chìm đã được thiết kế thiên về an toàn, đủ khả năng chịu lực và chạy động, đảm bảo mức độ ngăn chặn L4. Về biến dạng, ứng suất chân cột đạt tới giá trị giới hạn đàn hồi (450 MPa), chân cột và thanh lan can tại vị trí va xô đã bị biến dạng và làm việc tại trạng thái chảy dẻo. Tuy nhiên, hệ lan can chưa đạt đến trạng thái phá hoại (<570 MPa), đảm bảo duy trì chức năng ngăn chặn theo yêu cầu.

Nghiên cứu về sự làm việc của bộ phận liên kết chìm

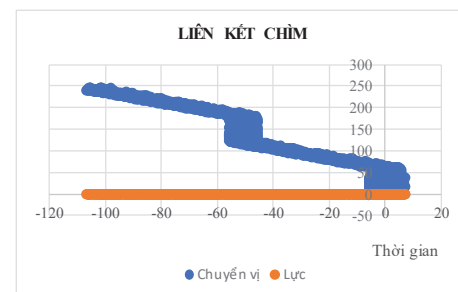
Kết quả thử nghiệm thể hiện trên 2 yếu tố:

Tương quan chuyển vị - lực:

Lực kích lớn nhất trong thử nghiệm liên kết bulong là 52 kN (hình 14) và lực kích lớn nhất trong thử nghiệm liên kết chìm là 105 kN (hình 15).



Hình 14. Biểu đồ chuyển vị - lực của thử nghiệm đối với liên kết bulong.



Hình 15. Biểu đồ chuyển vị - lực của thử nghiệm đối với liên kết chìm.

Cùng một hành trình kích, ngoại lực do kích tác động lên mẫu lan can liên kết chìm có giá trị lớn gấp 2 lần ngoại lực do kích tác động lên mẫu lan can liên kết thường. Điều đó minh chứng khả năng chịu lực của lan can liên kết chìm tốt hơn khả năng chịu lực của lan can thông thường.

Mức độ phá hủy kết cấu:



Hình 16. Mặt trên mẫu thử liên kết chìm.



Hình 17. Mặt chính diện mẫu thử liên kết chìm.

Đối với mẫu liên kết chìm, hình ảnh phá hủy (hình 16 và 17) của mẫu cho thấy vết nứt phát triển sâu xuống dưới, không xuất hiện phá hoại (vết nứt) theo phương ngang, gần bề mặt. Nguyên nhân là dưới tác dụng của lực nhỏ, các chốt trong liên kết chìm đã kéo thép neo (được chôn sâu trong bê tông) tạo nên mô men uốn trong mẫu thử, dẫn đến vết nứt dọc từ trên xuống.



Hình 18. Phá hủy mẫu thử liên kết bulong.

Đối với mẫu liên kết thường (hình 18): hình ảnh phá hủy ở mặt chính diện cho thấy vết nứt chính phát triển theo phương ngang, nông ngay sát mặt trên bề bê tông (cách bề mặt bê tông khoảng 5 cm). Một vài vết nứt theo phương thẳng đứng phát triển từ bề mặt xuống vết nứt ngang và phát triển tiếp từ vết nứt ngang xuống dưới là hệ quả của việc phá hoại theo vết nứt chính.

Điều đó cho thấy, liên kết của cột lan can thông thường với bê tông chỉ thông qua các bulong, sự làm việc chung giữa bulong và bê tông bản mặt cầu chỉ thông qua lực dính bám nên không phát huy được khả năng làm việc của bê tông bên dưới, khiến bulong bị bật nhổ, kéo theo cả hệ cột lan can. Phân tích trên cũng lý giải cho việc cùng một hành trình kích, ngoại lực tác dụng lên cột lan can liên kết chìm có giá trị cao gấp 2 lần ngoại lực kích tác dụng lên cột lan can thường. Như vậy có thể thấy, hệ lan can liên kết chìm đã phát huy được khả năng làm việc của phần bê tông mẫu thử phía sâu dưới cột lan can, giúp kết cấu có khả năng chịu lực tốt.

So sánh chỉ tiêu kinh tế - kỹ thuật của kết cấu lan can liên kết chìm

Về mặt kỹ thuật, lan can liên kết chìm đạt mức độ ngăn chặn L4, khối lượng lan can liên kết chìm vào khoảng 325 kg/m dài, giảm khoảng 4 lần so với lan can bê tông (1.400 kg/m dài). Điều này giúp giảm tĩnh tải tác dụng lên kết cấu phần trên cầu.

Về mặt kinh tế, chi phí xây dựng lan can liên kết chìm thấp hơn không nhiều so với lan can bê tông, nhưng thấp hơn khoảng 37% so với lan can liên hợp thép - bê tông.

Ngoài ra, nhờ khả năng chịu lực tốt của liên kết chìm, cự ly các cột lan can có thể được bố trí cách xa nhau hơn so với kết cấu liên kết bằng bulong thường, tăng cường tính thanh mảnh và thẩm mỹ cho kết cấu. Cùng với đó, việc thi công lắp ghép giúp lan can liên kết chìm thuận tiện trong thi công

lắp đặt, dễ bảo dưỡng thay thế.

Các thông số so sánh về hiệu quả kinh tế của lan can liên kết chìm và các lan can khác được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. So sánh chi phí xây dựng của các loại lan can.

Loại	Lan can bê tông	Lan can cầu thép chân bê tông	Lan can liên kết chìm
Tĩnh tải (kg/m)	1.437	769	325,4
Chi phí cho cầu 30 m (triệu đồng)	219,2	342,4	214,5
Chi phí (triệu đồng/m dài)	3,65	5,7	3,57
Tỷ lệ giá thành	1	1,562	0,978
Mức độ ngăn chặn	L4	L4	L4
Thẩm mỹ	X	XX	XX
Công trình	Cầu Ông Toàn*	Cầu Bình Khánh*	Đề xuất

*Cầu thuộc Dự án đường cao tốc Bến Lức - Long Thành.

Kết luận

Công nghệ lan can liên kết chìm được nghiên cứu thiết kế phù hợp với điều kiện Việt Nam, đáp ứng khả năng chịu lực cho đường cao tốc cũng như các tuyến đường có lưu lượng xe tải nặng cao. Bên cạnh khả năng chịu lực lớn hơn 2 lần so với lan can liên kết bulong thông thường, trọng lượng bản thân nhỏ hơn khoảng 4 lần so với lan can bê tông và chi phí thấp khoảng 37% so với lan can liên hợp bê tông - thép, hứa hẹn lan can liên kết chìm sẽ được ứng dụng rộng rãi trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Minh Nghĩa (2007), “Đường người đi và lan can trên cầu”, *Tổng luận Cầu*, Nhà xuất bản Giao thông vận tải, Hà Nội.
- [2] Tiêu chuẩn thiết kế cầu 22TCN272-05.
- [3] AASHTO (2012), *LRFD Bridge Design Specifications*, LRDUS-6, American Association of State Highway and Transportation Officials, Washington, DC.
- [4] ASSHTO (2016), *Manual for Assessing Safety Hardware (MASH)* 2016.
- [5] Ministère du Logement (2009), *Decision d'accordement n° BN4/16-06-08 du 13 février 2009 relative à la barrière de sécurité métallique modèle “BN4/16”*.
- [6] Dassault Systemes Sirmulia Corp (2008), *Abaqus theory manual*, Providence: Rhod. Island USA.
- [7] Texas Transportation Institute (TTI) (2004), *Báo cáo thử nghiệm lan can BTCT cấp độ TL-5*, mã số: TRP-03-194-04.
- [8] Collection du Guide Technique GC (1999), *Barrières de sécurité - pour la retenue des poids lourds*, Barrières de niveau H2 ou H3.
- [9] National Cooperative Highway Research Program (1993), *Report 350 - Recommended Procedures for the Safety Performance Evaluation of Highway Feature*.
- [10] Report.No: FHWA/TX-05/9-8132-3 (2005), *Testing and evaluation of the Florida F shape bridge rail with reduced deck thickness*.
- [11] Report.No: FHWA/TX-07/0-4823-CT-19 (2005), *Design of retrofit vehicular Barrie using Mechanical anchors*.

Nghiên cứu phát triển hệ đo độ dày vật liệu thủy tinh nhiều lớp dựa trên công nghệ giao thoa ánh sáng xung lược

Bành Quốc Tuấn^{1*}, Phạm Đức Quang¹, Nguyễn Quốc Đạt²,
Trương Công Tuấn^{3,4}, Shioda Tatsutoshi³

¹Phòng thí nghiệm Nghiên cứu phát triển ứng dụng fiber laser, Viện Ứng dụng Công nghệ

²Trung tâm Ươm tạo công nghệ và Doanh nghiệp khoa học công nghệ, Viện Ứng dụng Công nghệ

³Viện Sau đại học về khoa học và kỹ thuật, Đại học Saitama, Nhật Bản

⁴Viện Cơ khí, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

Ngày nhận bài 5/11/2018; ngày chuyển phản biện 8/11/2018; ngày nhận phản biện 11/12/2018; ngày chấp nhận đăng 21/12/2018

Tóm tắt:

Phương pháp đo biên dạng bề mặt (surface profile) và đo cắt lớp độ dày vật liệu (tomograms) dựa trên giao thoa ánh sáng phổ rộng được phát triển trong nghiên cứu này. Bộ cộng hưởng Fabry-Perot được sử dụng để tạo ra một nguồn sáng phát tần số xung lược nhằm mở rộng khoảng đo theo chiều sâu. Cách tử nhiễu xạ (diffraction grating) được đặt bên trong bộ giao thoa ánh sáng, cho phép thực hiện các phép đo biên dạng bề mặt và đo cắt lớp độ dày vật liệu trong không gian 2 chiều chỉ với một khung ảnh trên camera CCD. Các vân giao thoa với các bậc vân riêng biệt tương ứng với bậc của tần số xung lược được ghi lại bởi một CCD camera trong thời gian thực. Thông tin biên dạng và độ dày các lớp của mẫu vật là các lớp (tấm thủy tinh nhiều lớp) có thể được tính toán từ vị trí của vân giao thoa trên CCD camera và bậc tương ứng của các vân. Trong hệ đo này, độ phân giải của phép đo cắt lớp độ dày và đo biên dạng lần lượt đạt được là 8 μm và 0,7 μm ; phạm vi đo của hệ có thể đạt được là 30 mm.

Từ khóa: ảnh giao thoa ánh sáng, chụp cắt lớp, đo biên dạng, giao thoa ánh sáng.

Chỉ số phân loại: 2.2

Đặt vấn đề

Đo bề mặt và đo bên trong bề mặt là bài toán được đặt ra trong rất nhiều lĩnh vực, bao gồm cả y học, sinh học và công nghiệp. Điển hình như trong sinh học, một số công nghệ như siêu âm, X-quang [1], công hưởng từ [2] đã được phát triển và sử dụng rộng rãi để đo, kiểm tra các dị vật bên trong cơ thể người, mang lại lợi ích rất to lớn trong việc khám chữa bệnh. Trong công nghiệp, việc đánh giá chất lượng bề mặt cũng như bên trong sản phẩm cũng rất quan trọng. Các phương pháp như kính hiển vi điện tử (optical microscope [3]), máy quét đầu dò (scanning probe microscope) hoặc máy quét xử lý pha laser (phase shifting microscope [4]) đang được sử dụng rất phổ biến.

Mỗi phương pháp có những ưu nhược điểm và phạm vi ứng dụng riêng. Phương pháp siêu âm có ưu điểm là dải đo lớn, tốc độ đo nhanh, tuy nhiên độ chính xác không cao nên hạn chế trong sử dụng để đo các đối tượng có kích thước nhỏ (<100 μm) [4, 5]. Trong 2 thập kỷ gần đây, phương pháp chụp giao thoa quang học (optical coherent tomography - OCT [2, 3]) đang thu hút nhiều sự quan tâm

của các nhà nghiên cứu trên thế giới vì độ chính xác cao (~1 μm) và không phá hủy mẫu. Thêm vào đó, sự phát triển nhanh chóng của công nghệ vật liệu, công nghệ bán dẫn, điện tử kết hợp với công nghệ chế tạo sợi quang cho phép tạo ra rất nhiều nguồn sáng (từ đơn sắc laser đến dải rộng và siêu rộng), có thể sử dụng trong các máy đo OCT thế hệ mới. Nhiều phiên bản đo OCT đã được nghiên cứu và phát triển [4, 5] phục vụ trong nhiều lĩnh vực. Tuy nhiên, hiện nay các máy đo OCT vẫn có những hạn chế lớn về tốc độ đo, khó ứng dụng trong công nghiệp, nơi mà ngoài tiêu chí về độ chính xác cao thì tốc độ cao và không phá hủy mẫu là yếu tố rất quan trọng, quyết định hiệu suất làm việc và khả năng ứng dụng thực tế của cả hệ thống.

Một số nghiên cứu đã giới thiệu giải pháp để giải quyết bài toán tốc độ đo của máy OCT như sử dụng laser xung lược [5] hoặc ánh sáng dải siêu rộng (super-continuum light [5]). Tốc độ đo và độ phân giải được cải thiện, nhưng thiết bị đắt tiền và hệ thống trở nên rất phức tạp. Trong những nghiên cứu trước của nhóm, chúng tôi cũng đã phát triển hệ thống đo giao thoa ánh sáng trong thời gian thực sử dụng

*Tác giả liên hệ: Email: tuan@sevensix.co.jp

Research and development of multi-layer glass plate thickness measurement system using optical frequency comb interferometry

Quoc Tuan Binh^{1*}, Duc Quang Pham¹,
Quoc Dat Nguyen², Cong Tuan Truong^{3,4},
Shioda Tatsutoshi³

¹Laboratory for Optical Fiber Laser Research Development and Application,
National Center for Technological Progress

²Nacentech Technology and Business Incubator,
National Center for Technological Progress

³Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, Japan

⁴School of Mechanical Engineering,
Hanoi University of Science and Technology

Received 5 November 2018; accepted 21 December 2018

Abstract:

We proposed a measurement system for surface profile and tomography using incoherent optical frequency comb interferometry and spatial phase modulation (a diffraction grating). By employing a spatial phase modulator to an interferometer, the axial and lateral information of a sample were simultaneously obtained in one-shot capture. An incoherent optical frequency comb, which was generated by a Fabry-Perot etalon and super continuum (SC) light source, was also installed to extend the axial measurement range of the system. The interference fringes, which belong to the interference comb orders, were rapidly monitored on the CCD camera. Surface profile and thickness of multi-layer glass plates could be derived from the position of the inference fringes on the CCD and their calculated fringe order. Resolutions of tomography and profilometry were achieved at 8 μm and 0.7 μm , respectively. The measurement range could be extended up to 30 mm by using the optical frequency comb technology.

Keywords: interferometric imaging, interferometry, profilometry, tomography.

Classification number: 2.2

phương pháp mã hóa không gian pha kết hợp với bộ cộng hưởng VIPA (virtually imaged phase array) [5]. Hệ thống này đáp ứng được yêu cầu về đo thời gian thực.

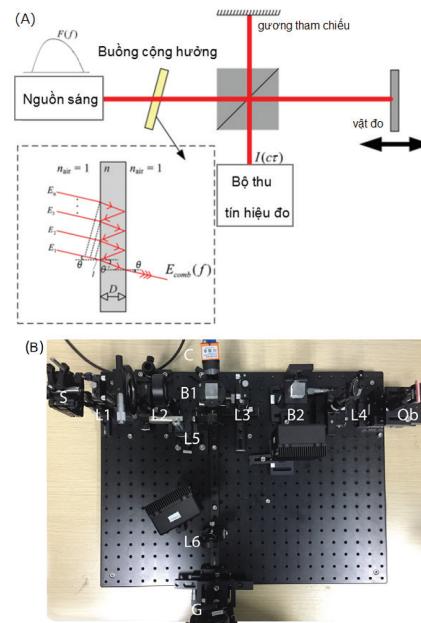
Nghiên cứu này hướng tới việc phát triển thiết bị đo chính xác bề dày các lớp thủy tinh với tốc độ đo nhanh, đáp ứng được tốc độ dây chuyền sản xuất của các nhà máy sản xuất thủy tinh. Chúng tôi đề xuất một nghiên cứu mới sử dụng nguồn sáng dải siêu rộng và kỹ thuật mã hóa không gian pha kết hợp cộng hưởng. Phương pháp được đề xuất nhằm mục đích đo bề dày các lớp mẫu trong thời gian thực, không gian 2 chiều, độ phân giải $\sim 8 \mu\text{m}$, khoảng cách đo $\sim 30 \text{ mm}$. Hệ thống có khả năng đo bề mặt của vật liệu trong thời gian thực và xây dựng hình ảnh 3D bề mặt vật liệu tán xạ ánh sáng cao thông qua việc ghép nhiều ảnh 2D thu được từ máy đo.

Phương pháp

Một nguồn sáng độ kết hợp thấp (low-coherent) có phổ lược tần số (frequency comb) được tạo ra một cách đơn giản bằng việc sử dụng một bộ cộng hưởng Fabry-Perot và một nguồn sáng dải rộng. Phổ công suất của nguồn sáng lược tần số được miêu tả bởi công thức [4]:

$$E_{comb}(f) \propto F(f) \left[G(f) \sum_{m=-\infty}^{+\infty} \delta(f - mFSR) \right] \quad (1)$$

trong đó: FSR (free spectral range), f , $F(f)$, $G(f)$ và m lần lượt là khoảng cách giữa các tần số xung lược, tần số ánh sáng, phổ tần số ánh sáng của nguồn sáng dải rộng, phổ của nguồn xung lược tần số và bậc của xung lược tần số.



Hình 1. (A) Sơ đồ hệ thống giao thoa sử dụng nguồn sáng xung lược, và (B) Hình ảnh hệ thống trong thực tế, trong đó S là nguồn sáng; L1, L2, L3, L4, L5, L6 là các thấu kính; B1 là bộ chia quang; Ob là vật; C là CCD camera; B1, B2 là bộ tách tia, G là cách tử nhiễu xạ.

Trong miền thời gian, tia sáng từ bộ cộng hưởng đi ra là biến đổi fourier ngược của $E_{comb}(f)$ được miêu tả bởi:

$$I(t) = F^{-1}[E_{comb}(f)] \cong g(t)e^{i2\pi f_0 t} [f(t) * \sum_{m=-\infty}^{+\infty} \delta(t - m \frac{1}{FSR})] \quad (2)$$

trong đó $I(t)$, t , f_0 , $g(t)$ và $f(t)$ là cường độ chùm sáng đi ra từ bộ cộng hưởng, thời gian, tần số trung tâm của nguồn sáng, biến đổi fourier ngược của $G(f)$ và $F(f)$ [4]. Các tần số xung lược (thỏa mãn điều kiện cộng hưởng) lần lượt đi ra khỏi bộ cộng hưởng với một khoảng thời gian trễ nhất định. Trong trường hợp bộ cộng hưởng quang được đặt trước hệ thống giao thoa, các thành phần sóng ánh sáng sẽ giao thoa với nhau theo một tỷ lệ cường độ giữa sóng ánh sáng phản xạ từ mẫu vật và sóng ánh sáng nhiễu xạ từ nhánh tham chiếu. Tỷ lệ này thường được chọn sao cho độ tương phản của các vân giao thoa trên cảm biến của camera là lớn nhất.

Sơ đồ hệ thống giao thoa được miêu tả trong hình 1(A). Nguồn sáng xung lược tần số độ kết hợp thấp được tạo ra từ một nguồn sáng phổ rộng và một bộ cộng hưởng quang. Ánh sáng truyền tại một tần số riêng lẻ từ bộ cộng hưởng là tổng của tất cả các chùm đa phản xạ, quang lộ của mỗi chùm đa phản xạ có giá trị khác nhau sau mỗi lần phản xạ trên hai bề mặt của bộ cộng hưởng quang. Hàm truyền của bộ cộng hưởng quang được biểu diễn bởi:

$$T = t_1 t_2 \sum_{m=0}^{\infty} (r_1 r_2)^m e^{-i(2\pi f/c)[(2m+1)nL - ml]} \quad (3)$$

trong đó t_1 , t_2 , r_1 và r_2 là hệ số truyền qua và phản xạ của mặt trước và mặt sau của bộ cộng hưởng quang, c và f là vận tốc ánh sáng trong chân không và tần số của ánh sáng, n và L là chiết suất của vật liệu bên trong bộ cộng hưởng quang và khoảng cách giữa 2 mặt của bộ cộng hưởng, l là hiệu quang lộ giữa 2 tia liên tiếp trước khi đi vào bộ cộng hưởng quang. Từ công thức (2), biên độ sóng ánh sáng truyền qua bộ cộng hưởng được viết lại theo công thức:

$$T = t_1 t_2 e^{-(2\pi f n L / c)} \sum_{m=0}^{\infty} (r_1 r_2)^m e^{-i(-\Delta\varphi)m} \approx \frac{t_1 t_2 e^{-i(2\pi f n L / c)}}{1 - r_1 r_2 e^{-i\Delta\varphi}} \quad (4)$$

trong đó $\Delta\varphi$ là pha bị thay đổi khi tia sáng phản xạ trong bộ cộng hưởng quang [4, 5].

Cường độ của tia sáng truyền qua được tính bởi công thức:

$$I = TT^* = \frac{(t_1 t_2)^2}{1 + (r_1 r_2)^2 - 2r_1 r_2 \cos(\Delta\varphi)} \quad (5)$$

và $\Delta\varphi$ được tính theo công thức:

$$\Delta\varphi = \frac{4\pi f n D}{c} \cos[\sin^{-1}(\sin \theta / n)] \quad (6)$$

trong đó, D và θ là chiều rộng của bộ cộng hưởng quang và góc giữa bề mặt của bộ cộng hưởng quang và tia ánh sáng tới.

Cường độ của tia sáng truyền qua bộ cộng hưởng đạt giá trị lớn nhất khi $\Delta\varphi$ là bội số của 2π . Tần số thỏa mãn điều

kiện cộng hưởng của cộng hưởng quang được tính bởi:

$$f_r = m \frac{c}{2nd \cos[\sin^{-1}(\sin \theta / n)]} \quad (7)$$

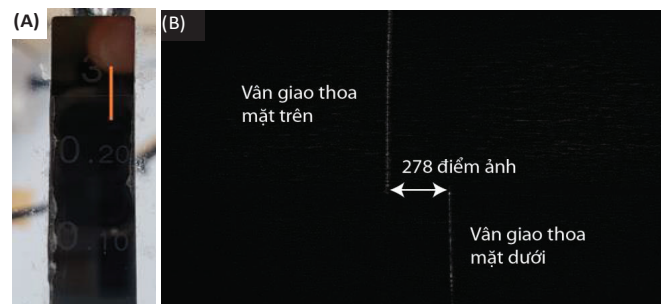
ở đây m là số nguyên tố dương, $m = 1, 2, 3, \dots$

Khi tia sáng có phổ tần số xung lược được tạo ra bởi bộ cộng hưởng quang được sử dụng như nguồn sáng trong hệ giao thoa, vì các tần số lặp lại của bộ cộng hưởng ở tần số rất cao, giao thoa tạo ra tín hiệu xung xuất hiện liên tục dọc theo đường truyền của tia sáng trong hệ giao thoa. Mỗi tín hiệu giao thoa trong hệ giao thoa có một thứ tự vân nhất định, và dựa vào thứ tự vân mà thu được từ hệ giao thoa có thể nội suy ra được thông tin về vật (optical path length) nL .

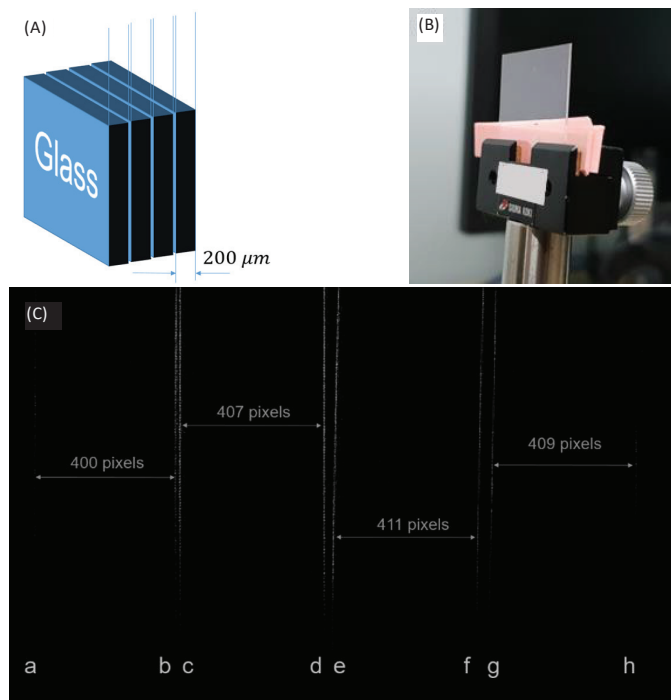
Kết quả và thảo luận

Để xác nhận tính khả thi của phương pháp đo trong phần này, một hệ thống như hình 1(B) được xây dựng để đo mẫu vật. Ánh sáng từ nguồn sáng phổ rộng được chuẩn trực tạo thành tia sáng song song, được hội tụ bởi hệ thấu kính có tiêu cự nhỏ 10 mm và 100 mm. Tín hiệu giao thoa được tạo bởi sóng phản xạ từ vật và từ bộ mã hóa pha (cách tử quang) được ghi nhận bởi camera.

Để xác định độ chính xác của hệ đo, một vật mẫu có bề dày biết trước cấu tạo bởi 3 Gauge block ghép vào với nhau như trong hình 2(A) được sử dụng. Vân giao thoa của sóng ánh sáng phản xạ từ vật và từ cách tử quang được ghi nhận như trong hình 2(B). Do khoảng cách giữa hai bề mặt của mẫu có kích thước biết trước là 200 μm và khoảng cách giữa 2 vân giao thoa tạo bởi 2 bề mặt của mẫu được ghi nhận trên camera tính theo điểm ảnh là 278 điểm ảnh, điều này có nghĩa là mỗi điểm ảnh của camera tương ứng với một khoảng cách là 0,719 μm . Từ ảnh vân giao thoa giữa gương tham chiếu và các bề mặt từ vật, ta có thể xác định được khoảng cách thực tế giữa các bề mặt của vật một cách dễ dàng thông qua vị trí của các vân này. Từ hình 2(B), ta cũng có thể thấy rằng, bề rộng của vân giao thoa tính từ vị trí nửa vân có cường độ lớn nhất (Full Width Half Maximum - FWHM) là 11 điểm ảnh, vì vậy độ phân giải của mỗi phép đo biên dạng bề mặt của vật là xấp xỉ 0,7 μm ; độ phân giải phép đo cắt lớp độ dày của vật là xấp xỉ 8 μm .



Hình 2. (A) Vật mẫu được sử dụng để xác định tính chính xác của hệ đo và (B) Vân giao thoa giữa sóng ánh sáng phản xạ từ vật và sóng tham chiếu phản xạ từ cách tử quang.



Hình 3. (A) Mô hình và (B) Vật thực tế được đo bởi hệ thống, (C) Vị trí vân giao thoa giữa sóng phản xạ từ vật và sóng tham chiếu phản xạ từ cách tử quang được đánh dấu bởi các ký tự từ a tới h.

Trong thí nghiệm tiếp theo, hệ thống sẽ được áp dụng vào việc đo chiều dày của một vật thực. Vật được tạo ra bằng cách ghép nhiều tấm kính mỏng lại với nhau như trong hình 3(A) và (B). Chiều dày của mỗi lớp kính vào khoảng 200 μm , các bề mặt được lựa chọn có hệ số phản xạ giống nhau. Vì có 4 tấm kính nên sẽ có 8 bề mặt và vân giao thoa tương ứng với vị trí của 8 bề mặt được chỉ ra trên hình 3(C). Vị trí tương ứng của các bề mặt được chỉ định bởi các ký tự tương ứng từ a tới h. Từ ảnh vân giao thoa của mỗi bề mặt của vật ta có thể tính được chiều dày quy đổi của các bề mặt a~b, b~c, c~d, d~e, e~f và f~g lần lượt là 191,7 μm , 195,1 μm , 197 μm và 196 μm . Chú ý rằng chiết suất của thủy tinh là 1,5. Tương tự, khoảng cách các khe giữa các tấm thủy tinh b~c, d~e, f~g tính tại vị trí đường cắt ngang giữa của ảnh vân giao thoa lần lượt là 16 điểm ảnh, 30 điểm ảnh và 38 điểm ảnh tương ứng với khoảng cách thực tế giữa các tấm thủy tinh là 11,5 μm , 21,6 μm và 27,3 μm .

Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã giới thiệu một kỹ thuật mới cho phép đo chiều dày của các lớp vật liệu thủy tinh sử dụng giao thoa nguồn sáng phổ xung lược được tạo ra bởi một cộng hưởng tinh thể. Phương pháp có khả năng thực hiện phép đo vật theo 2 chiều (2D) hoặc 3 chiều (3D) chính xác với độ phân giải cao và tốc độ đo cao trong thời gian thực. Phạm vi đo của hệ thống được mở rộng tới hơn 30 lần so với các phương pháp đo truyền thống, trong khi độ phân giải không thay đổi. Kỹ thuật được đề xuất trong nghiên cứu này đáp ứng được các yêu cầu công nghiệp như: độ chính xác cao ($<10 \mu\text{m}$), thời gian đo nhanh, có thể quan sát và lưu kết quả đo trong thời gian thực, khoảng cách có thể đo lớn, bề dày mẫu $>30 \text{ mm}$, khoảng cách từ đầu đo đến mẫu lớn, thuận lợi khi thiết kế, cài đặt và không tiếp xúc trực tiếp hay phá hủy mẫu. Với phạm vi và độ phân giải đạt được của hệ thống, việc đo chất lượng bề mặt và phát hiện các khuyết tật bên trong (bên dưới) bề mặt vật liệu trong công nghiệp, y sinh và các lĩnh vực công nghệ khác là hoàn toàn có thể thực hiện được.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M.C. Tan, et al. (2016), "Ultrasonically treated foams and cakes using X-ray tomography and X-ray microtomography", *Journal of Food Engineering*, **83**, pp.9-15.
- [2] M.R. Gold, et al. (2015), "Full-Body MRI in Patients With an Implantable Cardioverter-Defibrillator: Primary Results of a Randomized Study", *Journal of the American College of Cardiology*, **65**, pp.2581-2588.
- [3] D. Huang, et al. (1991), "Optical Coherent Tomography", *Science*, **254**, p.1178.
- [4] T. Shioda, et al. (2012), "Two-dimensional single-shot tomography using a virtually imaged phased array and a spatial phase modulator", *Applied Optics*, **51**, p.5224.
- [5] B.Q. Tuan, et al. (2013), "Development of an incoherent optical frequency comb interferometer for long-range and scanless profilometry and tomography", *Optics Communications*, **296**, pp.1-8.

Giải pháp tính khoảng cách từ tàu đến mốc phía trước sử dụng định vị vệ tinh

Lê Hồng Minh*, Võ Công Minh, Nguyễn Huy Hưng, Đoàn Hồng Quang

Viện Ứng dụng Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ

Ngày nhận bài 11/2/2019; ngày chuyển phản biện 4/3/2019; ngày nhận phản biện 9/4/2019; ngày chấp nhận đăng 25/4/2019

Tóm tắt:

Để tính khoảng cách từ tàu đến mốc phía trước sử dụng định vị vệ tinh, nghiên cứu đã xây dựng quy trình gồm hai bước để triển khai giải pháp, đề xuất sử dụng thiết bị GNSS của U-blox để thu nhận thông tin định vị. Bài viết giới thiệu các công thức cơ bản để tính khoảng cách ngắn nhất, tính một điểm khi biết hai điểm và tính điểm giữa của hai điểm trên bề mặt trái đất. Bản đồ đường tàu để tính khoảng cách được tạo lập trên cơ sở các giải thuật: tìm đoạn gần nhất, tìm điểm gần nhất, loại điểm dư thừa, tính trung bình các lần đo.

Từ khóa: dẫn đường, định vị vệ tinh, GNSS, I-ATP, phòng vệ đoàn tàu tự động kiểu điểm.

Chỉ số phân loại: 2.2

Algorithms for calculating the distance from the train to the ahead landmark using satellite navigation

Hong Minh Le*, Cong Minh Vo,
Huy Hung Nguyen, Hong Quang Doan

National Center for Technological Progress, Ministry of Science and Technology

Received 11 February 2019; accepted 25 April 2019

Abstract:

To calculate the distance from the train to the ahead landmark using satellite navigation, the study developed a two-step process for deploying the solution, suggesting the use of Ublox's GNSS device to acquire positioning information. The article introduces the basic formulas for calculating the shortest distance, calculating a point by knowing two points, and computing the midpoint of two points on the surface of the earth. The route-map for calculating the distance is based on the following algorithms: finding the nearest segment, finding the nearest point, removing the excess point, and averaging the measurements.

Keywords: GNSS, I-ATP, intermittent automatic train protection, navigation, satellite navigation.

Classification number: 2.2

Đặt vấn đề

Trong “Hệ thống phòng vệ đoàn tàu tự động kiểu điểm” (Intermittent - Automatic Train Protection - I-ATP) thì khoảng cách từ tàu đến mốc¹ phía trước là thông tin đầu vào rất quan trọng để tính toán điều khiển tốc độ tàu, đảm bảo an toàn khi đến mốc [1].

Hiện tại thông tin chỉ đường (trong đó có khoảng cách) chủ yếu được cung cấp tại các mốc bên đường. Hình thức này là để cho người xử lý, không phù hợp với các hệ thống dẫn đường tự động. Từ khi công nghệ định vị vệ tinh và bản đồ số được ứng dụng rộng rãi thì dẫn đường tự động trở nên phổ biến. Các ứng dụng này căn cứ vào vị trí nhận được qua thiết bị định vị, cùng với bản đồ số đưa ra các thông tin dẫn đường, hướng dẫn người dùng.

Ở Việt Nam, các ứng dụng dẫn đường tự động đang sử dụng hiện tại chủ yếu phát triển cho đường bộ, nếu sử dụng cho đường sắt có nhiều vấn đề không phù hợp, có thể kể ra là:

- Các bản đồ số phổ biến đang được tích hợp thì dữ liệu cho đường sắt vẫn chưa đầy đủ [2-4].
- Ứng dụng điều khiển tự động cho mục đích an toàn yêu cầu độ tin cậy khác với ứng dụng dẫn đường mang tính trợ giúp.
- Dữ liệu về đường sắt (nếu có) từ các bản đồ số dùng chung khó đáp ứng yêu cầu an toàn vì không quản lý được độ tin cậy và độ chính xác.

Để “tính khoảng cách từ tàu đến mốc phía trước”, có thể sử dụng dữ liệu dạng lý trình về đường đi và vị trí các mốc, tính quãng đường đã đi được để biết khoảng cách còn lại. Phương án này có hạn chế là sẽ có sai số tích lũy, ngoài ra với trường hợp mốc phía trước là chuyển động (tàu chạy phía trước), hoặc cột hiệu ảo (trường hợp phân khu

¹Mốc có thể là đèn hiệu, biển báo, ghi, mốc tránh va chạm, balisse, tàu phía trước...

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

đóng đường đi động) thì không phù hợp.

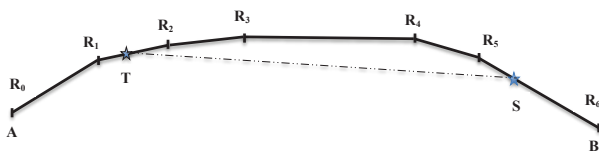
Sử dụng những công nghệ mới nhất về định vị vệ tinh, với đặc thù đường sắt là tàu chỉ có thể chạy trên đường ray cố định biết trước, có thể xác định khoảng cách giữa hai điểm trên đường tàu với độ chính xác cao, sai số trong phạm vi quản lý. Bài viết trình bày kết quả nghiên cứu về xây dựng các giải thuật để tự động tính khoảng cách từ tàu đang chạy đến mốc phía trước bằng định vị vệ tinh.

Nội dung nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, chúng tôi giới thiệu các công thức tính toán liên quan đến các điểm trên bề mặt trái đất, phương pháp thu thập và xử lý dữ liệu, đồng thời đề xuất sử dụng thiết bị GNSS của U-blox để thu nhận thông tin định vị.

Phân tích bài toán

Ví dụ, có đoạn đường tàu từ A đến B, được mô tả bằng danh sách n điểm R_i ($i = 0 \dots n-1$), mỗi điểm R_i bao gồm vĩ độ và kinh độ (ở đây $n = 7$, $R_0 \equiv A$, $R_6 \equiv B$). Đoạn đường AB có thể được biểu diễn dạng



Hình 1. Bản đồ đường tàu được tuyến tính hóa.

tuyến tính trên bản đồ bằng cách nối thẳng các điểm theo thứ tự thành đường gấp khúc gồm các đoạn $[R_0R_1]$, $[R_1R_2]$, $[R_2R_3]$, $[R_3R_4]$, $[R_4R_5]$, $[R_5R_6]$ (hình 1).

Giả sử, tàu ở vị trí T, cột hiệu ở vị trí S, khoảng cách từ tàu đến cột hiệu TS không phải độ dài đường thẳng nối thẳng hai điểm T, S mà $TS = TR_2 + R_2R_3 + R_3R_4 + R_4R_5 + R_5S$.

Như vậy, để tính khoảng cách từ tàu đến cột hiệu phía trước sử dụng định vị vệ tinh, cần thực hiện quy trình với các đối tượng và công việc sau:

Bước 1: chuẩn bị dữ liệu: lập bản đồ đường tàu (tập hợp các điểm R_i), lập dữ liệu các mốc cố định của tuyến đường.

Bước 2: tính khoảng cách: xác định vị trí hiện thời của tàu (từ vệ tinh), ánh xạ vào bản đồ đường tàu (nói chung vị trí nhận được không nằm trên đường bản đồ), xác định mốc phía trước (từ dữ liệu lưu trữ hoặc được cung cấp từ ga), tính khoảng cách từ tàu đến mốc.

Công cụ sử dụng

Thông tin vị trí được xác định bởi thiết bị định vị vệ tinh (Global Navigation Satellite System - GNSS). Độ chính xác của dữ liệu thu nhận quyết định độ chính xác của bản đồ đường tàu, vị trí cột hiệu, vị trí tàu và khoảng cách tính được. Nhưng thiết bị thu GNSS luôn có sai số [5] nên các công nghệ để cải thiện độ chính xác của định vị vệ tinh hiện vẫn đang là chủ đề rất được quan tâm. Tuy nhiên, phạm vi của nghiên cứu này không phải về tăng độ chính xác thiết bị thu GNSS, mà là lựa chọn thiết bị phù hợp với yêu cầu.

Trong nghiên cứu yêu cầu thiết bị thu GNSS có sai số vị trí trung bình nhỏ hơn 3 m; nhận tín hiệu khi di chuyển với vận tốc lớn; tần số lấy mẫu cao; và tích hợp sẵn các công nghệ nội suy vị trí khi tín hiệu vệ tinh bị gián đoạn. Thiết bị thu định vị vệ tinh GNSS của U-blox [6] nhận thấy đáp ứng các yêu cầu trên, và được nghiên cứu lựa chọn sử dụng. Các thiết bị lựa chọn hỗ trợ 72 kênh của các hệ thống định vị vệ tinh là GPS L1C/A, SBAS L1C/A, QZSS L1C/A, QZSS L1-SAIF, GLONASS L1OF, BeiDou B1I, Galileo E1B/C; tần số nhận tín hiệu tối đa là 20 Hz; tốc độ di chuyển đến 500 m/s. Có hai loại thiết bị được sử dụng:

- Thiết bị thu GNSS trên cơ sở module NEO-M8P-2 [7] để ghi nhận vị trí ở trạng thái tĩnh.

Đặc điểm: thiết bị sử dụng cùng với phần mềm U-center của U-blox kèm theo có tính năng tự hiệu chỉnh để đạt độ chính xác cao.

Sử dụng: để ghi đo thủ công xây dựng bản đồ đường tàu mẫu; tạo cơ sở dữ liệu (CSDL) các mốc tĩnh.

Chế độ làm việc: thiết bị được đặt chế độ tự hiệu chỉnh với độ chính xác 1,5 m. Khi đo ghi dữ liệu, antenna thu được đặt vào vị trí giữa hai thanh ray ngang với các mốc.

- Thiết bị GNSS trên cơ sở module NEO-M8U [8] để ghi nhận vị trí trạng thái động.

Đặc điểm: thiết bị ngoài tính năng định vị vệ tinh còn tích hợp cảm biến gia tốc và cảm biến hướng để tăng độ chính xác của dữ liệu định vị và không bị ngắt đoạn khi mất tín hiệu vệ tinh. Theo nhà sản xuất, dữ liệu thu nhận có độ chính xác trung bình là 2,5 m.

Sử dụng: để tập hợp dữ liệu xây dựng bản đồ đường tàu và quá trình vận hành khai thác sau này.

Chế độ làm việc: antenna thu được đặt trên nóc toa tàu, căn vào vị trí giữa đường ray; tần số thu được thiết đặt là 1 Hz.

Các công thức cơ sở

Các công thức cơ sở được sử dụng trong các giải thuật để: tính khoảng cách ngắn nhất giữa 2 điểm trên bề mặt trái đất; tính vị trí (vĩ độ, kinh độ) của 1 điểm khi biết 2 điểm và khoảng cách từ điểm cần tính đến điểm đã biết; tính vị trí (vĩ độ, kinh độ) của điểm giữa của 2 điểm đã biết. Các công thức này giả thiết trái đất là hình cầu, có bán kính là 6371 km.

Khoảng cách giữa 2 điểm trên bề mặt trái đất là đường đi ngắn nhất nối hai điểm, chính là độ dài cung ngắn thuộc đường tròn lớn đi qua hai điểm đó. Đường tròn lớn của trái đất được định nghĩa là giao điểm của mặt phẳng đi qua tâm trái đất và bề mặt trái đất [9].

❖ Công thức 1: công thức tính khoảng cách 2 điểm trên bề mặt trái đất (công thức Haversine) [10, 11]:

$$d = R \times 2 \times \text{atan2}(\sqrt{a}, \sqrt{1-a}) \quad (\text{CT-1})$$

Trong đó:

d là khoảng cách giữa 2 điểm (km)

R là bán kính trái đất (km)

$$a = \sin^2\left(\frac{\Delta\varphi}{2}\right) + \cos(\varphi_1) \times \cos(\varphi_2) \times \sin^2\left(\frac{\Delta\lambda}{2}\right)$$

φ_1 là vĩ độ điểm 1; φ_2 là vĩ độ điểm 2; $\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1$
 λ_1 là kinh độ điểm 1; λ_2 là kinh độ điểm 2; $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$

❖ Công thức 2: công thức tính 1 điểm khi biết 2 điểm và khoảng cách đến điểm thứ nhất (điểm đầu) [11]:

$$\begin{aligned}\varphi_i &= \text{atan2}(z, \sqrt{x^2 + y^2}) \\ \lambda_i &= \text{atan2}(y, x)\end{aligned}\quad (\text{CT-2})$$

Trong đó:

φ_i là vĩ độ điểm i cần tìm

λ_i là kinh độ điểm i cần tìm

$$z = a \cdot \sin(\varphi_1) + b \cdot \sin(\varphi_2)$$

$$x = a \cdot \cos(\varphi_1) \cdot \cos(\lambda_1) + b \cdot \cos(\varphi_2) \cdot \cos(\lambda_2)$$

$$y = a \cdot \cos(\varphi_1) \cdot \sin(\lambda_1) + b \cdot \cos(\varphi_2) \cdot \sin(\lambda_2)$$

φ_i là vĩ độ điểm 1; φ_2 là vĩ độ điểm 2

λ_i là kinh độ điểm 1; λ_2 là kinh độ điểm 2

$$a = \frac{\sin(1-f) \times \delta}{\sin(\delta)}$$

$$b = \frac{\sin(f \times \delta)}{\sin(\delta)}$$

$\delta = d/R$ với d là khoảng cách giữa 2 điểm (km), R là bán kính trái đất (km)

f = d_i/d là tỷ lệ khoảng cách từ điểm đầu đến điểm cần tính (d_i) so với toàn đoạn (d); khi f = 0, điểm cần tính là điểm đầu; f = 1, điểm cần tính chính là điểm cuối.

❖ Công thức 3: công thức tính điểm giữa 2 điểm [11]:

$$\varphi_m = \text{atan2}\left(\sin(\varphi_1) + \sin(\varphi_2), \sqrt{(\cos(\varphi_1) + B_x)^2 + B_y^2}\right) \quad (\text{CT-3})$$

$$\lambda_m = \lambda_1 + \text{atan2}(B_y, \cos(\varphi_1) + B_x)$$

Trong đó:

φ_m là vĩ độ điểm giữa cần tính

λ_m là kinh độ điểm giữa cần tính

$$B_x = \cos(\varphi_2) \cdot \cos(\Delta\lambda)$$

$$B_y = \cos(\varphi_2) \cdot \sin(\Delta\lambda)$$

φ_i là vĩ độ điểm 1; φ_2 là vĩ độ điểm 2

λ_i là kinh độ điểm 1; λ_2 là kinh độ điểm 2; $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$

Thu nhận dữ liệu

Dữ liệu định vị được thu nhận để tạo lập bản đồ đường tàu và tính khoảng cách giữa tàu đến mốc khi vận hành.

Thiết bị thu GNSS được lựa chọn khi hoạt động sẽ cung cấp thông tin từ vệ tinh theo các “câu” theo định dạng NMEA-0183 [12]. Phần mềm được xây dựng để thu nhận dữ liệu sẽ phân tích các câu loại “GNRMC” hoặc “GNGGA” để lấy vĩ độ, kinh độ, vận tốc tại thời điểm ghi nhận. Dữ liệu của 1 điểm sẽ được lưu trữ dạng: “vĩ độ, kinh độ: vận tốc”. Ví dụ: 21.4889352,105.0832045:21.

Ngoài ra, vận tốc có thể được tính theo công thức $v = \frac{s}{t}$

Trong đó: v là vận tốc (km/h); s là quãng đường đi được giữa 2 lần ghi (km), được tính sử dụng công thức CT-1; t là thời gian giữa 2

lần đo (theo tần số thiết đặt, đơn vị tính là giờ).

Tiền xử lý dữ liệu

Dữ liệu thu nhận sẽ có dư thừa (ví dụ đoạn thẳng chỉ cần 2 điểm, nhưng có thể ghi nhận rất nhiều do tốc độ di chuyển và tần suất ghi), không có thông tin (ví dụ khi tàu đứng yên), dị thường (ví dụ hai vị trí ghi liên tục nhưng cách nhau quá xa).

Tiền xử lý dữ liệu sẽ loại bỏ các dữ liệu sai, dữ liệu dư thừa để có bộ dữ liệu tối thiểu mô tả đường tàu. Dữ liệu sau mỗi lần ghi nhận được đưa qua các bộ “lọc” sau:

- Định vị lại điểm đầu và điểm cuối của tuyến đường (thủ công).

- Loại bỏ dữ liệu lỗi ngẫu nhiên: căn cứ vào vận tốc di chuyển tối đa của tàu khi ghi nhận, loại bỏ các điểm có vận tốc lớn hơn vận tốc tối đa.

- Loại bỏ dữ liệu không có thông tin: loại bỏ các điểm liên nhau có giá trị vận tốc bằng 0 (tàu đứng yên), chỉ giữ lại điểm đầu tiên.

- Loại bỏ dữ liệu dư thừa: theo nguyên tắc với 1 đoạn thẳng thì chỉ cần 2 điểm để mô tả. Nghiên cứu đã xây dựng giải thuật để loại bỏ các điểm trung gian ở giữa đoạn thẳng hàng.

Lập bản đồ đường tàu

Để lập bản đồ đường tàu, có thể dùng phương pháp đo thủ công trực tiếp từng điểm R_i như hình 1. Với thiết bị đo có độ chính xác cao thì về nguyên tắc, ta sẽ có bộ số liệu có độ chính xác cao. Tuy nhiên, phương pháp thủ công ngoài hạn chế là chi phí nhân công cao và thời gian dài thì độ chính xác còn phụ thuộc vào số điểm đo được.

Dễ thấy là có thể sử dụng thiết bị thu định vị vệ tinh, dịch chuyển theo tuyến đường quan tâm, ghi lại vị trí đã đi (như các ứng dụng tracking) là sẽ có bản đồ cho tuyến đường đã đi. Tuy nhiên, với mỗi lần ghi sẽ được một bộ dữ liệu và nói chung các bộ dữ liệu ghi nhận được của cùng một tuyến đường không trùng nhau bởi:

- Số điểm mô tả không bằng nhau: do tốc độ di chuyển của tàu, tần số ghi khác nhau.

- Giá trị tuyệt đối các điểm tương ứng không trùng nhau (trừ điểm đầu, điểm cuối được thiết đặt cố định).

- Đường được vẽ trên bản đồ không trùng nhau.

- Với cùng một điều kiện đo ghi (cùng thiết bị định vị, cùng phương án di chuyển) thì sẽ không thể đánh giá được bộ dữ liệu nào chính xác hơn, bởi tất cả đều có sai số do đặc thù của xác định vị trí bằng định vị vệ tinh [5].

Tuy nhiên, ta có thể có bộ dữ liệu “tốt” hơn để đáp ứng được mục tiêu xác định khoảng cách bằng các tính “trung bình” của các bộ dữ liệu đã có. Mỗi khi có bộ dữ liệu mới ghi, ta sẽ tính trung bình giữa bộ dữ liệu mới và bộ dữ liệu đã có; bộ dữ liệu kết quả (trung bình) sẽ được coi là bộ tốt hơn.

Nghiên cứu đã xây dựng giải thuật để tính trung bình dữ liệu của nhiều lần ghi để được bộ dữ liệu bản đồ đường tàu với độ tin cậy cao.

Cần lưu ý là, mặc dù đường ray cho tàu chạy là hai chiều nhưng ở đây quy ước đường tàu có hướng là từ trái sang phải. Đối với mỗi

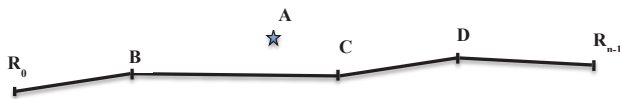
đoạn thì sẽ có điểm đầu bên trái, điểm cuối bên phải. Các điểm bất kỳ nói chung là khó có thể sử dụng vĩ độ, kinh độ để xác định nó thuộc vị trí nào trên đường bản đồ, nên các tính toán đều được thông qua tính khoảng cách bằng công thức CT-1.

Kết quả

Nghiên cứu đã xây dựng được năm giải thuật sử dụng để tạo lập đường bản đồ tàu tự động và tính khoảng cách từ tàu đến mốc.

Giải thuật 1: tìm đoạn gần nhất (GT-1)

Bài toán: có đoạn đường tàu được mô tả bởi n điểm (từ R_0 đến R_{n-1}), biết một điểm A bất kỳ (A không trước R_0 và không sau R_{n-1}), tìm đoạn BC (xác định bởi 2 điểm B và C) trên đường tàu gần nhất với điểm A (hình 2).



Hình 2. Tìm đoạn gần nhất.

Phân tích:

Để tìm đoạn BC gần điểm A nhất, trước tiên cần tìm điểm C gần A nhất, sau đó đánh giá.

Gọi:

- Khoảng cách từ điểm đầu đến điểm A là d_A
- Khoảng cách từ điểm đầu đến điểm C là d_C

Nếu:

$d_A < d_C$ thì đoạn gần nhất là BC

$d_A > d_C$ thì đoạn gần nhất là CD

Giải thuật:

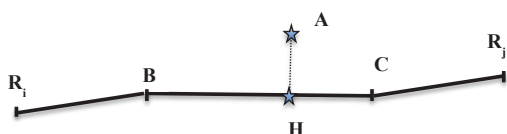
- Tìm điểm C trên dữ liệu bản đồ đường tàu gần A nhất (bằng tính khoảng cách từ A đến các điểm từ R_0 đến R_{n-1} sử dụng công thức CT-1).

- Xác định A bên trái hay bên phải của C bằng cách tính khoảng cách BA và BC sử dụng công thức CT-1: nếu $BA < BC$ thì A bên trái C, đoạn gần nhất là BC; nếu $BA > BC$ thì A bên phải C, đoạn gần nhất là CD; nếu $BA = BC$ thì A trùng C, có thể lấy BC hoặc CD.

Giải thuật 2: tính điểm gần nhất (GT-2)

Bài toán:

Có đoạn đường tàu được mô tả bởi n điểm (từ R_0 đến R_{n-1}), biết một điểm A bất kỳ (A không trước R_0 và không sau R_{n-1}), tính điểm H thuộc đường tàu gần nhất với điểm A (hình 3).



Hình 3. Tìm điểm gần nhất.

Phân tích:

Nếu xem bề mặt trái đất khu vực này là mặt phẳng, thì đoạn đường thẳng gần A nhất là BC; điểm gần A nhất chính là điểm H - chân đường cao AH của tam giác ABC.

Giải thuật:

- Xác định đoạn BC (2 điểm B và C) gần điểm A nhất, sử dụng giải thuật GT-1.

- Biết các điểm B, C và A; tính độ dài các đoạn AB, AC và BC sử dụng công thức CT-1.

- Tính đoạn BH: sử dụng định lý định lý Pitago, ta có:

$$AB^2 = BH^2 + AH^2 \rightarrow AH^2 = AB^2 - BH^2$$

$$AC^2 = CH^2 + AH^2 \rightarrow AH^2 = AC^2 - CH^2$$

$$\rightarrow AB^2 - BH^2 = AC^2 - CH^2$$

$$\text{thay } CH = BC - BH$$

$$BH = \frac{AB^2 - AC^2 + BC^2}{2 \times BC}$$

- Tính điểm H: sử dụng công thức CT-2 tính điểm H, khi biết các điểm B, C và khoảng cách BH.

Nhận xét:

Điểm H chính là A khi A nằm trên đoạn BC, kể cả khi A trùng với B hoặc C.

Giải thuật 3: loại điểm dư thừa (GT-3)

Giả sử ta có bộ dữ liệu gồm n điểm (từ R_0 đến R_{n-1}), các điểm cần kiểm tra dư thừa là từ điểm R_1 đến điểm R_{n-2} . Giải thuật kiểm tra và loại bỏ điểm dư thừa sẽ so sánh khoảng cách với các mốc là điểm trước và sau để đánh giá. Giải thuật được mô tả như sau:

Lập với mỗi điểm R_i ($i = 1$ đến $n-2$).

Tính (sử dụng công thức CT-1): D_1 là khoảng cách ngắn nhất đường đi từ R_{i-1} đến R_{i+1} , D_2 là khoảng cách ngắn nhất đường đi từ R_{i-1} đến R_i , D_3 là khoảng cách ngắn nhất đường đi từ R_i đến R_{i+1} .

Kiểm tra: nếu $D = D_1 + D_2$ thì loại bỏ điểm R_i .

Lưu ý: kết quả tính khoảng cách theo CT-1 là số thực với đơn vị là km, tuy nhiên trong tính toán nên đổi và làm tròn khoảng cách theo đơn vị nhỏ hơn (ví dụ cm) để thuận tiện cho phép so sánh chính xác.

Giải thuật 4: tính trung bình hai bộ dữ liệu (GT-4)

Giả sử có bộ dữ liệu mới có n điểm (từ 0 đến $n-1$), giải thuật được phát biểu như sau:

Lập với mỗi điểm từ điểm thứ nhất đến điểm thứ $n-2$ (gọi là A): tính điểm H trên bộ dữ liệu cũ (đang có) gần nhất với A sử dụng GT-2; tính điểm G, là điểm giữa của đoạn AH sử dụng CT-3; thêm điểm G vào bộ dữ liệu cũ. Loại tất cả các điểm trên bộ dữ liệu cũ (các điểm A, B thuộc đoạn AB gần nhất trong GT-1) đã tham gia vào quá trình tính trung bình (tính điểm G), ta được bộ dữ liệu trung bình.

Giải thuật 5: tính khoảng cách từ tàu đến mốc (GT-5)

Giải thuật tính khoảng cách từ tàu đến mốc phía trước sử dụng 3

thông tin đầu vào là: bản đồ đường tàu: được tạo lập như trình bày ở trên; vị trí mốc (cố định, di động): được lưu trữ hoặc nhận được qua các kênh truyền thông; vị trí hiện thời của tàu: ghi nhận bằng thiết bị định vị vệ tinh GNSS (cùng loại và cách ghi với việc lập bản đồ đường tàu). Tần suất tính khoảng cách do yêu cầu điều khiển cụ thể, có thể tính liên tục (mỗi khi có giá trị vị trí mới) hay khi có yêu cầu.



Hình 4. Tính khoảng cách T-M.

Giải thuật được phát biểu gồm các bước như sau (hình 4): xác định vị trí hiện thời của tàu T bằng thiết bị GNSS; tính điểm trên bản đồ đường tàu gần tàu nhất T'; xác định điểm R_i của đường tàu phía trước điểm T'; xác định đoạn $R_{i-1}R_i$ gần T' nhất bằng GT-1; lấy điểm R_i bên phải T'; xác định điểm R_j của đường tàu phía sau mốc M; xác định đoạn R_jR_{j+1} gần M nhất bằng GT-1; lấy điểm R_j bên trái M; tính khoảng cách T'M bằng tổng các khoảng cách: $T'R_i$, các đoạn R_iR_j và R_jM . Các khoảng cách này được tính sử dụng công thức CT-1.

Thảo luận

Giải pháp tính khoảng cách từ tàu đến mốc bằng định vị vệ tinh thì độ chính xác của bản đồ đường tàu được tạo lập tự động và độ tin cậy của kết quả tính khoảng cách là điều cần quan tâm.

Độ chính xác của bản đồ tạo lập

Do vị trí thu từ vệ tinh có sai số nên bản đồ đường tàu được tạo lập tự động bằng cách trung bình các lần đo cần phải đánh giá độ chính xác.

Giả sử đã có đường bản đồ chuẩn (gốc), có thể sử dụng chỉ tiêu “khoảng cách trung bình (KCTB)” của bản đồ tạo lập so với bản đồ gốc để đánh giá sai số (độ chính xác) của bản đồ được tạo lập. KCTB được tính bằng trung bình của khoảng cách ngắn nhất của các điểm trên đường bản đồ tạo lập so với bản đồ gốc. Giá trị càng nhỏ thì càng chính xác, giá trị này sẽ tiến tới 0 khi bản đồ tạo lập trùng với bản đồ gốc. Tuy nhiên, do không có đường bản đồ gốc (tất nhiên), nên để đánh giá sai số, KCTB giữa bản đồ mới và bản đồ cũ sẽ được tính. Căn cứ vào một giá trị ngưỡng được đặt trước (có thể điều chỉnh tùy yêu cầu độ chính xác), quá trình tạo lập bản đồ tự động sẽ dừng khi KCTB nhỏ hơn ngưỡng này. Giá trị của ngưỡng có thể coi như độ chính xác của đường bản đồ tạo lập.

Lưu ý: dữ liệu tracking của tàu trong quá trình khai thác cũng có thể sử dụng để tiếp tục xây dựng bản đồ đường tàu.

Độ tin cậy của định vị vệ tinh

Sự gián đoạn tín hiệu thu từ vệ tinh: nguyên nhân việc này thì nhiều và đây là vấn đề xảy ra phổ biến với các thiết bị thu phổ cập, tuy nhiên, thiết bị GNSS đề nghị sử dụng đã khắc phục được hạn chế này. Thiết bị có khả năng thu và giải mã tín hiệu từ các hệ thống định vị lớn nhất là GPS, SBAS, QZSS, Glonass, Beidou, Galileo nên sẽ giảm thiểu tình trạng bị thiếu vệ tinh định vị. Ngoài ra, với thông tin từ cảm biến gia tốc và hướng, thiết bị vẫn có thể tính và cung cấp vị

trí đối với thời điểm mất tín hiệu vệ tinh.

Vị trí cung cấp có sai số: sai số vị trí của định vị vệ tinh là không tránh khỏi, chỉ có thể lựa chọn thiết bị với sai số nhỏ. Thiết bị lựa chọn có thêm thông tin từ cảm biến gia tốc và cảm biến hướng nên sai số không phải hướng chuyển động sẽ được giảm thiểu. Phương án tốt hơn để sử dụng định vị vệ tinh là sử dụng các trạm cơ sở để cung cấp tín hiệu hiệu chỉnh, tăng độ chính xác cho các thiết bị GNSS.

Việc sử dụng cùng một phương pháp, thiết bị cho cả việc tạo lập bản đồ và khai thác về sau cũng giúp quản lý được sai số. Đường tàu được hình thành bởi tính trung bình của nhiều lần đo, vị trí của tàu khi tính khoảng cách được ánh xạ vào đường tàu nên có thể nhận định sai số của tính khoảng cách từ tàu đến mốc sẽ trong khoảng sai số trung bình của thiết bị GNSS. Biết được khoảng của sai số, bộ điều khiển có thể thiết lập hệ số an toàn phù hợp để việc điều khiển được tin cậy.

Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng 5 giải thuật để triển khai giải pháp tính khoảng cách từ tàu đến mốc bằng định vị vệ tinh. Trước tiên, các giải thuật được đề xuất sẽ được sử dụng để tạo lập bản đồ đường tàu được tự động bằng cách tính trung bình các bộ số liệu ghi nhận; sau đó khoảng cách từ tàu đến mốc được tính trên cơ sở bản đồ đường tàu đã được tạo lập.

Các giải thuật giới thiệu trên đã được cài đặt và tích hợp trong hệ thống I-ATP với sai số tính khoảng cách nhỏ và quản lý được.

Giải thuật tạo lập bản đồ tự động được trình bày có thể sử dụng không chỉ để lập bản đồ cho hệ thống đường sắt mà còn có thể sử dụng để lập bản đồ các đường đi cần kiểm soát được độ tin cậy, hoặc khi không có sẵn dữ liệu từ các nguồn bản đồ chuyên dụng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu và kết quả đạt được là một phần công việc thuộc nhiệm vụ KH&CN cấp quốc gia, mã số: ĐTDL.CN17/16 do Viện Ứng dụng Công nghệ là cơ quan chủ trì. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Thuyết minh nhiệm vụ KH&CN cấp quốc gia: “Nghiên cứu thiết kế chế tạo và thử nghiệm hệ thống phòng vệ đoàn tàu tự động kiểu điểm (I-ATP) nâng cao an toàn và năng lực vận tải đường sắt Việt Nam”, mã số: ĐTDL.CN17/16 (2016-2018).
- [2] <https://www.google.com/maps>.
- [3] <https://www.openstreetmap.org>.
- [4] <https://www.openrailwaymap.org>.
- [5] M. Karaim, M. Elsheikh, A. Nouredin (2018), *GNSS Error Sources*.
- [6] <https://www.u-blox.com/en>.
- [7] <https://www.u-blox.com/en/product/neo-m8p-series>.
- [8] <https://www.u-blox.com/en/product/neo-m8u-module>.
- [9] Benny Dwi Kifana, et al. (2012), “Great Circle Distance Methode for Improving Operational Control System Based on GPS”, *International Journal on Computer Science and Engineering (IJCSE)*, **4(4)**, pp.647-662
- [10] Van Brummelen, Glen Robert (2013), *Heavenly Mathematics: The Forgotten Art of Spherical Trigonometry*, Princeton University Press.
- [11] <https://www.movable-type.co.uk/scripts/latlong.html>.
- [12] https://www.nmea.org/content/nmea_standards/nmea_0183_v_410.asp.

Nghiên cứu phương pháp phát hiện một số sâu bệnh trên lúa sử dụng đặc trưng SIFT

Nguyễn Ngọc Tú^{*}, Bùi Thị Thanh Phương¹, Lê Hoàng Nam¹, Ngô Nam Thịnh²

¹Viện Ứng dụng Công nghệ

²Trung tâm Giống cây trồng Sóc Trăng

Ngày nhận bài 19/10/2018; ngày chuyển phản biện 23/10/2018; ngày nhận phản biện 26/11/2018; ngày chấp nhận đăng 10/12/2018

Tóm tắt:

Sinh trưởng và phát triển của cây trồng nông nghiệp phụ thuộc rất nhiều yếu tố như giống, chế độ dinh dưỡng, điều kiện thời tiết..., trong đó yếu tố sâu bệnh tác động trực tiếp đến năng suất và có khả năng lây lan trên diện rộng. Đối với lúa, một loại cây trồng chủ lực của Việt Nam, đóng vai trò quan trọng trong an ninh lương thực và xuất khẩu, mặc dù quy trình chăm sóc - phòng trừ sâu bệnh được tuân thủ một cách nghiêm ngặt, nhưng vẫn không thể kiểm soát hoàn toàn các mầm mống của sâu bệnh. Với mô hình canh tác trên diện tích lớn, sử dụng mắt người rất khó để phát hiện các dấu hiệu của sâu bệnh trong những giai đoạn phát triển ban đầu. Trong bài báo này, các tác giả nghiên cứu đề xuất mô hình sử dụng trích chọn đặc trưng SIFT (Scale-Invariant Feature Transform) và phân lớp SVM (Support Vector Machine) nhằm xử lý các hình ảnh trên lá của cây lúa. Mô hình này có thể phát hiện và nhận biết 4 loại sâu bệnh trên cây lúa: đốm vằn, đạo ôn, sâu cuốn lá, rầy nâu. Kết quả thực nghiệm trên mô hình có thể đạt được độ chính xác từ 80 đến 85%.

Từ khóa: sâu bệnh lúa, SIFT, SVM.

Chỉ số phân loại: 2.2

Đặt vấn đề

Việt Nam là một nước nông nghiệp và hiện đang là một trong những quốc gia đứng đầu về xuất khẩu lúa gạo. Lúa là loại cây lương thực được trồng nhiều vụ trong năm tại hầu hết các vùng đồng bằng trên cả nước, đặc biệt là Đồng bằng sông Cửu Long và Đồng bằng sông Hồng, khi sâu bệnh gây hại sẽ làm sản lượng lúa sụt giảm đáng kể. Trong hầu hết các trường hợp, sâu hoặc bệnh đều được phát hiện qua lá hoặc thân cây lúa (*thể hiện rõ nhất trong giai đoạn trổ bông*). Do đó, việc xác định sớm các triệu chứng của sâu bệnh có ý nghĩa rất quan trọng trong phát triển sản xuất. Để tăng năng suất cho một mùa vụ, người nông dân cần phải tiếp cận các chuyên gia tư vấn về việc điều trị dịch hại, bệnh cho cây trồng và các biện pháp xử lý. Hiện nay, trên thế giới đã có nhiều công trình nghiên cứu về nhận dạng sâu bệnh trên các loại cây ăn quả gần gũi như cà chua, dưa... bằng các phương pháp có sử dụng kỹ thuật xử lý ảnh đã đem lại được những kết quả rất khả quan. Các hệ thống phát hiện này thường chỉ được áp dụng trong các môi trường lý tưởng như môi trường nhà kính, chưa được áp dụng rộng rãi trong điều kiện thực tế ngoài trời. Trong nước cũng chưa có nhiều công trình nghiên cứu về nhận dạng sâu bệnh chuyên cho một loại nông sản, hơn nữa các phương pháp phát hiện sâu bệnh cũng chưa được tối ưu.

Trong những năm gần đây, các nghiên cứu trên thế giới

đã tập trung nhiều hơn vào sử dụng các thuật toán, phương pháp xử lý ảnh để phát hiện và phân loại các loại sâu bệnh cho cây lúa. Nandini và Anoop (2016) [1] đã đưa ra phương pháp phân loại bệnh trên cây lúa sử dụng kỹ thuật biểu đồ thích nghi của Wiener [2], sau đó sử dụng phương pháp Otsu [3] cho tách ngưỡng nhị phân, cuối cùng phân lớp bằng cách kết hợp giữa phương pháp SVM và Fuzzy logic cho độ chính xác đạt được từ 85,71 đến 93,33%. Do sử dụng biểu đồ thích nghi cho tính toán đặc trưng của ảnh, nên phương pháp do nhóm tác giả đưa ra cần sử dụng mẫu đầu vào có độ phân giải cao và bị ảnh hưởng mạnh khi xuất hiện các thành phần khác không phải là dấu hiệu sâu bệnh. Phadikar và cs (2013) [4] đưa ra phương pháp phân đoạn dựa trên năng lượng Fermi để cô lập khu vực bị nhiễm của hình ảnh lá lúa, các tính năng quan trọng được chọn bằng cách sử dụng lý thuyết tập thô (RST), kết quả của phương pháp đạt được 91,89%. Nghiên cứu của Pawankumar và Angadi (2017) [5] đã xây dựng thành công một Web server để xử lý trực tiếp bộ ảnh thu thập, cả hai thuộc tính màu sắc và trích xuất đặc trưng được sử dụng với đa phân lớp SVM đã cho độ chính xác 84,41%. Mohanty và cs (2016) [6] đã đề xuất sử dụng Deep Learning cho phát hiện 26 loại bệnh trên 14 loại lá cây với tập dữ liệu lớn 54.306 ảnh đầu vào, dựa trên các mô hình xây dựng nhóm nghiên cứu đã đạt được độ chính xác lên tới 99,35%.

^{*}Tác giả liên hệ: Email: ngoctu@cfoc.vn

Rice pests and diseases identification using SIFT feature

Ngoc Tu Nguyen^{1*}, Thi Thanh Phuong Bui¹,
Hoang Nam Le¹, Nam Thanh Ngo²

¹National Center for Technological Progress

²Soc Trang Plant Breeding Center

Received 19 October 2018; accepted 10 December 2018

Abstract:

The growth and development of crops in agriculture depends on many factors including seed, nutritional status, weather conditions, and etc., in which pests and diseases directly affect the yield of crops and can spread widely. Rice, a major crop of Vietnam, plays an important role of food security and export. Although the pest and disease control procedures for rice are strictly applied, it is still unable to fully control the germ of pests. With a large-scale cultivation mode, the human eye is found very difficult to detect signs of pests in the early stages of development. In this paper, authors propose a model using SIFT (Scale-Invariant Feature Transform) features and SVM (Support Vector Machine) for processing images of rice's leaves. This model can detect and identify 4 pests in rice: zebra blast, rice blast, leaf rollers, and brown backed hoppers. Experimental results on the model can achieve the accuracy from 80 to 85%.

Keywords: rice pests and diseases, SIFT, SVM.

Classification number: 2.2

Trong bài báo này, chúng tôi đi sâu vào phương pháp phát hiện sâu bệnh có sử dụng kỹ thuật xử lý ảnh tích hợp thuật toán SIFT và phân lớp SVM. Hệ thống được đề xuất nhằm phát triển một chương trình phần mềm để nhận ra hình ảnh của lá bệnh hay bông lúa bệnh bằng cách sử dụng các lớp đã được huấn luyện trước đó. Các thông số đầu vào của phần mềm gồm: màu sắc của lá, vết thủng hay biến dạng bề mặt lá... Những đặc trưng của từng loại bệnh khi thu được sẽ được thuật toán xử lý rồi đưa ra kết quả một cách chính xác. Từ đó, người nông dân sẽ có phản ứng kịp thời cũng như được hướng dẫn trực tiếp qua phần mềm các phương án đối phó với bệnh. Về hình thức tiếp cận cây lúa, giải pháp sử dụng Drone [7] mang theo thiết bị quét được cho là rất khả quan do tiết kiệm được thời gian và công sức lấy mẫu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: các mẫu lá lúa bị 4 loại sâu bệnh hại: đốm vằn, đạo ôn, sâu cuốn lá, rầy nâu được chụp từ cánh đồng ương tạo tại Trung tâm Giống cây trồng Sóc Trăng.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm 308, Trung tâm Quang điện tử - Viện Ứng dụng Công nghệ (Thanh Xuân Bắc, Thanh Xuân, Hà Nội).

Phương pháp nghiên cứu

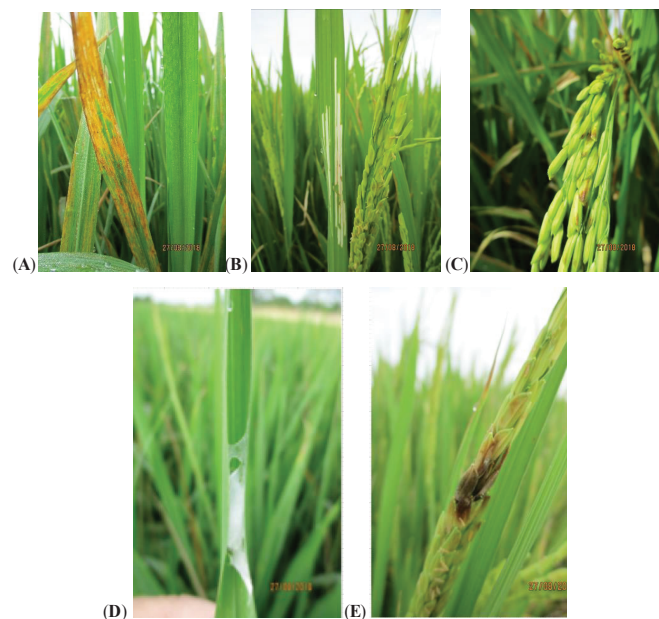
Bố trí thực nghiệm:

- Tạo mẫu dữ liệu: khảo sát và thu thập mẫu ảnh về lúa, bao gồm lá phát triển bình thường và lá bị bệnh trong giai đoạn trổ bông. Căn cứ theo các dấu hiệu sâu bệnh của lúa [8] để sử dụng phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên đơn giản [9].

- Xử lý dữ liệu ảnh trên máy tính để trích chọn các đặc trưng, phân lớp trên phần mềm.

Kết quả ứng dụng trích chọn đặc trưng SIFT và phân lớp SVM

Cây lúa nước vào mỗi thời điểm trong năm do điều kiện khí hậu nhiệt đới thích hợp cho các loại sâu bệnh phát triển, gây nên thiệt hại không nhỏ và thể hiện rõ rệt nhất trên thân, lá, bông hạt, đặc biệt là với các bệnh sâu cuốn lá, đốm vằn, đạo ôn và rầy nâu. Dưới đây là một số hình ảnh về các bệnh thông thường trên cây lúa (hình 1, 2). Dữ liệu thực tế thu được là cơ sở để tiến hành xử lý cho quá trình huấn luyện.



Hình 1. Những biểu hiện của từng loại sâu bệnh trên lúa. (A) Cháy bìa lá, (B) Bệnh bạc lá, (C, E) Bệnh đạo ôn, (D) Sâu cuốn lá.



Hình 2. Ảnh bệnh cháy bìa lá lúa tại Trung tâm Giống cây trồng Sóc Trăng.

Trích chọn đặc trưng ảnh bằng kỹ thuật SIFT

Kỹ thuật SIFT được Lowe và David nghiên cứu, giới thiệu và phát triển từ năm 1999 đến năm 2004 [10]. SIFT có khả năng dò tìm và trích chọn các đặc trưng của đối tượng từ ảnh đầu vào. Các đặc trưng được phát hiện đó có khả năng bất biến khi đối tượng bị thay đổi về tỷ lệ, bị xoay trong ảnh khác.

Quá trình trích chọn điểm đặc trưng SIFT được thực hiện qua các bước sau: xây dựng lựa chọn tỷ lệ - không gian kim tự tháp; xác định vị trí của các “keypoint”; xác định và gán hướng cho các “keypoint”; mô tả keypoint.

Xây dựng lựa chọn scale-space kim tự tháp

Để phát hiện các keypoint, chúng ta sử dụng bộ lọc tuần tự để xác định những điểm có khả năng là “keypoint” tại các vị trí và tỷ lệ. Để nhận biết vị trí những bất biến đối với sự thay đổi về quy mô của bức ảnh, chúng ta sử dụng kernel là hàm Gaussian blur. Các ảnh sau khi thực hiện với hàm Gaussian blur sẽ bị mờ đi, tùy theo tham số lựa chọn mà độ mờ của bức ảnh được thay đổi.

Hàm Gaussian blur áp dụng cho ảnh theo công thức tính như sau:

$$L(x, y, \sigma) = G(x, y, \sigma) * I(x, y) \quad (1)$$

Hàm $G(x, y, \sigma)$ có dạng:

$$G(x, y, \sigma) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-(x^2+y^2)/2\sigma^2} \quad (2)$$

Các giá trị σ được tính cho ảnh tiếp theo với $k * \sigma$ (k là hằng số tự chọn).

Hàm lọc cho các ảnh trong quy mô không gian SIFT

Trước khi áp dụng các tham số cho hàm Gaussian blur, cần thực hiện tạo các ảnh trong quy mô không gian SIFT. SIFT được chia thành 4 cột (4 octave), octave sau có kích thước ảnh bằng một nửa octave trước và mỗi octave có 5 ảnh (bảng 1). Các ảnh trong một octave được gọi là scale, các scale trong mỗi octave có kích thước tương đương nhau nhưng khi áp dụng với hàm Gaussian blur thì có giá trị sigma khác nhau. Các scale có thứ tự giống nhau thì tham số sigma là bằng nhau.

Bảng 1. Tham số lựa chọn cho giá trị sigma.

	Tỷ lệ 1	Tỷ lệ 2	Tỷ lệ 3	Tỷ lệ 4	Tỷ lệ 5
	0,707107	1,00	1,414214	2,00	2,828427
Octave	1,414214	2,00	2,828427	4,00	5,656854
	2,828427	4,00	5,656854	8,00	11,313708
	5,656854	8,00	11,313708	16,00	22,627417

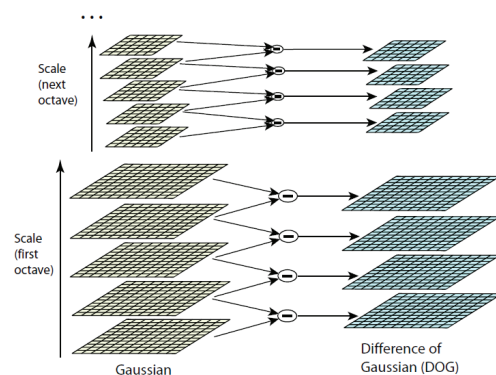
Tìm sai khác trong hàm Gaussian

Để có được kết quả nhận biết vị trí các keypoint ổn định trong quy mô không gian, chúng ta sử dụng các đỉnh trong hàm Difference-of-Gaussian với ảnh (hình 3). $D(x, y, \sigma)$ được tính là sự khác nhau giữa 2 điểm ảnh ở 2 quy mô không gian kề nhau bởi giá trị k :

$$D(x, y, \sigma) = G(x, y, k\sigma) - G(x, y, \sigma) * I(x, y, \sigma) \quad (3)$$

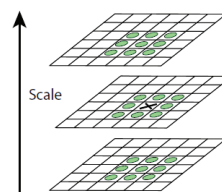
$$= L(x, y, k\sigma) - L(x, y, \sigma)$$

$$\text{Do đó: } G(x, y, k\sigma) - G(x, y, \sigma) \approx (k-1) \sigma^2 \nabla^2 G \quad (4)$$



Hình 3. Mô hình thực hiện hàm DOG.

Sau khi tính được Difference-of-Gaussian, ta cần khảo sát điểm đó so với 8 điểm lân cận xung quanh trong một scale với 9 điểm thuộc octave trước và 9 điểm thuộc octave sau (hình 4). Điểm nào không có đủ 26 điểm lân cận sẽ bị loại bỏ. Nếu điểm đó có giá trị nhỏ nhất hoặc lớn nhất so với 26 điểm thì nó được xét là điểm có điều kiện trở thành một keypoint.



Hình 4. Sơ đồ tính cực trị trong Difference of Gaussian.

Xác định keypoint

Sau khi đã xác định được những điểm cực trị có khả

năng trở thành một keypoint, tiến hành lọc bớt các điểm có độ tương phản thấp hoặc các điểm nằm trên cạnh của chi tiết. Phương pháp này được phát triển bởi Brown và Lowe (2002) [11] bằng cách sử dụng chuỗi Taylor mở rộng với hàm scale-space $D(x, y, \sigma)$ để dịch chuyển gốc tại điểm lấy mẫu:

$$D(x) = D + \frac{\partial D}{\partial x} X + \frac{1}{2} X^T \frac{\partial^2 D}{\partial x^2} X \quad (5)$$

Với thí nghiệm của Lowe, tất cả các đỉnh với giá trị của $D(X) < 0,03$ bị loại bỏ (giá trị mức xám của các điểm ảnh cần được đưa từ 0...255 về dải từ 0...1).

Gán hướng cho “keypoints”

Bằng việc gán một hướng duy nhất cho mỗi “keypoints” dựa trên thuộc tính tại vị trí trên ảnh, việc mô tả “keypoint” có thể được biểu diễn liên quan tới hướng đó, vì thế có được sự bất biến đối với sự quay của ảnh.

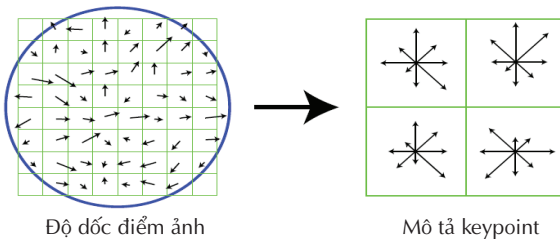
Không gian của keypoint được sử dụng để lựa chọn Gaussian làm mịn ảnh, với L là quy mô gần nhất, mỗi mẫu ảnh $L_{x,y}$, độ lớn của gradient m , hướng θ ta có các công thức tính như sau:

$$m = \sqrt{(L_{x+1,y} - L_{x-1,y})^2 + (L_{x,y+1} - L_{x,y-1})^2} \quad (6)$$

$$\theta = \tan^{-1} \left(\frac{L_{x,y+1} - L_{x,y-1}}{L_{x+1,y} - L_{x-1,y}} \right) \quad (7)$$

Mô tả keypoint tại vị trí trên ảnh (hình 5)

Để mô tả keypoints, cần tính toán để mô tả các bất biến tại các vị trí trên ảnh. Sử dụng phương pháp chuẩn hóa tương quan cho các intensity xung quanh keypoint, tuy nhiên tương quan này dễ nhạy cảm với những thay đổi bên ngoài gây ra như biến đổi hình học hoặc các biến dạng khác.



Hình 5. Mô tả tại một keypoint với cửa sổ 2x2.

Một keypoint được mô tả bằng cách tính toán độ lớn của độ dốc và hướng tại mỗi điểm ảnh, những trọng số được tính bằng cách sử dụng một cửa sổ hình tròn Gaussian chồng chập, sau đó chúng được tổng hợp vào biểu đồ hướng tổng trên một khu vực rộng hơn, thông thường người ta sử dụng một cửa sổ mô tả 4x4 cho một mảng mẫu 16x16.

Sau khi nhân các giá trị độ lớn độ dốc với cửa sổ trọng số Gaussian ta thực hiện cho tất cả 16x16 ô để đưa vào

tổng hợp 4x4, với mỗi 16 ô ta đưa các giá trị vào 8 ô theo sự phân chia định hướng, mỗi ô này có giá trị tương ứng từ 0...44°, 45...89°, ... Như vậy, tổng cộng ta tính cho mỗi một keypoint bao gồm 4x4x8=128 điểm khảo sát xung quanh.

Sau khi tổng hợp xong, ta thực hiện chuẩn hóa tất cả các vector trong một “keypoint”. Các keypoint này nằm tại giữa các điểm ảnh, vì thế bước cuối cùng cần phải nội suy để tạo ra định hướng và độ lớn của dữ liệu nằm ở giữa các pixel. Như vậy đã thực hiện xong việc mô tả “keypoint”.

Huấn luyện phân lớp SVM (hình 6, 7)

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp SVM cho phân lớp các loại đặc trưng trích rút từ SIFT.

Support vector được biểu diễn như sau: $x_i \cdot w + b = \pm 1$

Khoảng cách giữa điểm và siêu phẳng: $\frac{|x_i \cdot w + b|}{\|w\|}$

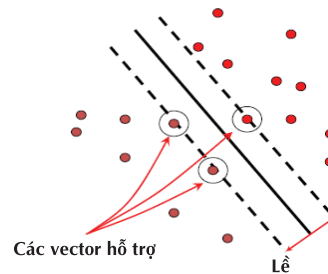
Giới hạn (margin): $\frac{2}{\|w\|}$

Công thức phân lớp (ranh giới quyết định):

$$w \cdot x + b = \sum_i a_i b_i x_i \cdot x + b$$

- Nếu $x \cdot w + b \geq 0$ thì điểm thuộc lớp 1

- Nếu $x \cdot w + b \leq 0$ thì điểm thuộc lớp 2



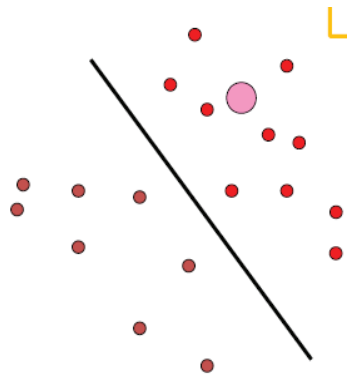
Hình 6. Mô hình tìm siêu phẳng trong SVM.

Nhóm nghiên cứu sử dụng thư viện LibSVM của Chang Chih-Chung và Chih-Jen Lin (2011) [12] để xây dựng mô hình phân lớp sau khi có được tập tin đặc trưng đã chuẩn hóa, tập tin này sẽ trở thành đầu vào của máy học SVM, các bước thực hiện như sau:

Bước 1: các đặc trưng đã được trích xuất ở bước trích chọn SIFT của tập ảnh mẫu sẽ là đầu vào của quá trình huấn luyện phân lớp.

Bước 2: chọn các thông số phù hợp cho việc xây dựng mô hình phân lớp. Đối với mỗi tập tin đặc trưng đầu vào, sử dụng công cụ grid.py của thư viện LibSVM để chọn tham số tốt nhất, đảm bảo cho quá trình huấn luyện đem lại độ chính xác cao nhất. Đối với tập đặc trưng đã chọn ở trên, tham số γ (gamma của hàm nhân) được chọn là 0,125 và c (chi phí) được chọn là 8.

Bước 3: huấn luyện mô hình SVM bằng hàm thực thi Train() với tập tin đặc trưng đã chọn ở bước 1, các thông số đã chọn ở bước 2.



Hình 7. Quyết định phân lớp cho 1 điểm ngẫu nhiên trong không gian.

Bước 4: kiểm tra độ chính xác của mô hình bằng phương thức EvaluateClassificationProblem(). Đầu ra của giai đoạn này là mô hình phân lớp. Mô hình này dùng để phân lớp nhận dạng sâu bệnh.

Đánh giá độ chính xác của kết quả chẩn đoán sâu bệnh ứng dụng kỹ thuật SIFT và SVM

Tập dữ liệu được sử dụng cho thử nghiệm bao gồm 800 hình ảnh. Trong đó, 300 hình ảnh là các lá lúa bình thường và 500 hình ảnh là lá lúa bệnh. 50% hình ảnh trong mỗi lớp được sử dụng để huấn luyện và kiểm tra. Các thực nghiệm được tiến hành với sự kết hợp các tính năng hình ảnh khác nhau. Bảng 2 và 3 cho thấy kết quả phân loại khi sử dụng với SVM với đặc trưng SIFT so sánh kết quả với đặc trưng toàn phần HOG (Histogram of Gradient) [13]. Kết quả cho thấy, tính năng khoảng cách cạnh thông qua thuật toán chuyển dòng cùng với tính năng SIFT cho tỷ lệ phân loại cao hơn 85% so với HOG.

Bảng 2. Tỷ lệ phân loại (%) đối với lá lúa bình thường và bị sâu bệnh (độ chính xác ACC, tỷ lệ dương tính TPR-True, tỷ lệ âm tính TNR).

Đặc tính	Số lượng ảnh	ACC (%)	Giá trị thu được (TPR)	TNR	Độ lệch chuẩn	Giá trị dự đoán âm
SIFT	500	85,0	0,858	0,836	0,897	0,779
HOG	500	82,1	0,848	0,776	0,8635	0,754

Bảng 3. Tỷ lệ phân loại (%) đối với lá lúa bình thường và lúa bị bệnh với 1.000 mẫu mỗi loại.

Đặc tính	Số mẫu vật	Độ chính xác	Thời gian xử lý trung bình
Khô vắn	1.000	84,6	365 ms
Đạo ôn	1.000	81,2	277 ms
Cuốn lá	1.000	80,1	251 ms
Rầy nâu	1.000	82,7	338 ms

Kết luận

Bài báo này đã tập trung vào nghiên cứu ứng dụng trích chọn đặc trưng hình thái học sử dụng SIFT và phân lớp SVM trong việc xác định lá lúa bị sâu bệnh. Các kết quả phân loại thu được bằng cách sử dụng sự kết hợp của cả hai

tính năng mang lại độ chính xác lên tới 85% so với phương pháp chỉ sử dụng đặc trưng mô tả HOG. Hướng phát triển nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi nhằm cải thiện độ chính xác cho quá trình phát hiện bệnh trên lúa sẽ giải quyết các vấn đề sau: (1) Thu thập thêm nhiều mẫu ảnh dữ liệu cho quá trình huấn luyện; (2) Sử dụng kết hợp các đặc trưng cục bộ như SIFT, SUFT... với HOG hoặc HOG -DLMA [14]; (3) Sử dụng mạng neural xoắn ốc (deep convolutional neural network) trong phân loại để nâng cao độ chính xác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] C. Nandini, G.L. Anoop (2016), "Classification and grading the level of paddy leaf diseases using multi classifiers", *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*, **4**(4), pp.28-32.
- [2] Wiener, Norbert (1949), *Extrapolation, Interpolation, and Smoothing of Stationary Time Series*, New York: Wiley, ISBN 0-262-73005-7.
- [3] N. Otsu (1979), "A threshold selection method from gray level histograms", *IEEE Trans. Systems Ma. and Cybernetics*, **9**, pp.62-66.
- [4] Phadikar, Santanu, Jaya Sil, and Asit Kumar Das (2013), "Rice diseases classification using feature selection and rule generation techniques", *Computers and Electronics in Agriculture*, **90**, pp.76-85.
- [5] K.L. Pawankumar, S.A. Angadi (2017), "An automated system for detection and classification of rice plant diseases", *IJSRD - International Journal for Scientific Research & Development*, **5**(7), pp.705-707.
- [6] Mohanty, P. Sharada, Hughes, P. David, Salathé, Marcel (2016), "Using deep learning for image-based plant disease detection", *Frontiers in Plant Science*, **7**, p.1419.
- [7] D. Zhang, X. Zhou, J. Zhang, Y. Lan, C. Xu, D. Liang (2018), "Detection of rice sheath blight using an unmanned aerial system with high-resolution color and multispectral imaging", *PLOS ONE*, **13**(5), e0187470.
- [8] Nguyễn Ngọc Đệ (2008), *Giáo trình cây lúa*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Tp Hồ Chí Minh.
- [9] Vũ Cao Đàm (2003), *Phương pháp luận nghiên cứu khoa học*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
- [10] Lowe, G. David (1999), "Object recognition from local scale-invariant features", *Proceedings of the International Conference on Computer Vision*, **2**, pp.1150-1157, doi:10.1109/ICCV.1999.790410.
- [11] M. Brown, D. Lowe (2002), "Invariant features from interest point groups", *BMVC 2002: 13th British Machine Vision Conference*, Cardiff, pp.253-262.
- [12] Chang Chih-Chung, and Chih-Jen Lin (2011), "LibSVM: a library for support vector machines", *ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology (TIST)*, **2**(3), p.27.
- [13] N. Dalal and B. Triggs (2005), "Histograms of oriented gradients for human detection", *Proceedings of the Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, **2**, pp.886-893.
- [14] P. Balamurugan, Rajesh, Reghunadhan (2012), "Neural network based system for the classification of leaf rot disease in cocos nucifera tree leaves", *European Journal of Scientific Research*, **88**, pp.1450-216.

Nghiên cứu luyện và xử lý nhiệt một số mác thép độ bền cao tiên tiến

Đinh Bá Trự^{1,2*}, Trần Văn Đoàn², Phan Thanh Bình², Đinh Văn Hiến³,
Trần Công Thức⁴, Lê Văn Long⁵, Nguyễn Tiến An⁶

¹Học viện Kỹ thuật Quân sự

²Công ty JSC MIREX

³Viện Khoa học và Công nghệ Quân sự

⁴Trường Đại học Thái Bình

⁵Viện Công nghệ, Bộ Quốc phòng

⁶Trường Sĩ quan Lục quân I

Ngày nhận bài 16/10/2018; ngày chuyển phản biện 19/10/2018; ngày nhận phản biện 16/11/2018; ngày chấp nhận đăng 21/11/2018

Tóm tắt:

Bài báo giới thiệu kết quả nghiên cứu về công nghệ luyện và tạo phôi một số mác thép độ bền cao tiên tiến (AHSS) lần đầu tiên tại Việt Nam từ sắt xộp (DRI) MIREX. Sắt xộp, sản phẩm của công nghệ hoàn nguyên trực tiếp phi cốc, có hàm lượng C thấp, P và S rất thấp, chưa được sử dụng rộng rãi tại Việt Nam do chưa có công nghệ chuyên dụng. Nghiên cứu này bước đầu giải quyết về công nghệ sử dụng sắt xộp luyện thành thép cacbon và hợp kim trong lò cảm ứng dung lượng đến 10 tấn. Đồng thời, một số phôi thép AHSS được luyện từ sắt xộp, có tính chất cơ học đặc biệt như thép S10C, DP800, TRIP800, CrMnSi và được nghiên cứu tích hợp các công nghệ như luyện và tinh luyện thép, biến dạng và xử lý nhiệt cho nhóm thép CMnSi (thép HSLA). Thép được sản xuất có tính chất cơ học tốt, vừa có độ bền cao vừa có tính dẻo tốt, hơn hẳn tính năng thép HSLA. Trong đó, mác thép dập sâu S10C-M đã được thử nghiệm ở hai nhà máy quân đội và được đánh giá đạt yêu cầu kỹ thuật.

Từ khóa: sắt xộp DRI, thép DP, thép độ bền cao tiên tiến AHSS, TRIP.

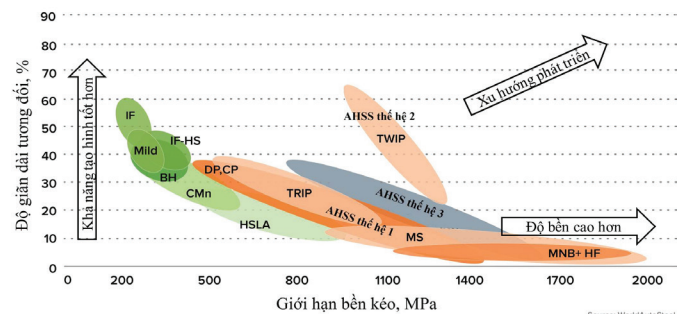
Chỉ số phân loại: 2.5

Đặt vấn đề

Từ cuối thế kỷ XX, ngành luyện kim thế giới đã ứng dụng nhiều công nghệ tiên tiến với định hướng: tăng năng suất, tăng chất lượng, giảm giá thành và thân thiện môi trường. Trong đó, nổi bật là đã ứng dụng công nghệ hoàn nguyên trực tiếp quặng sắt DRI - công nghệ phi cốc, hay công nghệ luyện kim xanh [1]. Do không dùng than cốc làm chất hoàn nguyên, nên sắt xộp có hàm lượng cacbon, tạp chất thấp hơn. Khi tích hợp các công nghệ biến dạng và xử lý nhiệt đã tạo ra nhóm thép độ bền cao tiên tiến AHSS, kết hợp độ bền cao, tính dẻo tốt [2, 3]. Thép AHSS được ứng dụng sản xuất khung dầm ô tô, các cấu kiện thép đã giảm nhẹ khối lượng và giá thành sản phẩm, đang dần thay thế cho một số mác thép HSLA truyền thống [4-6].

Đặc điểm thép AHSS là có thành phần hóa học gồm C, Mn, Si và một ít nguyên tố Cr, Mo, Al gần như HSLA, nhưng có độ sạch tạp chất cao hơn với hàm lượng P, S nhỏ hơn 0,015%. Đồng thời, trong quá trình sản xuất được tích hợp các công nghệ tiên tiến về biến dạng và xử lý nhiệt. Nhờ đó, thép có tổ chức đa pha với tỷ phần thể tích nhất định và

có kích thước hạt đạt siêu mịn, nên thép có cơ tính vừa bền vừa dẻo. Thép AHSS thế hệ 1 gồm các nhóm thép song pha DP, thép chuyển biến do dẻo TRIP, thép phức hợp pha CP, thép mactenxit (hình 1), thép có các chỉ tiêu cơ học cao hơn hẳn thép HSLA; dải độ bền siêu cao từ 500 đến 2000 MPa, độ giãn dài từ 10 đến 40%.



Hình 1. Quan hệ giới hạn bền và độ giãn dài của một số thép và thép AHSS [2].

Ngoài ra, thép còn có tỷ số giới hạn bền trên giới hạn chảy cao, có thể chịu tải biến dạng lớn hơn, hệ số hóa bền

*Tác giả liên hệ: Email: dinhbatru39@gmail.com

Study on the making and heat treatment of some advanced high-strength steels

Ba Tru Dinh^{1,2*}, Van Doan Tran², Thanh Binh Phan²,
Van Hien Dinh³, Cong Thuc Tran⁴,
Van Long Le⁵, Tien An Nguyen⁶

¹Military Technical Academy

²JSC MIREX

³Military Science and Technology Institute

⁴Thaibinh University

⁵Institute of Technology, Ministry of Defense

⁶The Infantry Training Colledge Number 1

Received 16 October 2018; accepted 21 November 2018

Abstract:

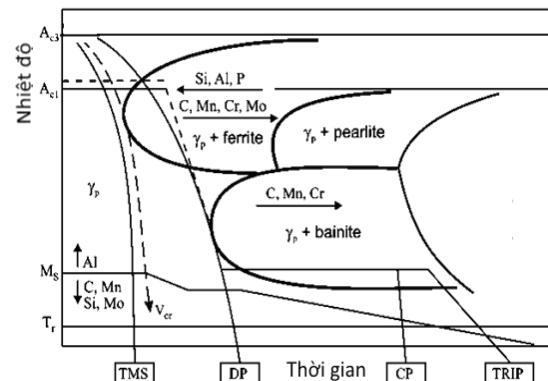
This paper presents the results of a research on the technology of producing some advanced high-strength steels (AHSS) in Vietnam from sponge iron (DRI) of MIREX. Sponge iron which has low C, P, S contents has not been widely used in Vietnam yet. This research, initially, has solved the technology of making the carbon steels and alloys from sponge iron in the induction furnace with the capacity of 10 tons. Some AHSS billets, made from DRI, which have special mechanical properties such as S10C, DP800, and TRIP800 steels have been studied thanks to the integration of such technologies as refining and making, deformation, and heat treatment for the CMnSi steel group. The resulted steels have good mechanical properties, both high durability and plasticity, even better than that of high-strength low alloy (HSLA) steel (CMnSi stell). In particular, the S10C-M deep-drawing steel has been tested in two military plants and shown the satisfaction of technical requirements.

Keywords: advanced high-strength steels (AHSS), DP steel, sponge iron (DRI), TRIP steel.

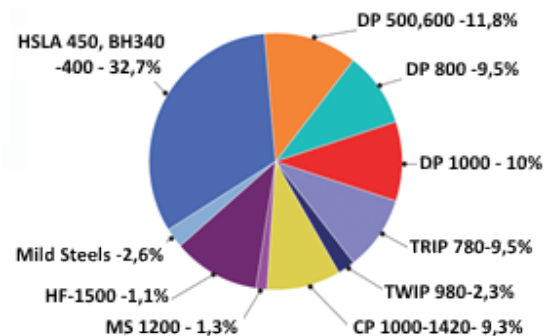
Classification number: 2.5

biến dạng lớn và chỉ số hấp thụ năng lượng cao.

Các cơ tính đạt được như trên, ngoài do thép có độ sạch tạp chất cao, chúng còn được xử lý nhiệt đặc biệt (hình 2), tùy quy trình nguội khác nhau để tạo ra một hỗn hợp các pha khác nhau với tỷ phần pha nhất định tùy mức thép. Đến nay, tỷ trọng khối lượng thép AHSS trong các xe ô tô con đã chiếm đến 70% (hình 3).



Hình 2. Sơ đồ xử lý nhiệt AHSS.



Hình 3. Tỷ phần các mức thép trong ô tô.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Từ các kết quả nghiên cứu công nghệ luyện thép các bon và hợp kim từ sắt xốp [7] thấy rằng, sắt xốp là nguyên liệu rất tốt dùng luyện thép chất lượng cao, do hàm lượng tạp chất thấp, có chứa FeO và không khí, nên khi luyện trong lò cảm ứng tạo sự sôi, khuấy đảo đồng đều nước thép, tạo điều kiện khử sâu tạp chất và lưu giữ được các nguyên tố vi lượng có trong quặng, rất phù hợp dùng luyện các mức thép có tính kỹ thuật và kinh tế. Từ các yêu cầu thép phục vụ sản xuất quốc phòng, một số mức thép được chọn để nghiên cứu là: 1) Thép S10C-M dùng dập vỏ liều đạn pháo với yêu cầu có độ dẻo cao nhưng có độ biến cứng lớn; 2) Thép dùng dập vỏ động cơ đạn phản lực, với yêu cầu độ bền rất cao khi làm việc nhưng có độ dẻo lớn để dập vuốt tạo hình; 3) Thép có độ bền siêu cao, chế tạo các chi tiết trong tên lửa và vỏ bọc thép [8].

Nguyên liệu sử dụng là sắt xộp MIREX, được sản xuất dưới dạng cục hoặc vôi viên, có hàm lượng C từ 0,4 đến 1,0%; P và S nhỏ hơn 0,04%, còn lại là FeO và một số tạp chất. Thép được luyện trong lò cảm ứng trung tần 1,5 tấn/mẻ, lò được đầm bằng sạn MgO và thiêu kết bảo đảm tuổi thọ lò. Khi luyện đã sử dụng các công nghệ về điều khiển chế độ điện và nhiệt, công nghệ tạo xỉ và khử tạp chất, công nghệ nạp liệu, hợp kim hóa; tiếp sau được tinh luyện trong lò cảm ứng chân không VIM-300 để tinh chỉnh thành phần, khử sâu tạp chất và khử khí. Thép được đúc thành thỏi đường kính 250 mm, rèn kết hợp cán thành thép thanh có đường kính đến 25 mm, có khối lượng biến dạng và nhiệt độ dừng rèn để cho độ lớn hạt sau cán là nhỏ nhất. Các mẫu thí nghiệm kéo và phân tích kim tương được nung ở nhiệt độ giữa AC1 và AC3 ($740 \div 790^\circ\text{C}$), giữ nhiệt và làm nguội. Đối với thép song pha DP, làm nguội nhanh trong nước, thép dẻo do chuyển pha TRIP được làm nguội đẳng nhiệt trong bể muối ở $400-450^\circ\text{C}$ (hình 2). Tiếp sau các mẫu được kiểm tra tổ chức, xác định độ lớn hạt và tỷ phần các pha; thử kéo xác định các chỉ tiêu cơ học ở các trạng thái xử lý nhiệt tại Trung tâm Đo lường BQP và được xử lý theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm.

Kết quả và thảo luận

Nghiên cứu tạo phôi mác thép S10C-M

Thép S10C-M là mác thép dùng dập vỏ liều đạn pháo cho hải quân, thay cho hợp kim đồng đất tiền. Kết quả nấu luyện thép trong lò cảm ứng được liệt kê ở bảng 1.

Bảng 1. Thành phần thép S10C-M theo tiêu chuẩn và thép được luyện.

Mác thép	Thành phần hóa học (% khối lượng), trừ Fe								
	C	Si	Mn	P	S	Cu	Ni	Cr	Ni+Cr
S10C-M	0,09-0,11	0,20-0,30	0,40-0,55	$\leq 0,015$	$\leq 0,010$	$\leq 0,3$	$\leq 0,2$	$\leq 0,2$	$\leq 0,35$
Tiêu chuẩn									
S10C-M-1	0,115	0,26	0,49	0,014	0,011	0,14	0,14	0,24	Mo<0,006
S10C-M-2	0,12	0,31	0,46	0,012	0,010	0,28	0,12	0,23	As<0,009

Như vậy, thành phần hóa học và hàm lượng tạp chất đạt được yêu cầu kỹ thuật, tiêu chuẩn quân sự thép S10C-M. Hàm lượng P và S nhỏ hơn 0,015%, ngoài ra thép còn có Ni và Cr để tăng độ dẻo, có Cu để tăng tính chống ăn mòn khí hậu.

Tiếp theo, phôi được rèn thành đĩa D230 mm dày 14 mm, được xử lý nhiệt và kiểm tra tổ chức tế vi và cơ tính trước khi dập tại nhà máy (như hình 4). Trước mỗi bước dập, phôi được ủ để giảm nhẹ lực dập. Nhiệt độ ủ từ 700 đến 800°C , thép có giới hạn bền $R_m=360$ MPa, giới hạn chảy $R_p=230$ MPa, độ giãn dài trên 35%. Ở trước bước dập

cuối, nhiệt độ ủ trong khoảng $300-350^\circ\text{C}$, giới hạn bền sau ủ đạt 700-760 MPa, sau lần dập cuối cùng, nhờ biến cứng, giới hạn bền có thể tăng trên 800 đến 900 MPa, cuối cùng khử ứng suất dư ở nhiệt độ 180°C trong 10 phút. Nhờ hiệu ứng biến cứng nung, giới hạn bền có thể tăng thêm 50 MPa.



Hình 4. Các bước dập chi tiết.

Kết quả đã được các cơ quan quản lý đánh giá như sau: thành phần hóa học phù hợp với thép Hàn Quốc dùng dập vỏ liều; cơ tính phôi đầu vào đáp ứng yêu cầu dùng dập vỏ liều, nhất là có độ dẻo cao, độ giãn dài tương đối trên 30%; đã dập thử không bị hỏng, phôi thép đạt yêu cầu hình dáng và kích thước vỏ liều; cơ tính vỏ liều đáp ứng yêu cầu bản vẽ thiết kế.

Nghiên cứu tạo phôi thép DP800 và TRIP800 nhóm CMnSi

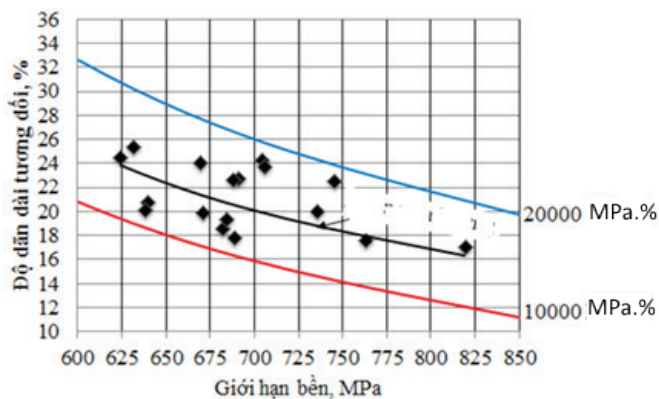
Nghiên cứu được thực hiện nhằm đáp ứng nhu cầu cung cấp phôi thép dùng sản xuất vỏ động cơ và bình cao áp đạn phản lực, thay thế phôi thép phải nhập ngoại. Sản phẩm dạng ống dài (đến 2000 mm), thành mỏng (đến 1 mm) và chịu áp lực cao bên trong, đòi hỏi giới hạn bền rất cao. Hai mác thép có thành phần hóa học sau tinh luyện được mô tả trong bảng 2.

Bảng 2. Thành phần hóa học của một số mác thép DP và TRIP nghiên cứu.

Mác thép AHSS	Thành phần hóa học (% khối lượng)									
	C	Mn	Si	Cr	Ni	Ti	Cu	Al	P	S
DP1	0,098	1,24	0,98	0,34	0,033	0,009	0,050	0,06	0,015	0,012
DP2	0,137	1,41	1,64	0,06	0,070	0,005	0,035	0,041	0,012	0,011
TRIP 1	0,220	1,39	1,60	0,11	0,05	0,003	0,040	0,11	0,011	0,009
TRIP 2	0,234	2,51	2,94	0,72	0,04	0,007	0,070	0,12	0,013	0,004

Thành phần thép DP800 và TRIP800 đáp ứng đủ các yêu cầu dùng dập vỏ động cơ đạn theo tiêu chuẩn ngành. Phôi thép được rèn và xử lý nhiệt đặc biệt như sau:

Mẫu thép DP được nung ở 3 cấp nhiệt độ 740, 760 và 780°C; được giữ nhiệt 10, 15 và 20 phút, làm nguội trong dầu, nước và nước muối. Các chỉ tiêu cơ học được đánh giá theo các tiêu chuẩn quy định. Nhận thấy, độ bền lớn nhất đạt trên 800 MPa với độ giãn dài vẫn giữ mức 16%. Khi độ bền thấp đến 600 MPa, độ giãn dài cao nhất đạt đến 25%, hệ số biến cứng lớn hơn 0,18; chỉ số Rm/Re đạt 1,54; chỉ số hấp thụ năng lượng (tích giới hạn bền với độ giãn dài PSE) đạt đến 18000 MPa.%. Tổng hợp các số liệu thực nghiệm dựng đồ thị quan hệ giới hạn bền và độ giãn dài sau các chế độ xử lý cơ nhiệt (hình 5).

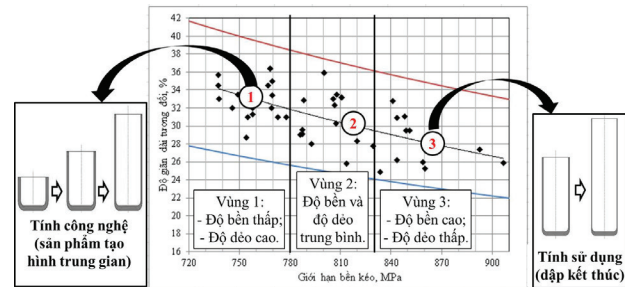


Hình 5. Quan hệ giới hạn bền và độ giãn dài của thép DP và TRIP nghiên cứu.

So với thép HSLA, cơ tính của thép DP800 vừa có độ bền cao vừa có tính dẻo tốt. Nguyên nhân là thép có tổ chức hai pha ferit và mactenxit, trong đó, độ lớn hạt ferit nhỏ, đạt giá trị từ 12 đến 15μm, hạt mactenxit siêu mịn, đạt giá trị nhỏ hơn 8 μm. Tỷ phần pha mactenxit dưới từ 15 đến 30%. Như vậy có thể điều khiển tỷ phần pha mactenxit để không chế quan hệ độ bền - độ giãn dài, tùy theo yêu cầu sử dụng.

Thép TRIP800 nghiên cứu có thành phần C, Mn và Si cao hơn thép DP (xem bảng 4), thép có thành phần pha gồm ferit, bainit, ôstenit dư sau xử lý nhiệt. Tiếp sau, nhờ biến dạng dẻo, ôstenit dư chuyển thành mactenxit. Các bước thực nghiệm được tiến hành như thép DP, nhưng làm nguội trong muối nóng chảy ở nhiệt độ 350 đến 450°C, giữ nhiệt trong thời gian từ 5 đến 15 phút. Kết quả thực nghiệm được trình bày trên đồ thị quan hệ giới hạn bền và độ giãn dài (hình 6). Nhận thấy, có thể phân thành 3 vùng tương ứng với các bộ thông số công nghệ xử lý nhiệt: vùng có độ bền từ 730 đến 780 MPa, nhưng độ giãn dài cao trên 30%, dùng trong trường hợp xử lý phôi ở các bước dập đầu; vùng có độ bền cao từ 830 đến 900 MPa, độ giãn dài từ 20 đến 30%, dùng trong xử lý nhiệt các bước gần cuối và vùng trung gian. Sau bước dập cuối cùng với hiệu ứng hóa bền, biến

dạng giới hạn bền có thể tăng trên 1000 MPa. Nhận thấy, thép TRIP800 có các chỉ tiêu cơ học tốt hơn, có sự phối hợp vừa bền vừa dẻo so với thép DP800, nhưng công nghệ xử lý phức tạp hơn.



Hình 6. Quan hệ độ bền và độ giãn dài thép TRIP.

Bảng 3. Tỷ phần các pha tương ứng với bộ thông số công nghệ xử lý nhiệt.

Phân vùng	Tỷ phần pha (%)			Thông số công nghệ			
	f_a	f_{ab}	f_{vd}	$T_{a+v}^{\circ C}$	τ_{a+v} phút	$T_B^{\circ C}$	τ_B phút
Vùng 1	49-55	40-47	6-10	775-790	11-15	440-450	5-7
Vùng 2	53-62	30-40	6-10	765-780	5-10	350-370	7-10
Vùng 3	59-68	20-26	<10	750-760	5-8	370-400	8-14

Các chỉ tiêu cơ tính của thép DP và TRIP là vừa bền vừa dẻo, có thể giải thích bằng các lý thuyết độ bền. Theo luật trộn pha, độ bền thép DP và TRIP có thể xác định bằng tổng của tích độ bền từng pha với tỷ phần của chúng [9]. Như vậy, bằng cách điều chỉnh độ bền của từng pha, thông qua độ lớn hạt, sự hòa tan các nguyên tố hợp kim, hoặc tạo các pha hợp kim để làm tăng giới hạn bền của từng pha. Đồng thời, có thể điều chỉnh tỷ phần thể tích của từng pha, tìm ra phạm vi biến đổi tối ưu, như thép DP tỷ phần pha mactenxit biến đổi từ 15-30%, còn của thép TRIP, từ bảng 3 ta thấy, vùng 1 dẻo hơn do tỷ phần pha bainit lớn hơn, nhưng đến vùng 3 độ bền cao hơn do tỷ phần pha bainit nhỏ (từ 20 đến 26%). Ngoài ra, có thể giải thích từ lý thuyết lệch, độ lớn hạt nhỏ siêu mịn, nên cơ chế biến dạng dẻo do lệch chuyển động không chỉ xảy ra trong một số hạt mà có sự tham gia của nhiều hạt; do thép sạch, lệch còn có thể truyền gián tiếp qua biên giới siêu hạt sang siêu hạt lân cận hoặc theo biên giới siêu hạt tới các siêu hạt xa hơn.

Chế tạo thép độ bền siêu cao

Để đáp ứng yêu cầu cần mác thép độ bền siêu cao dùng trong một số chi tiết đặc biệt của tên lửa và làm bọc thép, nghiên cứu đã sử dụng công nghệ thép AHSS cho thép 30CrMnSi, có các hàm lượng C, Mn, Si cao hơn so với thép DP và TRIP [8]. Thành phần thép nghiên cứu như tiêu chuẩn GOST, có bổ sung một số nguyên tố vi lượng được kê ở bảng 4.

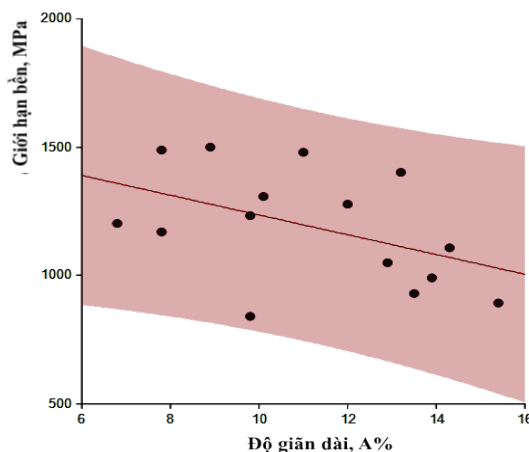
Bảng 4. Thành phần hóa học thép 30CrMnSi theo GOST 4543-71 (% trọng lượng), trừ Fe.

C	Si	Mn	Ni	S	P	Cr	Cu
0,26-0,35	0,8-1,2	0,8-1,1	<0,3	<0,035	<0,035	0,8-1,1	<0,3
Mức thép nghiên cứu							
0,30	1,0	1,0	0,3	0,015	0,0225	1,0	<0,3

Kết quả xác định chỉ tiêu cơ tính, tương ứng với các chế độ nhiệt luyện, được biểu diễn ở biểu đồ hình 7. Kết quả cho thấy, độ bền của thép có thể đạt trên 1500 MPa, độ giãn dài đạt trên 10%, độ bền nhỏ nhất đạt 1000 MPa, độ giãn dài đạt trên 15%. Ở trạng thái thường hóa, giới hạn chảy là 396 MPa, độ giãn dài 17%, độ co thắt 45%.

So sánh chỉ tiêu cơ học, thép nghiên cứu có giới hạn bền sau tôi 890°C, ram 540°C đạt đến 1229 MPa, độ giãn dài 13%, các chỉ tiêu hơn hẳn cơ tính mức thép cùng loại theo GOST. Khi ram ở 300°C độ bền đạt 1660 MPa, giới hạn chảy đạt 1480 MPa, độ giãn dài 11%, độ bền đạt giá trị siêu cao ngang thép mactenxit, nhưng vẫn giữ độ giãn dài trên 10%. Có thể thay đổi thành phần cacbon để tăng hàm lượng mactenxit trong thép, để đưa giới hạn bền của thép lên đến 2000 MPa.

Như vậy, thép độ bền siêu cao họ 30CrMnSi có thể sử dụng công nghệ xử lý nhiệt mới để nâng cao các chỉ tiêu bền và chỉ tiêu dẻo, theo công nghệ thép tiên tiến.

**Hình 7. Biểu đồ quan hệ độ giãn dài và độ bền thép 30CrMnSi nghiên cứu.**

Kết luận

Trên cơ sở làm chủ được công nghệ luyện thép hợp kim từ sắt xốp trong lò cảm ứng với các quy trình công nghệ xây và đầm lò, quy trình công nghệ luyện thép với việc điều khiển chế độ nhiệt, chế độ điện, tốc độ nạp liệu, xử lý xỉ...

được xây dựng hợp lý, đã luyện được các mức thép dùng trong quân sự với các yêu cầu khắt khe về thành phần hóa học, nhất là hàm lượng P và S, mở ra cơ hội sản xuất các loại thép phục vụ quốc phòng bằng công nghệ nội địa.

Thép dùng trong quốc phòng, ngoài yêu cầu thành phần hóa học, cần sử dụng các công nghệ xử lý đặc biệt để tạo nên thép có tổ chức pha và tỷ lệ các pha nhất định, thông qua điều khiển các thông số công nghệ để tạo sự phối hợp giữa độ lớn hạt, độ bền, độ dẻo của các pha và tỷ lệ của chúng nhằm kết hợp hài hòa giữa giới hạn bền và độ giãn dài của các mức thép.

Đã xác định được công nghệ để sản xuất phối các phối thép: thép S10C-M dùng dập vỏ liều đạn pháo, được thử nghiệm trên dây chuyền công nghệ, có thể đưa sản xuất loạt nhỏ. Thép DP800 và TRIP800 đã nấu luyện, gia công biến dạng và xử lý nhiệt đặc biệt, đưa ra được quy luật quan hệ giữa các chỉ tiêu cơ học với các thông số công nghệ. Có thể lựa chọn các thông số công nghệ để cho cơ tính của thép phối hợp hài hòa giữa độ bền và độ dẻo, tùy theo các giai đoạn công nghệ và yêu cầu của quy trình. Thép 30CrMnSi được ứng dụng công nghệ xử lý nhiệt theo thép độ bền cao tiên tiến AHSS, đã cho độ bền rất cao, đáp ứng các yêu cầu làm các chi tiết chịu lực lớn trong vũ khí và xe quân sự.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] www.midrex.com.
- [2] www.WorldAutoSteel.org.
- [3] M.Y. Demeri (2013), *Advanced High-Strength Steels-Science, Technology, and Application*, ASM International.
- [4] www.reportlinker.com/automotive/reports.
- [5] Majid Pouranvari (2010), *Tensile strength and ductility of ferrite-martensite dual phase steels*, Islamic Azad University.
- [6] Wolfgang Staufner (Feb. 19th, 2003), *Great Designs in Steel - Advanced High-Strength Steels in Mercedes-Benz Passenger Cars*, Daimler Chrysler - Germany.
- [7] Nguyễn Ngọc Linh, Nguyễn Thanh Bình, Trần Văn Đoàn, Đinh Bá Trụ (2012), “Các kết quả nghiên cứu ứng dụng về sản xuất sắt xốp MIREX và thép hợp kim”, *Tuyển tập Báo cáo Hội nghị cơ khí toàn quốc lần thứ 3*.
- [8] Mazhyn Skakovand Gulzhaz Uazyrkhanova, Natalya Popova, Michael Sheffler (2013), *Influence of Deformation on the Phase-Structural State of Steel 30CrMnSi*, www.scientific.net/AMR.601.69.
- [9] Z. Fan, P. Tsakiroopoulos, A.P. Miodownik (1994), “A generalized law of mixtures”, *Journal of Materials*, **29**, pp.141-150.

Phân lập và tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu vang thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*)

Phạm Thị Thu Thảo, Nguyễn Ngọc Anh Thư, Lê Thanh Duy, Nguyễn Ngọc Thạnh,
Bùi Hoàng Đăng Long, Huỳnh Xuân Phong*

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

Ngày nhận bài 13/11/2018; ngày chuyển phản biện 16/11/2018; ngày nhận phản biện 10/12/2018; ngày chấp nhận đăng 4/1/2019

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích phân lập và tuyển chọn nấm men có hoạt tính lên men cao nhằm ứng dụng lên men rượu vang thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*). Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 29 chủng nấm men từ 12 mẫu trái thanh long trồng tại các tỉnh/thành phố Cần Thơ, Hậu Giang, Vĩnh Long, Đồng Tháp và Bến Tre. Dựa vào khóa phân loại nấm men (hình thái, sinh lý, sinh hóa) đã xác định được đặc điểm của các dòng nấm men được phân lập từ thanh long. Tuyển chọn được chủng nấm men BT2.1 được phân lập từ dịch quả thanh long ruột đỏ tại huyện Chợ Lách (Bến Tre) cho hàm lượng ethanol cao nhất (11,17% v/v) và đường sót thấp nhất (8,33°Brix). Rượu vang thanh long ruột đỏ lên men từ chủng nấm men BT2.1 với dịch quả được bổ sung đường saccharose ở 22°Brix, pH 4,5, mật số nấm men 10^6 tế bào/ml và lên men ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày cho kết quả độ rượu đạt 12,15% v/v. Kết quả định danh chủng nấm men BT2.1 bằng phương pháp giải trình tự DNA đã xác định được BT2.1 tương đồng với *Saccharomyces cerevisiae*.

Từ khóa: *Hylocereus polyrhizus*, rượu vang, *Saccharomyces cerevisiae*, thanh long ruột đỏ.

Chỉ số phân loại: 2.10

Đặt vấn đề

Từ hàng nghìn năm trước, con người đã biết sử dụng nấm men để chế biến thực phẩm và ngày nay vai trò của nấm men cũng rất quan trọng trong đời sống. Nấm men có mặt trong quá trình chế biến nhiều loại thực phẩm như rượu, bia, bánh mì... và có vai trò quan trọng trong cung cấp dinh dưỡng cần thiết cho con người, trong đó rượu vang là một trong những sản phẩm đã có từ rất lâu đời và được sử dụng phổ biến ở nhiều nước trên thế giới [1]. Hiện nay, rượu vang ngày càng phổ biến ở Việt Nam bởi những đặc tính tốt của nó đối với sức khỏe, cùng với nguồn nguyên liệu làm rượu vang ở nước ta đa dạng và phong phú như: nho, xoài, cam, mơ... Thanh long là loại trái cây có màu đỏ sẫm hấp dẫn ở vỏ và thịt quả, dịch quả rất giàu dinh dưỡng và rất tốt cho sức khỏe con người. Đặc biệt, thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*) có thành phần dinh dưỡng được đánh giá cao gấp đôi thanh long ruột trắng. Thanh long ruột đỏ chứa đầy đủ các chất dinh dưỡng vi lượng cần thiết cho cơ thể, bao gồm nhiều loại vitamin như vitamin C, vitamin A, protein, lycopene, glucid,... và khoáng chất [2].

Nấm men nhìn chung được sử dụng là nguồn giống vi sinh vật chính trong lên men rượu vang, nhưng tùy vào đặc điểm của từng loại nguyên liệu khác nhau mà sẽ có các chủng nấm men thích hợp để tạo ra được sản phẩm rượu vang với hàm lượng ethanol cao và có mùi vị đặc trưng. Do đó, đã có nhiều nghiên cứu phân lập, tuyển chọn và ứng dụng chủng nấm men thích hợp cho lên men với từng loại nguyên liệu trái cây cụ thể để tạo nên sản phẩm rượu vang đặc trưng, như rượu vang khóm [3], rượu vang cam [4], rượu vang dưa hấu [5], rượu vang thanh long ruột trắng [6]... Tuy nhiên, việc nghiên cứu về rượu vang thanh long ruột đỏ chưa được đề cập nhiều cũng như chưa có những kết quả công bố về chủng nấm men thích hợp để sản xuất rượu vang thanh long ruột đỏ. Chính vì vậy, việc cho ra đời sản phẩm rượu vang thanh long ruột đỏ không chỉ đáp ứng nhu cầu về thức uống bổ dưỡng, có ích đối với sức khỏe mà còn đáp ứng được nhu cầu ngày càng cao của xã hội về mặt đa dạng hoá sản phẩm, tạo ra sản phẩm mới có hương vị đặc trưng, giúp người tiêu dùng dễ dàng trong việc lựa chọn sản phẩm. Để phát triển sản phẩm rượu vang thanh long ruột đỏ, ngoài hoàn thiện quy trình lên men thì việc tìm kiếm chủng

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

Isolation and selection of yeast for wine fermentation from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*)

Thi Thu Thao Pham, Ngoc Anh Thu Nguyen,
Thanh Duy Le, Ngoc Thanh Nguyen,
Hoang Dang Long Bui, Xuan Phong Huynh*

Biotechnology Research and Development Institute,
Can Tho University

Received 13 November 2018; accepted 4 January 2019

Abstract:

The research was implemented with the aim of isolating and selecting of yeast strains with high fermentation efficiency from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) for the fermentation of red dragon fruit wine. The result of isolation showed that 29 strains of yeast were isolated from 12 red dragon fruit samples in Can Tho, Hau Giang, Vinh Long, Dong Thap, and Ben Tre provinces. Based on the classification of yeast (morphological, physiological, biochemical characteristics), the characteristics of the yeast strains isolated from the red dragon fruit samples were determined. The yeast strain BT2.1 isolated from the red dragon fruit in Cho Lach district (Ben Tre province) was selected based on the highest content of ethanol (11.17% v/v) and the lowest content of residual sugar (8.33°Brix). Fermentation of red dragon fruit wine with the strain BT2.1 was conducted with red dragon fruit juice (22°Brix, pH 4.5, and cell density of 10^6 cells/ml) at room temperature for 7 days. The highest concentration of ethanol was achieved at 12.15% v/v. The yeast strain BT2.1 was identified to have the similar genetic characteristics as *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords: *Hylocereus polyrhizus*, red dragon fruit, *Saccharomyces cerevisiae*, wine.

Classification number: 2.10

nấm men thích hợp cho lên men là rất cần thiết nhằm tạo ra sản phẩm đặc trưng.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu, hóa chất và môi trường

- Mẫu thanh long được thu tại các địa điểm: quận Ô Môn và quận Ninh Kiều (TP Cần Thơ), thị xã Bình Minh (Vĩnh Long), TP Vị Thanh (Hậu Giang), huyện Lai Vung (Đồng Tháp), huyện Chợ Lách (Bến Tre).

- Chủng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* AWRI796 (Viện Nghiên cứu Rượu vang Úc) được lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ.

- Enzyme pectinase được mua từ sản phẩm enzyme thương mại (Angel pectinase) của Công ty Angel Yeast Co., Ltd.

- Môi trường yeast extract - peptone - D-glucose (YPD, yeast extract 0,5%; peptone 0,5%; D-glucose 2,0%) và môi trường YPD agar (môi trường YPD bổ sung 1,5 g/l agar). Môi trường Christensen (urea 20 g/l; yeast extract 0,1 g/l; Na_2HPO_4 9,5 g/l; K_2HPO_4 9,1 g/l; phenol red 0,01 g/l; pH 6,7) [7].

- Các hóa chất sử dụng được mua từ sản phẩm thương mại của Merck (Đức) và HiMedia (Ấn Độ).

Phương pháp nghiên cứu

Phân lập và xác định các đặc điểm hình thái và sinh hóa của nấm men: thanh long thu về không tách bỏ vỏ, loại bỏ những quả hư, nhiễm vi sinh vật gây hư hỏng quả. Cắt và cho cả vỏ và thịt quả thanh long ruột đỏ vào bình tam giác 100 ml có môi trường YPD tăng sinh ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Tiến hành phân lập trên môi trường YPD agar đến khi có được những dòng nấm men thuần chủng. Các đặc điểm về hình thái và sinh hóa cơ bản của nấm men như hình dạng và kích thước tế bào nấm men, khả năng lên men đường saccharose và glucose, hoạt tính phân giải urea được thực hiện dựa vào các khóa phân loại nấm men chuẩn [1, 7, 8].

Tuyển chọn nấm men có hoạt lực lên men cao từ các dòng nấm men phân lập: thử nghiệm nhằm so sánh khả năng lên men và chọn ra dòng nấm men có hoạt lực lên men mạnh nhất để lên men rượu vang thanh long ruột đỏ. Dịch quả thanh long thu được bằng cách sử dụng máy ép dịch quả Panasonic MJ-W176P và được xử lý bằng enzyme pectinase 0,2% [9] trong 8 giờ ở 30°C. Phối chế dịch quả thanh long ruột đỏ bằng đường saccharose đến 22°Brix, điều chỉnh pH 4,5 và thanh trùng với NaHSO_3 (140 mg/l)

trong 2 giờ. Nuôi cấy tế bào nấm men trong môi trường tăng sinh YPD đến khi mật số tế bào nấm men đạt 10^8 tế bào/ml dịch lên men. Cho 9 ml dịch quả vào ống nghiệm có ống Durham, tiếp tục cho vào 1 ml dung dịch các dòng nấm men, lắc đều và ủ ở 30°C .

Song song đó, tiến hành đánh giá khả năng lên men trong bình tam giác để xác định hàm lượng ethanol sinh ra và so sánh với chủng đối chứng là *S. cerevisiae* AWRI796. Dịch quả thanh long ruột đỏ được xử lý enzyme pectinase 0,2%, sau đó được phối chế ở 22°Brix , điều chỉnh pH 4,5 và thanh trùng với NaHSO_3 (140 mg/l) trong 2 giờ. Chủng 1 ml dịch nấm men và 99 ml dịch quả chứa trong bình tam giác 250 ml, đậy kín bằng waterlock và lên men 7 ngày ở nhiệt độ 30°C . Xác định độ rượu và độ Brix sau lên men. Tuyển chọn được chủng nấm men có hoạt lực lên men tốt nhất dựa vào khả năng lên men nhanh và cho độ rượu cao nhất.

Định danh nấm men được tuyển chọn bằng phương pháp giải trình tự gen: chủng nấm men có hoạt lực lên men mạnh nhất được chọn để giải trình tự đoạn gen với cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATA TGC-3') [10] và sử dụng chương trình Nucleotide Blast để so sánh mức độ tương đồng của trình tự được giải với trình tự của các dòng nấm men trong ngân hàng gen NCBI với phần mềm BLASTN.

Các chỉ tiêu phân tích và xử lý thống kê: pH được đo bằng pH kế (Sartorius, PB-20, Đức), độ Brix được xác định bằng khúc xạ kế (Hand Refractometer, FG103/113, Euromex, Hà Lan) và hàm lượng ethanol hình thành được xác định bằng phương pháp chưng cất và hiệu chỉnh về 20°C [11]. Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI. (Statpoint Technologies, Inc., USA).

Kết quả và thảo luận

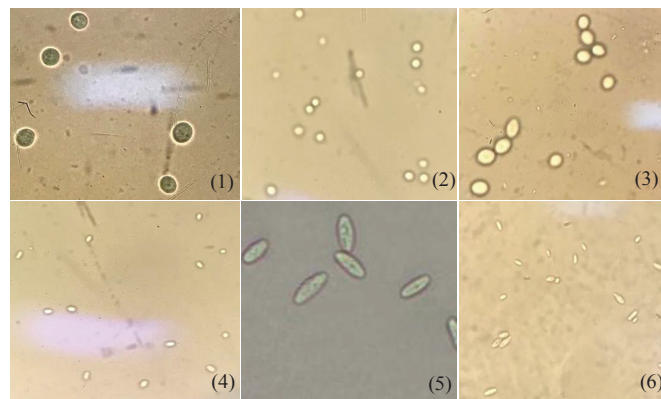
Đặc điểm hình thái của nấm men phân lập

Kết quả đã phân lập được 29 chủng nấm men từ 12 mẫu thanh long ruột đỏ ban đầu (bảng 1). Kết quả cho thấy sự đa dạng về hình dạng tế bào của các chủng nấm men phân lập bao gồm hình cầu lớn, hình cầu nhỏ, hình ovan lớn, hình ovan nhỏ, hình elip lớn và hình elip nhỏ. Hình dạng các chủng nấm men phân lập được cũng khá đa dạng như trong nghiên cứu phân lập nấm men của Nguyễn Văn Thành và cs [3] và của H.X. Phong và cs [12]. Nhìn chung, hình dạng khuẩn lạc có các đặc điểm chung là tròn đều, bề mặt bóng, dạng mô nổi và bìa nguyên với màu sắc chủ yếu là trắng ngà và trắng sữa với đường kính khuẩn lạc dao động từ 0,5 đến 4 mm. Kết quả quan sát hình thức nảy chồi của tế bào nấm men cho thấy cả 29 chủng phân lập đều có hình thức nảy chồi nhiều hướng.

Bảng 1. Hình dạng các chủng nấm men được phân lập từ thanh long ruột đỏ.

STT	Ký hiệu	Địa điểm thu mẫu	Hình dạng tế bào	Đặc điểm khuẩn lạc
1	OM1.1	Quận Ô Môn, TP Cần Thơ	Elip lớn	Trắng sữa, 2,5-3,0 mm
2	OM1.2		Elip nhỏ	Trắng ngà, 2,5-3,0 mm
3	OM2.1		Ovan lớn	Trắng sữa, 2,0-2,5 mm
4	OM2.2		Elip nhỏ	Trắng ngà, 3,0-3,5 mm
5	OM2.3		Elip nhỏ	Trắng ngà, 3,0-3,5 mm
6	NK1.1	Quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ	Elip lớn	Trắng sữa, 3,0-4,0 mm
7	NK1.2		Ovan nhỏ	Trắng ngà, 2,5-3,0 mm
8	NK1.3		Ovan lớn	Trắng ngà, 2,0-2,5 mm
9	NK2.1		Ovan nhỏ	Trắng sữa, 3,0-3,5 mm
10	NK2.2		Elip lớn	Trắng ngà, 2,0-2,5 mm
11	NK2.3	TP Vị Thanh, Hậu Giang	Ovan lớn	Trắng sữa, 2,5-3,0 mm
12	VT1.1		Ovan lớn	Trắng ngà, 3,5-4,0 mm
13	VT1.2		Ovan nhỏ	Trắng ngà, 2,5-3,0 mm
14	VT2.1		Cầu lớn	Trắng sữa, 2,5-3,0 mm
15	VT2.2		Ovan nhỏ	Trắng ngà, 2,5-3,0 mm
16	BM1.1	Thị xã Bình Minh, Vĩnh Long	Elip nhỏ	Trắng ngà, 1,5-2,0 mm
17	BM1.2		Cầu nhỏ	Trắng ngà, 2,0-2,5 mm
18	BM1.3		Cầu lớn	Trắng ngà, 3,0-3,5 mm
19	BM2.1		Elip lớn	Trắng ngà, 2,0-2,5 mm
20	BM2.2		Ovan nhỏ	Trắng sữa, 3,5-4,0 mm
21	LV1.1	Huyện Lai Vung, Đồng Tháp	Elip nhỏ	Trắng ngà, 1,5-2,0 mm
22	LV1.2		Cầu nhỏ	Trắng ngà, 2,5-3,0 mm
23	LV2.1		Cầu nhỏ	Trắng ngà, 1,5-2,0 mm
24	LV2.2		Cầu lớn	Trắng ngà, 3,0-3,5 mm
25	BT1.1	Huyện Chợ Lách, Bến Tre	Cầu lớn	Trắng ngà, 0,5-1,0 mm
26	BT1.2		Cầu nhỏ	Trắng sữa, 2,0-2,5 mm
27	BT1.3		Cầu lớn	Trắng ngà, 1,0-1,5 mm
28	BT2.1		Ovan lớn	Trắng sữa, 2,0-2,5 mm
29	BT2.2		Cầu lớn	Trắng sữa, 2,0-2,5 mm

Kết quả mô tả các đặc điểm hình thái tế bào nấm men cho thấy, 29 chủng nấm men có thể xếp thành 6 nhóm hình dạng đặc trưng (hình 1).



Hình 1. Hình dạng 6 nhóm nấm men. (1): hình cầu lớn, (2): hình cầu nhỏ, (3): hình ovan lớn, (4): hình ovan nhỏ, (5): hình elip lớn, (6): hình elip nhỏ.

Khả năng lên men đường glucose, saccharose và phân giải urea

Khả năng lên men các loại đường là một trong những chỉ tiêu quan trọng được sử dụng để phân loại nấm men. Khả năng lên men đường của 29 chủng nấm men phân lập được nuôi cấy trên các loại đường glucose và saccharose (2% w/v) trong ống nghiệm 10 ml có ống Durham (theo phương pháp của Kurtzman và Fell [8]) được thể hiện ở bảng 2. Nhìn chung, 29 chủng nấm men thuộc 6 nhóm phân lập được đều lên men đường glucose. Ngoài ra, nhóm 1 (cầu lớn), nhóm 2 (cầu nhỏ), nhóm 3 (ovan lớn), nhóm 4 (ovan nhỏ), nhóm 5 (elip lớn) lên men đường saccharose trừ chủng NK1.1 và BM2.1 và nhóm (6) không lên men được đường saccharose.

Sự thay đổi màu sắc của môi trường Christensen khi nuôi cấy nấm men phân lập sau thời gian ủ 7 ngày thể hiện hoạt tính phân giải urea của các dòng nấm men. Nấm men có khả năng sinh enzyme urease để phân giải urea thì môi trường sẽ chuyển sang màu đỏ sẫm. Khi nấm men có enzyme urease để phân giải urea thành CO_2 và NH_3 , lượng NH_3 tăng lên làm pH tăng khiến môi trường chuyển sang màu đỏ thông qua chất chỉ thị màu phenol red [7]. Kết quả quan sát sự chuyển màu được thể hiện ở bảng 2, trong đó các chủng nấm men BM1.2 (nhóm 2, cầu nhỏ); NK1.1, BM2.1 (nhóm 5, elip lớn) và LV1.1, BM1.1 (nhóm 6, elip nhỏ) làm thay đổi màu sắc môi trường Christensen từ màu vàng sang màu hồng nên các chủng này có khả năng phân giải urea. Nhóm 1 (cầu lớn), nhóm 2 (cầu nhỏ trừ BM1.2), nhóm 3 (ovan lớn), nhóm 4 (ovan nhỏ), nhóm 5 (elip lớn trừ NK1.1 và BM2.1), nhóm 6 (elip nhỏ trừ LV1.1 và BM1.1) không có khả năng phân giải urea.

Bảng 2. Đặc điểm hình thái và sinh hóa của 29 chủng nấm men.

Nhóm	Dòng nấm men	Đặc điểm sinh lý, sinh hóa			
		Hình dạng tế bào	Khả năng lên men đường		Phân giải urea
			Glucose	Saccharose	
1	VT2.1, LV2.2, BM1.3, BT1.1, BT1.3, BT2.2	Cầu lớn	+	+	-
2	LV1.2, LV2.1, BM1.2, BT1.2	Cầu nhỏ	+	+	BM1.2
3	OM2.1, NK1.3, NK2.3, VT1.1, BT2.1	Ovan lớn	+	+	-
4	NK1.2, NK2.1, VT1.2, VT2.2, BM2.2	Ovan nhỏ	+	+	-
5	OM1.1, NK1.1, NK2.2, BM2.1	Elip lớn	+	-	NK1.1, BM2.1
6	OM1.2, OM2.2, LV1.1, BM1.1, OM2.3	Elip nhỏ	+	-	LV1.1, BM1.1

Hoạt tính lên men của các dòng nấm men phân lập

Khả năng lên men của các dòng nấm men phân lập: kết quả cho thấy lượng khí CO_2 sinh ra ở các nghiệm thức là khác nhau khá nhiều. Nhìn chung, hầu hết các chủng nấm men thử nghiệm đều sinh khí CO_2 đạt tối đa chiều cao ống Durham (30 mm), trừ các dòng OM1.2, OM2.2, OM2.3, NK1.1, NK1.2, NK2.2, BM1.1, BM1.2, BM2.1, BM2.2, VT1.2, VT2.1, LV1.1, LV1.2 và LV2.1. Chiều cao cột khí CO_2 đạt tối đa nhanh nhất là dòng nấm men BT2.1 ở thời điểm 8 giờ sau lên men, tiếp đến là dòng BT2.2 ở thời điểm 12 giờ. Như vậy, 14 chủng nấm men OM1.1, OM2.1, NK1.3, NK2.1, NK2.3, BM1.3, VT1.1, VT2.2, LV2.2, BT1.1, BT1.2, BT1.3, BT2.1 và BT2.2 được sơ tuyển dựa trên khả năng hình thành khí CO_2 đạt giá trị tối đa (30 mm) sau 14 giờ lên men.

Hoạt tính lên men dịch quả của các dòng nấm men phân lập: thí nghiệm thực hiện khảo sát khả năng lên men của các dòng nấm men phân lập được. Mười bốn chủng nấm men (OM1.1, OM2.1, NK1.3, NK2.1, NK2.3, BM1.3, VT1.1, VT2.2, LV2.2, BT1.1, BT1.2, BT1.3, BT2.1, BT2.2) sơ tuyển tiếp tục được đánh giá khả năng lên men dịch quả thanh long ruột đỏ và so sánh với chủng đối chứng *S. cerevisiae* AWRI796. Thí nghiệm được tiến hành với mật số nấm men 10^6 tế bào/ml, thời gian ủ là 10 ngày ở 30°C , pH 4,5 và 22°Brix . Độ Brix sau lên men còn lại trong khoảng 8,33-16,00 (bảng 3), giảm so với ban đầu (22°Brix) do trong quá trình lên men, nấm men sử dụng đường làm nguồn carbon chủ yếu để lên men tạo ra sản phẩm rượu. pH dịch lên men dao động trong khoảng 3,65-4,89.

Bảng 3. Độ cồn và độ Brix sau lên men của các dòng nấm men.

Chủng	$^\circ\text{Brix}$	pH	Ethanol (% v/v ở 20°C)
OM1.1	13,83 ^d	4,49 ^{de}	7,13 ^c
OM2.1	16,00 ^e	4,75 ^{ef}	6,18 ^d
NK2.3	8,67 ^a	3,70 ^a	10,84 ^a
NK2.1	11,17 ^b	4,18 ^c	8,25 ^b
NK1.3	11,30 ^b	4,01 ^{bc}	4,57 ^{cfe}
BT1.1	17,00 ^e	3,77 ^{ab}	4,03 ^{fe}
BT1.2	12,50 ^{cd}	4,75 ^{de}	6,82 ^{cd}
BT2.1	8,33 ^a	3,68 ^a	11,17 ^a
BT2.2	8,50 ^a	3,69 ^a	10,91 ^a
BT1.3	9,66 ^{ab}	3,65 ^a	10,91 ^a
BM1.3	17,00 ^e	3,83 ^{ab}	5,15 ^c
LV2.2	10,33 ^{ab}	4,29 ^{cd}	5,00 ^{ef}
VT1.1	16,00 ^e	3,81 ^{ab}	4,14 ^{fe}
VT2.2	11,60 ^{bc}	4,89 ^f	3,91 ^g
ĐC	11,33 ^b	4,15 ^{bc}	8,25 ^c
CV (%)	9,91	4,38	6,62

Ghi chú: số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các số mang chữ số mũ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ($P < 0,05$). ĐC: chủng đối chứng *S. cerevisiae* AWRI796.

Kết quả cho thấy, các chủng nấm men NK2.3, BT1.3, BT2.1 và BT2.2 sinh hàm lượng ethanol tốt nhất trong khoảng 10,84-11,17% v/v và không khác biệt ý nghĩa ở mức 5%. Cụ thể hàm lượng ethanol sinh ra lần lượt từ chủng NK2.3, BT1.3, BT2.1, BT2.2 là 10,84, 10,91, 11,17, 10,91% v/v và khác biệt ý nghĩa ở mức 5% so với các dòng nấm men còn lại. Kết quả các chủng nấm men tuyển chọn cho hàm lượng ethanol đạt yêu cầu ứng dụng trong sản xuất rượu vang tương đương với các nghiên cứu lên men rượu vang cam (13,0% v/v) [4], rượu vang khóm (10,03% v/v) [13], rượu vang trái giắc (8,95% v/v) [14].

Xác nhận chủng nấm men lên men rượu vang thanh long ruột đỏ

Thí nghiệm nhằm khẳng định khả năng lên men của 4 dòng nấm men phân lập được tuyển chọn (NK2.3, BT1.3, BT2.1, BT2.2) và so sánh với chủng *S. cerevisiae* AWRI796. Thử nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần và kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Hàm lượng ethanol, pH và độ Brix sau lên men.

Chủng	°Brix	pH	Ethanol (% v/v ở 20°C)
BT1.3	8,3 ^{ab}	4,02 ^b	11,42 ^b
NK2.3	8,6 ^b	4,07 ^b	11,22 ^b
BT2.1	8,0 ^a	3,78 ^a	12,15 ^a
BT2.2	8,3 ^{ab}	4,32 ^c	11,49 ^b
ĐC	9,3 ^c	4,21 ^c	7,74 ^c
CV (%)	3,03	1,86	2,98

Số liệu trong bảng là trung bình của 3 lần lặp lại, trong cùng một cột các số mang chữ số mũ giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% ($P < 0,05$). ĐC: chủng đối chứng *S. cerevisiae* AWRI796.

Như vậy, từ kết quả hàm lượng ethanol và độ Brix kết hợp với kết quả cột khí CO₂ của ống Durham cho thấy, chủng BT2.1 cho kết quả hàm lượng ethanol cao nhất (12,15% v/v) và độ Brix sau lên men thấp nhất (8°Brix), thời gian cột khí CO₂ đạt tối đa (8 giờ) ngắn nhất so với các chủng nấm men còn lại. Từ những kết quả trên cho thấy, dòng BT2.1 cho kết quả tốt nhất và được tuyển chọn để ứng dụng lên men dịch thanh long ruột đỏ. Kết quả thu được có sự tương đồng khi lên men rượu vang thanh long ruột trắng với dòng nấm men TGK5 (11,83% v/v) [6].

Định danh nấm men phân lập BT2.1 bằng phương pháp giải trình tự

Dòng nấm men BT2.1 được định danh bằng phương pháp giải trình tự và phân tích trình tự gen 28S rRNA. Kết quả giải trình tự trên đoạn gen 28S rRNA của dòng nấm men BT2.1 như sau:

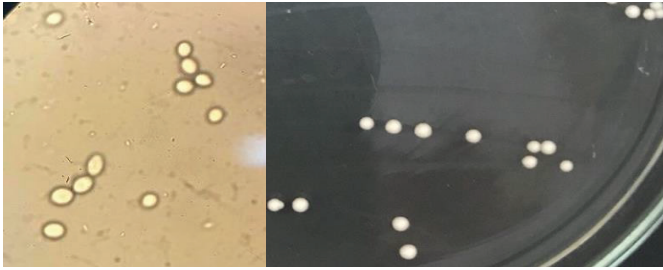
G G G T G A A T T T A A T A T T T T G A A A T G -
G A T T T T T T T G T T T T G G C A A G A G C A T G A -
G A G C T T T T A C T G G G C A A G A A G A C T A G A G A T G -
G A G A G T C C A G C C G G G C C T G C G C T T A A G T G C G -
C G G T C T T G C T A G G C T T G T A A G T T C T T T C T T G C -
T A T T C C A A C G G T G A G A G A T T T C T G T G C T T T T G T -
T A T A G G A C A A T T A A A A C C G T T T C A A T A -
C A A C A C A C T G T G G A G T T T T C A T A T C T T T G -
C A A C T T T T T C T T T G G G C A T T C G A G C A A T C G G G G -
C C C A G A G G T A A C A A A C A C A A A C A A T T T T A T T A T -
T C A T T A A A T T T T T G T C A A A A A C A A G A A T T T T C G -
T A A C T G G A A A T T T T A A A A T A T T A A A A C T T T C A A -
C A A C G G A T C T C T T G G T T C T C G C A T C G A T -
G A A G A A C G C A G C G A A A T G C G A T A C G T A A T G T -
G A A T T G C A G A A T T C C G T G A A T C A T C G A A T C T T T -
G A A C G C A C A T T G C G C C C C T T G G T A T T C C A G G G G G -
C A T G C C T G T T T G A G C G T C A T T T C C T T C T C A A A C A T -
T C T G T T T G G T A G T G A G T G A T A C T C T T T G G A G T T A -
A C T T G A A A T T G C T G G C C T T T T C A T T G G A T G T T T T -
T T T C C A A A G A G A G G T T T C T C T G C G T G C T T G A G -
G T A T A A T G C A A G T A C G G T C G T T T T A G G T T T T A C -
C A A C T G C G G C T A A T C T T T T T A T A C T G A G C G T A T T G -
G A A C G T T A T C G A T A A G A A G A G A G C G T C T A G G C -
G A A C A A T G T T C T T A A A G T T T G A C C T C A A A T C A G G -
T A G G A G T A C C C G C T G A A C T T A A G C A T A T C A A T A G G -
C G G A G G A A G G G T C A T T A A G G A

Trình tự đoạn gen được giải gồm 823 base nitrogen và đoạn gen này được so sánh với các gen 28S rRNA của nấm men trong ngân hàng gen NCBI với phần mềm BLASTN. Kết quả cho thấy, đoạn gen 28S rRNA của dòng nấm men BT2.1 có độ tương đồng đến 99% so với trình tự gen 28S rRNA của *Saccharomyces cerevisiae* (CP006454.1) (hình 2).

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Saccharomyces cerevisiae YJM681 chromosome XII sequence	1467	1.056e+05	97%	0.0	99%	CP006454.1
Saccharomyces cerevisiae YJM1571 chromosome XII sequence	1467	89777	97%	0.0	99%	CP006431.1
Saccharomyces cerevisiae YJM1479 chromosome XII sequence	1467	1.197e+05	97%	0.0	99%	CP006427.1
Saccharomyces cerevisiae YJM1447 chromosome XII sequence	1467	93911	97%	0.0	99%	CP006421.1
Saccharomyces cerevisiae YJM1444 chromosome XII sequence	1467	1.090e+05	97%	0.0	99%	CP006420.1

Hình 2. So sánh trình tự gen 28S rRNA của BT2.1 và của chủng *Saccharomyces cerevisiae* với số đăng ký CP006454.1.

Kết quả định danh đã xác định chủng BT2.1 (hình 3) là loài *Saccharomyces cerevisiae*, đây là loài nấm men hữu dụng trong công nghiệp sản xuất rượu, nó không chỉ lên men nước quả hay môi trường chứa hàm lượng đường cao mà còn tạo ra sản phẩm lên men với hương vị đặc trưng. Loài *S. cerevisiae* có thể lên men ở nồng độ rượu cao, được phân lập và lên men rượu vang dưa hấu (15,83% v/v) [5], rượu vang thốt nốt (13,7% v/v) [15] và rượu vang nho (16,2%) [16].



Hình 3. Hình dạng tế bào (ở vật kính 100X) và khuẩn lạc của dòng nấm men BT2.1

Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 29 chủng nấm men từ thanh long ruột đỏ thu tại quận Ô Môn và quận Ninh Kiều (Cần Thơ), thị xã Bình Minh (Vĩnh Long), TP Vị Thanh (Hậu Giang), huyện Lai Vung (Đồng Tháp), huyện Chợ Lách (Bến Tre). Dựa trên mô tả đặc điểm hình thái và sinh hóa, bước đầu đã xác định được các chủng này thuộc 6 nhóm (hình cầu lớn, hình cầu nhỏ, hình ovan lớn, hình ovan nhỏ, hình elip lớn và hình elip nhỏ). Dòng nấm men BT2.1 phân lập từ dịch thanh long tại huyện Chợ Lách (Bến Tre) lên men tự nhiên là dòng nấm men có hoạt lực lên men cao nhất (độ rượu đạt được 12,15% v/v). Định danh bằng phương pháp giải trình tự đã xác định chủng BT2.1 là loài *Saccharomyces cerevisiae*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lương Đức Phẩm (2009), *Nấm men công nghiệp*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [2] Nguyễn Văn Kế (2001), *Cây ăn quả nhiệt đới*, **Tập 1**, Nhà xuất bản Nông nghiệp TP Hồ Chí Minh.
- [3] Nguyễn Văn Thành, Nguyễn Minh Thủy, Trần Thị Quế và Nguyễn Thị Mỹ Tuyền (2013), “Phân lập, tuyển chọn và định danh nấm men trong lên men rượu vang khóm”, *Tạp chí Thủy sản và Công nghệ sinh học*, **25**, tr.27-35.
- [4] Nguyễn Phúc Trường (2011), *Phân lập và tuyển chọn nấm men lên men tự nhiên dùng sản xuất rượu vang cam*, Luận văn Thạc sĩ Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.
- [5] Ngô Thị Phương Dung, Lý Huỳnh Liên Hương và Huỳnh Xuân Phong (2011), “Phân lập, tuyển chọn nấm men và xác định điều kiện ảnh hưởng quy trình lên men rượu vang dưa hấu”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **18B**, tr.137-145.
- [6] Hồ Thanh Trúc (2011), *Phân lập và tuyển chọn nấm men tự nhiên ứng dụng trong sản xuất rượu vang thanh long*, Luận văn Thạc sĩ Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.
- [7] Nguyễn Đức Lượng, Phan Thị Huyền và Nguyễn Ánh Tuyết (2006), *Thí nghiệm công nghệ sinh học, tập 2: Thí nghiệm vi sinh vật học*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.
- [8] C.P. Kurtzman and J.W. Fell (1998), *The Yeast: A Taxonomic study*, 4th ed, Elsevier Science.
- [9] Nguyễn Minh Thủy (2010), “Ổn định và nâng cao chất lượng rượu vang sim bằng biện pháp hóa học và sinh học”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **14B**, tr.195-204.
- [10] K.J. Martin, P.T. Rygiewicz (2005), “Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts”, *BMC Microbiology*, **5(28)**, p.11.
- [11] Nguyễn Đình Thường và Nguyễn Thanh Hằng (2005), *Công nghệ sản xuất và kiểm tra cồn etylic*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
- [12] H.X. Phong, N.T.C. Giang, S. Nitiyon, M. Yamada, P. Thanonkeo, and N.T.P. Dung (2016), “Ethanol production from molasses at high temperature by thermotolerant yeasts isolated from cocoa”, *Can Tho University Journal of Science*, **3**, pp.21-26.
- [13] Huỳnh Xuân Phong, Danh Minh Lợi, Nguyễn Ngọc Thanh, Lê Phan Đình Quý, Bùi Hoàng Đăng Long, Pornthap Thanonkeo, Mamoru Yamada, Ngô Thị Phương Dung (2017), “Tuyển chọn nấm men chịu nhiệt và nghiên cứu điều kiện lên men rượu vang khóm”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **51B**, tr.7-15.
- [14] Đoàn Thị Kiều Tiên, Lữ Hằng Nghi, Nguyễn Ngọc Thanh, Huỳnh Xuân Phong, Hà Thanh Toàn, Ngô Thị Phương Dung (2018), “Phân lập và tuyển chọn nấm men chịu nhiệt lên men rượu vang trái giác (*Cayratia trifolia* L.)”, *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông lâm nghiệp*, **2**, tr.55-64.
- [15] Nguyễn Minh Thủy, Nguyễn Văn Thành, Bùi Thị Thúy Ngân (2011), “Tuyển chọn các dòng nấm men được phân lập từ nước thối”, *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, **18B**, tr.117-126.
- [16] T. Miki, Y. Ito, K. Kuroha, S. Izawa (2008), “Potential of yeasts isolated in botrytized grape juice to be new wine yeasts”, *Food Science and Technology Research*, **14 (4)**, pp.345-350.

Khảo sát hoạt tính β -glucosidase từ cổ khuẩn siêu chịu nhiệt *Pyrococcus furiosus* để ứng dụng trong sản xuất isoflavone từ đậu nành

Đinh Nguyễn Tấn Hòa¹, Hoàng Trọng Minh Quân¹, Phan Hoàng Mỹ Linh², Nguyễn Thị Bạch Huệ^{1, 2*}

¹Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

²Trung tâm Nghiên cứu hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học,
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài 20/12/2018; ngày gửi phản biện 31/12/2018; ngày nhận phản biện 29/3/2019; ngày chấp nhận đăng 19/4/2019

Tóm tắt:

Isoflavone là một nhóm hợp chất polyphenol được tìm thấy với nồng độ cao trong đậu nành và các sản phẩm từ đậu nành. Tuy nhiên, hầu hết trong số chúng được hấp thụ thấp trong dạ dày vì ở dạng glycosyl hóa, một hoặc nhiều phân tử đường gắn với vòng thơm hoặc nhóm hydroxyl của isoflavone. Việc giải phóng các phân tử đường này từ dạng glycoside sang dạng aglycone sẽ giúp isoflavone được hấp thụ tốt và tăng các hoạt tính sinh học tiềm năng như: khả năng chống oxy hóa, giảm cholesterol và hoạt tính tương tự như hormone estrogen. Quá trình này cần sự xúc tác của enzyme β -glucosidase. Trong bài viết này, các tác giả khảo sát hoạt tính và khả năng chịu nhiệt của enzyme β -glucosidase từ cổ khuẩn *Pyrococcus furiosus*. Gen *celB* mã hóa β -glucosidase được biểu hiện dưới dạng hòa tan trong tế bào chủ *E. coli* nhờ dung hợp với đuôi Glutathione-S-transferase (GST), chiếm 17,05% tổng protein tan nội bào trước tinh chế và đạt 57,5% sau tinh chế. Hoạt tính của enzyme đối với cơ chất 4-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (pNPG) được tối ưu ở 100°C, pH 5,0; hoạt tính riêng 164,44 U.mg⁻¹; giá trị K_m, V_{max}, K_{cat} lần lượt ghi nhận là 0,088 mM, 332,27 U.mg⁻¹.min⁻¹ và 446,9 s⁻¹. Việc dung hợp GST không ảnh hưởng đến khả năng chịu nhiệt. Khảo sát thành công hoạt tính enzyme đối với các hợp chất glycoside từ đậu nành, hầu hết genistin và daidzin chuyển đổi thành các dạng aglycone tương ứng là genistein và daidzein.

Từ khóa: chịu nhiệt, đậu nành, *Pyrococcus furiosus*, thủy phân isoflavone, β -glucosidase.

Chỉ số phân loại: 2.10

Đặt vấn đề

Isoflavone là một polyphenol dị vòng có cấu trúc tương đồng với hợp chất 17 β -estrogen ở người, có nhiều trong các cây họ đậu, đặc biệt là đậu nành [1]. Các nghiên cứu cho thấy, nhóm hợp chất này có tác dụng trong quá trình chống oxy hóa, bổ sung nội tiết tố, đặc biệt là ngăn chặn quá trình lão hóa da; giúp phòng ngừa và điều trị nhiều loại bệnh như tim mạch, loãng xương, ung thư, tiểu đường... [1, 2]. Isoflavone dạng glycoside chiếm hàm lượng cao trong đậu nành, tuy nhiên, hoạt tính sinh học thấp và khó được hấp thụ vào cơ thể. Trong khi đó, isoflavone dạng aglycone có hoạt tính sinh học cao, dễ hấp thụ nhưng chỉ chiếm hàm lượng thấp trong đậu nành [3].

Isoflavone aglycone được thu nhận từ dạng isoflavone glycoside tương ứng thông qua việc loại bỏ gốc đường nhờ hoạt tính xúc tác của enzyme β -glucosidase [EC 3.2.1.21]. Đây là enzyme xúc tác phản ứng thủy phân liên kết glycosidic để giải phóng một phân tử β -D-glucose từ đầu không khử của hợp chất glycoside hoặc oligosaccharide [4]. β -glucosidase hiện nay được thu nhận từ một số loài vi sinh vật thông thường bằng phương

pháp lên men [5-7]. Tuy nhiên, phương pháp này gặp nhiều khó khăn, chủ yếu do hoạt tính enzyme trong vi sinh thu nhận còn thấp nên thời gian thủy phân lâu, dễ tạp nhiễm [3]; dễ bị ức chế bởi độ nhớt, nồng độ glucose cao [8]. Cách đơn giản nhất để giải quyết các vấn đề trên là tăng nhiệt độ, vừa tiêu diệt được vi khuẩn, làm giảm độ nhớt của dung dịch, vừa làm tăng tốc độ phản ứng. Vì vậy, nghiên cứu này hướng tới việc thu nhận enzyme β -glucosidase từ cổ khuẩn *Pyrococcus furiosus*. Đây là cổ khuẩn siêu chịu nhiệt, có nhiệt độ tối thích lên tới 100°C cùng với hệ enzyme và protein có khả năng kháng nhiệt và bức xạ [9]. Các nghiên cứu cho thấy, *P. furiosus* β -glucosidase (BGLPf) có nhiệt độ tối ưu 102-105°C; không bị ức chế bởi HgCl₂ (1 mM), N-ethylmaleimide (5 mM), iodoacetamide (2 mM); là một trong những enzyme có tính bền nhiệt cao nhất với thời gian bán rã là 85 giờ ở 100°C và 13 giờ ở 110°C [10].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát điều kiện tối ưu và các thông số động học cho hoạt tính của enzyme BGLPf trên cơ chất nhân tạo pNPG và bước đầu thử nghiệm hoạt tính trên hợp chất isoflavone glycoside đậu nành.

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

Study on β -glucosidase activity from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* for application in the hydrolysis of soy isoflavone glycosides

Nguyen Tan Hoa Dinh¹, Trong Minh Quan Hoang¹,
Hoang My Linh Phan², Thi Bach Hue Nguyen^{1,2*}

¹Lab of Molecular and Environmental Biotechnology, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh city

²Research Center for Bioactive Natural Products, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh city

Received 20 December 2018; accepted 19 April 2019

Abstract:

Isoflavones are a class of polyphenolic compounds found with the high concentration in soybeans and soy products. However, most of them are low absorbed in the human stomach as glycosylated forms, one or more sugar molecule(s) conjugated to the aromatic ring or a hydroxyl group. The release of the sugar molecule(s) from the isoflavone glycoside results in an isoflavone aglycone, one of the best-absorbed polyphenols with the high potential of estrogenic, cholesterol-lowering and antioxidation improvement. To convert these glycosides into the corresponding aglycone forms, the β -glucosidase enzyme is required. In this article, the authors investigate the thermophilic ability and catalytic activity of β -glucosidase enzyme from the archaeon *Pyrococcus furiosus*. The *celB* gene encoding the β -glucosidase is expressed as the soluble form in *E. coli* host cells by binding to the Glutathione-S-transferase (GST) tag with 17.05% and 57.5% yields of total intracellular soluble before and after purification, respectively. Enzymatic activity using 4-nitrophenyl- β -D-glucopyranoside (pNPG) as a substrate has been optimised at 100°C, pH 5.0; specific activity is 164.44 U.mg⁻¹; the values of K_m , V_{max} and K_{cat} are respectively 0.088 mM, 332.27 U.mg⁻¹.min⁻¹ and 446.9 s⁻¹. The enzyme shows the catalytic activity on soybean glycoside compounds, most genistin and daidzin are converted into the corresponding aglycone forms, genistein and daidzein, respectively.

Keywords: isoflavone hydrolysis, *Pyrococcus furiosus*, soybean, thermophilic, β -glucosidase.

Classification number: 2.10

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Chủng, môi trường

Tế bào chủ biểu hiện *E. coli* BL21/pGEX-2TK-*celB* được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh. Môi trường LB (g.l⁻¹): trypton 10 g, cao nấm men 5 g, NaCl 5 g, agar 20 g và môi trường LB ampicilin 100 g.ml⁻¹; tất cả môi trường được hấp vô trùng ở 121°C, 20 phút, làm nguội rồi bổ sung ampicilin (nếu có) trước khi thao tác.

Cảm ứng và thu nhận β -glucosidase

Hoạt hóa qua đêm (14-16 giờ) một khuẩn lạc *E. coli*/BL21-pGEX-2TK-*celB* trong ống nghiệm 5 ml LB ampicillin ở 37°C, 250 vòng/phút. Cấy truyền tỷ lệ 1:20 sang ống nghiệm 5 ml LB ampicillin và nuôi lắc ở 37°C, 250 vòng/phút đến khi OD đạt 0,8-1,0. Bổ sung 0,1 mM isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) (Bio-basic) nồng độ cuối vào dịch nuôi, tiếp tục nuôi lắc 37°C, 250 vòng/phút trong 4 giờ [11].

Thu nhận 1,5 ml dịch nuôi cấy, ly tâm 5.000 vòng/phút trong 5 phút loại dịch, hòa sinh khối lại trong 400 μ l nước cất vô trùng. Phá tế bào bằng sóng siêu âm ở 50 Hz, 5 chu kỳ, mỗi chu kỳ 15-20 giây; hút 50 μ l làm pha tổng. Phần còn lại ly tâm 13.000 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C, thu 50 μ l dịch nổi làm pha tan. Hòa tủa trong 350 μ l nước cất vô trùng, hút 50 μ l làm pha tủa. Bổ sung mỗi pha tổng, tan, tủa 10 μ l Sample 6X, đun 100°C trong 15 phút, làm lạnh nhanh. Tiến hành điện di SDS-PAGE trên gel polyacrylamide 15%; nhuộm gel, giải nhuộm và xác định độ tinh sạch bằng phần mềm ImageJ.

Tiến hành định lượng protein bằng phương pháp đo Bradford với tỷ lệ V mẫu:V thuốc thử Bradford = 1:4.

Tinh sạch β -glucosidase và xác định nồng độ sau tinh chế

Phần tan được lọc qua bộ lọc có kích thước lỗ lọc 0,2 μ M, chuyển vào cột GraviTrap chứa sẵn 2 ml Glutathione Sepharose 4B (GE Healthcare). Cột được rửa lại hai lần với 5V PBS, pH 7,3 để loại bỏ protein không liên kết. Protein được ly giải nhờ 15 mM Glutathione khử (Merck-Millipore) trong 50 mM dung dịch Tris-HCl, pH 8,0.

Xác định kích thước và độ tinh sạch protein nhờ điện di SDS-PAGE và phần mềm ImageJ.

Khảo sát điều kiện tối ưu của BGL trên cơ chất pNPG

Nhiệt độ được khảo sát từ 60-100°C và pH từ 4,0-6,0.

Phản ứng được thực hiện trong 500 μ l, bao gồm: 6,45 μ g BGLPf, 1 mM pNPG (Sigma), 50 mM đệm citrate phosphate ở pH khảo sát. Tiến hành phản ứng trong 5 phút ở nhiệt độ khảo sát. Bổ sung 500 μ l dung dịch 1 M Na₂CO₃ dừng phản ứng. Đo OD ở bước sóng 405 nm [3].

Xác định hoạt tính và hoạt tính riêng của enzyme đối với cơ chất pNPG

Đường chuẩn *p*-nitrophenol (pNP) (Sigma) được thực hiện trong dãy nồng độ từ 0-200 μ M trong đệm citrate phosphate, pH tối ưu. Kết quả ghi nhận ở OD 405 nm.

Phản ứng được thực hiện trong 500 μ l, bao gồm: 6,45 μ g BGLPf, 1 mM pNPG, 50 mM đệm citrate phosphate ở pH tối ưu. Tiến hành phản ứng trong 5 phút ở nhiệt độ tối ưu. Bổ sung 500 μ l dung dịch 1 M Na_2CO_3 dừng phản ứng. Đo OD ở bước sóng 405 nm.

Dựa vào đường pNP, xác định lượng cơ chất bị phân cắt. Từ đó, tính toán được hoạt tính và hoạt tính riêng của enzyme với định nghĩa: một đơn vị hoạt tính (1 unit) là lượng enzyme cần để phân cắt hoàn toàn 1 μ M cơ chất trong 1 phút ở điều kiện tối ưu [12]; hoạt tính riêng ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$) là số đơn vị hoạt tính trên 1 mg protein mẫu. Hoạt tính riêng xác định độ tinh sạch của enzyme mục tiêu trong mẫu.

$$\text{Hoạt tính (U)} = \frac{m_{\text{BGLPf}}}{n_{\text{pNPG}}}, \text{ Hoạt tính riêng} = \frac{1000}{U}$$

trong đó: m_{BGLPf} : lượng enzyme BGLPf trong phản ứng; n_{pNPG} : số mol cơ chất pNPG bị phân cắt.

Động học enzyme BGLPf nhờ phương pháp Lineweaver-Burk

Nồng độ pNPG được khảo sát từ 0-2000 μ M.

Phản ứng được thực hiện trong 500 μ l, bao gồm: 6,45 μ g BGLPf, pNPG ở các nồng độ khảo sát, 50 mM đệm citrate phosphate ở pH tối ưu. Tiến hành phản ứng trong 5 phút ở nhiệt độ tối ưu. Bổ sung 500 μ l dung dịch 1 M Na_2CO_3 dừng phản ứng. Đo OD ở bước sóng 405 nm. Dựa vào đường chuẩn pNP, xác định lượng cơ chất bị phân cắt. Vẽ đồ thị Lineweaver-Burk, tính toán các giá trị K_m , V_{max} và K_{cat} .

Thử nghiệm hoạt tính enzyme trên hợp chất isoflavone từ đậu nành bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Hòa tan 20 g bột đậu nành đã nghiền mịn vào 100 ml ether dầu hỏa. Phá tế bào bằng Ultra turax trong 3 phút; khuấy đều dịch bằng máy khuấy từ ở nhiệt độ phòng trong vòng 30 phút; ly tâm 10.000 vòng/phút, 15 phút, thu tủa. Lặp lại các bước trên hai lần. Bột sau khi đã ủ khô tự nhiên được hòa lại trong 100 ml methanol 80% (v/v); phá tế bào bằng Ultra turax trong 3 phút; khuấy đều dịch bằng máy khuấy từ ở 80°C trong 2 giờ; ly tâm 10.000 vòng/phút, 15 phút, thu dịch; cô quay thu nhận cao tổng [13].

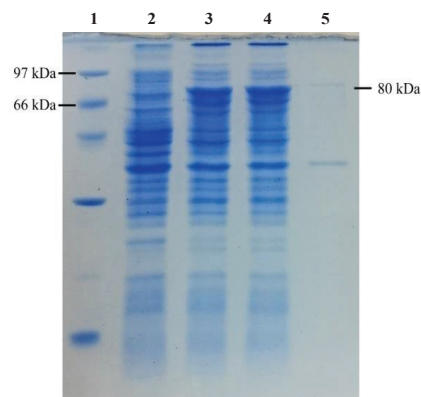
Tiến hành thủy phân 0,15g cao tổng ở nhiệt độ tối ưu trong 1 ml dung dịch đệm citrate phosphate ở pH tối ưu, 21,5 μ g BGLPf, bổ sung nước cất đủ 2 ml; tiến hành ly tâm thu dịch, cô quay thu cao, cân khối lượng. Hòa tan cao thu nhận trong dung môi MeOH:DMSO = 4:1 về nồng độ 10.000 ppm; tiến hành chạy HPLC pha đảo, sử dụng cột Macherey Nagel, CC Kromasil, 125x4 mm, 5 μ m 100A, C18 với quy trình: 0-100% AcN, 0,5 ml/phút trong 15 phút; 100-100% AcN, 0,5 ml/phút trong 4 phút; 100-0% AcN, 0,5 ml/phút trong 1 phút; 0-0% AcN, 0,5 ml/phút trong 5 phút; thời gian lưu: 25 phút. Đối chiếu kết quả thu nhận được với profile chất chuẩn thương mại: daidzein, genistein (Sigma).

Kết quả và bàn luận

Cảm ứng và thu nhận β -glucosidase

Kết quả ở hình 1 cho thấy, xuất hiện vạch mục tiêu khoảng 80 kDa ở mẫu có cảm ứng (giếng 3) so với mẫu không cảm ứng

(giếng 2) đúng như giả thiết. Bên cạnh đó, protein này nằm hoàn toàn trong pha tan và chiếm 17,04% tổng protein tan trong *E. coli*.

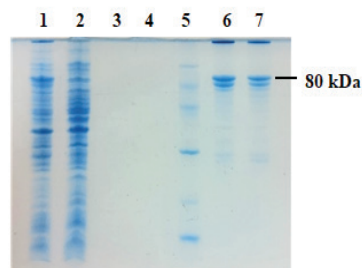


Hình 1. Kết quả điện di kiểm tra khả năng biểu hiện BGLPf.

Giếng 1: thang protein LMW; giếng 2: *E. coli* BL21 trong môi trường có 0,1 mM IPTG; giếng 3-5: pha tổng, tan và tủa tương ứng của *E. coli* BL21/pGEX-2TK-celB trong môi trường có 0,1 mM IPTG.

Tinh sạch β -glucosidase và xác định nồng độ sau tinh chế

Kết quả hình 2 cho thấy, phần lớn protein tạp đều được rửa ra khỏi cột chỉ sau lần rửa thứ nhất, trong khi hầu hết BGLPf được giữ lại (vạch 80 kDa) chiếm 57,5%.

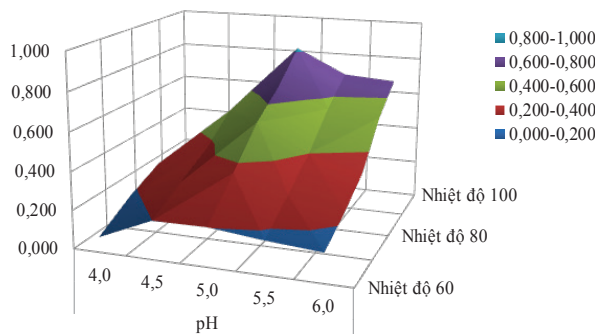


Hình 2. Kết quả tinh chế BGLPf.

Giếng 1: protein tổng; giếng 2: dịch qua cột; giếng 3, 4: dịch sau rửa cột lần 1 và 2; giếng 5: thang protein LMW; giếng 6, 7: dịch dung ly lần 1 và 2.

Khảo sát điều kiện tối ưu của BGL trên cơ chất pNPG

Kết quả khảo sát cho thấy enzyme hoạt động tối ưu ở điều kiện nhiệt độ 100°C, pH 5,0 (hình 3).



Hình 3. Kết quả khảo sát điều kiện tối ưu cho hoạt tính của BGLPf.

Nhiệt độ tối ưu cho hoạt tính của tính enzyme BGLPf ở 100°C, cao hơn hẳn ở nhiều loài vi khuẩn, nấm men, nấm mốc khác [14]. Một số kết quả khảo sát nhiệt độ tối ưu trong khoảng 90-110°C cũng được ghi nhận ở một số enzyme khác trên *Pyrococcus furiosus* [15-17] hay một số enzyme thuộc nhóm hydrolase ở những loài chịu nhiệt khác [18]. Ngoài ra, việc dung hợp đuôi GST không làm ảnh hưởng tới hoạt tính chịu nhiệt của enzyme.

Đối với thông số pH, kết quả thu nhận phù hợp với một số nghiên cứu khác trên cả chủng tái tổ hợp lẫn chủng tự nhiên [10, 19, 20]. Các nghiên cứu khác trên một số enzyme thủy phân của *P. furiosus* như β -mannosidase, β -galactosidase trên các cơ chất khác nhau [15-17] và ở những loài có enzyme thuộc nhóm glycosyl hydrolase [14, 18] cũng có khoảng pH tối ưu từ 5,0-7,5. Khoảng pH này phù hợp với các loại carbohydrate trong tự nhiên, nhờ đó có tiềm năng ứng dụng rộng rãi trong sản xuất công nghiệp thực phẩm.

Xác định hoạt tính và hoạt tính riêng của enzyme đối với cơ chất pNPG

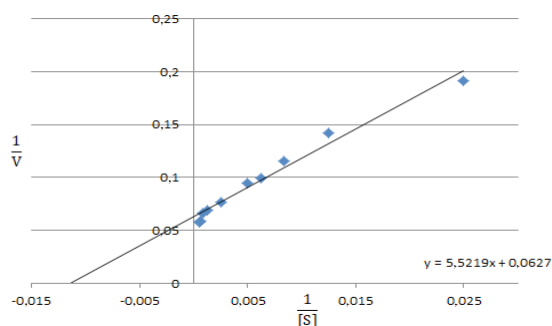
Đơn vị hoạt tính và hoạt tính riêng của enzyme BGLPf lần lượt là 6,018 μg và 164,44 U.mg^{-1} , tương đương so với nghiên cứu của Voorhorst và cs [21] và cao hơn nhiều so với nhiều loài nấm mốc (bảng 1).

Bảng 1. Hoạt tính riêng của enzyme đối với cơ chất pNPG.

Nguồn thu nhận	Hoạt tính riêng (U.mg^{-1})	Tài liệu tham khảo
<i>Pyrococcus furiosus</i>	200	[21]
	164	Nghiên cứu này
<i>Penicillium pinophilum</i>	83	
<i>Penicillium citrinum</i>	0,159	[8]
<i>Fomitopsis</i>	53	
<i>Aspergillus niger</i>	1,9 124	[22]
<i>Humicola grisea</i>	26,1	
<i>Trichoderma reesei</i>	23,9	[23]

Động học enzyme BGLPf nhờ phương pháp Lineweaver-Burk (hình 4)

Kết quả ghi nhận các giá trị động học tính toán được lần lượt là $K_m = 0,088 \text{ mM}$, $V_{\max} = 332,27 \text{ U.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ và $K_{\text{cat}} = 446,9 \text{ s}^{-1}$.

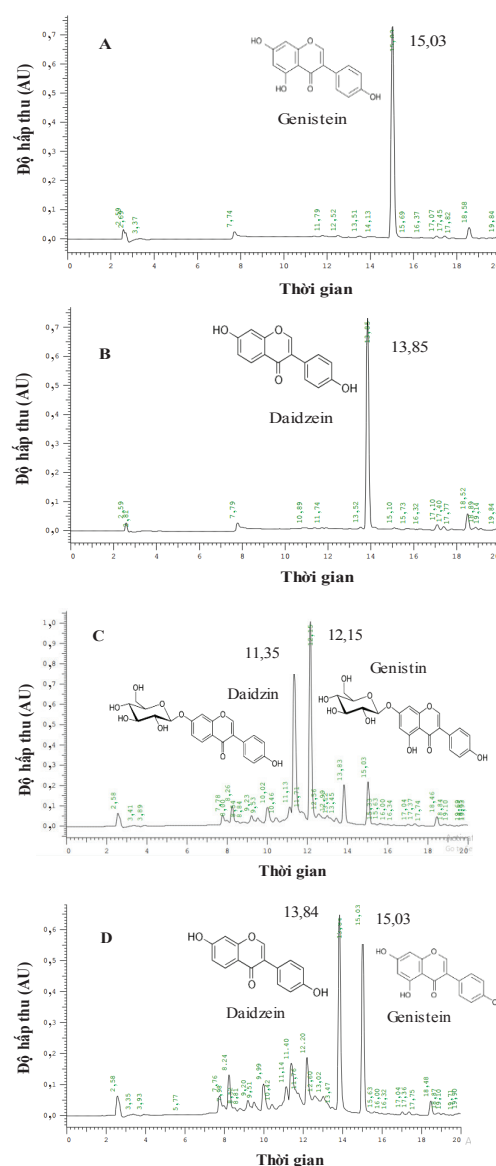


Hình 4. Đồ thị Lineweaver-Burk đối với enzyme BGLPf.

So với một số nghiên cứu khác về BGL từ cổ khuẩn *P. furiosus* thì giá trị K_m và $V_{\max}$ thấp hơn một nửa, cụ thể giá trị ghi nhận được lần lượt là $K_m = 0,15 \text{ mM}$ và $V_{\max} = 700 \text{ U.mg}^{-1}$ [10, 15, 20, 21]. Dự đoán, enzyme của đề tài có khả năng bị ức chế bởi nồng độ glucose cao. Lập luận này dựa trên cơ sở khi hàm lượng glucose, tức sản phẩm của quá trình thủy phân, có nồng độ cao sẽ gây ức chế ngược lại hoạt động enzyme β -glucosidase [8, 24].

Thử nghiệm hoạt tính enzyme trên hợp chất glycoside từ đậu nành bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Dựa vào profile chất chuẩn, hai hợp chất có thời gian lưu 13,85 phút và 15,03 phút lần lượt là daidzein và genistein. Ở mẫu chưa xử lý enzyme, hai peak có thời gian lưu ngắn hơn là daidzin ở 11,25 phút và genistin ở 12,15 phút (hình 5).



Hình 5. Profile kết quả HPLC.

A. Chất chuẩn Genistein; B. Chất chuẩn Daidzein; C. Mẫu cao không xử lý enzyme; D. Mẫu cao có xử lý enzyme.

Khi so sánh giữa hai kết quả có xử lý và không xử lý enzyme, có sự tăng cường hai peak daidzein và genistein từ mẫu không xử lý enzyme sang mẫu có xử lý. Cùng với đó, có sự chuyển đổi đáng kể của hai peak có thời gian lưu ngắn (11,35 phút và 12,15 phút) sang peak có thời gian lưu dài (13,85 phút và 15,03 phút) phù hợp với việc các hợp chất glycoside có tính phân cực cao hơn đã bị chuyển đổi thành các dạng aglycone có tính phân cực thấp hơn nên thời gian lưu lâu hơn. Như vậy, enzyme BGLPf từ đề tài thu nhận cho hoạt tính chuyển đổi cao đối với các hợp chất isoflavone glycoside trên cơ chất đậu nành.

Kết luận

Enzyme β -glucosidase siêu chịu nhiệt từ cổ khuẩn *Pyrococcus furiosus* có hoạt tính tối ưu ở 100°C, pH tối ưu 5,0, hoạt tính enzyme 164,44 U.mg⁻¹ cao hơn nhiều so với các loài nấm mốc khác. Với điều kiện tối ưu này, BGLPf là một ứng viên triển vọng trong ứng dụng chuyển đổi isoflavone nói riêng và các hợp chất glycoside nói chung. Bước đầu thử nghiệm hoạt tính đạt hiệu quả chuyển đổi cao trên cơ chất isoflavone đậu nành.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn GS Michael Thomm (Đại học Regensburg - CHLB Đức) đã tặng genome cổ khuẩn *Pyrococcus furiosus* và Chương trình “Vườn ươm sáng tạo khoa học công nghệ trẻ” được quản lý bởi Trung tâm Phát triển khoa học công nghệ trẻ, Thành đoàn TP Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện đề tài.

Toàn bộ quá trình nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học và Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Vincent and L.A. Fitzpatrick (2000), “Soy isoflavones: are they useful in menopause?”, *Mayo Clinic Proceedings*, **75**(11), pp.1174-1184.
- [2] Q. Wang, X. Ge, X. Tian, et al. (2013), “Soy isoflavone: the multipurpose phytochemical”, *Biomedical Reports*, **1**(5), pp.697-701.
- [3] S.J. Yeom, B.N. Kim, Y.S. Kim, et al. (2012), “Hydrolysis of isoflavone glycosides by a thermostable β -glucosidase from *Pyrococcus furiosus*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**(6), pp.1535-1541.
- [4] G. Singh, A. Verma, and V. Kumar (2016), “Catalytic properties, functional attributes and industrial applications of β -glucosidases”, *3 Biotech*, **6**(1), p.3.
- [5] O.N. Donkor and N.P. Shah (2008), “Production of β -Glucosidase and Hydrolysis of Isoflavone Phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, and *Lactobacillus casei* in Soymilk”, *Journal of Food Science*, **73**(1), pp.M15-M20.
- [6] L.C. Kuo, W.Y. Cheng, R.Y. Wu, et al. (2006), “Hydrolysis of black soybean isoflavone glycosides by *Bacillus subtilis* natto”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **73**(2), pp.314-320.
- [7] Y.H. Pyo, T.C. Lee, and Y.C. Lee (2005), “Enrichment of bioactive isoflavones in soymilk fermented with β -glucosidase-producing lactic acid bacteria”, *Food Research International*, **38**(5), pp.551-559.
- [8] R.R. Singhania, A.K. Patel, R.K. Sukumaran, et al. (2013), “Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production”, *Bioresource Technology*, **127**, pp.500-507.

- [9] E. Williams, T.M. Lowe, J. Savas, et al. (2007), “Microarray analysis of the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* exposed to gamma irradiation”, *Extremophiles*, **11**(1), pp.19-29.
- [10] S.W. Kengen, E.J. Luesink, A.J. Stams, et al. (1993), “Purification and characterization of an extremely thermostable β -glucosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*”, *European Journal of Biochemistry*, **213**(1), pp.305-312.
- [11] H.T.M. Quan, L.V. Ngo, and N.T.B. Hue (2016), “Cloning and expression of recombinant hyperthermophilic β -glucosidase fused with GST, and initial testing for hydrolytic activity as applied to biofuel processing”, *Asia-Pacific Journal of Food Safety and Security*, **2**(4), pp.10-19.
- [12] J. Labuda, R.P. Bowater, M. Fojta, et al. (2018), “Terminology of bioanalytical methods (IUPAC Recommendations 2018)”, *Pure and Applied Chemistry*, **90**(7), pp.1121-1198.
- [13] Y. Xue, J. Yu, and X. Song (2009), “Hydrolysis of soy isoflavone glycosides by recombinant β -glucosidase from hyperthermophile *Thermotoga maritima*”, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **36**(11), pp.1401.
- [14] Y. Bhatia, S. Mishra, and V. Bisaria (2002), “Microbial β -glucosidases: cloning, properties, and applications”, *Critical Reviews in Biotechnology*, **22**(4), pp.375-407.
- [15] M.W. Bauer, E.J. Bylina, R.V. Swanson, et al. (1996), “Comparison of a β -Glucosidase and a β -Mannosidase from the Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus furiosus* purification, characterization, gene cloning, and sequence analysis”, *Journal of Biological Chemistry*, **271**(39), pp.23749-23755.
- [16] Q. Dong, X. Yan, M. Zheng, et al. (2014), “Characterization of an extremely thermostable but cold-adaptive β -galactosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* for use as a recombinant aggregation for batch lactose degradation at high temperature”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **117**(6), pp.706-710.
- [17] B. Li, Z. Wang, S. Li, et al. (2013), “Preparation of lactose-free pasteurized milk with a recombinant thermostable β -glucosidase from *Pyrococcus furiosus*”, *BMC Biotechnology*, **13**(1), pp.73.
- [18] A. Sunna, M. Moracci, M. Rossi, et al. (1997), “Glycosyl hydrolases from hyperthermophiles”, *Extremophiles*, **1**(1), pp.2-13.
- [19] T. Kaper, J.H. Lebbink, J. Pouwels, et al. (2000), “Comparative structural analysis and substrate specificity engineering of the hyperthermostable β -glucosidase CelB from *Pyrococcus furiosus*”, *Biochemistry*, **39**(17), pp.4963-4970.
- [20] S.W. Kengen and A.J. Stams (1994), “An extremely thermostable β -glucosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*; a comparison with other glycosidases”, *Biocatalysis*, **11**(2), pp.79-88.
- [21] W. Voorhorst, R. Eggen, E.J. Luesink, et al. (1995), “Characterization of the celB gene coding for beta-glucosidase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* and its expression and site-directed mutation in *Escherichia coli*”, *Journal of Bacteriology*, **177**(24), pp.7105-7111.
- [22] S. Dan, I. Marton, M. Dekel, et al. (2000), “Cloning, expression, characterization, and nucleophile identification of family 3, *Aspergillus niger* β -glucosidase”, *Journal of Biological Chemistry*, **275**(7), pp.4973-4980.
- [23] S. Takashima, A. Nakamura, M. Hidaka, et al. (1999), “Molecular cloning and expression of the novel fungal β -glucosidase genes from *Humicola grisea* and *Trichoderma reesei*”, *The Journal of Biochemistry*, **125**(4), pp.728-736.
- [24] Z. Xiao, X. Zhang, D.J. Gregg, et al. (2004), “Effects of sugar inhibition on cellulases and β -glucosidase during enzymatic hydrolysis of softwood substrates”, *Proceedings of the Twenty-Fifth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, Breckenridge, CO, pp.1115-1126.

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
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học môi trường
- 1.8. Khoa học nano
- 1.9. Khoa học tính toán
- 1.10. Các lĩnh vực khoa học tự nhiên khác

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 61 - Number 8 - August 2019

Nghiên cứu thạch học và sự biến đổi sau trầm tích của đá móng carbonate tuổi Paleozoic ở phía tây bắc bể Sông Hồng.

Liêu Kim Phụng, Bùi Thị Luận, Vũ Thị Tuyền

Hệ thống học nhóm Thông đất và Dương xỉ ở Việt Nam theo hệ thống PPG (Pteridophyte Phylogeny Group) I.

Đỗ Văn Trường

Tối ưu điều kiện sinh tổng hợp protease từ vi khuẩn *Bacillus subtilis* Bs04 và xác định đặc tính của enzyme.

Nguyễn Hữu Tuyền, Phạm Tiến Dũng, Phan Thị Kim Ngân, Ngô Võ Kế Thành

Nghiên cứu mức độ phân bố và tích lũy polychlorinated biphenyl trong trầm tích mặt khu vực hạ lưu sông Đáy.

Trịnh Thị Thắm, Bùi Thị Phương, Lê Thị Trinh

Phân tích động lực học vết nứt trong vật liệu lẫn hạt cứng và lỗ rỗng bằng phương pháp phần tử hữu hạn nội suy liên tiếp mở rộng.

Trương Tích Thiện, Trần Kim Bằng, Phan Ngọc Nhân, Bùi Quốc Tính

Nghiên cứu ứng dụng hệ lan can liên kết chìm trên các tuyến đường cao tốc ở Việt Nam.

Nguyễn Trọng Đồng, Đặng Ngọc Anh, Đỗ Minh Hiếu, Trần Mỹ Hạnh

Nghiên cứu phát triển hệ đo độ dày vật liệu thủy tinh nhiều lớp dựa trên công nghệ giao thoa ánh sáng xung lược.

Bành Quốc Tuấn, Phạm Đức Quang, Nguyễn Quốc Đạt, Trương Công Tuấn, Shioda Tatsutoshi

Giải pháp tính khoảng cách từ tàu đến mốc phía trước sử dụng định vị vệ tinh.

Lê Hồng Minh, Võ Công Minh, Nguyễn Huy Hưng, Đoàn Hồng Quang

Nghiên cứu phương pháp phát hiện một số sâu bệnh trên lúa sử dụng đặc trưng SIFT.

Nguyễn Ngọc Tú, Bùi Thị Thanh Phương, Lê Hoàng Nam, Ngô Nam Thành

Nghiên cứu luyện và xử lý nhiệt một số mác thép độ bền cao tiên tiến.

Đinh Bá Trữ, Trần Văn Đoàn, Phan Thanh Bình, Đinh Văn Hiến, Trần Công Thức, Lê Văn Long, Nguyễn Tiến An

Phân lập và tuyển chọn nấm men có khả năng lên men rượu vang thanh long ruột đỏ (*Hylocereus polyrhizus*).

Phạm Thị Thu Thảo, Nguyễn Ngọc Anh Thư, Lê Thanh Duy, Nguyễn Ngọc Thành, Bùi Hoàng Đăng Long, Huỳnh Xuân Phong

Khảo sát hoạt tính β -glucosidase từ cổ khuẩn siêu chịu nhiệt *Pyrococcus furiosus* để ứng dụng trong sản xuất isoflavone từ đậu nành.

Đinh Nguyễn Tấn Hòa, Hoàng Trọng Minh Quân, Phan Hoàng Mỹ Linh, Nguyễn Thị Bạch Huệ

1 Petrographic studies and diagenetic evolution of Paleozoic carbonate basement rock in the northwest Song Hong basin.

Kim Phuong Lieu, Thi Luan Bui, Thi Tuyen Vu

7 Classification of the Lycophytes and Ferns of Vietnam following the classification scheme of PPG I.

Van Truong Do

12 Optimisation of the conditions for protease synthesis from *Bacillus subtilis* Bs04 and characterisation of the enzyme.

Huu Tuyen Nguyen, Tien Dung Pham, Thi Kim Ngan Phan, Vo Ke Thanh Ngo

18 Research on accumulation and distribution levels of polychlorinated biphenyl in sediment collected from Day river downstream area.

Thi Tham Trinh, Thi Phuong Bui, Thi Trinh Le

22 An extended twice-interpolation finite element method applied to simulate dynamic crack behaviour in matrix inclusion materials with random holes.

Tich Thien Truong, Kim Bang Tran, Ngoc Nhan Phan, Quoc Tinh Bui

29 Research into applying sunk-jointed rails for expressways in Vietnam.

Trong Dong Nguyen, Ngoc Anh Dang, Minh Hieu Do, My Hanh Tran

35 Research and development of multi-layer glass plate thickness measurement system using optical frequency comb interferometry.

Quoc Tuan Binh, Duc Quang Pham, Quoc Dat Nguyen, Cong Tuan Truong, Shioda Tatsutoshi

39 Algorithms for calculating the distance from the train to the ahead landmark using satellite navigation.

Hong Minh Le, Cong Minh Vo, Huy Hung Nguyen, Hong Quang Doan

44 Rice pests and diseases identification using SIFT feature.

Ngoc Tu Nguyen, Thi Thanh Phuong Bui, Hoang Nam Le, Nam Thanh Ngo

49 Study on the making and heat treatment of some advanced high-strength steels.

Ba Tru Dinh, Van Doan Tran, Thanh Binh Phan, Van Hien Dinh, Cong Thuc Tran, Van Long Le, Tien An Nguyen

54 Isolation and selection of yeast for wine fermentation from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*).

Thi Thu Thao Pham, Ngoc Anh Thu Nguyen, Thanh Duy Le, Ngoc Thanh Nguyen, Hoang Dang Long Bui, Xuan Phong Huynh

60 Study on β -glucosidase activity from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* for application in the hydrolysis of soy isoflavone glycosides.

Nguyen Tan Hoa Dinh, Trong Minh Quan Hoang, Hoang My Linh Phan, Thi Bach Hue Nguyen