



V. TIỂU BAN HÓA HỌC – MÔI TRƯỜNG - NÔNG LÂM

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

DANH MỤC ĐỀ TÀI NCKH SINH VIÊN TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT NĂM 2021
V. TIỂU BAN HÓA HỌC - MÔI TRƯỜNG - NÔNG LÂM

STT	Tên đề tài	Sinh viên chịu trách		Sinh viên tham gia		Lớp/Khoa	Họ tên cán bộ hướng dẫn	Trang
		Họ tên	Mã số	Họ tên	Mã số			
1	Nghiên cứu khả năng hấp phụ, làm giàu Cu(II) trong nước bằng lá thông <i>Pinus kesiya</i> và ứng dụng trong phân tích mẫu môi trường	Nguyễn Phi Hồ	1810078	Văn Thị Như Ý	1812708	HHK42/HHMT	ThS. Huỳnh Phương Thảo	1
				Nguyễn Phan Hồng Ngọc	1810072	HHK42SP/HHMT		
				Phạm Ngọc Hùng	1810082	HHK42SP/HHMT		
2	Khảo sát hiệu lực phòng trừ sâu tơ (<i>Plutella xylostella</i> L.) hại rau ăn lá từ dịch chiết cây dứa cạn (<i>Catharanthus roseus</i> L.)	Lê Thị Thanh Phương	1812975	Ngô Đức Thịnh	1812990	NHK42/NL	ThS. Cao Thị Làn	68
				Ngô Thị Thu Hà	1812710	NHK42/NL		
				Phan Ngọc Uyên Trang	1813002	NHK42/NL		
				Tạ Minh Hiếu	1812942	NHK42/NL		
3	Nghiên cứu tối ưu hóa quá trình chiết tách tinh dầu sả chanh nhờ sự hỗ trợ của enzyme cellulase	Nguyễn Thị Mỹ Lệ	1810081	Từ Mỹ Ngân	1810084	HHK42SP/HHMT	ThS. Vũ Thị Bảo Ngọc	151

4	Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học của lá phúc bồn tử trồng tại tỉnh Lâm Đồng	Lê Thị Diễm Trình	1810091	Nguyễn Phi Hồ	1810078	HHK42SP/HHM T	PGS.TS. Trịnh Thị Điệp	265
				Nguyễn Lê Huệ Anh	1810072	HHK42SP/HHM T		
				Nguyễn Thành Long	1810082	HHK42SP/HHM T		
				Nguyễn Thị Hoàng Yến	1810093	HHK42SP/HHM T		

Danh sách gồm: 04 đề tài.

NGƯỜI LẬP BẢNG

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG HẤP PHỤ, LÀM GIÀU ĐỒNG (II)
TRONG NƯỚC BẰNG LÁ THÔNG *PINUS KESIYA* VÀ ỨNG
DỤNG TRONG PHÂN TÍCH MẪU MÔI TRƯỜNG**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Khoa Học Tự Nhiên

Lâm Đồng, tháng 05 / 2021.

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

**NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG HẤP PHỤ, LÀM GIÀU ĐỒNG (II)
TRONG NƯỚC BẰNG LÁ THÔNG *PINUS KESIYA* VÀ ỨNG
DỤNG TRONG PHÂN TÍCH MẪU MÔI TRƯỜNG**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Khoa Học Tự Nhiên

Sinh viên thực hiện: Nguyễn Phi Hồ Nam, Nữ: Nam

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: HHK42SP, Khoa Sư Phạm Năm thứ: 3 / Số năm đào tạo: 4

Ngành học: Sư Phạm Hóa học

Người hướng dẫn: Thạc sỹ Huỳnh Phương Thảo

Lâm Đồng, tháng 05 / 2021.

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt thời gian thực hiện đề tài nghiên cứu khoa học sinh viên, chúng em đã nhận được sự quan tâm, giúp đỡ tận tình của các thầy cô, bạn bè và gia đình. Để hoàn thiện đề tài nghiên cứu này, chúng em xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến Ban Giám Hiệu Trường Đại học Đà Lạt, quý thầy cô Khoa Hóa học và Môi trường đã hỗ trợ tận tình và tạo điều kiện trong quá trình chúng em thực hiện đề tài.

Đặc biệt, chúng em xin bày tỏ lòng biết ơn đến cô *Huỳnh Phương Thảo* – người đã truyền cảm hứng, tận tình hướng dẫn, giúp đỡ, định hướng cách tư duy và cách làm việc khoa học, chỉ ra những điểm chưa tốt để chúng em có thể hoàn thiện đề tài một cách trọn vẹn nhất. Đó là những hành trang hết sức quý báu không chỉ trong quá trình thực hiện đề tài này mà còn là hành trang cho chúng em trong quá trình học tập và lập nghiệp trong thời gian sắp tới.

Do thời gian còn nhiều hạn chế, kiến thức còn hạn hẹp nên phần nội dung trình bày của đề tài không thể tránh khỏi những thiếu sót. Chúng em rất mong nhận được sự góp ý, phê bình của quý thầy cô, anh chị và các bạn để đề tài được hoàn thiện hơn nữa. Chúng em xin chân thành cảm ơn!

NHÓM NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
Chương 1 - TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Thực trạng ô nhiễm kim loại	3
<i>1.1.1. Thực trạng ô nhiễm hiện nay</i>	3
<i>1.1.2. Độc tính của đồng</i>	4
<i>1.1.3. Các biện pháp xử lý kim loại nặng trong nước</i>	5
1.2. Giới thiệu phương pháp hấp phụ	6
<i>1.2.1. Các khái niệm</i>	6
<i>1.2.2. Bản chất của sự hấp phụ</i>	7
<i>1.2.3. Cân bằng đẳng nhiệt hấp phụ</i>	9
<i>1.2.4. Động học hấp phụ</i>	12
1.3. Giới thiệu về vật liệu hấp phụ có nguồn gốc tự nhiên	14
<i>1.3.1. Một số hướng nghiên cứu về hấp phụ đồng trong dung dịch nước</i>	14
<i>1.3.2. Giới thiệu về thông Pinus kesiya</i>	16
1.4. Kỹ thuật chiết pha rắn	18
<i>1.4.1. Giới thiệu về kỹ thuật chiết pha rắn</i>	18
<i>1.4.2. Điều kiện chiết pha rắn SPE</i>	19
<i>1.4.3. Cơ chế của quy trình chiết pha rắn</i>	20
Chương 2 – ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU ...	22
2.1. Nội dung nghiên cứu	22
2.2. Phương pháp nghiên cứu	22
<i>2.2.1. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc vật liệu</i>	22
<i>2.2.1.1. Phương pháp xác định hình thái học bề mặt bằng hiển vi điện tử quét</i>	22
<i>2.2.1.2. Phương pháp quang phổ hồng ngoại (IR)</i>	22
<i>2.2.1.3. Phương pháp xác định điểm điện tích không của vật liệu</i>	23
<i>2.2.2. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)</i>	24

2.3. Thực nghiệm	27
2.3.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất.....	27
2.3.1.1. Thiết bị và dụng cụ.....	27
2.3.1.2. Hóa chất.....	27
2.3.2. Chuẩn bị dung dịch khảo sát khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông Pinus kesiya	27
2.3.3. Thu thập và xử lý mẫu	28
2.3.4. Xây dựng đường chuẩn phân tích nguyên tố Cu.....	29
2.3.5. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu ..	29
2.3.5.1. Khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng hấp phụ vật liệu.....	29
2.3.5.2. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến khả năng hấp phụ của vật liệu	29
2.3.5.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đầu đến khả năng hấp phụ của vật liệu.	30
2.3.5.4. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng hấp phụ của vật liệu.....	30
2.3.6. Nghiên cứu hấp phụ động	30
2.3.6.1. Khảo sát tốc độ nạp mẫu.....	31
2.3.6.2. Khảo sát nồng độ chất rửa giải.....	31
2.3.6.3. Ảnh hưởng lượng ion kim loại đến hiệu suất hấp phụ của vật liệu	31
2.3.7. Cơ sở tính toán	31
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	33
3.1. Đặc trưng cấu trúc của vật liệu.....	33
3.1.1. Hình ảnh bề mặt vật liệu	33
3.1.2. Xác định điểm điện tích không của vật liệu	33
3.1.3. Cấu trúc phổ hồng ngoại FTIR của vật liệu	35
3.2. Xác định các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu ..	35
3.2.1. Ảnh hưởng của pH dung dịch	36
3.2.2. Xác định thời gian đạt cân bằng hấp phụ	37
3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ ban đầu đến khả năng hấp phụ của vật liệu	39

3.3. Nghiên cứu động học của quá trình hấp phụ	40
3.4. Nghiên cứu đẳng nhiệt hấp phụ.....	42
3.5. Kết quả nghiên cứu nhiệt động học.....	43
3.6. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ ion kim loại bằng phương pháp động.....	45
3.6.1. Khảo sát tốc độ nạp mẫu	45
3.6.2. Khảo sát nồng độ chất rửa giải	46
3.6.3. Ảnh hưởng lượng ion kim loại đến hiệu suất hấp phụ của vật liệu.....	48
3.7. Ứng dụng quy trình phân tích mẫu thực tế	49
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	51
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	52

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 3.1- <i>Kết quả khảo sát điểm điện tích không của vật liệu lá thông</i>	34
Bảng 3.2- <i>Ảnh hưởng của pH đến dung lượng và hiệu suất hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông</i>	36
Bảng 3.3- <i>Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất và dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông</i>	38
Bảng 3.4- <i>Ảnh hưởng của nồng độ đầu đến hiệu suất và dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông</i>	39
Bảng 3.5- <i>Các tham số động học hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông</i>	41
Bảng 3.6- <i>Kết quả nghiên cứu đẳng nhiệt hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông</i>	42
Bảng 3.7- <i>Các tham số đẳng nhiệt hấp phụ Cu(II) trên vật liệu lá thông</i>	43
Bảng 3.8- <i>Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông</i>	44
Bảng 3.9- <i>Các thông số nhiệt động quá trình hấp phụ</i>	45
Bảng 3.10- <i>Kết quả khảo sát ảnh hưởng tốc độ nạp mẫu</i>	46
Bảng 3.11- <i>Kết quả khảo sát ảnh hưởng nồng độ axit giải hấp Cu(II)</i>	47
Bảng 3.12- <i>Sự phụ thuộc hiệu suất thu hồi vào thể tích mẫu</i>	48
Bảng 3.13- <i>Điều kiện tối ưu hấp phụ Cu(II) theo phương pháp động</i>	49
Bảng 3.14- <i>Kết quả xác định Cu(II) trong mẫu thực</i>	50

DANH MỤC HÌNH VẼ

<i>Hình 2.1- Sơ đồ hệ thống máy hấp thụ nguyên tử (Shimadzu AA6800 – Nhật Bản)....</i>	<i>25</i>
<i>Hình 2.2- Đường chuẩn của nguyên tố Cu bằng phép đo AAS</i>	<i>29</i>
<i>Hình 3.1- Ảnh SEM của vật liệu</i>	<i>33</i>
<i>Hình 3.2- Đồ thị xác định pH_{pzc} của vật liệu.....</i>	<i>34</i>
<i>Hình 3.3- Phổ hồng ngoại của vật liệu.....</i>	<i>35</i>
<i>Hình 3.4- Ảnh hưởng của pH đến dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông ..</i>	<i>36</i>
<i>Hình 3.5- Sự phụ thuộc hiệu suất hấp phụ Cu(II) vào thời gian của vật liệu lá thông</i>	<i>38</i>
<i>Hình 3.6- Sự phụ thuộc của hiệu suất hấp phụ Cu(II) vào nồng độ.....</i>	<i>40</i>
<i>Hình 3.7- Động học biểu kiến bậc nhất và bậc hai của quá trình hấp phụ Cu(II) lên vật liệu lá thông</i>	<i>41</i>
<i>Hình 3.8- Đồ thị đường đẳng nhiệt hấp phụ Cu(II) trên vật liệu lá thông theo Langmuir và Freundlich dạng tuyến tính</i>	<i>42</i>
<i>Hình 3.9- Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của LnK_C vào $1/T$.....</i>	<i>44</i>
<i>Hình 3.10- Ảnh hưởng tốc độ nạp mẫu đến hiệu suất hấp phụ Cu(II).....</i>	<i>46</i>
<i>Hình 3.11- Ảnh hưởng của nồng độ chất rửa giải đến hiệu suất giải hấp phụ Cu(II).</i>	<i>47</i>
<i>Hình 3.12- Ảnh hưởng thể tích mẫu đến hiệu suất thu hồi Cu(II).....</i>	<i>48</i>

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

STT	Chữ viết tắt	Ý nghĩa
1	AAS (<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)	Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử
2	DRI (<i>Dietary Reference Intake</i>)	Lượng tiêu thụ khuyến nghị
3	F-AAS (<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)	Kỹ thuật nguyên tử hóa bằng ngọn lửa
4	FT-IR (<i>Fourier Transformation InfraRed</i>)	Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier
5	ICP-MS (<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy</i>)	Phương pháp cảm ứng cao tần ghép nối khối phổ
6	LLE (<i>Liquid Liquid Extraction</i>)	Chiết lỏng lỏng
7	LT	Lá thông
8	ppb (<i>Part Per Billion</i>)	Đơn vị đo phần tỷ
9	ppm (<i>Part Per Million</i>)	Đơn vị đo phần triệu
10	RDA (<i>Recommended Dietary Allowance</i>)	Khẩu phần ăn khuyến nghị
11	SEM (<i>Scanning Electron Microscope</i>)	Hiển vi điện tử quét
12	SPE (<i>Solid Phase Extraction</i>)	Chiết pha rắn
13	XDR (<i>X-Ray Diffraction</i>)	Phương pháp nhiễu xạ tia X

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Nghiên cứu khả năng hấp phụ, làm giàu đồng (II) trong nước bằng lá thông *Pinus kesiya* và ứng dụng trong phân tích mẫu môi trường.
- Sinh viên thực hiện: Nguyễn Phi Hồ
- Lớp: HHK42SP Khoa: Sư Phạm Năm thứ: 3 Số năm đào tạo: 4
- Người hướng dẫn: ThS. Huỳnh Phương Thảo

2. Mục tiêu đề tài:

- Đánh giá sự hấp phụ và làm giàu đồng (II) trong nước bằng vật liệu lá thông *Pinus kesiya* được thu thập tại thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng.
- Ứng dụng trong phân tích mẫu môi trường.

3. Tính mới và sáng tạo:

- Việc nghiên cứu loại bỏ ion kim loại nặng trong nước bằng các vật liệu có nguồn gốc sinh học là một trong những hướng nghiên cứu mới.
- Đã nghiên cứu xử lý lá thông khô tại Đà Lạt thành vật liệu hấp phụ đồng (II) trong nước và khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình hấp phụ của vật liệu.
- Xác định được điều kiện tối ưu hấp phụ Cu(II) theo phương pháp động

4. Kết quả nghiên cứu:

- Chế tạo thành công vật liệu hấp phụ từ lá thông khô *Pinus kesiya* thu tại Đà Lạt. Xác định được điểm tích điện không của vật liệu là 4,5.
- Khảo sát và xác định các điều kiện tối ưu để hấp phụ Cu(II) trong nước của vật liệu lá thông như sau: pH = 5, thời gian đạt cân bằng hấp phụ là 150 phút.
- Mô hình động học biểu kiến bậc hai mô tả tốt quá trình hấp phụ Cu(II) trong nước bằng vật liệu lá thông với hệ số tương quan cao ($R^2 > 0,99$).
- Xây dựng đường đẳng nhiệt hấp phụ của vật liệu đối với Cu(II) theo mô hình Langmuir và Freundlich. Từ phương trình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir dạng tuyến tính, xác định dung lượng hấp phụ cực đại của Cu(II) là 20,88 (mg/g).
- Các tham số nhiệt động học được nghiên cứu và cho thấy quá trình hấp phụ Cu(II) trên lá thông là quá trình thu nhiệt và tự xảy ra.
- Xác định được điều kiện tối ưu hấp phụ Cu(II) theo phương pháp động: tốc độ nạp mẫu: 1,5 (mL/phút); thể tích mẫu: 300 (mL); lượng chất hấp phụ: 1,0000 (gam); chất rửa giải phù hợp: HNO₃ 3,0N; thể tích dung dịch rửa giải là 10 (mL). Sử dụng vật liệu lá thông làm pha tĩnh trong cột chiết pha rắn có thể tách và làm giàu Cu(II) với hệ số làm giàu là 30, hiệu suất thu hồi trên 90%. Ứng dụng vào quy trình phân tích mẫu thực tế.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

Nghiên cứu này rất có ý nghĩa thực tế trong việc sử dụng lá thông khô, rất sẵn có ở Đà Lạt thành một vật liệu có khả năng hấp phụ đồng (II) trong nước. Quy trình xử lý đơn giản phù hợp với các phòng thí nghiệm địa phương, tiết kiệm được chi phí trong quá trình xử lý.

Ngày 19 tháng 05 năm 2021
Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài
(ký, họ và tên)

Nguyễn Phi Hồ

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài:

Nhóm sinh viên thực hiện đề tài đã chủ động đọc tài liệu, đề xuất phương pháp nghiên cứu, thực nghiệm tại phòng thí nghiệm.

Sau khi tiến hành thực nghiệm thu được kết quả, nhóm sinh viên biết biện luận và giải thích kết quả nghiên cứu và viết báo cáo hoàn chỉnh, đáp ứng được yêu cầu của đề tài nghiên cứu khoa học dành cho sinh viên.

Xác nhận của trường đại học
(ký tên và đóng dấu)

Ngày 19 tháng 05 năm 2021
Người hướng dẫn
(ký, họ và tên)

Huỳnh Phương Thảo

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN
CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Nguyễn Phi Hồ

Sinh ngày: 23 tháng 11 năm 2000

Nơi sinh: Bình Thuận

Lớp: HHK42SP

Khóa: 42

Khoa: Sư Phạm

Địa chỉ liên hệ: 01 Phù Đổng Thiên Vương, Phường 8, TP.Đà Lạt, Tỉnh Lâm Đồng

Điện thoại: 0708627418

Email: 1810078@dlu.edu.vn



II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP (kê khai thành tích của sinh viên từ năm thứ 1 đến năm đang học):

*** Năm thứ 1:**

Ngành học: Sư Phạm Hóa học Khoa: Sư Phạm

Kết quả xếp loại học tập: Học kỳ I : Xuất sắc

Học kỳ II: Giỏi

Sơ lược thành tích: Không có thành tích

*** Năm thứ 2:**

Ngành học: Sư Phạm Hóa học Khoa: Sư Phạm

Kết quả xếp loại học tập: Học kỳ I : Xuất sắc

Học kỳ II: Giỏi

Sơ lược thành tích: Giải Nhì Nghiên cứu khoa học sinh viên cấp Trường năm 2020 với đề tài: **“Nghiên cứu khả năng hấp phụ xanh metylen và metyl da cam trong nước bằng vật liệu lá thông ba lá Pinus kesiya có xử lí nhiệt”**.

*** Năm thứ 3:**

Ngành học: Sư Phạm Hóa học Khoa: Sư Phạm

Kết quả xếp loại học tập: Học kỳ I : Xuất sắc

Sơ lược thành tích:

Ngày 19 tháng 05 năm 2021

Xác nhận của trường đại học
(ký tên và đóng dấu)

Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài
(ký, họ và tên)

Nguyễn Phi Hồ

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Nước – Nguồn tài nguyên quý giá, cung cấp sự sống cho mọi sinh vật hiện hữu trên hành tinh này. Bên cạnh đó, nước còn được sử dụng nhằm phục vụ cho mục đích sinh hoạt và sản xuất của con người. Ngày nay, do sự tác động của quá trình công nghiệp hóa nguồn nước trở nên bị ô nhiễm. Đặc biệt, một trong những tác nhân gây suy giảm, ô nhiễm nguồn nước trầm trọng và đe dọa đến sức khỏe con người đó chính là ô nhiễm kim loại nặng trong nước. Là một trong những kim loại thường được sử dụng trong các ngành công nghiệp, không quá ngạc nhiên khi đồng được thải ra môi trường vượt mức cho phép. Tuy là một nguyên tố vi lượng quan trọng đối với sự sống nhưng nếu nồng độ vượt giới hạn cho phép sẽ gây ra sự ô nhiễm, không chỉ nguồn nước bị ô nhiễm mà còn kéo theo những ảnh hưởng đến không khí hay đất và khi con người tiếp xúc quá lâu với đồng sẽ gây ra một số triệu chứng như kích ứng mũi, da, mắt, giảm sút trí nhớ; thậm chí nặng hơn có thể gây tổn thương não, gan, thận. Đồng cũng chính là “thủ phạm” chính gây ra bệnh Wilson. Chính vì những tác hại cũng như tính nguy hiểm của sự ô nhiễm đồng trong môi trường đặc biệt là môi trường nước, cần phải có phương pháp để xử lý nhằm giảm thiểu những tác hại mà đồng gây ra.

Trên thế giới, các nhà khoa học đã nghiên cứu các phương pháp để xử lý sự ô nhiễm kim loại nặng. Một trong những phương pháp ưu việt, được sự quan tâm của các nhà khoa học là phương pháp hấp phụ. Phương pháp này dễ thực hiện, chi phí thấp mà kết quả có độ chính xác cao so với các phương pháp khác như: phương pháp keo tụ, phương pháp oxy hóa, phương pháp trao đổi ion, v.v... nên rất được ưa chuộng. Hàm lượng đồng trong nước an toàn, được phép sử dụng chỉ dao động trong khoảng 10 – 80 $\mu\text{g/L}$ (nhỏ hơn rất nhiều so với 0,1 mg/L – hàm lượng đồng ở ngưỡng quy định theo *QCVN 08: 2008/ BTNMT*). Vì vậy, khi hàm lượng quá thấp sẽ gây ra những khó khăn trong việc phân tích hàm lượng, từ đó dẫn đến kết quả không chính xác. Do đó, cần phải tiến hành làm giàu đồng trong nước để kết quả phân tích được chính xác hơn nên việc ứng dụng các kỹ thuật tách, làm giàu đồng trong nước là điều rất cần thiết. Với nhiều tính ưu việt như độ chọn lọc cao, hệ số làm giàu lớn, kỹ thuật tiến hành đơn giản, tương đối rẻ tiền thì kỹ thuật chiết pha rắn là sự lựa chọn hợp lý hơn so với những kỹ thuật chiết khác. Với mong muốn đóng góp để nguồn vật liệu hấp phụ trở nên dồi dào, hấp phụ Cu(II) trong nước trên vật liệu lá thông *Pinus kesiya* và ứng dụng trong phân tích môi trường, chúng em xây dựng đề tài theo hướng: **“Nghiên cứu khả năng hấp**

phụ, làm giàu đồng (II) trong nước bằng lá thông Pinus kesiya và ứng dụng trong phân tích mẫu môi trường”.

2. Mục tiêu của đề tài

- Đánh giá sự hấp phụ và làm giàu đồng (II) trong nước bằng vật liệu lá thông *Pinus kesiya* được thu thập tại thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng.
- Ứng dụng trong phân tích mẫu môi trường.

3. Nội dung nghiên cứu của đề tài

Để hoàn thành những mục tiêu nghiên cứu trên, chúng em đã thực hiện các nội dung nghiên cứu sau:

- Thu thập lá thông khô *Pinus kesiya* trên địa bàn thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng và xử lý lá thông khô thành vật liệu hấp phụ Cu(II) trong nước.
- Khảo sát sự ảnh hưởng của các yếu tố: thời gian, nồng độ đầu, pH đến khả năng hấp phụ của vật liệu.
- Sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn để làm giàu Cu(II) trong nước.
- Nghiên cứu động học của quá trình. Xây dựng đường hấp phụ đẳng nhiệt và xác định dung lượng hấp phụ cực đại của vật liệu.
- Ứng dụng trong phân tích môi trường bằng cách lấy mẫu nước thực tế để xử lý.

Bố cục của đề tài: Đề tài nghiên cứu được trình bày theo ba chương:

Chương 1: Trình bày về tổng quan các nội dung có liên quan đến đề tài nghiên cứu, tổng quan tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước.

Chương 2: Trình bày về đối tượng nghiên cứu, nội dung nghiên cứu và phương pháp nghiên cứu.

Chương 3: Trình bày kết quả nghiên cứu của đề tài và kiến nghị.

Ngoài ra, đề tài nghiên cứu còn có mục lục, danh sách bảng, danh sách hình, chữ viết tắt và tài liệu tham khảo.

Chương 1 - TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Thực trạng ô nhiễm kim loại

1.1.1. Thực trạng ô nhiễm hiện nay

Ô nhiễm kim loại nặng là mối đe dọa đáng kể đối với môi trường nước, đặc biệt là ở những khu công nghiệp. Sự ô nhiễm kim loại nặng diễn ra ngày càng nhiều, khắp nơi trên thế giới; chủ yếu từ các hoạt động: khai thác mỏ, luyện kim, chế biến kim loại, mạ kẽm, công nghiệp da, sản xuất pin, sản xuất phân bón, v.v... do sự tồn tại của các ion kim loại nặng như: Cu, Pb, Ni, Cd, Hg, As, v.v... trong số đó, ion Cu^{2+} là ion điển hình và tồn tại hầu hết ở các loại nước thải. Trong những thập kỷ gần đây, sự ô nhiễm Cu^{2+} trong môi trường nước diễn ra ngày càng nhiều không chỉ ở Việt Nam mà còn ở khắp nơi trên thế giới.

Thực trạng ô nhiễm kim loại nặng ở nước ngoài:

Năm 2019, Andi Kurniawan và cộng sự đã tiến hành xác định hàm lượng Cu^{2+} và Pb^{2+} tại sông Cokro của thành phố Malang, Indoneisa. Kết quả thực nghiệm cho thấy, hàm lượng của những ion kim loại nặng này đều vượt ngưỡng cho phép và tác động xấu đến hệ sinh thái nước ở sông Cokro. Sự có mặt của những ion này là do nước thải công nghiệp gây ra [14].

Cũng trong năm 2019, Lei Gui, Shu-Chuan Peng và cộng sự đã thu thập mẫu trầm tích và mẫu nước từ hồ Chaohu, miền Đông Trung Quốc. Kết quả phân tích cho thấy, nguồn nước tại hồ này đã bị ô nhiễm kim loại nặng (trong đó có ion Cu^{2+}) và có sự tích tụ ion Cu^{2+} trong các mẫu trầm tích. Ngoài ra, nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sự ô nhiễm Cu^{2+} liên quan đến nước thải đô thị và nước thải từ các khu công nghiệp [26].

Năm 2020, Amyrah Auni Keirudin và cộng sự cũng đã nghiên cứu về sự ô nhiễm kim loại Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} tại Malaysia – một nước đang phát triển. Sự ô nhiễm các kim loại nặng với nồng độ cao trong nước bắt nguồn chủ yếu từ các hoạt động công nghiệp, nông nghiệp [13].

Năm 2021, Saurabh Mishra, Amit Kumar và cộng sự đã nghiên cứu hàm lượng các kim loại Fe, Cu, Zn và Cr tại khu vực sông Hindon, Ấn Độ. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng của các ion Cu và Fe vượt ngưỡng cho phép và là nguyên nhân chính gây ra sự ô nhiễm nghiêm trọng tại sông Hindon. Nghiên cứu còn chỉ ra sự ô nhiễm nước trầm

trọng tại khu vực này là do phải tiếp nhận nước thải công nghiệp có nồng độ cao, ở mức độc hại [33].

Thực trạng ô nhiễm kim loại nặng ở Việt Nam:

Trên địa bàn tỉnh Hà Nội, ngành công nghiệp chủ yếu tập trung vào lĩnh vực gia công kim loại, chế tạo máy móc, mạ. Theo số liệu thống kê, các cơ sở mạ của công ty xe đạp Liveha, kim khí Cầu Bươu, công ty khóa Minh Khai hàng ngày thải ra môi trường nhiều kim loại nặng trong đó có đồng [4].

Tại huyện Tân Trạch, Long An hàm lượng kim loại nặng trong nước đã ở mức gây độc đối với vật nuôi. Cụ thể: Hàm lượng Cd từ 2-8mg/L, gấp 40-60 lần tiêu chuẩn cho phép; Pb: 0,7 - 2,7mg/L, gấp 7 - 27 lần; Zn: 32 - 197mg/L, gấp 1,3 - 8,2 lần; Cu: 11,24 - 97,5mg/L, gấp 23 - 195 lần. Từ số liệu, có thể thấy hàm lượng đồng trong nước rất cao và nguyên nhân chủ yếu gây ra sự ô nhiễm trên là do chất thải của cơ sở sản xuất công nghiệp [4].

Hàm lượng các kim loại nặng trong trầm tích của kênh Nhiêu Lộc tại địa điểm cầu Ông Tá đã được xác định, trong đó hàm lượng đồng được xác định là 1090 mg/L [4].

Có thể thấy rằng, mức độ ô nhiễm đồng trong nước do tác động của các ngành công nghiệp, đặc biệt là ngành công nghiệp nặng ngày càng trầm trọng. Đây là vấn đề cấp thiết, một thách thức lớn đối với các nhà khoa học trong nước và trên thế giới để có thể đảm bảo vừa phát triển kinh tế, vừa bảo vệ môi trường. Chính vì vậy, rất nhiều nghiên cứu của các nhà khoa học về các phương pháp nhằm xử lý ô nhiễm kim loại nặng trong nước đã được thực nghiệm.

1.1.2. Độc tính của đồng

Đồng là một nguyên tố vi lượng và không thể thiếu trong đời sống của các sinh vật tồn tại trên Trái Đất. Đối với con người, nguyên tố này thể hiện nhiều chức năng sinh lý quan trọng, tham gia vào thành phần cấu tạo của nhiều loại enzyme, tổng hợp hoocmon, v.v... Đối với thực vật, đồng là một nguyên tố không thể thiếu trong quá trình tổng hợp enzyme – “cơ sở của sự sống”; ảnh hưởng trực tiếp đến sự sinh trưởng và phát triển của thực vật; đồng thời, đồng còn có vai trò kháng khuẩn, chống các loại nấm mốc và tăng khả năng thích ứng, chống chịu cho các loài thực vật.

Bên cạnh những vai trò quan trọng trong đời sống con người và thực vật, nguyên tố này cũng có một số độc tính nếu liều lượng vượt mức cho phép:

Theo tiêu chuẩn RDA của Mỹ về hàm lượng đồng cho phép tiếp xúc trong cơ thể người trưởng thành khỏe mạnh là 0,9 mg/ngày, khi vượt quá hàm lượng trên sẽ gây ra sự rối loạn dạ dày, bệnh về gan, thận, phổi, bệnh Wilson – một bệnh lý sinh ra do đồng bị giữ lại trong cơ thể mà không tiết ra bởi gan vào trong mật. Theo DRI, mức cao nhất có thể chịu được về đồng tồn tại trong khẩu phần ăn uống với người trưởng thành theo mọi nguồn là 10 mg/ngày [19].

Sự tồn tại đồng trong nước nếu vượt quá 1 $\mu\text{g/L}$ sẽ khiến thực vật bị ô nhiễm, nhiễm độc còn đối với các loài thủy sinh (cá, ốc, v.v...) phải đến 3 $\mu\text{g/L}$ thì mới gây ngộ độc cho những loại thủy sinh. Có thể thấy, thực vật mẫn cảm với đồng hơn động vật[15].

Như vậy, độc tính của đồng gây ra khá nhiều ảnh hưởng tiêu cực, không chỉ đối với con người mà còn đối với các loài sinh – thực vật, đặc biệt là các loài thủy sinh. Việc loại bỏ Cu(II) ra khỏi nước là một việc làm mang tính cấp bách, không chỉ đóng góp vào hiệu quả kinh tế mà còn đóng góp vào hiệu quả xã hội.

1.1.3. Các biện pháp xử lý kim loại nặng trong nước

Có nhiều phương pháp được áp dụng để xử lý kim loại nặng trong nước như phương pháp oxi hóa, phương pháp trao đổi ion, phương pháp keo tụ, v.v... Trong các phương pháp dùng để xử lý kim loại nặng, hấp phụ hiện đang là phương pháp được đánh giá cao do tính hiệu quả và kinh tế. Dưới đây là một số phương pháp:

❖ Phương pháp oxi hóa [6,8,9]

Để làm sạch nguồn nước có chứa các chất độc hại bằng cách sử dụng phương pháp này, có thể sử dụng các chất oxi hóa như clo ở dạng khí và hóa lỏng, clorat canxi, dioxyt clo, hypoclorit natri và canxi, pemanganat kali, peroxyhydro, oxy của không khí, v.v... Trong quá trình oxi hóa, các chất độc hại trong nước thải được chuyển thành các chất ít độc hơn và tách ra khỏi nước. Việc sử dụng phương pháp này sẽ giúp tối ưu về không gian xử lý nước thải bởi cần không gian nhỏ, nguyên liệu dễ mua, dễ thực hiện, dễ quản lý. Tuy nhiên, chi phí xử lý hóa chất có giá thành cao, thải ra môi trường một số chất ô nhiễm thứ cấp thông qua các phản ứng hóa học.

❖ Phương pháp trao đổi ion [6,8,9]

Quá trình trao đổi ion được sử dụng để loại bỏ một lượng nhỏ các ion hòa tan được giữ lại trong nước thải. Chất trao đổi ion có thể là khoáng vô cơ, các loại vỏ sò, nhựa trao đổi ion, v.v... Chẳng hạn đối với nước thải của nhà máy mạ kim loại, có thể sử dụng nhựa trao đổi cation để hấp phụ và loại bỏ các ion kim loại trong nước như Cu(II),

Pb(II), v.v... và dùng nhựa trao đổi anion để loại bỏ các ion Cl^- , SO_4^{2-} , v.v... Sau đó nhựa bão hòa các chất sẽ được tái tạo lại bằng phương pháp tách rửa (tùy loại nhựa có thể rửa bằng dung dịch HCl hoặc dung dịch NaOH). Về mặt kỹ thuật, hầu hết các kim loại nặng đều có thể tách ra bằng phương pháp trao đổi ion. Việc sử dụng phương pháp này có thể xử lý các đối tượng một cách triệt để, nhựa ion có thời gian sử dụng lâu dài và tái sinh nhiều lần, chi phí thấp. Việc áp dụng phương pháp này để xử lý kim loại nặng thường tốn nhiều thời gian, quy trình thực nghiệm phức tạp, hiệu quả phương pháp không cao.

❖ *Phương pháp keo tụ* [6,8,9]

Hầu hết các phương pháp xử lý kim loại nặng đều liên quan đến quá trình kết tủa, đông kết tủa và lọc thông qua sử dụng muối kim loại hoặc làm mềm nước bằng vôi. Muối kim loại thường sử dụng trong phương pháp này là muối nhôm và muối sắt clorua hoặc sunfat. Trong quá trình keo tụ và lắng/lọc, đồng được loại bỏ thông qua ba cơ chế: kết tủa, cộng kết, hấp phụ. Phương pháp này đơn giản, hiệu quả xử lý chất rắn lơ lửng cao nhưng một số loại hóa chất dùng keo tụ cần phải hiệu chỉnh pH sau khi thêm cũng như dùng một số phụ gia nên đã làm tăng chi phí.

❖ *Phương pháp hấp phụ* [6,8,9]

Phương pháp hấp phụ có những đặc điểm nổi bật hơn những phương pháp xử lý nước thải khác ở chỗ chi phí không cao, qui trình dễ thực hiện, không đòi hỏi các thiết bị phức tạp, vật liệu hấp phụ dễ kiếm có nguồn gốc sinh học và có thể tái sử dụng các vật liệu hấp phụ do độ bền khá cao, giá thành thấp, hiệu quả cao.

Trong đề tài nghiên cứu này, chúng em sử dụng phương pháp hấp phụ với vật liệu hấp phụ là lá thông ba lá *Pinus Kesiya* để hấp phụ ion kim loại nặng Cu^{2+} trong dung dịch nước.

1.2. Giới thiệu phương pháp hấp phụ

1.2.1. Các khái niệm

❖ *Hấp phụ*

Hấp phụ là quá trình tích lũy các chất trên bề mặt phân cách các pha (rắn – khí, rắn – lỏng, khí – lỏng, lỏng – lỏng), đây là một quá trình tỏa nhiệt. Trong đó:

Chất hấp phụ là chất mà phân tử ở lớp bề mặt có khả năng hút các phân tử của pha khác nằm tiếp xúc với nó.

Chất bị hấp phụ là chất tích lũy trên bề mặt chất hấp phụ, chất này hút khỏi pha thể tích đến tập trung trên bề mặt chất hấp phụ.

Pha mang là hỗn hợp tiếp xúc với chất hấp phụ.

❖ *Giải hấp phụ*

Giải hấp phụ là quá trình chất bị hấp phụ tách ra khỏi bề mặt chất hấp phụ., dựa trên nguyên tắc sử dụng các yếu tố bất lợi đối với quá trình hấp phụ để giải hấp. Để giảm khả năng hấp phụ vật lí, ta có thể tác động thông qua các yếu tố:

- + Giảm nồng độ chất hấp phụ ở dung dịch để thay đổi thế cân bằng hấp phụ.
- + Tăng nhiệt độ.
- + Thay đổi bản chất tương tác của hệ thống thông qua thay đổi pH của môi trường.
- + Dùng tác nhân hấp phụ mạnh để đẩy chất đã hấp phụ trên bề mặt chất rắn.
- + Sử dụng tác nhân vi sinh vật. Dựa trên nguyên tắc giải hấp phụ nêu trên, một số phương pháp tái sinh vật liệu hấp phụ đã được sử dụng như: phương pháp nhiệt, phương pháp hóa lí, phương pháp vi sinh.

1.2.2. Bản chất của sự hấp phụ

Bản chất của sự hấp phụ là quá trình tương tác giữa các phân tử chất hấp phụ và chất bị hấp phụ. Tùy vào bản chất lực tương tác giữa các phân tử của chất hấp phụ và chất bị hấp phụ, chia thành hai loại:

❖ *Hấp phụ vật lí*

Quá trình hấp phụ này gây ra bởi lực Van de Waals – lực xuất hiện trên bề mặt chất hấp phụ và giữa các phân tử chất bị hấp phụ, loại lực này gồm ba loại tương tác: tương tác cảm ứng, tương tác định hướng và tương tác khuếch tán. Tuy nhiên, những loại tương tác trên khá yếu do đó dễ bị đứt gãy, do đó hấp phụ vật lí có tính thuận nghịch cao.

Ngoài ra, hấp phụ vật lí không có tính chọn lọc. Quá trình hấp phụ vật lí là một quá trình thuận nghịch tức là có cân bằng động giữa chất hấp phụ và bị hấp phụ. Nhiệt lượng tỏa ra khi hấp phụ vật lí khoảng 2 – 6 kcal/mol. Loại hấp phụ này ít phụ thuộc vào bản chất hóa học của bề mặt, không xảy ra sự biến đổi cấu trúc của các phân tử chất hấp phụ và bị hấp phụ.

❖ *Hấp phụ hóa học*

Loại hấp phụ này được gây ra bởi các loại liên kết hóa học như: liên kết cộng hóa trị, liên kết ion, liên kết phối trí v.v... Khi các phân tử chất hấp phụ tạo hợp chất hóa học với các phân tử chất bị hấp phụ bằng những loại liên kết kể trên thì sẽ xảy ra quá trình hấp phụ hóa học. Trong khi hấp phụ sẽ xảy ra sự chuyển dời electron giữa chất hấp phụ và chất bị hấp phụ. Chính vì cấu trúc electron phân tử các chất tham gia quá trình hấp phụ có sự biến đổi rất lớn dẫn đến liên kết hóa học được hình thành. Khi hấp phụ hóa học, nhiệt lượng của quá trình tỏa ra thường có giá trị lớn hơn 22 kcal/mol.

Trong thực tế, rất khó để nhận biết giữa quá trình hấp phụ vật lí và hấp phụ hóa học bởi vì trong nhiều quá trình hấp phụ xảy ra đồng thời cả hấp phụ vật lí và hấp phụ hóa học. Chính vì vậy, sự nhận biết chỉ là tương đối vì ranh giới giữa hấp phụ vật lí và hấp phụ hóa học không rõ rệt.

❖ *Hấp phụ trong môi trường nước*

Do trong hệ có ít nhất ba thành phần gây tương tác là chất hấp phụ, chất bị hấp phụ và nước nên sự hấp phụ trong môi trường nước thường phức tạp [1].

Bên cạnh quá trình hấp phụ trong môi trường nước thì xuất hiện sự cạnh tranh hấp phụ do sự có mặt của dung môi ở trong hệ và xuất hiện sự chọn lọc giữa chất bị hấp phụ và dung môi. Nồng độ chất tan trong dung dịch thường là nhỏ nên khi tiếp xúc với chất hấp phụ, các phân tử nước sẽ chiếm chỗ trên toàn bộ bề mặt chất hấp phụ. Những chất bị hấp phụ sẽ đẩy các phân tử nước để chiếm toàn bộ bề mặt chất hấp phụ và chỉ xảy ra điều này khi tương tác giữa chất hấp phụ và nước yếu hơn so với tương tác giữa chất hấp phụ và chất bị hấp phụ.

Khả năng hấp phụ của chất hấp phụ đối với chất bị hấp phụ còn phụ thuộc vào bản chất của các chất: phân cực hay không phân cực, tức dựa vào sự tương đương vào độ phân cực giữa chúng. Bởi những chất có cùng bản chất sẽ tan tốt trong nhau hơn so với những chất không cùng bản chất nên, chất hấp phụ và chất bị hấp phụ đều phân cực hoặc không phân cực thì sự hấp phụ xảy ra tốt hơn.

Hấp phụ trong môi trường nước còn bị ảnh hưởng yếu tố pH, sự biến đổi pH dẫn đến sự biến đổi bản chất của chất bị hấp phụ. Những chất có tính axit yếu, bazơ yếu hoặc lưỡng tính dễ bị phân li, tích điện âm, dương hoặc trung hòa. Ngoài ảnh hưởng nói trên, sự ảnh hưởng của pH còn tác động đến các nhóm chức bề mặt của chất hấp phụ do các nhóm chức có sự phân ly.

Nói tóm lại, hấp phụ trong môi trường nước có cơ chế phức tạp do chịu ảnh hưởng bởi những yếu tố: yếu tố hấp phụ hỗn hợp, sự biến đổi bản chất của chất hấp phụ, chất bị hấp phụ vào môi trường. Ngoài ra, còn có những yếu tố ảnh hưởng như độ xốp, sự phân bố, sắp xếp của các lỗ xốp, diện tích bề mặt, v.v...

1.2.3. Cân bằng đẳng nhiệt hấp phụ

Sự hấp phụ xảy ra khi một chất hấp phụ tiếp xúc với một pha thể tích có một thành phần hóa học nhất định. Giữa chất hấp phụ và chất bị hấp phụ trong pha thể tích sẽ đạt trạng thái cân bằng sau một thời gian đủ dài, tức tốc độ hấp phụ (quá trình thuận) bằng tốc độ giải hấp phụ (quá trình nghịch) [23]. Đối với một hệ hấp phụ xác định, dung lượng hấp phụ là một hàm của nhiệt độ và áp suất hoặc nồng độ chất bị hấp phụ trong pha thể tích:

$$q = f(T,P) \text{ hoặc } q = f(T,C)$$

Ở một nhiệt độ không thay đổi ($T = \text{const}$) dung lượng hấp phụ phụ thuộc vào áp suất hoặc nồng độ và mối quan hệ giữa lượng chất bị hấp phụ q và nồng độ cân bằng trong pha thể tích C hay áp suất riêng phần P tại nhiệt độ T được gọi là đẳng nhiệt hấp phụ tại T , được biểu diễn:

$$q = q(C) \text{ tại } T = \text{const} (*)$$

$$q = q(P) \text{ tại } T = \text{const} (**)$$

Từ (*), nếu gọi C_0 và C_e lần lượt là nồng độ chất hấp phụ ban đầu và ở trạng thái cân bằng, V là thể tích dung dịch, m là khối lượng chất hấp phụ, thí nghiệm ở trạng thái tĩnh ta có thể xác định được q là dung lượng hấp phụ:

$$q = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m} \quad (1.1)$$

Các đẳng nhiệt hấp phụ được biểu diễn bởi nhiều hệ thức toán học. Các hệ thức này được rút ra từ sự mô hình hóa của quá trình hấp phụ và khử hấp phụ, hoặc được thiết lập bằng con đường kinh nghiệm (thực nghiệm) thuần túy.

Có thể mô tả quá trình hấp phụ dựa vào đường đẳng nhiệt hấp phụ. Đường đẳng nhiệt hấp phụ biểu diễn sự phụ thuộc của dung lượng hấp phụ tại một thời điểm vào nồng độ cân bằng của chất bị hấp phụ trong dung dịch tại thời điểm ở một nhiệt độ xác định. Đối với các chất hấp phụ là chất rắn và chất bị hấp phụ là chất lỏng thì đường đẳng nhiệt hấp phụ được mô tả qua các phương trình đẳng nhiệt.

Dưới đây là các mô hình đẳng nhiệt hấp phụ thường gặp :

❖ **Mô hình đẳng nhiệt hấp phụ Freundlich**

Phương trình đẳng nhiệt hấp phụ Freundlich là phương trình thực nghiệm mô tả sự hấp phụ xảy ra trong phạm vi một lớp, tức dựa trên sự hấp phụ trên bề mặt không đồng nhất của vật liệu với các giả định:

- Sự phân bố nhiệt hấp phụ và ái lực của chất bị hấp phụ trên bề mặt không đồng nhất là không đồng đều.
- Sự hấp phụ không lý tưởng và thuận nghịch, không bị hạn chế bởi sự hình thành đơn lớp.
- Tỷ lệ chất bị hấp phụ trên một khối lượng chất hấp phụ không phải là hằng số ở các dung dịch có nồng độ khác nhau.
- Các tâm hấp phụ có năng lượng không giống nhau. Lượng hấp phụ là tổng số của sự hấp phụ trên tất cả các tâm hấp phụ (mỗi tâm hấp phụ có năng lượng liên kết), trong đó, các tâm hấp phụ liên kết mạnh hơn được chiếm đầu tiên.

Phương trình phi tuyến tính của mô hình đẳng nhiệt Freundlich được biểu diễn theo công thức:

$$q_e = K_F \cdot C_e^{\frac{1}{n}} \quad (1.2)$$

Để xác định các hằng số trong phương trình đẳng nhiệt hấp phụ, ta đưa phương trình về dạng:

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (1.3)$$

Trong đó:

C_e : Nồng độ tại thời điểm cân bằng (mg/L).

q_e : Lượng chất bị hấp phụ trên một đơn vị khối lượng vật liệu hấp phụ (mg/g).

K_F : Hằng số Freundlich để chỉ khả năng hấp phụ tương đối của vật liệu hấp phụ.

n : Là số mũ trong phương trình Freundlich, đặc trưng cho tính không đồng nhất về năng lượng của bề mặt hấp phụ.

Trên cơ sở các kết quả thực nghiệm thu được, xây dựng đồ thị mô tả mối tương quan giữa $\log q_e$ và $\log C_e$, từ đó xác định các tham số K_F và n trong biểu thức (1.10).

Ý nghĩa của mô hình đẳng nhiệt Freundlich:

- Khi giá trị $n < 1$ thì có thể dự đoán mô hình không thích hợp để mô tả quá trình hấp phụ. Nếu giá trị $n > 1$ có thể dự đoán rằng mô hình thích hợp để mô tả quá trình hấp phụ ở khoảng nồng độ nghiên cứu. Khi $n = 1$, quá trình hấp phụ là không thuận nghịch.
- Dựa vào mô hình Freundlich có thể đánh giá cường độ hấp phụ của chất bị hấp phụ trên bề mặt chất hấp thụ. Nếu giá trị n càng lớn thì chất bị hấp phụ càng tương tác mạnh với chất hấp phụ, khả năng hấp phụ tăng [25].
- Mô hình Freundlich chỉ phù hợp cho mô tả quá trình hấp phụ ở khoảng nồng độ hẹp.

❖ *Mô hình đẳng nhiệt Langmuir*

Phương trình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir là phương trình mô tả cân bằng hấp phụ đầu tiên được thiết lập bằng lí thuyết, được xây dựng cho hệ hấp phụ rắn – lỏng.

Phương trình Langmuir được xây dựng với giả thiết rằng trên bề mặt chất hấp phụ tồn tại các trung tâm hấp phụ. Các trung tâm này tương đương với nhau về năng lượng và phân bố đồng đều trên bề mặt chất hấp phụ. Vì vậy, không có lực tương tác ngang giữa các phân tử bị hấp phụ với nhau. Do các trung tâm tương đương nhau về mặt năng lượng nên chúng có khả năng hấp phụ như nhau [3].

Mỗi trung tâm hoạt động chỉ hấp phụ được một phần tử chất bị hấp phụ. Trong trạng thái bị hấp phụ, các phân tử trên bề mặt chất rắn không tương tác với nhau, hấp phụ chỉ tạo ra đơn lớp phân tử.

Phương trình phi tuyến tính của mô hình đẳng nhiệt Langmuir được đưa ra bởi công thức:

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (1.4)$$

Phương trình đẳng nhiệt hấp phụ Langmuir dạng tuyến tính:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m} \cdot C_e + \frac{1}{q_m \cdot K_L} \quad (1.5)$$

Trong đó:

C_e : Nồng độ dung dịch hấp phụ (mg/L).

q_e : Dung lượng hấp phụ (lượng chất bị hấp phụ/1 đơn vị chất hấp phụ) (mg/g).

q_m : Dung lượng hấp phụ tối đa của chất hấp phụ (lượng chất bị hấp phụ/1 đơn vị chất hấp phụ) (mg/g).

K_L : Hằng số cân bằng hấp phụ Langmuir (L/mg).

Ý nghĩa của mô hình đẳng nhiệt Langmuir:

- Dựa vào mô hình đẳng nhiệt Langmuir có thể xác định được khả năng hấp phụ tối đa (q_m) trên bề mặt đơn lớp của vật liệu.
- Từ giá trị của K_L có thể xác định hằng số tách R_L thông qua biểu thức:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L \cdot C_0} \quad (1.6)$$

Giá trị R_L sẽ cho biết sự thuận lợi của quá trình hấp phụ, cụ thể: $R_L = 0$: quá trình hấp phụ là một chiều; $R_L > 1$: quá trình hấp phụ là không thuận lợi; $0 < R_L < 1$: quá trình hấp phụ là thuận lợi và $R_L = 1$: quá trình hấp phụ là tuyến tính [3].

1.2.4. Động học hấp phụ

Sự hấp phụ diễn ra chủ yếu trên bề mặt chất hấp phụ trong môi trường nước. Do đó, quá trình động học hấp phụ xảy ra theo một loạt các giai đoạn :

- Giai đoạn khuếch tán trong dung dịch: các chất bị hấp phụ chuyển động đến bề mặt chất hấp phụ.
- Giai đoạn khuếch tán màng: phân tử chất bị hấp phụ chuyển động đến bề mặt ngoài của chất hấp phụ chứa hệ mao quản.
- Giai đoạn khuếch tán vào trong mao quản: chất bị hấp phụ khuếch tán vào trong hệ mao quản của chất hấp phụ.
- Giai đoạn xảy ra hấp phụ thực sự: Bề mặt của chất hấp phụ được gắn với các phân tử chất bị hấp phụ.

Trong những giai đoạn: giai đoạn khuếch tán trong dung dịch, giai đoạn khuếch tán màng, giai đoạn khuếch tán vào trong mao quản và giai đoạn xảy ra hấp phụ thực sự thì giai đoạn nào có tốc độ xảy ra chậm nhất sẽ quyết định đến tốc độ của toàn bộ quá trình hấp phụ. Trong nội dung này, chúng em chỉ trình bày về mô hình động học bậc nhất biểu kiến (*the pseudo – first order*) và bậc hai biểu kiến (*the pseudo – second order*). Đây là những mô hình được sử dụng nhiều nhất trong việc nghiên cứu động học hấp phụ

kim loại.

❖ **Phương trình động học biểu kiến bậc nhất (the pseudo – first order)**

Dựa vào phương trình này, có thể đánh giá nhiều trạng thái hấp phụ khác nhau, bao gồm: hệ đạt đến trạng thái cân bằng; hệ có hàm lượng chất tan độc lập theo thời gian (hoặc đẳng nhiệt tuyến tính) hay các trường hợp đặc biệt của hệ phức.

Phương trình động học hấp phụ biểu kiến bậc nhất Lagergren được trình bày như sau:

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_e - q) \quad (1.7)$$

Dạng tích phân của phương trình trên là:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - \frac{k_1 \cdot t}{2,303} \quad (1.8)$$

Trong đó:

q_e là dung lượng hấp phụ tại thời điểm cân bằng (mg/g).

q_t là dung lượng hấp phụ tại thời điểm t (mg/g).

k_1 là hằng số tốc độ hấp phụ bậc nhất biểu kiến (phút^{-1}).

❖ **Phương trình động học biểu kiến bậc hai (the pseudo – second order)**

Dựa vào phương trình động học biểu kiến bậc hai, có thể dự đoán được phản ứng xảy ra với tốc độ nhanh hoặc chậm tương ứng tỉ lệ với số tâm hấp phụ có trên bề mặt vật liệu hấp phụ.

Phương trình động học hấp phụ biểu kiến bậc hai có dạng:

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad (1.9)$$

Dạng tích phân của phương trình này là:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \left(\frac{1}{q_e}\right) \cdot t \quad (1.10)$$

Trong đó:

q_e là dung lượng hấp phụ tại thời điểm cân bằng (mg/g).

q_t là dung lượng hấp phụ tại thời điểm t (mg/g).

k_2 là hằng số tốc độ hấp phụ bậc hai biểu kiến ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{phút}^{-1}$).

Từ những phương trình trên, có thể xác định được các giá trị thực nghiệm của q theo t và xác định được hằng số tốc độ hấp phụ biểu kiến k_1 , k_2 . Giá trị hằng số tốc độ biểu kiến là một trong những thông số để so sánh giữa các chất hấp phụ đối với cùng một chất bị hấp phụ.

1.3. Giới thiệu về vật liệu hấp phụ có nguồn gốc tự nhiên

1.3.1. Một số hướng nghiên cứu về hấp phụ đồng trong dung dịch nước

Tình hình nghiên cứu nước ngoài:

Có thể thấy rằng vấn đề xử lý kim loại nặng nói chung và xử lý Cu(II) trong nước đã và đang nhận được sự quan tâm của các nhà khoa học trên toàn cầu. Các loại vật liệu hấp phụ Cu(II) trong nước rất đa dạng và mới lạ như vỏ hạt kê đuôi chồn, cacbon hoạt tính được điều chế từ cành ô liu hay phế thải từ lá trà, v.v... đã được nghiên cứu sẽ mang lại những nguồn vật liệu sinh học có giá thành hợp lý, đáp ứng được với nhu cầu vừa phát triển kinh tế - xã hội, vừa bảo vệ môi trường mà đặc biệt là môi trường nước:

Nhóm nghiên cứu của Sheng-Han Peng, Rong Wang, Li-Zhi Yang, Li-He và các cộng sự đã sử dụng vỏ kê đuôi chồn để làm vật liệu hấp phụ các ion kim loại nặng: Cu, Zn, Cd, Cr. Ảnh hưởng của các yếu tố đến khả năng hấp phụ các ion kim loại như: pH (2 – 6); thời gian tiếp xúc (5 – 240 phút); nồng độ ion kim loại ban đầu (25 – 300 mg/L); kích thước hạt vật liệu (0,25 – 2 mm) và liều lượng chất hấp phụ sinh học (1 – 6 g/L) đã được tiến hành thực nghiệm. Kết quả thực nghiệm cho thấy, sự hấp phụ Cu và Zn bằng vỏ kê đuôi chồn phù hợp với mô hình Freundlich, còn sự hấp phụ Cd, Cr lại phù hợp với mô hình Langmuir. Dung lượng hấp phụ cực đại của Cu, Zn, Cd, Cr lần lượt là 11,89; 10,59; 12,48 và 11,70 mg/g được tính toán từ phương trình đẳng nhiệt hấp phụ Langmuir. Động học hấp phụ các ion phù hợp với mô hình động học bậc hai [35].

Abdulfattah Mohammed Alkheraz, Aisha Khalifa Ali và Khaled Muftah Elsherif đã sử dụng vật liệu cacbon hoạt tính có nguồn gốc từ cành ô liu để hấp phụ các ion kim loại nặng Pb(II), Zn(II), Cu(II) và Cd(II). Nghiên cứu của nhóm tác giả chủ yếu nghiên cứu về cân bằng và nhiệt động lực học. Cân bằng và nhiệt động lực học của quá trình hấp phụ Pb(II), Zn(II), Cu(II) và Cd(II) trên vật liệu cacbon hoạt tính điều chế từ cành ô liu được nghiên cứu thông qua các thông số: pH, nồng độ đầu, nhiệt độ. Sự hấp phụ kim loại ở giá trị pH = 5 đối với Pb, Cu, Cd và pH = 3 đối với Zn. Khi nhiệt độ tăng lên,

sự hấp phụ cũng tăng theo (nghĩa là có đặc tính thu nhiệt). Quá trình hấp phụ các ion kim loại nặng phù hợp với mô hình đẳng nhiệt Freundlich hơn Langmuir vì cho hệ số tương quan R^2 cao. Dung lượng hấp phụ của Pb(II), Zn(II), Cu(II) và Cd(II) tương ứng là 41,32; 34,97; 43,10; 38,17 mg/g. Các thông số nhiệt động lực học như năng lượng tự do Gibbs (ΔG^0), entanpi (ΔH^0) và entropi (ΔS^0) đã được xác định. Sự hấp phụ các ion kim loại nặng kể trên không xảy ra tức thời và cũng không tự phát. Thứ tự không tự phát của quá trình hấp phụ các ion kim loại là Zn(II) > Cu (II) > Cd(II) > Pb(II). Tương tự như vậy, sự thay đổi entropi của các ion kim loại và mức độ hỗn loạn đã được thực nghiệm và thu được thứ tự sau: Pb(II) > Cd(II) > Cu(II) > Zn (II) [12].

Tác giả Hafizah Binti Naihi đã sử dụng chất thải từ lá chè (*Camellia sinensis*) như một loại vật liệu hấp phụ để hấp phụ Cu^{2+} trong dung dịch nước. Chất thải từ lá chè là một trong những nguồn vật liệu hấp phụ tiềm năng, chi phí thấp có thể được phát triển để làm vật liệu hấp phụ ion kim loại nặng. Chất thải từ lá chè có chứa phần lớn Lignin và Cellulose – có khả năng tạo liên kết với các ion kim loại nặng. Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu^{2+} trên chất thải lá chè được khảo sát như: nồng độ đầu Cu^{2+} , liều lượng chất hấp phụ, thời gian tiếp xúc. Vật liệu hấp phụ được khảo sát các đặc tính bằng kính hiển vi phức hợp, quang phổ FTIR. Kết quả thực nghiệm cho thấy, mức độ loại bỏ tối đa ion Cu^{2+} trên chất thải từ lá chè ở điều kiện pH = 7; thời gian tiếp xúc là 60 phút; liều lượng chất hấp phụ là 0,8000 gam; nồng độ là 0,7000M và hiệu suất loại bỏ đạt 74% [22].

Bằng việc sử dụng chất thải từ vỏ quả báng *Arenga pinnata* để làm vật liệu hấp phụ Cu(II) trong nước. Tác giả A. Muslim, P.N. Alam và các cộng sự đã sử dụng chất thải của quả báng đã qua xử lý bằng cách kiềm hóa bằng NaOH, hỗ trợ của sóng siêu âm nhằm hấp phụ Cu(II). Các biến độc lập ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu(II) như thời gian tiếp xúc, nồng độ NaOH, nồng độ ion Cu(II) ban đầu trong pha nước và nhiệt độ hấp phụ được tiến hành khảo sát. Các thí nghiệm hấp phụ được thực nghiệm với giá trị pH không đổi, pH = 4,5. Các đặc trưng của vật liệu được xác định bằng kỹ thuật FTIR, SEM. Dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu hấp phụ được biến đổi bằng sóng siêu âm là 50,97 mg/g cao hơn so với khi không có sự hỗ trợ của sóng siêu âm là 24,25 mg/g. Sự hấp phụ ion Cu(II) phù hợp với mô hình đẳng nhiệt Freundlich và phù hợp với mô hình động học bậc hai. Dung lượng và hằng số tốc độ hấp phụ là 50,01 mg/g và 4,44 mg/g.phút ở 27⁰C và giảm dần đến 43,11 mg/g và 0,03 mg/g.phút ở 47⁰C. Sự hấp phụ này chủ yếu là hấp phụ vật lý [30].

Tình hình nghiên cứu trong nước:

Năm 2018, nhóm tác giả Trần Thị Kiều Ngân, Võ Vũ Như Quỳnh, Lê Văn Thuận đã nghiên cứu và chế tạo vật liệu đất sét (ĐS) Cổ Định - Thanh Hóa và composite của nó với chitosan (CTS) từ vỏ tôm để làm vật liệu hấp phụ hiệu suất cao, giá rẻ, thân thiện với môi trường để loại bỏ ion Cu(II) trong môi trường nước ở các điều kiện khác nhau. Các đặc trưng của vật liệu được xác định bằng các phương pháp nhiễu xạ tia X (XRD), hiển vi điện tử quét (SEM). Mô hình đẳng nhiệt Langmuir và Freundlich được sử dụng để kiểm tra tính phù hợp của quá trình hấp phụ của ion Cu(II) trên 2 dạng vật liệu ĐS và ĐS/CTS, kết quả cho thấy vật liệu ĐS phù hợp với mô hình Freundlich, trong khi đó vật liệu ĐS/CTS lại được mô tả tốt hơn với mô hình Langmuir. Các điều kiện tối ưu cho quá trình hấp phụ đã được xác định. Vật liệu trên cơ sở ĐS Cổ Định - Thanh Hóa dùng để xử lý ion Cu(II) đã được chứng minh là có hiệu quả với dung lượng hấp phụ cực đại là 44,1 mg/g đối với ĐS và 56,8 mg/g đối với vật liệu ĐS/CTS [7].

Năm 2019, nhóm tác giả Nguyễn Văn Phương, Nguyễn Thị Cẩm Nhung và Lâm Thị Mỹ Ngọc đã sử dụng than sinh học có nguồn gốc từ chất thải chăn nuôi để làm vật liệu hấp phụ ion Cu^{2+} trong nước và ứng dụng xử lý môi trường. Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát cơ chế loại bỏ Cu^{2+} khỏi dung dịch nước của than sinh học có nguồn gốc từ phân bò như một chất hấp phụ. Than sinh học được điều chế ở các nhiệt độ 300, 450 và 600°C, các tính chất hóa lý của than như hàm lượng hữu cơ TOC, pH, pH_{pzc} , số nhóm chức H^+ và OH^- đã được xác định. Than sau thu được cho cân bằng với dung dịch Cu^{2+} ở nhiều nồng độ khác nhau, dao động 0-360 mg/L trong khoảng 12 giờ. Các đường đẳng nhiệt hấp phụ Cu^{2+} của than được điều chế ở 300 và 450 °C phù hợp với mô hình Langmuir hơn, trong khi mô hình Freundlich phù hợp hơn cho than được điều chế ở 600°C. Khả năng hấp phụ tối đa của Cu^{2+} cho than điều chế ở 300, 450 và 600 °C lần lượt là 12,2; 21,8 và 21,6 mg/g. Khảo sát động học cho thấy quá trình hấp phụ đạt trạng thái cân bằng sau 5 giờ và mô hình động học giả bậc 2 là phù hợp để giải thích động học quá trình hấp phụ Cu^{2+} lên than sinh học. Kết quả chỉ ra rằng phân bò là chất thải có thể được chuyển đổi thành than sinh học có giá trị như một chất hấp phụ để loại bỏ độc tính Cu^{2+} khỏi môi trường nước [10].

1.3.2. Giới thiệu về thông *Pinus kesiya*

Thông ba lá *Pinus kesiya* hay được gọi vắn tắt là thông ba lá, có tên khoa học là *Pinus kesiya* Royle ex Gordon (*P. khasya* Hook.f), chúng thuộc họ Thông – Pinaceae.

Loài thông thường mọc ở các khu vực có độ cao trên 900 m, sống ở nơi có thổ nhưỡng tốt, khí hậu ôn hòa và nhiều sương mù. Thông *Pinus kesiya* chủ yếu phân bố tại các khu vực phía nam Trung Quốc, Việt Nam, Thái Lan, Malaysia, Ấn Độ.

Tại nước ta, phần lớn thông ba lá được trồng trên cao nguyên Langbiang (hơn 90%); mọc ở nơi có độ cao 1000 – 1800 m. Tuy nhiên, khi ở độ cao thấp hơn (800 – 1000 m, tại cao nguyên Di Linh) thì loài thông này không thể sống được. Đây cũng là loài thông chiếm diện tích lớn nhất trong các loài thông ở Việt Nam.

Thông ba lá có đặc điểm là cao trên 30 m; thân thẳng, tròn, vỏ dày, màu nâu sẫm và nứt dọc sâu. Lá cây có màu lục sẫm, mềm, thường có ba lá mọc thành cụm trong một bẹ ở đầu cành ngắn; độ dài của lá thường từ 15 – 20 cm, bẹ dài 1 – 2 cm. Nón quả hình trứng, rộng, dài 5 – 9 cm, chín trong hai năm, vẩy chín có rốn hơi lồi, đôi khi có gai nhọn, có hai đường gờ ngang và dọc, đi qua giữa mặt vẩy. Hạt có cánh dài 1,5 – 2,5 cm.

Dưới đây là một số hướng nghiên cứu sử dụng thông *Pinus* làm vật liệu hấp phụ Cu(II) trong dung dịch nước:

Redouane Ouafi và các cộng sự đã sử dụng bột của quả thông *Pinus halepensis* (PCP) để loại bỏ ion Cu(II) ra khỏi dung dịch nước. Quá trình hấp phụ này diễn ra nhanh, hoàn thành trong khoảng thời gian 60 phút, mô hình động học bậc 2 phù hợp với sự hấp phụ Cu(II) của PCP. Đường đẳng nhiệt hấp phụ Langmuir là đường đẳng nhiệt phù hợp nhất, với dung lượng hấp phụ cực đại là 9,08 mg/g. Đồng thời, các thông số nhiệt động lực học cho thấy quá trình hấp phụ Cu(II) là quá trình tự phát và thu nhiệt [32].

S. Wierzba và các cộng sự đã nghiên cứu sự ảnh hưởng của thông *Pinus sylvestris* đến hiệu quả hấp phụ các cation đồng. Các kết quả được giải thích bằng cách sử dụng mô hình động học bậc nhất và bậc hai cũng như mô hình đẳng nhiệt Langmuir và Freundlich. Nghiên cứu này cũng chỉ ra ảnh hưởng của sự cạnh tranh hấp phụ của Cu^{2+} và H^+ , cũng như ảnh hưởng bất lợi đến hiệu suất hấp phụ của $\text{Cu}(\text{OH})_2$ được hình thành trong điều kiện kiềm. Việc xử lý vật liệu hấp phụ bằng HCl hay NaOH sẽ làm giảm khả năng hấp phụ 29% so với vật liệu thô. Nhóm nghiên cứu cũng đã xác định cơ chế của quá trình hấp phụ kim loại nặng trong chất hấp phụ tự nhiên là trao đổi ion [36].

Tác giả Park Se-Keun và Kim Yeong-Kwan đã sử dụng lò phản ứng dạng cột đóng gói và lò phản ứng dạng lưới dòng chảy ngang để nghiên cứu khả năng loại bỏ Cu(II) ra khỏi dung dịch nước bằng cách sử dụng vật liệu hấp phụ từ cây thông *Pinus densiflora*. Các thí nghiệm trên được thực hiện với nồng độ Cu^{2+} là 10 mg/L và loại bỏ được 95%

Cu^{2+} . Sự hấp phụ ion này được mô tả tốt bằng các đường đẳng nhiệt Langmuir và Freundlich, mô hình động học biểu kiến bậc hai phù hợp với quá trình hấp phụ này [34].

Các nghiên cứu hấp phụ kim loại nặng liên quan đến thông *Pinus* đều cho hiệu suất hấp phụ cao, khả năng loại bỏ kim loại nặng tốt. Tuy nhiên, việc nghiên cứu để ứng dụng rộng rãi thông *Pinus* như một vật liệu hấp phụ còn rất ít quan tâm. Vì vậy, chúng em muốn sử dụng lá thông *Pinus kesiya* làm vật liệu hấp phụ có nguồn gốc sinh học để xử lý kim loại nặng trong dung dịch nước.

1.4. Kỹ thuật chiết pha rắn

1.4.1. Giới thiệu về kỹ thuật chiết pha rắn

Chiết pha rắn (Solid phase extraction – SPE) là phương pháp tách và làm giàu mẫu. Đây là kỹ thuật phổ biến nhất hiện nay bởi tính linh hoạt của SPE cho phép sử dụng kỹ thuật này với nhiều mục đích khác nhau, chẳng hạn: lọc, làm giàu vết, khử muối, tạo dẫn xuất và phân đoạn lớp. Trong vài năm gần đây, kỹ thuật này được các nhóm nghiên cứu quan tâm đặc biệt, được đánh giá cao bởi độ chính xác, khả năng chọn lọc tốt.

Nguyên tắc của SPE tương tự như chiết lỏng – lỏng (LLE), liên quan đến sự phân vùng các chất tan giữa hai pha. Tuy nhiên, thay vì sử dụng hai pha lỏng không hòa trộn vào nhau như LLE thì kỹ thuật SPE liên quan đến sự phân vùng giữa chất rắn và chất lỏng (nền mẫu hoặc dung môi với chất phân tích). Kỹ thuật xử lý mẫu này cho phép cô đặc và làm sạch chất phân tích ra khỏi dung dịch bằng cách hấp phụ trên chất hấp thụ rắn và làm sạch dịch chiết sau khi chiết [39].

Dưới đây là một số nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật chiết pha rắn để xử lý môi trường của các nhóm nghiên cứu:

Năm 2017, Yugao Guo, He Zhao và cộng sự đã đề xuất một phương pháp xác định quang phổ đồng thời cho vết các ion kim loại nặng dựa trên kỹ thuật chiết pha rắn và phương pháp bình phương tối thiểu từng phần (PLS). Trong nghiên cứu này, các vết ion kim loại nặng trong nước được hấp phụ bởi sợi trao đổi cation và được giải hấp bằng dung dịch acid. Sau quá trình cô đặc, dung dịch được làm giàu được đo bằng máy UV – Vis. Bằng cách sử dụng phương pháp bình phương tối thiểu từng phần kết hợp với phân tích UV-Vis để định lượng nồng độ các ion kim loại nặng. Trong điều kiện tối ưu về thời gian, tốc độ dòng và các thông số khác thì thu được kết quả thực nghiệm: các ion kim loại nặng được làm giàu hơn 80 lần. Giới hạn phát hiện LOD của ion Cu^{2+} , hỗn hợp ion Co^{2+} , ion Ni^{2+} lần lượt là 0,10; 0,15 và 0,13 $\mu\text{g/L}$ với độ lệch chuẩn tương đối

(RSD) nhỏ hơn 5%. Hiệu suất của quá trình chiết pha rắn có thể làm giàu các ion một cách hiệu quả, đánh giá chính xác nồng độ các ion [38].

Năm 2018, Casey W Quinn, David M Cate và cộng sự đã phát triển phương pháp chiết xuất/cô đặc pha rắn với một thiết bị phân tích dựa trên giấy vi lỏng để định lượng mức độ vết đồng trong nước uống. Phương pháp này hứa hẹn sẽ mang lại hiệu quả cao, chi phí thấp với các ưu điểm sau: chạy bằng tay (không dùng dụng cụ) và sử dụng motif định lượng “đọc bằng mắt” đơn giản (dựa trên khoảng cách màu). Các mẫu nước máy đã được thu thập và thực nghiệm bằng phương pháp này và được kiểm nghiệm lại bằng phương pháp ICP-MS. Từ kết quả thực nghiệm, chứng minh khả năng định lượng hàm lượng đồng của nước máy ở các mức từ 20 – 500000 ppb và cho hiệu suất chiết pha rắn cao. Với việc áp dụng phương pháp này, có thể xem đây là một công cụ sàng lọc nhanh, phát hiện các kim loại hòa tan trong hệ thống nước nhanh hơn, mang lại hiệu quả về kinh tế [17].

Năm 2020, Emily Hanhauser, Michael S Bono cùng cộng sự đã đề xuất một mô hình mới để kiểm tra định lượng chất ô nhiễm bằng phương pháp bảo quản khô, bao gồm: kỹ thuật chiết pha rắn, giữ chất ô nhiễm khỏi bị hỏng (bảo quản), lưu trữ, vận chuyển và phân tích vết bản (SEPSTAT). Với vài gam nhựa trao đổi ion rẻ tiền, có sẵn trên thị trường để tái sử dụng việc chiết xuất các ion kim loại nặng từ các mẫu nước ngay cả khi có các ion nê, bảo quản các ion trong ít nhất 24 tháng và giải phóng chúng bằng acid rửa giải để định lượng chính xác hơn. Thiết bị nhỏ gọn kết hợp với chất hấp phụ sẽ loại bỏ các chất ô nhiễm ra khỏi mẫu nước trong vài phút. Ngoài ra, việc định lượng nồng độ kim loại nặng của các mẫu ban đầu chỉ sai số khoảng 15%. Việc áp dụng kỹ thuật chiết pha rắn cho phép phát hiện nồng độ ion Cu^{2+} tối thiểu và có thể định lượng bằng phương pháp SEPSTAT, cụ thể chỉ số $\text{MDL}(\text{Cu}^{2+}) = 1,1 \text{ ppb}$ và $\text{LQD}(\text{Cu}^{2+}) = 2,2 \text{ ppb}$ [20].

1.4.2. Điều kiện chiết pha rắn SPE [39]

Để có thể sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn, cần phải đảm bảo các yêu cầu như: tính chọn lọc của pha tĩnh chiết; các chất chiết và dung môi rửa giải phải có độ tinh khiết và độ sạch cao; hệ số phân bố nhiệt động K của cân bằng chiết phải lớn; quá trình chiết phải xảy ra nhanh và nhanh đạt trạng thái cân bằng nhưng không có tương tác phản ứng hóa học làm mất hay hỏng pha rắn và chất phân tích; cần có tính thuận nghịch trong quy trình chiết; không được làm nhiễm bản chất phân tích từ bất kỳ nguồn nào khác; sự chiết

phải được thực hiện trong điều kiện nhất định, phải lặp lại được tốt và phải đơn giản về mặt thao tác.

1.4.3. Cơ chế của quy trình chiết pha rắn

Việc lựa chọn chất hấp phụ để chiết bằng kỹ thuật SPE phụ thuộc vào việc hiểu cơ chế tương tác giữa chất hấp phụ và chất phân tích cần quan tâm. Cơ chế tương tác này phụ thuộc chủ yếu ở tính chất chất kỵ nước, phân cực và chất điện ly của chất tan, chất hấp phụ. Những cơ chế phổ biến nhất đối với kỹ thuật SPE dựa trên tương tác Van de Waals, liên kết hidro, tương tác lưỡng cực – lưỡng cực, tương tác ion (giữa cation và anion). Cơ chế của quy trình chiết pha rắn diễn ra theo các cơ chế: cơ chế chiết pha thường (NPE); cơ chế chiết pha đảo (RPE); cơ chế chiết chiết rây phân tử (loại cỡ, gel); cơ chế trao đổi ion (trong cơ chế trao đổi ion bao gồm trao đổi cation và trao đổi anion).

Kỹ thuật SPE giữ chất phân tích ở lại trên pha rắn sau đó rửa giải chất phân tích ra khỏi pha rắn với dung môi phù hợp. Thường, thể tích cần thiết để rửa giải hoàn toàn chất phân tích luôn nhỏ hơn nhiều so với thể tích dung dịch mẫu ban đầu, thế nên mẫu cần được làm giàu. Các chất sau khi được tách khỏi dung dịch ban đầu với nồng độ đậm đặc và tinh khiết hơn [39].

Sở dĩ người ta hay quan tâm, sử dụng phương pháp này trong phân tích, nhất là khi phân tích hàm lượng các vi chất độc hại đối với môi trường là bởi các ưu điểm sau:

- Áp dụng đối với nhiều lĩnh vực
- Có độ chọn lọc cao đối với hợp chất cần phân tích;
- Cân bằng chiết nhanh có tính thuận nghịch;
- Thao tác đơn giản, nhanh hơn những kỹ thuật chiết khác;
- Trong quá trình chiết có cả sự làm giàu chất phân tích;
- Thích hợp với lượng mẫu nhỏ, phân tích lượng vết các chất;
- Chi phí thực hiện phù hợp, không quá đắt.
- Đạt hiệu suất cao trong quá trình thu hồi chất phân tích.

Như vậy, có thể thấy rằng việc ứng dụng kỹ thuật chiết pha rắn là điều hết sức cần thiết bởi có nhiều ưu điểm, thuận lợi trong việc làm giàu và phân tích mẫu. Chính vì những lí do trên, chúng em đề xuất đề tài theo hướng “**Nghiên cứu khả năng hấp phụ, làm giàu đồng (II) trong nước bằng lá thông Pinus kesiya và ứng dụng trong phân**

tích mẫu môi trường”, bởi hàng năm lượng rác thải lá thông tại Đà Lạt tương đối nhiều nên việc tận dụng nguồn lá thông để chế tạo vật liệu hấp phụ vừa góp phần bảo vệ môi trường, xử lý ion kim loại nặng ở trong nước; đồng thời tiết kiệm được chi phí tiêu hủy lượng rác thải lá thông.

Chương 2 – ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Thu thập và sử dụng lá thông *Pinus kesiya* khô tạo thành vật liệu hấp phụ.
- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu hấp phụ từ lá thông: pH, thời gian, nhiệt độ, nồng độ Cu(II) ban đầu và sự có mặt của ion cản trở.
- Nghiên cứu động học của quá trình hấp phụ. Xây dựng đường hấp phụ đẳng nhiệt và xác định đại lượng hấp phụ cực đại của vật liệu.
- Sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn để làm giàu Cu(II) trong nước.
- Ứng dụng trong phân tích môi trường bằng cách lấy mẫu nước thực tế để xử lý.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu cấu trúc vật liệu

2.2.1.1. Phương pháp xác định hình thái học bề mặt bằng hiển vi điện tử quét

Phương pháp hiển vi điện tử quét (SEM) giúp quan sát ảnh chụp bề mặt các đối tượng cực nhỏ để đánh giá cấu trúc nhờ độ phóng đại đến hàng chục vạn lần.

Cơ sở của phương pháp: Trong kính hiển vi điện tử mẫu bị bắn phá bởi chùm tia điện tử có độ hội tụ cao. Nếu mẫu đủ mỏng (< 200 nm) chùm tia sẽ xuyên qua mẫu, sự thay đổi của chùm tia khi qua mẫu sẽ cho những thông tin về các khuyết tật, thành phần pha của mẫu; đó là kỹ thuật hiển vi điện tử xuyên qua (TEM). Khi mẫu dày hơn thì sau khi tương tác với bề mặt tia điện tử thứ cấp sẽ đi theo hướng khác. Các điện tử thứ cấp này sẽ được thu nhận và chuyển đổi thành hình ảnh (ảnh hiển vi điện tử quét SEM).

Ảnh SEM của các vật liệu lá thông *Pinus kesiya* trong đề tài được thực hiện trên máy FE-SEM Hitachi S-4800 (Nhật Bản) tại Viện Khoa học Vật liệu – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

2.2.1.2. Phương pháp quang phổ hồng ngoại (IR)

Nguyên tắc của phương pháp này là chiếu một chùm tia đơn sắc qua chất cần phân tích với số sóng nằm trong vùng hồng ngoại, một phần năng lượng bị hấp thụ sẽ giảm cường độ tia tới. Sự hấp thụ năng lượng này tuân theo định luật Lambert – Beer:

$$D = \log \frac{I_0}{I} = KdC \quad (2.1)$$

Trong đó:

D: Mật độ quang

I, I₀: Cường độ ánh sáng trước và sau khi đi qua chất phân tích

C: Nồng độ chất cần phân tích

K: Hệ số hấp thụ

d: Chiều dày chất phân tích

T = I/I₀: Độ truyền qua

Độ dài liên kết giữa các nguyên tử và góc hóa trị tăng giảm tuần hoàn do phân tử bị hấp thụ năng lượng sẽ làm xô dịch các hạt nhân nguyên tử xung quanh vị trí cân bằng của nó. Đường cong biểu diễn sự phụ thuộc của độ truyền qua vào bước sóng được gọi là phổ hồng ngoại. Trên phổ hồng ngoại sẽ xuất hiện những bước sóng đặc trưng bằng các điểm cực đại hấp thụ của mỗi nhóm chức hoặc mỗi liên kết. Căn cứ vào điểm cực đại này có thể xác định được liên kết giữa các nguyên tử hoặc nhóm nguyên tử, từ đó xác định được cấu trúc của chất nghiên cứu.

Các mẫu vật liệu trong nghiên cứu này được phân tích bằng phương pháp đo quang phổ hồng ngoại trên thiết bị đo phổ hồng ngoại Nicolet iS5 tại Khoa Hóa học, Trường Đại học Đà Lạt.

2.2.1.3. Phương pháp xác định điểm điện tích không của vật liệu

Điểm điện tích không (Point of zero charge, pzc) của bề mặt một chất là giá trị pH tại đó bề mặt vật liệu trung hòa về điện. Phương pháp xác định dựa trên giả thiết là các proton H⁺ và các nhóm hydroxyl OH⁻ là các ion quyết định điện tích, các hạt vật liệu trong dung dịch sẽ hấp thụ H⁺ hoặc OH⁻. Điện tích bề mặt của vật liệu phụ thuộc vào pH của dung dịch. Các nhóm chức trên bề mặt vật liệu có thể liên kết hoặc không liên kết với proton, phụ thuộc vào đặc điểm của vật liệu và pH của dung dịch. Do đó, bề mặt của vật liệu sẽ tích điện dương khi kết hợp với proton của dung dịch trong môi trường axit và sẽ tích điện âm khi mất proton trong môi trường kiềm.

Để xác định điểm tích điện không của vật liệu cần trải qua các bước:

Bước 01: Chuẩn bị 10 bình tam giác chứa 50,00 mL dung dịch KCl 0,1000 M, điều chỉnh giá trị pH bằng HCl 0,1000 N ; 0,0100 N hoặc NaOH 0,1000 N; 0,0100 N để thu được các giá trị pH_i tương ứng từ 2 đến 11.

Bước 02: Cho 0,1000 gam vật liệu vào các bình đã chuẩn bị ở trên, đậy kín và khuấy trong vòng 24 giờ. Sau đó, lọc lấy dung dịch và đo giá trị pH (gọi là pH_f).

Bước 03: Xác định đồ thị phụ thuộc ΔpH (ΔpH = pH_i – pH_f) vào pH_i. Giao điểm giữa đồ thị và trục Ox tại giá trị ΔpH = 0 là giá trị pH tại điểm điện tích không của vật liệu (pH_{pzc}). Tiến hành thí nghiệm ba lần ứng với mỗi giá trị pH_i của dung dịch.

2.2.2. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) [2,5]

Để nghiên cứu khả năng hấp phụ Cu(II) của lá thông, chúng em sử dụng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS).

❖ Cơ sở lý thuyết của phép đo phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) [2,5]

Sự hấp thụ năng lượng bức xạ đơn sắc của các nguyên tử tự do ở trạng thái hơi khi chiếu chùm tia bức xạ qua đám hơi của nguyên tố ấy trong môi trường hấp thụ. Trong một giới hạn nhất định của nồng độ C, giá trị độ hấp thụ quang (A) phụ thuộc vào nồng độ C của nguyên tố trong mẫu theo phương trình cơ sở định lượng của phép đo AAS.

$$A\lambda = K.C^b \quad (2.2)$$

Trong đó:

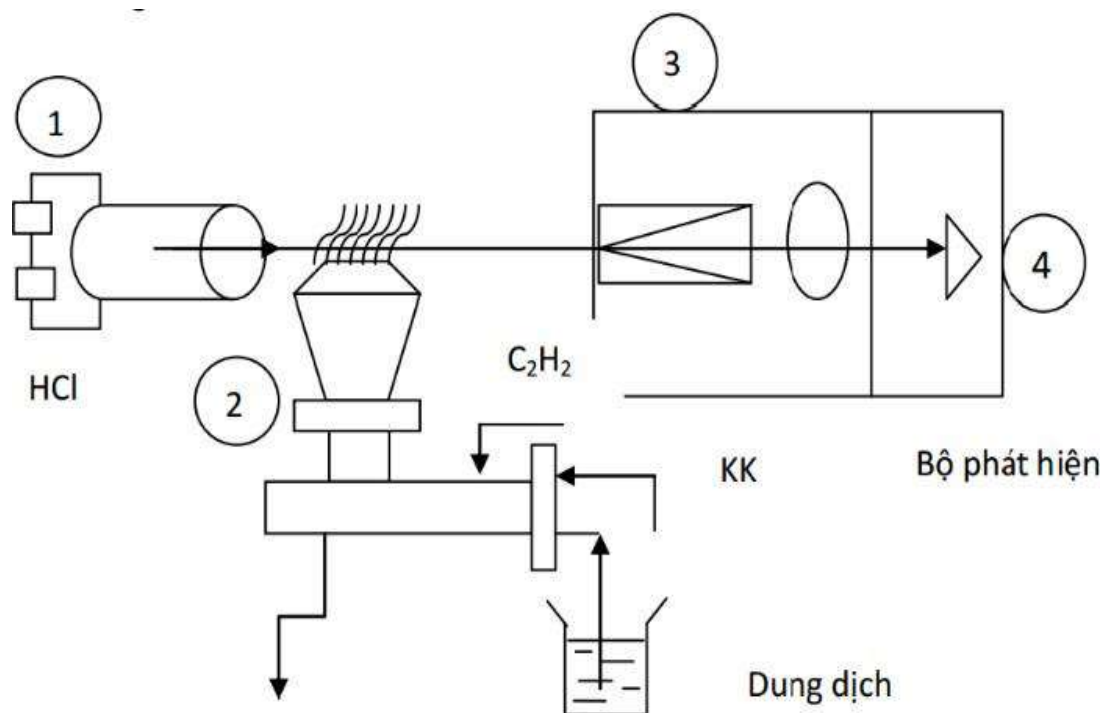
Aλ: Độ hấp thụ quang.

b: Hằng số (0 < b ≤ 1). Khi b = 1, Aλ phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ C.

K: Hằng số thực nghiệm.

C: Nồng độ nguyên tố cần phân tích.

Mẫu chứa nguyên tố cần phân tích được đưa vào lò graphite bằng một bộ hút tự động hoặc bằng tay với thể tích rất nhỏ từ 20μL - 50μL. Dựa vào nguyên tắc của phép đo có thể thấy hệ thống trang thiết bị đo AAS được chỉ ra trong Hình 2.1:



Hình 2.1- Sơ đồ hệ thống máy hấp thụ nguyên tử (Shimadzu AA6800 – Nhật Bản)

Trong đó:

1. Nguồn phát xạ tia bức xạ đơn sắc (đèn cathode rỗng).
2. Bộ phận nguyên tử hóa mẫu.
3. Hệ thống đơn sắc và detector.
4. Bộ phận khuếch đại và chỉ thị kết quả của phép đo.

Để xác định nồng độ của nguyên tố trong mẫu phân tích theo phép đo AAS, có thể tiến hành theo phương pháp đường chuẩn hoặc phương pháp thêm chuẩn. Trong đề tài này, chúng em tiến hành theo *phương pháp đường chuẩn*.

- Nguyên tắc: Dựa vào dãy mẫu chuẩn (≥ 5) để lập đồ thị chuẩn $D = f(C)$ rồi từ đồ thị này và giá trị D_x của mẫu phân tích để xác định nồng độ C_x của nguyên tố cần phân tích trong mẫu.

- Chuẩn bị các mẫu đầu để dựng đường chuẩn $D = f(C)$:

Dung dịch chuẩn để dựng đường chuẩn phải thoả mãn các điều kiện sau:

+ Các mẫu chuẩn phải có trạng thái vật lý và hoá học gần giống mẫu phân tích để loại trừ được ảnh hưởng của thành phần mẫu đến kết quả phân tích. Các mẫu chuẩn và

mẫu phân tích phải được xử lý và tiến hành phân tích trong những điều kiện như nhau. Mẫu chuẩn bền, không thay đổi thành phần trong suốt quá trình phân tích.

+ Nồng độ của các nguyên tố cần phân tích trong các mẫu chuẩn phải rất chính xác và khoảng nồng độ của dãy mẫu chuẩn phải được phân bố đều khắp trong vùng tuyến tính của phép đo, đồng thời nồng độ của mẫu phân tích phải nằm trong khoảng nồng độ mẫu chuẩn khảo sát.

Dựng đường chuẩn:

+ Ta tiến hành đo mật độ hấp thụ của dãy dung dịch chuẩn (D) và mẫu phân tích (D_x), từ kết quả ta vẽ đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của mật độ hấp thụ D vào nồng độ C. Từ đồ thị hoặc phương trình đường chuẩn $D = f(C)$ và giá trị D_x tính được C_x .

- Ưu và nhược điểm, phạm vi ứng dụng của phép đo AAS

+ *Ưu điểm:* Có độ nhạy và độ chọn lọc cao với gần 65 nguyên tố hoá học có thể xác định bằng phương pháp này với độ nhạy từ $10^{-4} \div 10^{-5}\%$. Do có độ nhạy cao nên trong nhiều trường hợp không phải làm giàu nguyên tố cần xác định trước khi phân tích nên tốn ít mẫu, tốn ít thời gian phân tích, tránh nhiễm bẩn mẫu khi xử lý qua các giai đoạn phức tạp. Thao tác dễ dàng, các kết quả phân tích có thể lưu giữ trên máy, có thể xác định liên tiếp nhiều nguyên tố trong cùng một mẫu. Kết quả phân tích ổn định, sai số nhỏ (khoảng $10\% \div 15\%$ cho vùng nồng độ cỡ ppm hoặc ppb).

+ *Nhược điểm:* Hệ thống thiết bị tương đối đắt tiền. Do có độ nhạy cao nên sự nhiễm bẩn có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích, đặc biệt là phân tích lượng vết. Vì vậy, môi trường trong phòng thí nghiệm phải sạch, dụng cụ và hoá chất phải có độ tinh khiết cao. Không xác định được các phi kim như C, Cl, O, N, S vì các vạch phổ phân tích của các phi kim này thường nằm ngoài vùng phổ của máy (190– 900nm). Phương pháp chỉ xác định được nguyên tố mà không cho biết trạng thái liên kết của nguyên tố trong mẫu.

- Phạm vi ứng dụng: Phép đo phổ AAS chủ yếu được dùng để xác định hàm lượng vết các nguyên tố kim loại trong các đối tượng phân tích khác nhau. Đến nay, người ta có thể định lượng được hầu hết các kim loại (khoảng 70 nguyên tố). Do có độ nhạy, độ chính xác và độ chọn lọc cao mà phương pháp này thường được ứng dụng để xác định vi lượng các nguyên tố trong phân tích môi trường, phân tích đất, nước và các sản phẩm công – nông nghiệp, thực phẩm.

2.3. Thực nghiệm

2.3.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

2.3.1.1. Thiết bị và dụng cụ

- Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử Shimadzu AA – 6800, Nhật Bản.
- Cân phân tích có độ nhạy 10^{-5} của hãng Satorius, Cộng hòa Liên bang Đức.
- Tủ sấy Shellab của Vương Quốc Anh
- Máy khuấy từ gia nhiệt IKA model RCT basic, Cộng hòa Liên bang Đức.
- Máy đo pH để bàn WTW inoLab 730, Cộng hòa Liên bang Đức.
- Máy nghiền IKA model A11 basic, Cộng hòa Liên bang Đức. Rây có kích thước $212 \div 125 \mu\text{m}$.
- Cốc, phễu, bình tam giác, bình định mức Isolab các loại, pipet các loại; micropipet hãng Eppendorf loại 20, 100, 5000 μL , Cộng hòa Liên bang Đức.
- Các ống nghiệm polyetylen (P.E) dung tích 10 mL đựng mẫu; đĩa thủy tinh; giấy lọc Whatman lỗ lọc 20 – 25 μm .

2.3.1.2. Hóa chất

Các hóa chất sử dụng trong đề tài này đều đảm bảo độ tinh khiết phân tích (PA):

- Axit nitric (Dùng để bảo quản mẫu)
- Dung dịch axit clohidric (Dùng để hiệu chỉnh pH)
- Dung dịch natri hydroxit (Dùng để hiệu chỉnh pH)
- $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- KCl
- Na_2SO_4

2.3.2. Chuẩn bị dung dịch khảo sát khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông *Pinus kesiya*

❖ Chuẩn bị dung dịch chuẩn Cu(II) 1000 mg/L

Cân ($3,8211 \pm 0,0001$) gam $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vào cốc 250 mL, dùng bình tia cho một ít nước cất vào cốc để hòa tan dung dịch trên. Dùng đĩa thủy tinh khuấy cho tan hết chất rắn, sau đó chuyển định lượng này vào bình định mức 1000 mL. Tráng rửa cốc bằng nước cất, chuyển lượng này vào bình định mức (thực hiện 2 – 3 lần) rồi thêm nước cất đến vạch, đậy nắp bình và lắc đều.

❖ ***Chuẩn bị dung dịch HCl 0,1 N hiệu chỉnh pH trong quá trình khảo sát***

Chuyển toàn bộ dung dịch HCl trong ống chuẩn fixanal vào bình định mức 1000 mL, tráng fixanal bằng nước cất nhiều lần, thêm nước cất vào đến vạch, đậy nắp bình, lắc đều thu được dung dịch HCl 0,1 N.

❖ ***Chuẩn bị dung dịch NaOH 0,1 M hiệu chỉnh pH trong quá trình khảo sát:***

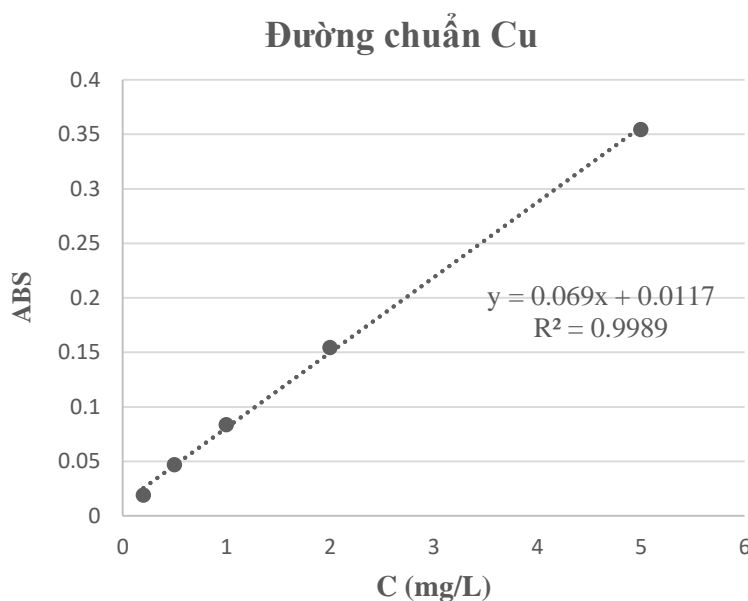
Cân ($4,0000 \pm 0,0001$) gam NaOH rắn vào cốc 250 mL, dùng bình tia cho một ít nước cất vào cốc để hòa tan dung dịch NaOH. Dùng đũa thủy tinh khuấy cho tan hết chất rắn, sau đó chuyển định lượng NaOH này vào bình định mức 1000 mL. Tráng rửa cốc bằng nước cất, chuyển lượng này vào bình định mức (thực hiện 2 – 3 lần) rồi thêm nước cất đến vạch, đậy nắp bình và lắc đều.

Trong quá trình thực nghiệm, các dung dịch có nồng độ nhỏ hơn đều được pha chế từ dung dịch gốc.

2.3.3. Thu thập và xử lý mẫu

Trong nghiên cứu này, chúng em sử dụng lá thông ba lá *Pinus Kesiya* để chế tạo vật liệu hấp phụ và phục vụ trong quá trình khảo sát thực nghiệm. Lá thông khô được thu thập tại khuôn viên khoa Hóa học – Trường Đại học Đà Lạt. Sau khi thu thập, lá thông khô được rửa sạch để loại bỏ bụi bẩn hữu cơ và các chất bẩn bám dính, tiến hành ngâm bằng nước sạch trong một ngày rồi phơi khô để làm bay hơi các bụi bẩn còn sót lại. Sau đó, rửa lại bằng nước cất đến khi nước rửa không có màu nâu đục. Sở dĩ, phải rửa lại lá thông bằng nước cất là do nước cất có độ tinh khiết, không lẫn nhiều tạp chất, ion hơn so với nước sạch do đó phải rửa lại bằng nước cất để đảm bảo lá thông không bị lẫn ion, tạp chất để thu được kết quả thực nghiệm chính xác nhất. Thao tác này được thực hiện nhằm loại bỏ màu nâu của lá thông khô có thể cản trở quá trình xử lý sau này. Mẫu lá thông được cắt nhỏ với kích thước khoảng 2 cm, tiến hành sấy khô ở 80°C cho đến khối lượng không đổi trong vòng 24 giờ, nghiền nhỏ và rây để có kích thước trong khoảng 125 - 212 μm . Vật liệu được bảo quản kín trong lọ plastic, bảo quản ở nhiệt độ phòng, nơi khô ráo thoáng mát.

2.3.4. Xây dựng đường chuẩn phân tích nguyên tố Cu



Hình 2.1- Đường chuẩn của nguyên tố Cu bằng phép đo AAS

Khoảng nồng độ để xây dựng đường chuẩn tuyến tính bằng phép đo AAS trong đề tài này là 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 mg/L.

2.3.5. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu

2.3.5.1. Khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng hấp phụ vật liệu

Cân ($0,5000 \pm 0,0001$) gam vật liệu lá thông cho vào bình tam giác có chứa sẵn 50 mL dung dịch Cu(II) có nồng độ 100 mg/L được điều chỉnh pH 2-8 với tốc độ khuấy 200 vòng/phút trong 180 phút. Lọc lấy dung dịch, pha loãng dung dịch với hệ số thích hợp, sau đó cho vào ống chứa mẫu bằng nhựa. Nhỏ vào ống đựng dung dịch vài giọt HNO₃ để bảo quản mẫu, rồi đem đo AAS. Xác định được dung lượng hấp phụ của mẫu vật liệu, từ đó chọn được pH tối ưu cho quá trình hấp phụ.

Mỗi giá trị pH làm 3 lần thí nghiệm rồi lấy giá trị trung bình. Sử dụng dung dịch HCl 0,1 N và dung dịch NaOH 0,1 N để hiệu chỉnh giá trị pH.

2.3.5.2. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến khả năng hấp phụ của vật liệu

Cân ($0,5000 \pm 0,0001$) gam vật liệu lá thông cho vào bình tam giác có chứa sẵn 50 mL dung dịch Cu(II) có nồng độ 100 mg/L có pH = 5 với tốc độ khuấy 200 vòng/phút trong khoảng thời gian thay đổi từ 10 - 240 phút. Lọc lấy dung dịch, pha loãng dung dịch với hệ số thích hợp. sau đó cho vào ống chứa mẫu bằng nhựa. Nhỏ vào ống đựng

dung dịch vài giọt HNO_3 để bảo quản mẫu, rồi đem đo AAS. Xác định được dung lượng hấp phụ của mẫu vật liệu, từ đó chọn được thời gian tối ưu cho quá trình hấp phụ.

Mỗi giá trị thời gian làm 3 lần thí nghiệm rồi lấy giá trị trung bình. Sử dụng dung dịch HCl 0,1N và dung dịch NaOH 0,1N để hiệu chỉnh giá trị pH.

2.3.5.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ ban đầu đến khả năng hấp phụ của vật liệu

Cân ($0,5000 \pm 0,0001$) gam vật liệu lá cho vào bình tam giác có chứa sẵn 50 mL dung dịch Cu(II) có nồng độ thay đổi từ 50 - 300 mg/L có pH= 5 với tốc độ khuấy 200 vòng/ phút trong 180 phút. Lọc lấy dung dịch, pha loãng dung dịch với hệ số thích hợp, sau đó cho vào ống chứa mẫu bằng nhựa. Nhỏ vào ống đựng dung dịch vài giọt HNO_3 để bảo quản mẫu, rồi đem đo AAS. Xác định được dung lượng hấp phụ của mẫu vật liệu, từ đó chọn được nồng độ ban đầu tối ưu cho quá trình hấp phụ.

Mỗi giá trị nồng độ làm 3 lần thí nghiệm rồi lấy giá trị trung bình. Sử dụng dung dịch HCl 0,1N và dung dịch NaOH 0,1N để hiệu chỉnh giá trị pH.

2.3.5.4. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng hấp phụ của vật liệu

Cân ($0,5000 \pm 0,0001$) gam vật liệu lá thông cho vào bình tam giác có chứa sẵn 50 mL dung dịch Cu(II) có nồng độ thay đổi từ 50 – 300 mg/L có pH= 5 dùng bếp khuấy từ điều chỉnh nhiệt độ 30°C , 40°C , 50°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) trong 180 phút với tốc độ khuấy 200 vòng/phút. Lọc lấy dung dịch, pha loãng dung dịch với hệ số thích hợp, sau đó cho vào ống chứa mẫu bằng nhựa. Nhỏ vào ống đựng dung dịch vài giọt HNO_3 để bảo quản mẫu, rồi đem đo AAS. Xác định được dung lượng hấp phụ của mẫu vật liệu, từ đó tính được các đại lượng nhiệt động học.

Mỗi giá trị nồng độ làm 3 lần thí nghiệm rồi lấy giá trị trung bình. Sử dụng dung dịch HCl 0,1N và dung dịch NaOH 0,1N để hiệu chỉnh giá trị pH.

2.3.6. Nghiên cứu hấp phụ động

Chuẩn bị cột chiết pha rắn (SPE) có chiều dài 10 cm và đường kính 0,5 cm; nhồi vào cột 1,0000 gam vật liệu LT theo phương pháp nhồi khô. Cố định và nén chặt lớp vật liệu hấp phụ bằng 1 lớp polypropylene. Điều kiện hóa cột chiết 2 lần, mỗi lần bằng 10 mL nước cất đã được điều chỉnh pH bằng với pH của nền mẫu sẽ cho hấp phụ qua cột chiết. Cho dung dịch mẫu chứa ion Cu(II) chảy qua cột với tốc độ phù hợp. Sau khi dung dịch mẫu di chuyển hết qua cột chiết pha rắn, cột chiết được rửa với 10 mL nước cất đã được điều chỉnh pH bằng pH của nền mẫu đã cho qua cột chiết. Cuối cùng rửa

giải các ion kim loại bằng dung dịch rửa giải thích hợp và xác định hàm lượng ion kim loại bằng phương pháp F-AAS.

Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách và làm giàu trên cột chiết được khảo sát bao gồm tốc độ nạp mẫu; khảo sát tìm chất rửa giải và nồng độ chất rửa giải thích hợp, tốc độ rửa giải. Từ đó, xác định hệ số làm giàu, xây dựng quy trình phân tích.

2.3.6.1. Khảo sát tốc độ nạp mẫu

Nhồi vào cột 1,0000 g vật liệu. Lấy 100 mL dung dịch Cu(II) 0,1 mg/L; điều chỉnh pH = 5; cho dung dịch chảy qua cột chiết với tốc độ thay đổi từ 0,2 đến 2,5 mL/phút. Giải hấp hết lượng ion kim loại trên cột bằng 10 mL dung dịch HNO₃ 0,5N, tốc độ giải hấp 0,5 mL/phút, xác định hàm lượng ion kim loại thu được sau khi giải hấp bằng phương pháp F-AAS.

2.3.6.2. Khảo sát nồng độ chất rửa giải

Nhồi vào cột chiết pha rắn 1,0000 gam vật liệu. Lấy 100 mL dung dịch Cu(II) 0,1 mg/L; điều chỉnh pH = 5; cho chảy qua cột chiết với tốc độ nạp mẫu là 1,0 mL/phút. Giải hấp hết lượng ion kim loại trên cột bằng 10 mL dung dịch axit có nồng độ thay đổi từ 0,5 N đến 4,0 N; tốc độ giải hấp 0,5 mL/phút, xác định hàm lượng ion kim loại thu được sau khi giải hấp bằng phương pháp F-AAS.

2.3.6.3. Ảnh hưởng lượng ion kim loại đến hiệu suất hấp phụ của vật liệu

Để nhận được hiệu suất thu hồi cao và thông qua đó đánh giá được hệ số làm giàu P.F (Preconcentration Factor), nhồi vào cột chiết pha rắn 1,0000 gam vật liệu, cho lần lượt 50 đến 500 mL dung dịch 0,01 mg Cu(II), điều chỉnh pH = 5, cho chảy qua cột chiết với tốc độ nạp mẫu là 1,0 mL/phút. Giải hấp hết lượng ion kim loại trên cột bằng 10 mL dung dịch axit HNO₃ có nồng độ 3,0N với tốc độ 0,5 mL/phút, xác định hàm lượng ion kim loại thu được sau khi giải hấp bằng phương pháp F-AAS.

2.3.7. Cơ sở tính toán

❖ Hiệu suất hấp phụ

$$H (\%) = \frac{c_0 - c_e}{c_0} \cdot 100 \quad (2.3)$$

❖ Dung lượng hấp phụ

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e) \cdot V}{m} \quad (2.4)$$

Trong đó:

q_e là dung lượng hấp phụ (mg/g).

C_0 là nồng độ dung dịch ban đầu (mg/L).

C_e là nồng độ dung dịch sau khi hấp phụ (mg/L).

m là khối lượng vật liệu hấp phụ đã sử dụng (g).

V là thể tích dung dịch tiêu tốn (L).

❖ **Hiệu suất thu hồi**

$$H\% = \frac{C}{C_0} \cdot 100 \quad (2.5)$$

Trong đó:

$H(\%)$ là hiệu suất thu hồi

C (mg/L) là nồng độ chất chuẩn tìm được bằng thực nghiệm

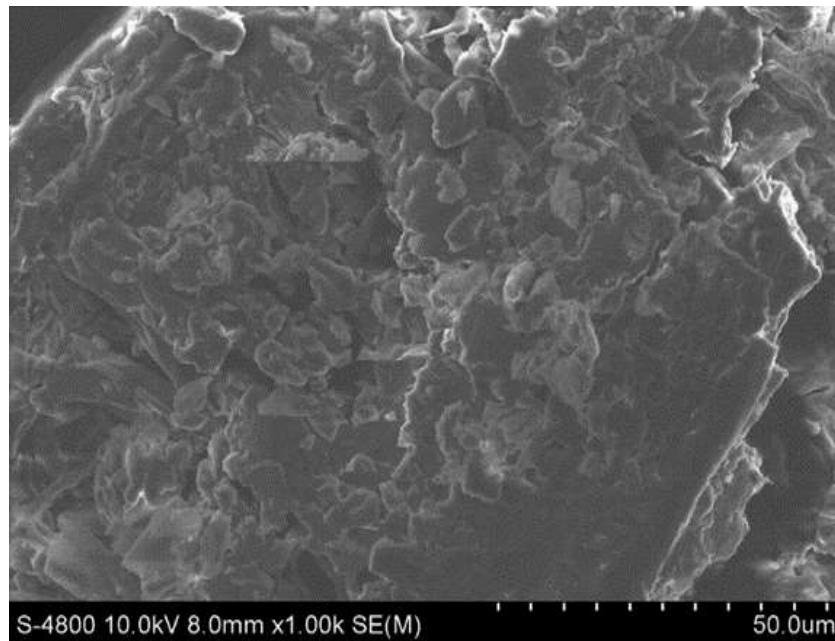
C_0 (mg/L) là nồng độ chất chuẩn thêm ban đầu

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc trưng cấu trúc của vật liệu

3.1.1. Hình ảnh bề mặt vật liệu

Quan sát hình ảnh SEM của vật liệu trên *Hình 3.1* cho thấy bề mặt vật liệu gồ ghề, xốp, nhiều lỗ trống và kích thước các lỗ trống khá đồng đều nhau. Những đặc điểm trên tạo điều kiện thuận lợi cho việc lưu giữ ion Cu(II) giữa các vị trí lỗ trống, điều này giúp quá trình hấp phụ đạt hiệu suất cao trong thời gian ngắn. Các đặc điểm này cũng đã được báo cáo bởi các nghiên cứu khác [29], [31].



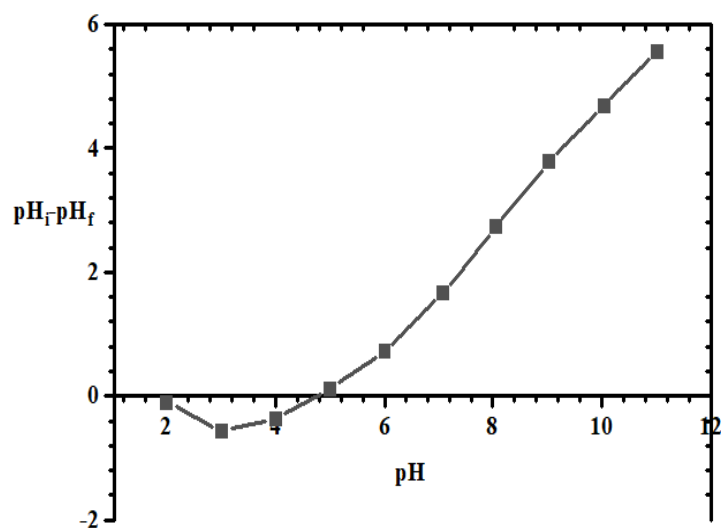
Hình 3.1- Ảnh SEM của vật liệu

3.1.2. Xác định điểm điện tích không của vật liệu

pH_{pzc} là một yếu tố xác nhận khả năng hấp phụ ion kim loại trong điều kiện các tâm hấp phụ trên bề mặt chất hấp phụ mang điện tích trái dấu với điện tích của ion kim loại. Do đó, dựa vào pH_{pzc} có thể dự đoán khả năng hấp phụ của vật liệu đối với các dạng tồn tại của ion kim loại ở giá trị pH bất kỳ [24].

Bảng 3.1- Kết quả khảo sát điểm điện tích không của vật liệu lá thông

pH _i	LT	
	pH _f	pH _i - pH _f
2,00	2,1	-0,10
3,01	3,58	-0,57
3,99	4,35	-0,36
5,00	4,35	0,12
6,00	4,28	0,72
7,09	4,34	1,66
8,05	4,36	2,73
9,02	4,26	3,79
10,03	4,33	4,69
11,01	4,47	5,56

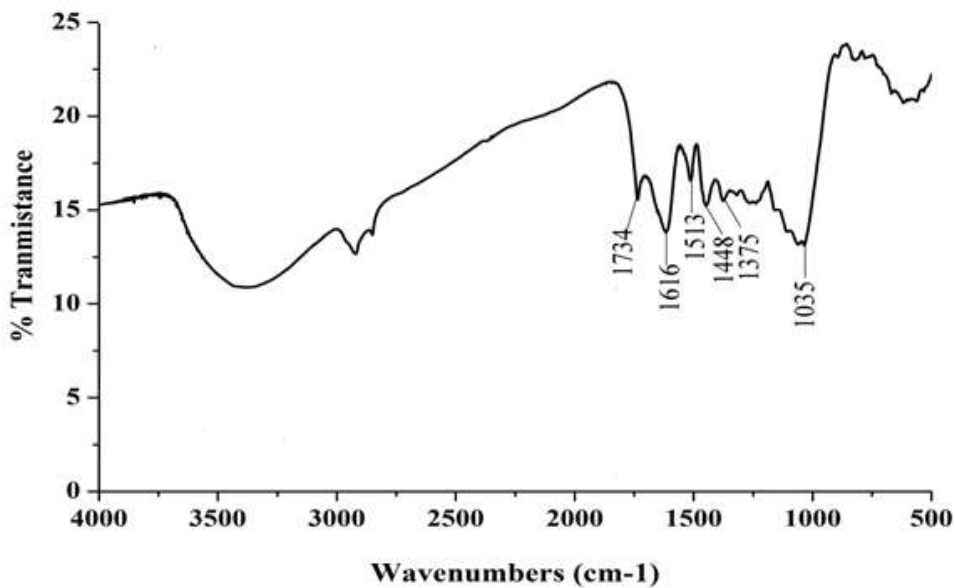
**Hình 3.2-** Đồ thị xác định pH_{pzc} của vật liệu

Kết quả xác định pH_{pzc} của vật liệu được biểu diễn ở Hình 3.2. Kết quả này cho phép dự đoán điểm điện tích không của vật liệu ở khoảng 4,5. Như vậy, khi pH của dung dịch nhỏ hơn pH_{pzc} thì bề mặt của vật liệu hấp phụ mang điện tích dương và sẽ hấp phụ

anion tốt hơn. Ngược lại, nếu pH dung dịch lớn hơn pH_{pzc} , bề mặt vật liệu mang điện tích âm và sẽ hấp phụ cation tốt hơn.

3.1.3. Cấu trúc phổ hồng ngoại FTIR của vật liệu

Phổ hồng ngoại FTIR (Hình 3.3) được dùng để giải thích cấu trúc của vật liệu. Dải rộng tại $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ cho thấy nhóm OH bị kéo căng, cũng có thể ứng với dao động hóa trị N–H ở amin bậc 1 và bậc 2. Dải cường độ thấp hơn tại $2925-2913\text{ cm}^{-1}$ cho thấy sự dao động của nhóm CH_2 liên kết với gốc metyl và metylen, dao động biến dạng của liên kết C–H. Tại khoảng 1735 cm^{-1} có sự dao động của nhóm C=O của nhóm cacbonyl có trong hemicellulose và vùng giữa $1630-1600\text{ cm}^{-1}$ biểu hiện liên kết C=C kéo căng của vòng thơm và liên kết C=C. Dải $1400-1300\text{ cm}^{-1}$ biểu hiện dao động của nhân thơm và vòng gắn với nhóm C–O trong lignin. Tại 1035 cm^{-1} cho thấy sự biến dạng của liên kết C–H và C–O của cellulose, hemicellulose và lignin hoặc dao động hóa trị C–O–C trong cellulose và hemicellulose, cũng có thể là sự có mặt của liên kết C–N của amin. Vùng $663-653\text{ cm}^{-1}$ cho thấy cấu trúc của vòng thơm [18].



Hình 3.3- Phổ hồng ngoại của vật liệu

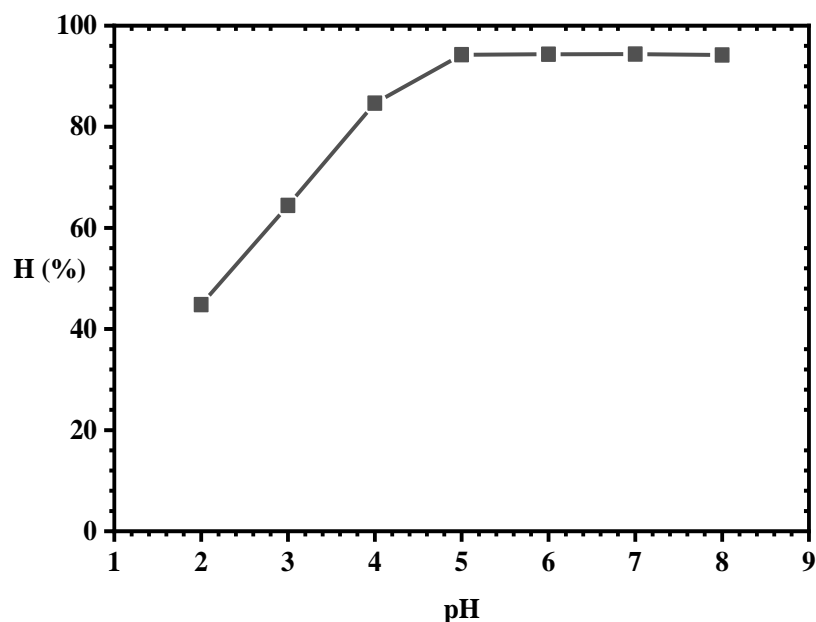
3.2. Xác định các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu

3.2.1. Ảnh hưởng của pH dung dịch

Tiến hành thực nghiệm đối với sự thay đổi của yếu tố pH, thay đổi từ 2 – 8 trong thời gian khuấy 180 phút, khối lượng vật liệu cố định là 0,5000 gam và nồng độ dung dịch là 50 mg/L. Kết quả thực nghiệm được trình bày dưới đây:

Bảng 3.2- Ảnh hưởng của pH đến dung lượng và hiệu suất hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

pH	Co (mg/L)	Ce (mg/L)	V (L)	m (g)	q (mg/g)	H(%)
2,00	50,00	27,59	0,05	0,50	2,24	44,82
3,00	50,00	17,78	0,05	0,50	3,22	64,44
4,00	50,00	7,66	0,05	0,50	4,23	84,68
5,00	50,00	2,88	0,05	0,50	4,71	94,24
6,00	50,00	2,83	0,05	0,50	4,72	94,34
7,00	50,00	2,81	0,05	0,50	4,72	94,38
8,00	50,00	2,90	0,05	0,50	4,71	94,20



Hình 3.4- Ảnh hưởng của pH đến dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

Nhận xét: Khi tăng dần giá trị pH của dung dịch thì dung lượng hấp phụ và hiệu

suất hấp phụ cũng tăng theo. Điều này có thể được giải thích là do ở pH thấp thì nồng độ ion H^+ cao, xảy ra sự cạnh tranh hấp phụ giữa các tiểu phân mang điện tích dương (bao gồm H^+ và Cu^{2+}) đối với các vị trí hấp phụ dẫn đến hiệu quả hấp phụ không cao[32]. Khi pH tăng lên, xuất hiện nhiều lỗ trống và số lượng tiểu phân mang điện tích âm trong dịch dịch tăng lên nên tăng cường loại bỏ Cu(II). Quan sát thấy rằng, sự loại bỏ Cu(II) tối ưu xảy ra giá trị pH trong khoảng 5 – 6. Khi pH quá cao, sự kết tủa Cu(II) thành $Cu(OH)_2$ xảy ra nên không đánh giá đúng hiệu quả hấp phụ ion Cu(II) trên vật liệu lá thông. Như vậy, môi trường pH = 5 là thích hợp cho quá trình hấp phụ ion Cu(II) trên vật liệu,[11].

Ảnh hưởng của pH cũng có thể được giải thích bằng cách xem xét pH_{pzc} được trình bày trong *Bảng 3.1*. Quan sát thấy sự tăng và giảm tương ứng của % loại bỏ Cu(II) ở $pH > pH_{pzc}$ và $pH < pH_{pzc}$. Những quan sát này có thể được giải thích bởi thực tế là bề mặt chất hấp phụ mang điện tích dương đối với $pH < 5$ và nó trở nên tích điện âm đối với $pH > 5$. Ở pH dưới 5, sự hấp phụ là không thuận lợi vì tương tác tĩnh điện đẩy giữa các ion kim loại và các nhóm chức tích điện dương. Sự hấp phụ cực đại của Cu(II) xảy ra ở các giá trị pH từ 5 đến 6 khi bề mặt chất hấp phụ mang điện tích âm cao.

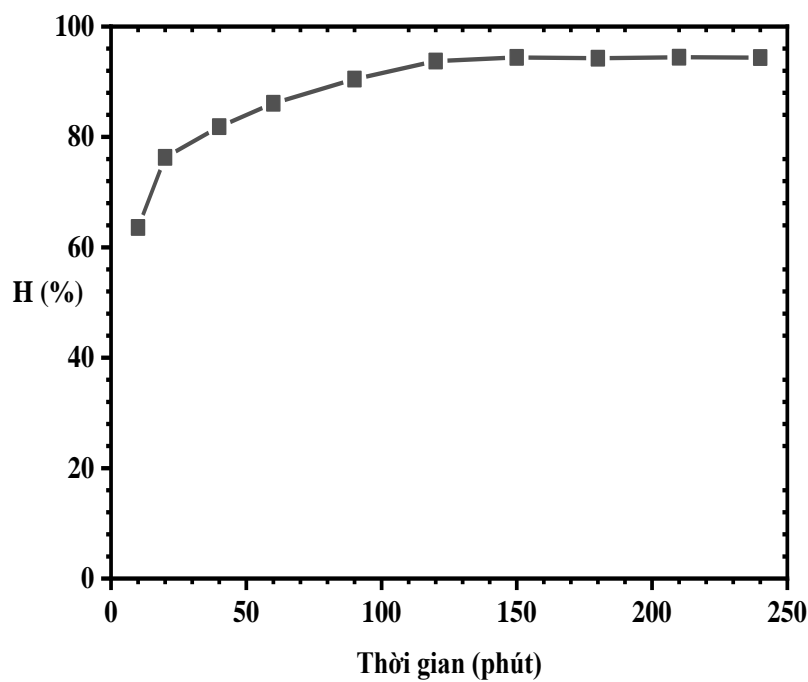
Độ pH của dung dịch là một trong những thông số quan trọng nhất chi phối quá trình hấp phụ kim loại. Nó tương quan với khả năng cạnh tranh của các ion hydro với các ion kim loại đến các vị trí hoạt động trên bề mặt vật liệu lá thông [16].

3.2.2. Xác định thời gian đạt cân bằng hấp phụ

Trong phần thực nghiệm này, nồng độ dung dịch được sử dụng là 50 mg/L, số gam vật liệu cố định: 0,5000 gam và sử dụng giá trị pH là 5. Kết quả thực nghiệm được mô tả như sau:

Bảng 3.3- Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất và dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

Thời gian (phút)	C ₀ (mg/L)	C _e (mg/L)	q (mg/g)	H (%)	t/q	log(q _e -q _t)
10	50,00	18,21	3,18	63,58	3,14	0,21
20	50,00	11,86	3,81	76,28	5,25	0,00
40	50,00	9,07	4,09	81,86	9,78	-0,15
60	50,00	6,95	4,31	86,10	13,92	-0,31
90	50,00	4,76	4,52	90,48	19,91	-0,55
120	50,00	3,13	4,69	93,74	25,59	-0,96
150	50,00	2,80	4,72	94,40	31,78	-1,10
180	50,00	2,88	4,71	94,24	38,22	-1,05
240	50,00	2,78	4,72	94,44	44,49	-1,10



Hình 3.5- Sự phụ thuộc của hiệu suất hấp phụ Cu(II) vào thời gian của vật liệu lá thông

Nhận xét: Thời gian hấp phụ tăng dần thì dung lượng hấp phụ tăng dần. Trong khoảng thời gian từ 10 đến 120 phút dung lượng hấp phụ tăng tương đối nhanh và dần ổn định trong khoảng thời gian từ 150–240 phút, điều đó chứng tỏ sự hấp phụ của vật liệu đã ổn định và đạt đến cân bằng hấp phụ. Do vậy, thời gian đạt cân bằng hấp phụ là 150 phút. Kết quả này được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

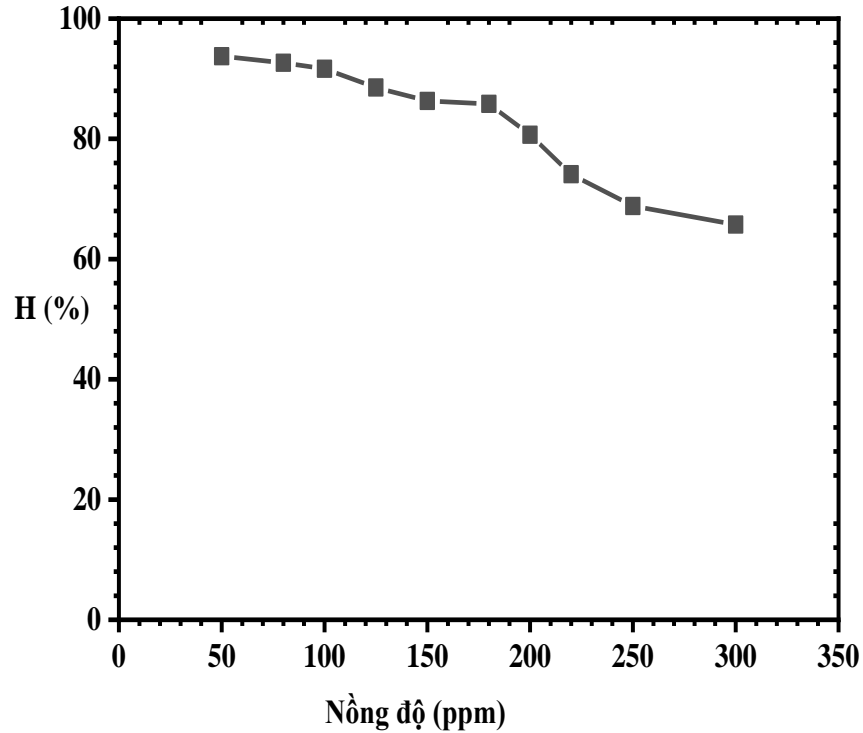
3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ ban đầu đến khả năng hấp phụ của vật liệu

Để tiến hành thực nghiệm khảo sát yếu tố nồng độ đầu thì cố định số gam vật liệu là 0,5000 gam; giá trị pH tối ưu là 5; thời gian lắc là 150 phút.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Cu(II) ban đầu đến khả năng hấp phụ Cu(II) của vật liệu được trình bày trong *Bảng 3.4* và *Hình 3.6*:

Bảng 3.4- Ảnh hưởng của nồng độ đầu đến hiệu suất và dung lượng hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

Cu (II)			
C₀ (mg/L)	C_e (mg/L)	q_e (mg/g)	H%
50	3,81	4,62	92,38
80	6,01	7,40	92,49
100	8,99	9,10	91,01
125	14,78	11,02	88,18
150	21,89	12,81	85,41
180	24,55	15,55	86,36
200	39,67	16,03	80,17
220	57,96	16,20	73,65
250	77,92	17,21	68,83
300	102,81	19,72	65,73

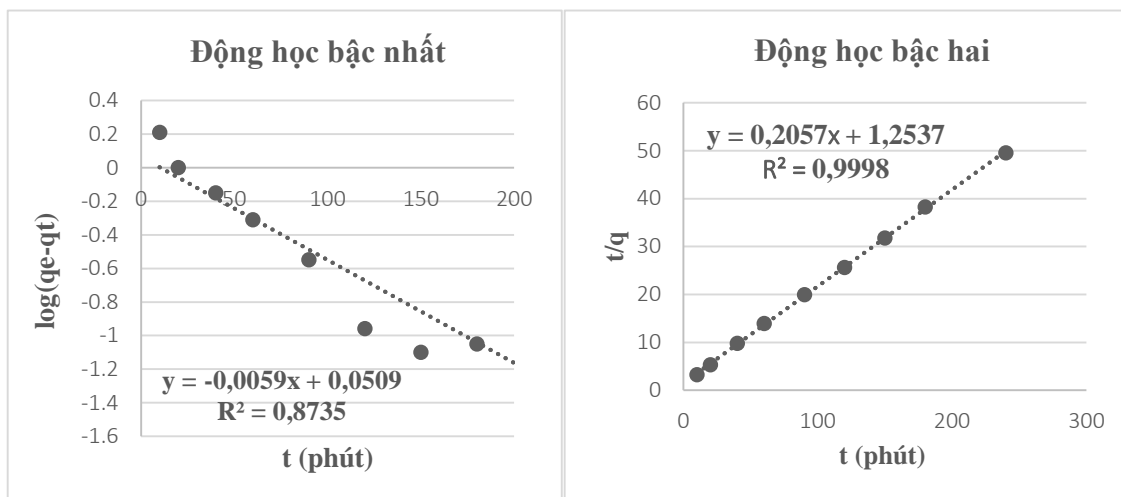


Hình 3.6- Sự phụ thuộc của hiệu suất hấp phụ Cu(II) vào nồng độ đầu của vật liệu lá thông

Nhận xét: Thông qua *Bảng 3.4* và *Hình 3.6* cho thấy hiệu suất hấp phụ ion Cu(II) giảm khi tăng nồng độ dung dịch ban đầu. Điều này có thể giải thích như sau: Do khối lượng vật liệu là không đổi nên số tâm hấp phụ là cố định nên khi ở nồng độ thấp, lượng chất hấp phụ ít, khả năng hấp phụ là hoàn toàn, hiệu suất hấp phụ cao. Khi ở nồng độ cao, lượng Cu(II) rất nhiều, vượt quá số tâm hấp phụ cố định của vật liệu cho nên sẽ còn lại lượng lớn ion Cu(II), do đó hiệu suất hấp phụ sẽ giảm đi.

3.3. Nghiên cứu động học của quá trình hấp phụ

Từ số liệu tính được ở *Bảng 3.3*, chúng em xây dựng phương trình động học biểu kiến bậc nhất và biểu kiến bậc hai, được trình bày trong *Hình 3.7*:



Hình 3.7- Động học biểu kiến bậc nhất và bậc hai của quá trình hấp phụ Cu(II) lên vật liệu lá thông

Bảng 3.5- Các tham số động học hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

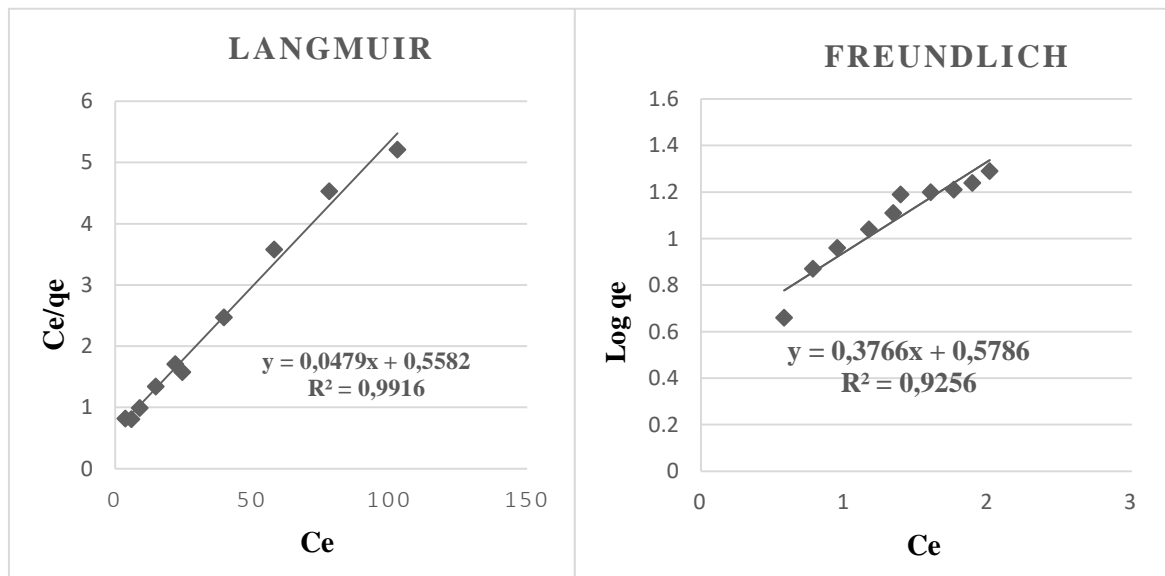
Động học bậc 1			$q_{e,exp}$ (mg/g)	Động học bậc 2		
R^2	q_e, cal (mg/g)	k_1 (phút ⁻¹)		R^2	q_e, cal (mg/g)	k_2 (g/mg.phút)
0,8735	1,1243	0,0136	4,72	0,9998	4,8614	0,0338

Nhận xét: Mô hình động học hấp phụ biểu kiến bậc hai cho mỗi quan hệ tuyến tính với hệ số tương quan cao ($R^2 > 0,90$) đối với tất cả nồng độ khảo sát của ion Cu(II), tham số q_e (mg/g) tính toán từ mô hình động học biểu kiến bậc hai gần với q_e thực nghiệm. Mô hình động học hấp phụ biểu kiến bậc nhất cũng cho mỗi quan hệ tuyến tính với hệ số tương quan cao đối với tất cả các nồng độ khảo sát của ion Cu(II) tuy nhiên tham số q_e (mg/g) tính toán từ mô hình biểu kiến bậc nhất lại không phù hợp với q_e thực nghiệm nên có thể kết luận rằng mô hình hấp phụ biểu kiến bậc hai là mô tả tốt nhất cho quá trình hấp phụ ion Cu(II).

3.4. Nghiên cứu đẳng nhiệt hấp phụ

Bảng 3.6- Kết quả nghiên cứu đẳng nhiệt hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

C_0 (mg/L)	C_e (mg/L)	q_e (mg/g)	C_e/q_e (g/L)	$\text{Log}C_e$	$\text{Log}q_e$
50	3,81	4,62	0,82	0,58	0,66
80	6,01	7,40	0,81	0,78	0,87
100	8,99	9,10	0,99	0,95	0,96
125	14,78	11,02	1,34	1,17	1,04
150	21,89	12,81	1,71	1,34	1,11
180	24,55	15,55	1,58	1,39	1,19
200	39,67	16,03	2,47	1,60	1,20
220	57,96	16,20	3,58	1,76	1,21
250	77,92	17,21	4,53	1,89	1,24
300	102,81	19,72	5,21	2,01	1,29



Hình 3.8- Đồ thị đường đẳng nhiệt hấp phụ Cu(II) trên vật liệu lá thông theo Langmuir và Freundlich dạng tuyến tính

Nhận xét:

- Từ phương trình đẳng nhiệt hấp phụ Langmuir dạng tuyến tính, xác định được dung lượng hấp phụ cực đại của vật liệu đối với Cu(II) là 20,88 mg/g. Ngoài ra, hằng số trong phương trình Langmuir K_L (L/mg) được trình bày trong *Bảng 3.7*.

- Thông qua phương trình đẳng nhiệt hấp phụ Freundlich dạng tuyến tính, xác định hằng số Freundlich K_F ($L^n.g$) và hệ số n như *Bảng 3.7*. Giá trị n thu được nằm trong khoảng từ 1 đến 10 là khoảng thuận lợi cho sự hấp phụ. Thông qua điều này chứng tỏ rằng lá thông ba lá *Pinus Kesiya* là loại vật liệu hấp phụ tốt Cu(II) trong nước [28].

Từ hai phương trình Langmuir và Freundlich, chúng em rút ra các tham số đẳng nhiệt hấp phụ được trình bày tại *Bảng 3.7*:

Bảng 3.7- Các tham số đẳng nhiệt hấp phụ Cu(II) trên vật liệu lá thông

Giá trị các tham số					
Mô hình Langmuir			Mô hình Freundlich		
q_m (mg/g)	K_L (L/mg)	R^2	K_F (Log/g)	n	R^2
20,88	0,0858	0,9916	3,7897	2,6483	0,9256

Nhận xét: Từ phương trình đẳng nhiệt hấp phụ Freundlich dạng tuyến tính, xác định được hằng số Freundlich $K_F = 3,7897$ ($L^n.g$) và hệ số $n = 2,6483$. Giá trị n thu được nằm trong khoảng từ 1-10 là khoảng thuận lợi cho sự hấp phụ, chứng tỏ lá thông ba lá là vật liệu hấp phụ tốt ion Cu(II).[21]

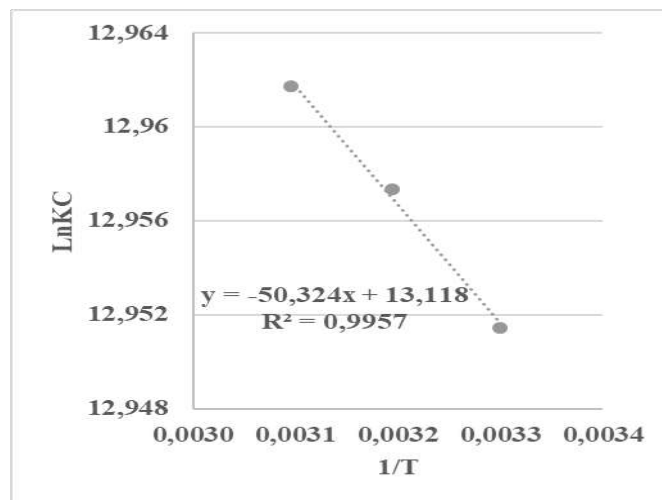
3.5. Kết quả nghiên cứu nhiệt động học

Sự ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ đến quá trình hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông được trình bày trong *Bảng 3.8*:

Bảng 3.8- Ảnh hưởng của nhiệt độ đến quá trình hấp phụ Cu(II) của vật liệu lá thông

C ₀ (mg/L)	303K			313K			323K		
	Ce	qe	Ce/qe	Ce	qe	Ce/qe	Ce	qe	Ce/qe
50,00	5,65	4,44	1,27	5,31	4,47	1,19	5,02	4,50	1,12
80,00	14,01	6,60	2,12	13,38	6,66	2,01	12,65	6,74	1,88
100,00	30,21	6,98	4,33	30,02	7,00	4,29	29,13	7,09	4,11
125,00	45,03	8,00	5,63	44,38	8,06	5,51	42,73	8,23	5,19
150,00	61,34	8,87	6,92	61,24	8,88	6,90	60,04	9,00	6,67
175,00	84,05	9,10	9,24	83,33	9,17	9,09	82,12	9,29	8,84
200,00	105,34	9,47	11,12	104,31	9,57	10,90	103,15	9,69	10,64
220,00	117,24	10,28	11,40	116,35	10,37	11,22	114,06	10,59	10,77
250,00	142,51	10,75	13,26	141,34	10,87	13,00	140,53	10,95	12,83
300,00	195,03	10,50	18,57	193,92	10,61	18,28	191,03	10,90	17,53

Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của $\ln K_C$ vào $1/T$ và các thông số nhiệt động của quá trình hấp phụ Cu(II) trên vật liệu LT được biểu diễn như sau:

**Hình 3.9-** Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc của $\ln K_C$ vào $1/T$

Bảng 3.9- Các thông số nhiệt động quá trình hấp phụ

Nhiệt độ (K)	K_C (L/mol)	$\ln K_C$	ΔG (kJ/mol)	ΔH (kJ/mol)	ΔS (J/mol.K)
303(30°C)	421444,80	12,9514	-32,6265	418,39	109,06
313(40°C)	423931,20	12,9573	-33,7186		
323(50°C)	425796,00	12,9617	-34,8077		

Giá trị của ΔG (kJ / mol) được tính trực tiếp từ phương trình $\Delta G^0 = -RT\ln K_C$, giá trị ΔH^0 (kJ/mol) và ΔS^0 (J/mol.K) được xác định từ giao điểm của đồ thị $\ln K_C$ so với $1/T$ từ phương trình Van't Hoff [31].

Các thông số nhiệt động học tính toán được trình bày trong *Bảng 3.9*. Các giá trị $\Delta G < 0$ chỉ ra rằng sự hấp phụ là tự phát và thuận lợi về mặt nhiệt động lực học. Giá trị $\Delta S > 0$ phản ánh ái lực của Cu (II) đối với chất hấp phụ. Nó chỉ ra sự gia tăng mức độ hỗn loạn ở bề mặt phân cách rắn/lỏng trong quá trình hấp phụ. Giá trị $\Delta H > 0$ chỉ ra rằng quá trình hấp phụ Cu (II) là thu nhiệt. Nó cho thấy rằng chuyển Cu (II) từ pha nước sang pha rắn cần cung cấp năng lượng. Đây là cơ sở để áp dụng lá thông *Pinus kesiya* như một vật liệu hấp phụ tiềm năng để xử lý ô nhiễm kim loại nặng trong nước. Sự thu nhiệt của quá trình hấp phụ Cu(II) cũng đã được trình bày trong các nghiên cứu bởi những loại vật liệu khác nhau như râu ngô, bentonite, bùn thải hay bột quả thông [27,31,32,37].

3.6. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng hấp phụ ion kim loại bằng phương pháp động

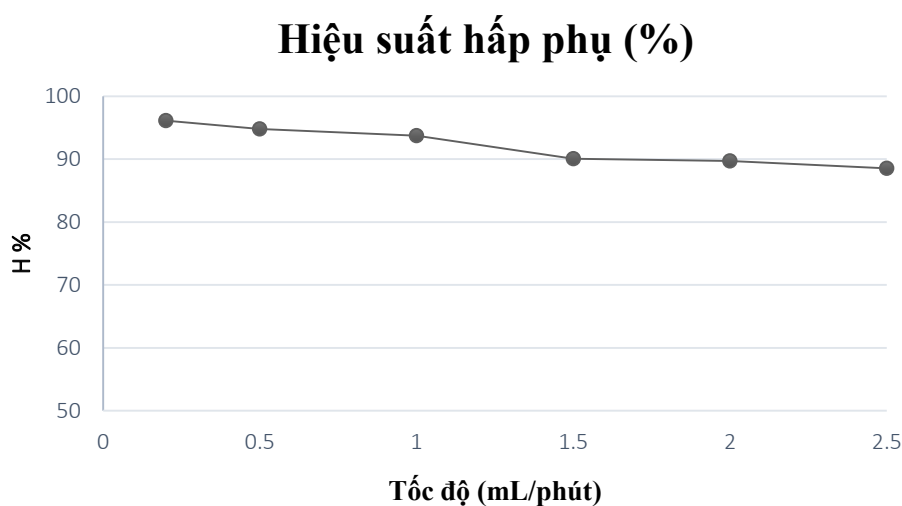
3.6.1. Khảo sát tốc độ nạp mẫu

Đối với hấp phụ động, việc lựa chọn tốc độ nạp mẫu là rất quan trọng vì tốc độ nạp mẫu có ảnh hưởng lớn tới khả năng hấp phụ các ion kim loại của vật liệu, nếu tốc độ nạp mẫu quá nhanh thì thời gian thiết lập cân bằng chưa đủ, còn tốc độ hấp phụ quá chậm sẽ mất nhiều thời gian.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng tốc độ nạp mẫu đến hiệu suất hấp phụ Cu(II) được trình bày trong *Bảng 3.10*. và *Hình 3.10*:

Bảng 3.10- Kết quả khảo sát ảnh hưởng tốc độ nạp mẫu

Tốc độ (mL/phút)	Hiệu suất hấp phụ (%)
0,2	96,11
0,5	94,78
1	93,72
1,5	90,07
2	89,68
2,5	88,53

**Hình 3.10-** Ảnh hưởng tốc độ nạp mẫu đến hiệu suất hấp phụ Cu(II)

Kết quả thu được cho thấy hiệu suất hấp phụ giảm dần khi tăng tốc độ nạp mẫu. Với tốc độ nạp mẫu từ 0,2 đến 1,5 mL/phút, Cu(II) hấp phụ tốt trên cột chiết nhưng khi tăng tốc độ nạp mẫu từ 1,5 mL/phút trở lên thì lượng chất hấp phụ giảm rõ rệt. Để hiệu suất hấp phụ đạt giá trị cao và tốn ít thời gian, chúng em chọn tốc độ nạp mẫu là 1,5 mL/phút.

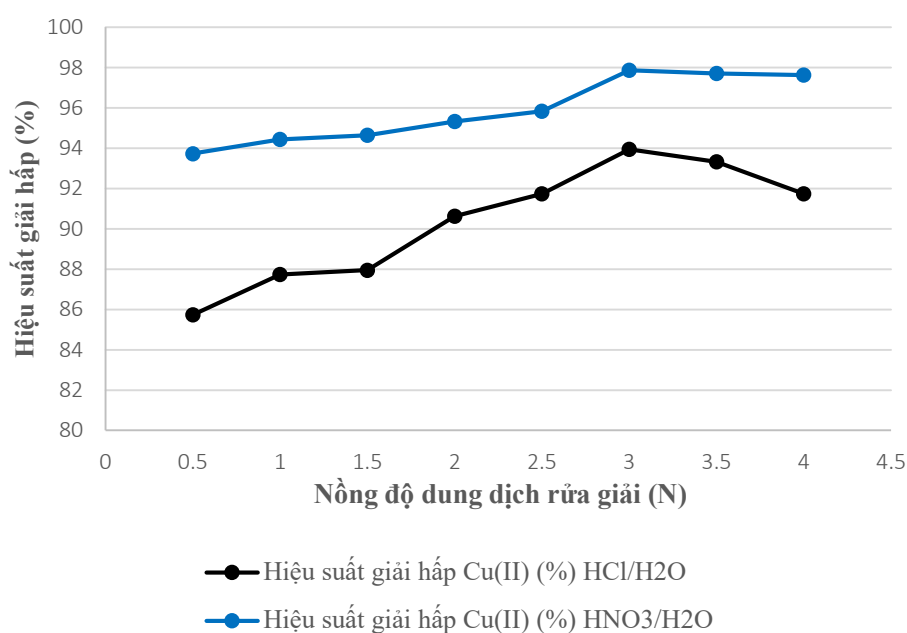
3.6.2. Khảo sát nồng độ chất rửa giải

Kết quả khảo sát nồng độ axit rửa giải đến hiệu suất giải hấp Cu(II) được thể hiện trên *Bảng 3.11* và *Hình 3.11*:

Bảng 3.11- Kết quả khảo sát ảnh hưởng nồng độ axit giải hấp Cu(II)

Nồng độ dung dịch rửa giải (N)	Hiệu suất giải hấp Cu(II) (%)	
	HCl/H ₂ O	HNO ₃ /H ₂ O
0,5	85,74	93,73
1,0	87,74	94,44
1,5	87,95	94,65
2,0	90,63	95,33
2,5	91,74	95,84
3,0	93,95	97,87
3,5	93,33	97,71
4,0	91,74	97,63

Theo các kết quả thực nghiệm, khi tăng nồng độ axit, các ion kim loại được tách ra khỏi cột chiết tốt hơn. HNO₃ là chất rửa giải tốt hơn so với HCl. Mặt khác, HNO₃ là môi trường đo mẫu của các ion kim loại trong phương pháp phân tích F-AAS, nên dung dịch HNO₃ 3,0N được sử dụng làm dung dịch rửa giải Cu(II) trong quá trình nghiên cứu về sau.

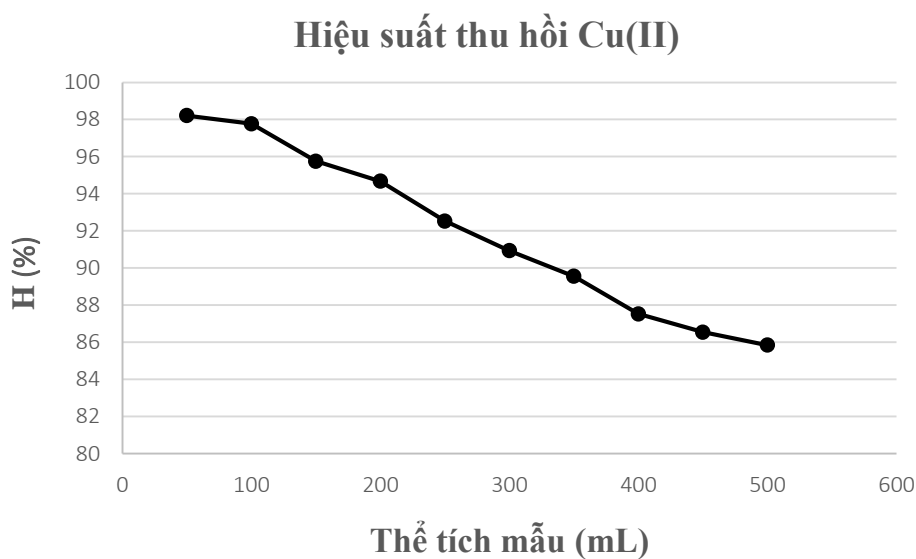
**Hình 3.11-** Ảnh hưởng của nồng độ chất rửa giải đến hiệu suất giải hấp phụ Cu(II)

3.6.3. Ảnh hưởng lượng ion kim loại đến hiệu suất hấp phụ của vật liệu

Hệ số làm giàu được xác định bằng tỉ lệ giữa thể tích dung dịch mẫu chứa chất phân tích ban đầu và thể tích dung dịch chứa chất phân tích sau khi rửa giải đem đi xác định.

Bảng 3.12- Sự phụ thuộc hiệu suất thu hồi vào thể tích mẫu

Thể tích mẫu (mL)	Hiệu suất thu hồi (%)
	Cu(II)
50	98,21
100	97,77
150	95,75
200	94,67
250	92,53
300	90,93
350	89,55
400	87,52
450	86,54
500	85,84



Hình 3.12- Ảnh hưởng thể tích mẫu đến hiệu suất thu hồi Cu(II)

Các kết quả thu được cho thấy, sử dụng vật liệu LT làm pha tĩnh trong cột chiết pha rắn có thể tách và làm giàu Cu(II) với hệ số làm giàu 30, hiệu suất thu hồi trên 90%.

Kết quả nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng trong tách, làm giàu Cu(II) trên vật liệu lá thông theo phương pháp động được tổng hợp trong *Bảng 3.13*:

Bảng 3.13- Điều kiện tối ưu hấp phụ Cu(II) theo phương pháp động

Các yếu tố ảnh hưởng	Điều kiện tối ưu
Tốc độ nạp mẫu (mL/phút)	1,5
Thể tích mẫu (mL)	300
Lượng chất hấp phụ (g)	1,0
Chất rửa giải	HNO ₃ 3,0N
Thể tích dung dịch rửa giải (mL)	10
Hệ số làm giàu (P.F)	30
Hiệu suất thu hồi	> 90%

Như vậy, việc sử dụng vật liệu LT để tách và làm giàu Cu(II) trong nước đạt hiệu suất thu hồi cũng như hệ số làm giàu cao, phù hợp để tách làm giàu lượng vết các ion kim loại trên, ứng dụng vào việc phân tích các mẫu thực tế.

3.7. Ứng dụng quy trình phân tích mẫu thực tế

Để ứng dụng phương pháp phân tích đã nghiên cứu ở trên vào thực tế, chúng em nghiên cứu phân tích hàm lượng Cu trong mẫu nước hồ Xuân Hương và mẫu nước biển tại Ninh Thuận.

Lấy mẫu là khâu đầu tiên và rất quan trọng của quá trình phân tích. Trước khi lấy mẫu dụng cụ phải được cọ rửa sạch sẽ, tráng kỹ bằng dung dịch EDTA, sau đó tráng sạch lại bằng nước cất. Mẫu khi lấy phải được đựng trong bình polyetylen để tránh sự hấp thu các ion kim loại phân tích lên thành bình. Khi lấy mẫu cần phải tráng 3 lần bằng chính mẫu và ghi đầy đủ, cụ thể các thông tin như: địa chỉ nơi lấy mẫu, ngày, tháng, năm lấy mẫu, và các thông tin khác có liên quan đến việc lấy mẫu. Các mẫu nước được lấy theo quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước (QCVN 08-MT:2015/BTNMT và QCVN 01-1:2018/BYT) và (QCVN 08-MT:2015/BTNMT) [4]. Sau khi lấy mẫu, axit

hoá mẫu bằng HNO₃ 65% (Mecrk) để dung dịch có pH = 2. Sau đó để lắng, lọc bỏ phần lơ lửng và thu lấy phần nước trong rồi điều chỉnh đến pH = 5.

Chuẩn bị cột chiết pha rắn (SPE) có chiều dài 10 cm và đường kính 0,5 cm; nhồi vào cột 1,0000 gam vật liệu theo phương pháp nhồi khô. Cố định và nén chặt lớp vật liệu hấp phụ bằng 1 lớp polypropylene. Điều kiện hóa cột chiết 2 lần, mỗi lần bằng 10 mL nước cất đã được điều chỉnh pH bằng với pH của nền mẫu sẽ cho hấp phụ qua cột chiết. Lấy 300 mL mẫu nước đã được xử lý cho chạy qua cột chứa 1,0000 gam vật liệu với tốc độ 1,5 mL/phút, giải hấp lượng ion kim loại hấp phụ trên cột bằng 10 mL HNO₃ 3,0N với tốc độ 0,5 mL/phút, định lượng Cu(II) bằng phương pháp F-AAS, tính nồng độ của từng ion kim loại. Kết quả phân tích được trình bày trong *Bảng 3.14*:

Bảng 3.14- Kết quả xác định Cu(II) trong mẫu thực

Mẫu	Hệ số làm giàu	Hàm lượng ion kim loại sau khi làm giàu (µg/L)	Hàm lượng ion kim loại trong mẫu (µg/L)	Ngưỡng cho phép (µg/L)
1	30	783,91±1,19	26,13±0,11	100
2	30	904,15±1,23	30,14±0,17	200

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng Cu trong mẫu nước thấp. Mẫu nước hồ Xuân Hương có hàm lượng Cu dưới giới hạn cho phép là 100 ppb theo tiêu chuẩn chất lượng đối với nước mặt (QCVN 08-MT:2015/BTNMT) [4].

Đối chiếu với giá trị thấp nhất của QCVN 10-MT: 2015/BTNMT cột 1 (Vùng nuôi trồng thủy sản, bảo tồn thủy sinh) (200µg/l) [4] thì hàm lượng Cu trong mẫu nước biển khảo sát tại Ninh Thuận thấp hơn giới hạn cho phép là 200 ppb. Các mẫu nước chưa có dấu hiệu ô nhiễm Cu.

Hàm lượng Cu trong các mẫu nước rất thấp nên đối với các phương pháp phân tích thông dụng trong phòng thí nghiệm như phương pháp trắc quang, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử kỹ thuật ngọn lửa (F-AAS) sẽ không xác định được nếu không thực hiện qua giai đoạn làm giàu mẫu.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận:

Sau quá trình nghiên cứu và tiến hành thực nghiệm, chúng em đã thu được một số kết quả sau:

- ✓ Chế tạo thành công vật liệu hấp phụ từ lá thông khô *Pinus kesiya* thu tại Đà Lạt. Xác định được điểm tích điện không của vật liệu là 4,5.
- ✓ Khảo sát và xác định các điều kiện tối ưu để hấp phụ Cu(II) trong nước của vật liệu lá thông như sau: pH = 5, thời gian đạt cân bằng hấp phụ là 150 phút.
- ✓ Mô hình động học biểu kiến bậc hai mô tả tốt quá trình hấp phụ Cu(II) trong nước bằng vật liệu lá thông với hệ số tương quan cao ($R^2 > 0,99$).
- ✓ Xây dựng đường đẳng nhiệt hấp phụ của vật liệu đối với Cu(II) theo mô hình Langmuir và Freundlich. Từ phương trình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir dạng tuyến tính, xác định dung lượng hấp phụ cực đại của Cu(II) là 20,88 (mg/g).
- ✓ Các tham số nhiệt động học được nghiên cứu và cho thấy quá trình hấp phụ Cu(II) trên lá thông là quá trình thu nhiệt và tự xảy ra.
- ✓ Xác định được điều kiện tối ưu hấp phụ Cu(II) theo phương pháp động: tốc độ nạp mẫu: 1,5 (mL/phút); thể tích mẫu: 300 (mL); lượng chất hấp phụ: 1,0000 (gam); chất rửa giải phù hợp: HNO₃ 3,0N; thể tích dung dịch rửa giải là 10 (mL). Sử dụng vật liệu lá thông làm pha tĩnh trong cột chiết pha rắn có thể tách và làm giàu Cu(II) với hệ số làm giàu là 30, hiệu suất thu hồi trên 90%. Ứng dụng vào quy trình phân tích mẫu thực tế.

Kiến nghị:

Do thời gian còn nhiều hạn chế, điều kiện nghiên cứu ở phòng thí nghiệm cũng như khả năng nắm bắt của người nghiên cứu nên đề tài còn nhiều thiếu sót. Vậy nên chúng em xin đưa ra một số đề xuất định hướng cho các nghiên cứu tiếp theo:

- ✓ Giải thích cơ chế hấp phụ của Cu(II) trên vật liệu.
- ✓ Nghiên cứu xử lý kim loại khác bằng vật liệu lá thông.
- ✓ Nghiên cứu khả năng hấp phụ Cu(II) bằng các loại vật liệu hấp phụ sinh học khác. Từ đó, so sánh khả năng hấp phụ của các loại vật liệu.
- ✓ Thử nghiệm khả năng xử lý Cu(II) trong nước của vật liệu lá thông ở các khu vực khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu Tiếng Việt

1. Cát L.V (2002), **Hấp phụ và trao đổi ion trong kỹ thuật xử lý nước và nước thải**, NXB Thống kê Hà Nội.
2. Châu H.M (Chủ biên), Mạc T.V, et. al (2002) . **Cơ sở Hóa học phân tích**. Nhà Xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
3. Hung L.T (2008). **Nghiên cứu khả năng hấp phụ và trao đổi ion của xơ dừa và vỏ trấu biến tính**. Tạp chí Phát triển KH&CN, 11(08), pp. 5-11.
4. Khuê M.Q. (2015). **Nghiên cứu hấp phụ Cr(VI) của vật liệu chế tạo từ bã chè và ứng dụng xử lý nước thải mạ điện**. Luận Văn Thạc Sĩ Khoa học Vật Chất. Trường Đại học Sư Phạm Thái Nguyên.
5. Mai N.T.N (2010). **Giáo trình Hóa phân tích 2 – phần quang**. Khoa Hóa học, Trường Đại Học Đà Lạt.
6. Nga N.T.H (2014). **Nghiên cứu khả năng xử lý Asen trong nước ô nhiễm bằng sản phẩm đất phong hóa nhiệt đới**. Tuyển tập Hội nghị Khoa học thường niên, pp. 307-311.
7. Ngân T.T.K, Quỳnh V.V.N, et .al (2018). **Nghiên cứu xử lý ion kim loại đồng bằng vật liệu hấp phụ trên cơ sở đất sét Cổ Định - Thanh Hóa**. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Đà Nẵng, 7(128), pp. 42-26.
8. Nguyễn N.X (2003). **Nước thải và công nghệ xử lý nước thải**. Nhà Xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
9. Nhân T.V., Nga H.T. (2005). **Giáo trình Công nghệ và Xử lý nước thải**, Nhà Xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
10. Phương N.V., Nhung N.T.C, et. al (2019). **Cân bằng và động học hấp phụ của đồng lên than sinh học có nguồn gốc từ phân bò**. Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm, 18(2), pp. 78-88.
11. Tại Đ.K, Hồng V.X (2020). **Điều chế tro trấu biến tính ứng dụng xử lý Cu²⁺ trong nước**. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 62(1), pp. 66 – 69.

Tài liệu Tiếng Anh

12. Abdulfattah M. A., Aisha K. A., et.al (2019). **Removal of Pb(II), Zn(II), Cu(II) and Cd(II) from aqueous solutions by adsorption onto olive branches activated carbon: Equilibrium and thermodynamic studies.** Chemistry International, 6(1), pp. 11 – 20.
13. Amyrah A. K., Norhazlin Z., et.al (2020). **Crosslinked Carboxymethyl Sago Starch/ Citric Acid Hydrogel for Sorption of Pb²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺ from Aqueous Solution.** Polymers, 12(11), 2465.
14. Andi K., Lutfi N. S., et.al (2019). **Analysis of biofilms as biomonitoring agent for Cu²⁺ and Pb²⁺ pollution in the lotic ecosystem.** IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, 239, pp. 1-7.
15. Björn P.Z. , Dieterb H., et.al (2003). **Epidemiological invesigation on chronic copper toxicity to children exposed via the public drinking water supply.** Science of The Total Environment, 302(1-3), pp. 127 – 144.
16. Bouhamed F. , Elouear Z., et.al (2012). **Adsorptive removal of copper (II) from aqueous solutions on activated carbon prepared from Tunisian date stones: equilibrium kinetics and thermodynamics.** J Taiwan Inst Chem Eng, 43, pp.741–749.
17. Casey W.Q., David M.C., et. al (2018). **Solid-phase extraction coupled to a paper-based technique for trace copper detection in drinking water.** Environmental science & technology, 52(6), pp. 3567-3573.
18. Collard F.X , Blin L. (2014). **A review on pyrolysis of biomass constituents: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicellulose and lignin.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, 38, pp 594 – 608.
19. Dorsey A., Ingerman L (2004). **Public Health Statement Copper.** Agency for Toxic Substances and Disease Registry, pp. 1-7.
20. Emily H., Michael S.B., et. al (2020). **Solid-Phase Extraction, Preservation, Storage, Transport, and Analysis of Trace Contaminants for Water Quality Monitoring of Heavy Metals.** Environ. Sci. Technol., 54(5), pp. 2646–2657.
21. Hae M., Sung H.C, et. al (2010). **X-ray Diffraction Patterns of Thermally-reduced Graphenes.** Journal of the Korean Physical Society, 57(6), pp. 1649 – 1952.

22. Hafizah B. N. (2020). **Adsorption of Copper (II) from Aqueous Solution Using Tea (*Camellia sinensis*) Leaf Waste.** Materials Science Forum, 997, pp. 113 – 120.
23. Ho Y.S., Huang C.T., et.al (2002). **Equilibrium sorption isotherm for metal ions on tree fern.** Process Biochemistry, 37, pp.1421-1430.
24. Jalali M., Aboulghazi F. (2013). **Sunflower stalk, an agricultural waste, as an adsorbent for the removal of lead and cadmium from aqueous solution.** Journal of Material Cycles and Waste Management, 15, pp. 548-555.
25. Jamil A., Umer S., et.al (2010). **Removal of Pb(II) and Cd(II) from water by adsorption on peels of banana.** Bioresource Technology, 101(6), pp. 1752-1755.
26. Lei G., Shu C. P., et.al (2019). **Evaluation of Sediment-associated Heavy Metal Pollution in Chaohu Lake, Eastern China.** Water Resources, 46, pp. 614-623.
27. Li J., Hu.J., et. al (2009). **Colloids Surfaces A Physicochem. Eng.Asp.,** 349, pp. 195 – 201.
28. Mukarram Z., Nuhu D. M., et. al (2020). **Adsorption Behavior and Mechanism of Methylene Blue, Crystal Violet, Eriochrome Black T, and Methyl Orange Dyes onto Biochar-Derived Date Palm Fronds Waste Produced at Different Pyrolysis Conditions.** Water Air Soil Pollut, pp.231-240.
29. Munagapati V., Yarramuthi S., et. al (2010). **Biosorption of Cu (II), Cd (II) and Pb (II) by *Acacia leucocephala* bark powder: Kinetics, equilibrium and thermodynamics.** Chem. Eng. J., 157, pp.357-365.
30. Muslim A., Alam P. N., et. al (2020). **Adsorption of Cu(II) by biosorbents from *Arenga pinnata* Merr fruit shell waste modified using ultrasound.** Journal of Materials and Environmental Science, 11(8), pp.1209 – 1220.
31. Petrović M., Šoštarić T., et. Al (2017). Ecol. Eng. 99, pp.83–90.
32. Redouane O., Anass O., et.al (2021). **Pine cones powder for the adsorptive removal of copper ions from water.** Scientific Paper, pp. 1-35.
33. Saurabh M., Amit K., et.al (2021). **Estimation of heavy metal contamination in the Hindon River, India: an environmetric approach.** Applied Water Science, 11(2).
34. Se-Keun P., Yeong-Kwan K (2019). **Adsorption of copper ions from aqueous solution using surface modified pine bark media (표면개질된 소나무 수피를 이용한**

- 수용액의 구리이온 흡착). Journal of Korean Society of Water and Wastewater, 33(2), pp. 131-140.
35. Sheng H. P., Rong W., et. al (2018). **Biosorption of copper, zinc, cadmium and chromium ions from aqueous solution by natural foxtail millet shell.** Ecotoxicology and Environmental Safety, 165, pp. 61 – 69.
36. Sławomir W., Agnieszka D.S., et.al (2020). **Optimization of the sorption process of copper cations from aqueous solution by pine bark (*Pinus sylvestris*).** Desalination and Water Treatment, 186, pp. 258 – 266.
37. Wang X., Liang X., et.al (2011). Desalination,278, pp. 231 – 237.
38. [y] Yugao G., He Z., et. al (2017). **Simultaneous spectrophotometric determination of trace copper, nickel, and cobalt ions in water samples using solid phase extraction coupled with partial least squares approaches.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,173, pp. 532-536.
39. Zwir-F.A., Biziuk. M (2006). **Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications.** Polish J. Of Environ. Stud, 15(5), pp. 677 – 690.

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**KHẢO SÁT HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ SÂU TƠ (*Plutella xylostella* L.) HẠI RAU
ĂN LÁ TỪ DỊCH CHIẾT LÁ CÂY DỪA CẠN (*Catharanthus roseus* L.)**

Lâm Đồng, tháng 06 năm 2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

**KHẢO SÁT HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ SÂU TƠ (*Plutella xylostella* L.) HẠI RAU
ĂN LÁ TỪ DỊCH CHIẾT LÁ CÂY DỪA CẠN (*Catharanthus roseus* L.)**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Nông Lâm

Giảng viên hướng dẫn:	Ths. Cao Thị Làn	
Sinh viên thực hiện:	Lê Thị Thanh Phương	Nữ
	Ngô Thị Thu Hà	Nữ
	Phan Ngọc Uyên Trang	Nữ
	Tạ Minh Hiếu	Nam
	Ngô Đức Thịnh	Nam

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: NHK42, Nông Lâm

Năm thứ: 03 /Số năm đào tạo: 04

Ngành học: Nông học

Lâm Đồng, tháng 06 năm 2021

LỜI CAM ĐOAN

Chúng tôi cam đoan đây là công trình nghiên cứu của chúng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong đề tài là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Đà Lạt, ngày 17 tháng 05 năm 2021.

LỜI CẢM ƠN

Không có thành công nào mà không có những nỗ lực và bàn tay dìu dắt, giúp đỡ. Chúng em xin chân thành cảm ơn **Ban giám hiệu của Trường Đại học Đà Lạt và Khoa Nông Lâm** đã tạo cơ hội và điều kiện về cơ sở vật chất và tinh thần để chúng em có thể thực hiện đề tài này.

Chúng em xin gửi lời cảm ơn chân thành đến Cô Ths. Cao Thị Làn đã dìu dắt và chỉ dẫn chúng em trong suốt quá trình nghiên cứu và giúp chúng em hoàn thành đề tài nghiên cứu này.

Chúng em xin cảm ơn Quý Thầy, Cô trong hội đồng đã đồng ý phản biện cho đề tài của chúng em.

Em xin gửi lời cảm ơn đến các Thầy, Cô ở các bộ môn của khoa Nông Lâm – trường Đại học Đà Lạt đã cho em mượn thiết bị, dụng cụ và hóa chất nhằm phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

Cuối cùng chúng em xin chân thành cảm ơn gia đình, bạn bè và tất cả những người thân đã luôn quan tâm động viên và giúp đỡ chúng em trong suốt thời gian học tập và thực hiện công trình Nghiên cứu khoa học này.

Chúng em xin trân trọng cảm ơn!

MỤC LỤC

Lời cam đoan	i
Lời cảm ơn.....	ii
Danh mục ký hiệu, chữ viết tắt.....	iii
Danh mục hình ảnh.....	iv
Danh mục bảng biểu	vi
MỞ ĐẦU.....	1
1. Đặt vấn đề	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
3. Phạm vi nghiên cứu.....	2
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về thuốc trừ sâu thảo mộc.....	3
1.1.1. Ưu, nhược điểm của thuốc trừ sâu thảo mộc:.....	3
1.1.2. Một số thuốc thảo mộc trừ sâu thông dụng:	4
1.1.3. Các kết quả nghiên cứu về thuốc trừ sâu thảo mộc:	5
1.2. Tổng quan về cây dừa cạn:.....	6
1.2.1. Định danh:.....	6
1.2.2. Đặc điểm thực vật:	6
1.2.3. Nguồn gốc và sự phân bố:	7
1.2.4. Giá trị và công dụng:	7
1.3. Các hợp chất alkaloid trong cây dừa cạn:	8
1.4. Tác động của các hoạt chất trong cây Dừa cạn đối với các loài dịch hại: ..	10
1.4.1. Một số nghiên cứu trên Thế giới:	10
1.4.2. Nghiên cứu trong nước:	12
1.5. Phương pháp chiết xuất:	12
1.5.1. Chiết bằng dung môi hữu cơ trong môi trường kiềm:	12
1.5.2. Chiết bằng dung dịch acid loãng trong cồn hoặc trong nước (Phương pháp STAS-OTTO):	14
1.5.3. Chiết bằng cồn acid:	15
1.5.4. Chiết bằng cát kéo hơi nước:	16
1.5.5. Chiết Soxhlet:	16
1.6. Tổng quan về rau hoa họ thập tự:	19

1.6.1. Định danh:.....	19
1.6.2. Các dịch hại chính trong sản xuất rau hoa họ thập tự:.....	29
1.7. Sơ lược một số đặc điểm của sâu tơ (<i>Plutella xylostella</i> Linnaeus):	30
1.7.1. Định danh:.....	30
1.7.2. Phân bố:	30
1.7.3. Đặc điểm sinh học, sinh thái:.....	30
1.7.4. Hình thái:	32
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	36
2.1. Vật liệu nghiên cứu:	36
2.1.1. Dung môi, hóa chất:.....	36
2.1.2. Dụng cụ, trang thiết bị:	36
2.2. Phương pháp nghiên cứu:	37
2.2.1. Thu dịch chiết cây dứa cạn:	37
2.2.2. Khảo sát hiệu lực của dịch chiết cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm:	39
2.2.3. Khảo sát hiệu lực của dịch chiết thô cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ:	41
2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu:	43
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN:.....	45
3.1. Kết quả thu dịch chiết:	45
3.2. Khảo sát hiệu lực của dịch chiết cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm:	48
3.3. Khảo sát hiệu lực của dịch chiết cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ:.....	50
CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	53
4.1. Kết luận:.....	53
4.2. Kiến nghị:.....	53
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	56
PHỤ LỤC	60

DANH MỤC KÝ HIỆU, CHỮ VIẾT TẮT

STT	Chữ viết tắt	Chữ viết đầy đủ tiếng Anh	Ý nghĩa tiếng Việt
1	VB	Vinblastin	
2	VC	Vincristin	
3	DC		Dịch chiết
4	ĐC		Đối chứng
5	BVTV		Bảo vệ thực vật
6	TIA	Terpenoid indole alkaloid	
7	GSXL		Giờ sau xử lý
8	NSXL		Ngày sau xử lý

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1: Hình ảnh hoa của ba giống cây dứa cạn (<i>Catharanthus roseus</i>).....	8
Hình 1.2: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng dung môi hữu cơ trong môi trường kiềm	13
Hình 1.3: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng nước acid.	14
Hình 1.4: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng cồn acid.....	15
Hình 1.5: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng cất kéo hơi nước.	16
Hình 1.6: Cấu tạo bộ chiết Soxhlet.....	17
Hình 1.7: Sơ đồ chiết Soxhlet.....	18
Hình 1.8. Hình ảnh Cải bắp (<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L.)	20
Hình 1.9. Hình ảnh Su hào: <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>gongylodes</i>	21
Hình 1.10. Hình ảnh Súp lơ trắng: <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>botrytis</i> L.	22
Hình 1.11. Hình ảnh Súp lơ xanh: <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i>	23
Hình 1.12. Hình ảnh Cải bẹ xanh: <i>Brassica juncea</i> L.	24
Hình 1.13. Hình ảnh Cải ngọt: <i>Brassica chinensis</i> L.	25
Hình 1.14. Hình ảnh Cải bẹ: <i>Brassica campestris</i> L.....	26
Hình 1.15. Hình ảnh Cải thảo: <i>Brassica pekinensis</i> (Lour.) Rupr.....	28
Hình 1.16. Hình ảnh Cải củ: <i>Raphanus sativus</i> L.	29
Hình 1.17: Vòng đời sâu tơ	31
Hình 1.18: Hình ảnh con ngài trưởng thành.....	32
Hình 1.19: Hình ảnh trứng sâu tơ.....	33
Hình 1.20: Hình ảnh sâu non.....	33
Hình 1.21: Hình ảnh hóa kén của sâu tơ.....	34
Hình 1.22: Sâu tơ giai đoạn đóng kén (trái) và sâu tơ tuổi 4 (phải).....	34
Hình 1.23: Sâu tơ khi gây hại trên rau ăn lá.....	35
Hình 2.1: Chiết tách bột lá dứa cạn tại phòng thí nghiệm.....	37
Hình 2.2: Cô quay chân không tại phòng thí nghiệm.....	38
Hình 2.3: Sơ đồ bố trí các ô thí nghiệm trong phòng thí nghiệm.....	40
Hình 2.4: Sơ đồ bố trí các ô thí nghiệm trên các luống trồng.	42
Hình 2.5: Các luống trồng được sử dụng để khảo sát hiệu lực của dịch chiết tại nhà che phủ - Vườn thực nghiệm khoa Nông Lâm, trường Đại học Đà Lạt.	43
Hình 3.1: Cây dứa cạn tại địa phương được dùng làm thí nghiệm.	45
Hình 3.2: Cây dứa cạn được dùng để thu hái lá trên địa bàn thành phố Đà Lạt.	46

Hình 3.3: Lá dừa cạn sau khi sấy được nghiền nhỏ bằng máy xay sinh tố.	46
Hình 3.4: Lá dừa cạn sau khi sấy và nghiền nhỏ.	47
Hình 3.5: Lá dừa cạn sau khi nghiền nhỏ và rây lấy bột mịn.	47
Hình 3.6: Số lượng sâu còn sống sau khi xử lý dịch chiết dừa cạn với các nồng độ khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm.	48
Hình 3.7: Sâu tơ sau khi xử lý dịch chiết 48 giờ.	49
Hình 3.8: Số lượng sâu còn sống sau khi xử lý dịch chiết dừa cạn với các nồng độ khác nhau trong điều kiện nhà che phủ.	51

DANH MỤC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1: Dung môi và hóa chất cần dùng.....	36
Bảng 3.1: Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết đến hiệu lực phòng trừ sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm (đơn vị: %)......	49
Bảng 3.2: Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết đến hiệu lực phòng trừ sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ (đơn vị: %)......	52

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: “Khảo sát hiệu lực phòng trừ sâu tơ (*Plutella xylostella*) hại rau ăn lá từ dịch chiết cây dứa cạn (*Catharanthus roseus* L.)”
- Sinh viên thực hiện: Lê Thị Thanh Phương
- Lớp: NHK42 Khoa: Nông Lâm Năm thứ: 3 Số năm đào tạo: 4
- Người hướng dẫn: ThS. Cao Thị Làn

2. Mục tiêu đề tài:

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm đánh giá được hiệu lực trừ sâu tơ hại rau ăn lá của dịch chiết lá cây dứa cạn ở điều kiện phòng thí nghiệm và ở điều kiện nhà che phủ.

3. Tính mới và sáng tạo:

Đóng góp vào quy trình phòng trừ sâu tơ hại rau ăn lá bằng biện pháp sinh học tại Lâm Đồng, sử dụng thuốc trừ sâu hữu cơ có nguồn gốc từ các loài thực vật phân bố nhiều ở Việt Nam, chất diệt côn trùng an toàn với sức khỏe con người và thân thiện với môi trường, góp phần vào việc canh tác nông nghiệp bền vững.

4. Kết quả nghiên cứu:

Nghiên cứu đã đạt được một số kết quả sau:

- Chiết xuất được dịch chiết từ lá cây dứa cạn bằng phương pháp chiết Soxhlet.
- Đánh giá hiệu lực trừ sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm của dịch chiết từ lá cây dứa cạn cho thấy dịch chiết từ lá cây dứa cạn có hiệu lực tiêu diệt sâu tơ tuổi 2 cao khi phun từ nồng độ 55%, thời gian sâu chết nhiều từ 36h – 48h sau khi xử lý dịch chiết.
- Đánh giá hiệu lực trừ sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ của dịch chiết từ lá cây dứa cạn cho thấy dịch chiết từ lá cây dứa cạn có hiệu lực mức trung bình khá tiêu diệt sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ khi xử lý ở nồng độ từ 55%, thời gian sâu chết nhiều từ 5 – 7 ngày sau khi xử lý dịch chiết.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

Kết quả của đề tài là dẫn liệu tốt, lần đầu tiên được nghiên cứu tại Lâm Đồng, làm cơ sở phục vụ cho các nghiên cứu ứng dụng tiếp theo và đào tạo. Nghiên cứu xuất phát từ thực tiễn, có cơ sở khoa học vững chắc nên có nhiều triển vọng để mở rộng nghiên cứu và ứng dụng vào sản xuất trong tương lai.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài (ghi rõ tên tạp chí nếu có) hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu (nếu có):

Ngày 17 tháng 05 năm 2021

**Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài**

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài (phần này do người hướng dẫn ghi):

.....
.....
.....
.....
.....

Ngày tháng năm

Xác nhận của trường đại học

Người hướng dẫn

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Lê Thị Thanh Phương

Sinh ngày: 08 tháng 03 năm 1995

Nơi sinh: Lâm Đồng

Lớp: NHK42 Khóa: 42

Khoa: Nông Lâm

Địa chỉ liên hệ: Lớp NHK42 – Khoa Nông Lâm – Trường Đại học Đà Lạt

Điện thoại: 0784080395 Email: 1812975@dlu.edu.vn

Ảnh 4x6

II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP

* Năm thứ 1:

Ngành học: Nông học Khoa: Nông Lâm

Kết quả xếp loại học tập: ĐTBTL: 3.21/4

Sơ lược thành tích:

- Đạt học bổng khuyến khích học tập năm học 2018 – 2019 của trường Đại học Đà Lạt.
- Giấy khen “Đạt danh hiệu sinh viên Giỏi năm học 2018-2019”. Số 676/QĐ – ĐHDL ngày 14 tháng 11 năm 2019; Hiệu trưởng trường Đại học Đà Lạt.
- Chứng nhận Đạt Danh hiệu Sinh viên 5 tốt cấp trường năm học 2018- 2019. Ngày 05 tháng 01 năm 2020; Hội sinh viên Việt Nam BCH Trường Đại học Đà Lạt.

* Năm thứ 2:

Ngành học: Nông học Khoa: Nông Lâm

Kết quả xếp loại học tập: ĐTBTL: 3.11/4

Sơ lược thành tích:

- Đạt học bổng khuyến khích học tập năm học 2019 – 2020 của trường Đại học Đà Lạt.

- Giấy khen “Đạt thành tích Xuất sắc trong học tập và rèn luyện năm học 2019-2020” . Số 840/QĐ-ĐHĐL ngày 23 tháng 10 năm 2020; Hiệu trưởng trường Đại học Đà Lạt.
- Chứng nhận Đạt Danh hiệu Sinh viên 5 tốt cấp trường năm học 2019- 2020. Ngày 08 tháng 01 năm 2021; Hội sinh viên Việt Nam BCH Trường Đại học Đà Lạt.
- Chứng nhận Đạt giải Nhì hội thi trực tuyến Olympic các môn khoa học Mác Lênin và tư tưởng Hồ Chí Minh “Ánh sáng soi đường” năm 2020. Ngày 10 tháng 5 năm 2020; Đoàn TNCS Hồ Chí Minh trường Đại học Đà Lạt.

***Năm thứ 3:** Học kỳ I

Ngành học: Nông học Khoa: Nông Lâm

Kết quả xếp loại học tập: ĐTBTL: 3.32/4

Sơ lược thành tích:

- Đạt học bổng khuyến khích học tập năm học 2020 – 2021 của trường Đại học Đà Lạt.
- Giấy khen “Đạt giải Nhất Hội thi Đại sứ Văn hoá đọc năm 2020”. Số 806/QĐ – ĐHĐL ngày 20 tháng 10 năm 2020; Hiệu trưởng trường Đại học Đà Lạt.
- Chứng nhận Đạt giải khuyến khích tại Cuộc thi “Đại sứ văn hoá đọc năm 2020”. Quyết định số 2918/QĐ-BVHTTDL; Bộ Văn hoá, Thể thao và Du lịch
- Chứng nhận Đạt giải Nhì hội thi trực tuyến Olympic các môn khoa học Mác Lênin và tư tưởng Hồ Chí Minh “Ánh sáng soi đường” năm 2020. Ngày 28 tháng 04 năm 2020; Đoàn TNCS Hồ Chí Minh trường Đại học Đà Lạt.

Ngày 17 tháng 05 năm 2021

Xác nhận của trường đại học

**Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài**

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề:

Từ rất lâu trên Thế giới và tại Việt Nam, thuốc bảo vệ thực vật đã đóng một vai trò quan trọng trong việc phòng trừ sâu bệnh cho cây trồng trong sản xuất Nông nghiệp, để đảm bảo nguồn an ninh lương thực quốc gia và Thế giới. Tuy nhiên, bên cạnh những đóng góp tích cực cho ngành Nông nghiệp thì việc sử dụng thuốc bảo vệ thực vật ngày càng nhiều, lạm dụng thuốc bảo vệ thực vật trong trồng trọt đã và đang dẫn đến những hệ lụy khó lường. Khi chúng ta xử lý bằng thuốc bảo vệ thực vật, bên cạnh tác động lên các đối tượng dịch hại, chúng còn tác động đến cả các loài thực vật cũng như các sinh vật khác sống trong vùng được xử lý thuốc, từ đó có thể gây ra hàng loạt các hậu quả nguy hại đến quần thể sinh vật, gây biến đổi về hình thái của cây trồng, giảm năng suất, chất lượng sản phẩm, một số thuốc hoá học khi phun ngấm vào đất còn có thể kìm hãm sự phát triển của vi sinh vật trong đất, dẫn đến mất cân bằng hệ sinh thái và cả môi trường. Pemelet (1971) đã chỉ ra, để có thể phòng trừ được 1000 loài sâu hại thì thuốc bảo vệ thực vật đã tác động đến khoảng 100.000 loài động thực vật khác nhau không nằm trong số các đối tượng cần phải phòng trừ song lại rất cần thiết cho đời sống của con người. Mellenky (1976) đã tiến hành nghiên cứu và chỉ ra rằng nồng độ kim loại ở trong đất ở ngưỡng 2000 ppm đã giết chết 100% giun đất có trong đất ở vườn cây ăn quả, một sinh vật có lợi trong quá trình cải tạo đất cũng như duy trì độ màu mỡ của đất. Tóm lại, với tất cả những ảnh hưởng xấu của thuốc bảo vệ thực vật đối với môi trường tự nhiên như làm giảm sự đa dạng ổn định của quần thể sinh vật, hình thành tính kháng thuốc qua các thế hệ các loài dịch hại cũng như làm xuất hiện các loài dịch hại mới và tái phát bùng nổ trở lại của dịch hại sau nhiều năm xử lý bằng thuốc bảo vệ thực vật hoá học ở các vùng, bên cạnh đó còn ảnh hưởng đến các loài vi sinh vật sống trong đất đai, nước, các động vật sống trong nước cũng như trên cạn, ảnh hưởng đến đất đai trồng trọt và dư lượng thuốc bảo vệ thực vật còn gây nguy hại đến phẩm chất của cây trồng cũng như sức khoẻ của con người.

Với xu hướng phát triển bền vững của nông nghiệp hiện nay thì các nhà nghiên cứu trong nước và trên Thế giới đã tích cực tìm tòi, thử nghiệm các biện pháp phòng trừ sâu bệnh hại mà không phải sử dụng đến thuốc bảo vệ thực vật hoá học như: sử dụng chế phẩm sinh học, nghiên cứu sử dụng nấm và vi khuẩn hay sử dụng thiên địch đối

kháng hoặc các hợp chất thứ cấp từ các loài thảo mộc đã và đang được đề cao quan tâm, ứng dụng vào thực tế sản xuất.

Đà Lạt là vùng chuyên canh rau hoa lớn nhất Việt Nam vì vậy vấn đề kiểm soát sâu bệnh hại nông nghiệp mà không gây ảnh hưởng đến môi trường cũng nên được quan tâm hàng đầu. Sâu tơ (*Plutella xylostella* Linnaeus) hay còn có các tên gọi khác theo từng vùng ở Việt Nam là sâu đu, sâu dù, sâu kén mỏng... là loại sâu gây hại có ở hầu hết các vùng trồng rau khác nhau trong họ Hoa thập tự (họ Cải), đặc biệt gây hại nặng cho các loại rau có giá trị kinh tế cao như súp lơ, bắp cải, su hào,... ngoài ra, sâu còn phá hại trên một số cây họ Cà như cây cà chua và cây khoai tây... Đặc biệt sâu tơ là một trong những loại sâu có khả năng kháng thuốc cao, do vậy ở nhiều nơi việc dùng thuốc hoá học để trừ sâu tơ không mang lại hiệu quả cao, nhất là ở những vùng trồng rau chuyên canh.

Xuất phát từ mong muốn tìm hiểu thuốc trừ sâu hữu cơ có nguồn gốc từ các loài thực vật được trồng nhiều ở Việt Nam, chất diệt côn trùng an toàn với sức khoẻ con người và thân thiện với môi trường, góp phần vào việc canh tác nông nghiệp bền vững, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Khảo sát hiệu lực phòng trừ sâu tơ (*Plutella xylostella*) hại rau ăn lá từ dịch chiết cây dứa cạn (*Catharanthus roseus* L.)

2. Mục tiêu nghiên cứu:

Mục tiêu của nghiên cứu chi tiết của đề tài là:

- Thu chiết thành công dịch chiết lá cây dứa cạn.
- Khảo sát được hiệu lực tiêu diệt sâu tơ hại rau ăn lá bằng dịch chiết lá cây dứa cạn ở điều kiện phòng thí nghiệm và điều kiện nhà che phủ.
- Từ đó, xác định được nồng độ dịch chiết lá cây dứa cạn có hiệu lực diệt trừ sâu tơ cao nhất.

3. Phạm vi nghiên cứu:

Hiệu lực trừ sâu tơ gây hại cây rau họ thập tự tại Đà Lạt của dịch chiết lá cây dứa cạn trong điều kiện phòng thí nghiệm và điều kiện nhà che phủ.

Đánh giá khả năng chiết dịch chiết cây dứa cạn ở điều kiện phòng thí nghiệm.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về thuốc trừ sâu thảo mộc

Thuốc trừ sâu thảo mộc là những chất được tách chiết ra từ thực vật, bao gồm cả dầu thực vật, là những chất hữu cơ thứ cấp được tạo thành trong cơ thể thực vật, chủ yếu là alkaloid và phenol có hoạt tính sinh học cao. (Nguyễn Mạnh Chinh, 2011).

Hiện nay ở Việt Nam theo thông báo năm 1996 có 935 loài cây thảo mộc, trong số đó có 10 loài cây trừ sâu hiệu lực tốt. Đối với thế giới có khoảng 2000 loài cây có thể diệt sâu hại, trong số đó có 10 đến 12 loài cây phổ biến được dùng trên thế giới tại các nước. Các bộ phận của cây chiết được các hợp chất trừ sâu thảo mộc như este, glucozit, ancaloit và một số hợp chất khác.

Thực vật được thiên nhiên ưu đãi với tiềm năng sản xuất một loạt các hợp chất hóa sinh bảo vệ thực vật khỏi côn trùng gây hại. Tuy nhiên, việc sản xuất các hoá chất thực vật đã được nghiên cứu là khác nhau giữa các loài thực vật (Ahmad, 2007). Các hoá chất thực vật được tạo ra để bảo vệ thực vật khỏi côn trùng gây hại tấn công, chúng gây ảnh hưởng đến sự kiếm ăn và sinh sôi của côn trùng trên cây trồng (Ramya, 2008).

1.1.1. Ưu, nhược điểm của thuốc trừ sâu thảo mộc

Thuốc trừ sâu thảo mộc có những ưu điểm như là tiếp xúc trực tiếp với côn trùng, trong đó có một số loại có tác dụng xông hơi và vị độc; cơ thể côn trùng sẽ bị chết nhanh chóng sau khi bị những chất độc xâm nhập do thần kinh bị tê liệt. Một ưu điểm lớn của thuốc trừ sâu thảo mộc đó là hầu như không gây hại đến con người và các vi sinh vật có ích trong tự nhiên vì tồn lưu ngắn trong môi trường và dễ bị phân huỷ bởi ánh sáng. Do đó góp phần bảo vệ các loài thiên địch và từ đó giữ được cân bằng sinh thái và chúng thường dễ phân huỷ trong tự nhiên nên tránh được hiện tượng dư lượng trên cây trồng, đáp ứng được nhu cầu sử dụng nông sản sạch phù hợp với xu thế phát triển hiện nay.

Tuy nhiên, hàm lượng hoạt chất trong thuốc thảo mộc dễ bị ảnh hưởng do bảo quản sau thu hoạch và điều kiện ngoại cảnh. Việc thu hái cũng rất khó vì cây thuốc thảo mộc đa phần mọc rải rác trong tự nhiên, giá thành sẽ rất cao nếu như trồng nên ít được sử dụng. Nhưng đến thời điểm hiện tại cây thuốc thảo mộc được nghiên cứu sử dụng lại

do vấn đề bảo vệ môi trường sau một thời gian gần nửa thế kỷ bị thay thế bởi thuốc trừ sâu tổng hợp.

1.1.2. Một số thuốc thảo mộc trừ sâu thông dụng:

Pyrethrum là thuốc trừ sâu thảo mộc có tác dụng tiếp xúc mạnh, vị độc và xông hơi (yếu) gồm những hợp chất este phức tạp như: *Chrysanthemum*, *Cinerarie Folium*, *Ch. Leuncanthemum* có trong cây cúc sát trùng và các loài khác giống *Chrysanthemum*. Nếu trúng độc của thuốc với hàm lượng nhỏ sẽ dễ hồi phục lại nhưng thuốc cũng có khả năng tiêu diệt côn trùng cao. Thuốc có tác dụng đặc biệt chủ yếu đến hệ emzim thủy phân và hệ thần kinh ngoại vi, và bên cạnh đó cũng tác dụng đến enzym lipaza. Khi hỗn hợp với dầu hay chất hợp lực thì độ độc của thuốc được tăng lên. Thuốc không tích lũy trong cơ thể sinh vật, an toàn với thực vật và động vật máu nóng. Tuy nhiên, thuốc dễ bị phân huỷ bởi ánh sáng, không bền trong môi trường tự nhiên. Bên cạnh đó việc trồng, thu hái, bảo quản sau thu hoạch cũng gặp không ít trở ngại, giá thành của thuốc cao. Vì thế con người đã tổng hợp chúng trên cơ sở các chất tự nhiên thành nhóm thuốc trừ sâu tổng hợp thế hệ mới pyrethroid có độ bền cao hơn để khắc phục những nhược điểm trên.

Dịch cây và hạt neem (xoan Ấn Độ) có tác dụng xua đuổi, gây ngán, tiêu diệt và kìm hãm côn trùng sinh trưởng và phát triển. Tại Ấn Độ, đây là loại cây trừ sâu được trồng nhiều nhất, bên cạnh xoan Ấn Độ thì các loài thuộc họ xoan ta cũng có tác dụng tương tự. Dịch cây có thể phòng chống một hại lên đến 6 tháng khi ở nồng độ 3 - 5ppm. Dịch cây và quả cây neem không gây hại cho thiên địch mà nó còn có thể phòng chống sâu ăn lá trong vài tuần.

Rotenoi và rotenoit có ở các loài thực vật thuộc họ Cánh bướm Fabaceae và có rất nhiều trong rễ cây *Derris sp* (đặc biệt là cây *Derris elepteca*). Khi trộn hỗn hợp hai hợp chất trên mang lại hiệu quả trừ sâu rất cao, trước đó *rotenoi* và *rotenoit* đã được sử dụng để trừ sâu bọ. Triệu chứng trúng độc của côn trùng biểu hiện rất nhanh, thuốc tiếp xúc với côn trùng qua con đường tiếp xúc mạnh và vị độc. Thuốc tác động đến các enzym hô hấp như hiddrogenaza - nó có tác dụng xúc tác tách, vận chuyển hidro từ cơ chất đến enzym xitocrom B, Cl, C, ubiguinon, và enzym oxidaza có tác dụng xúc tác vận chuyển electron tới oxi, hoạt hoá oxi phân tử. Thuốc này khá an toàn với cây trồng và động vật máu nóng. Thường được dùng để trừ cá trong ruộng tôm vì nó độc với cá nhưng an toàn

với tôm. Thuốc bị phân hủy rất nhanh (sau 48 giờ) trong môi trường. Sản phẩm chế từ rễ cây ruốc cá được dùng để trừ cá trong ruộng nuôi tôm rất hiệu quả. Bên cạnh đó, ở Việt Nam có rất nhiều loài thực vật như cây ruốc cá, cây củ đậu, hạt thàn mát,... có chứa hàm lượng rotenoi và rotenoit cao.

Scillirosit được chiết xuất từ cây hành biển đỏ *urginea* (*scillamaritma*) là loại glicozit, có tác dụng vị độc. Thuốc thường được chế thành bã trừ chuột và rất độc đối với động vật máu nóng.

1.1.3. Các kết quả nghiên cứu về thuốc trừ sâu thảo mộc

Trên Thế giới và tại Việt Nam, đã có những nghiên cứu về các loại thuốc bảo vệ thực vật nguồn gốc tự nhiên có nguồn gốc thảo mộc, là các loại thuốc được chiết xuất từ thực vật có hoạt tính phòng chống dịch hại. Đặc biệt, Việt Nam được thiên nhiên ưu đãi với hệ thực vật vô cùng phong phú với nhiều loại cây có tinh dầu và dầu có chứa các hợp chất với hoạt tính sinh học cao và đa dạng. Xuất phát từ lợi thế này, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành và có thể kể đến những nghiên cứu nổi bật về cây xoan Ấn Độ (*Neem*) (*Azadirachita indica*) đứng đầu trong danh sách hơn 2.400 loài thực vật có khả năng phòng trừ côn trùng gây hại. Theo các số liệu thống kê, các sản phẩm từ cây xoan Ấn Độ (*Neem*) (*Azadirachita indica*) có khả năng phòng trừ hơn 350 loài động vật chân đốt, 12 loài tuyến trùng, 15 loài nấm, 3 loại virus, 2 loài ốc sên và 1 loài giáp xác. Azadirachtin là thành phần hoạt chất chính được tách ra từ cây xoan Ấn Độ (*Neem*), có thể tác động đến quá trình biến thái của côn trùng. Dịch chiết từ lá và hạt cây xoan Ấn Độ (*Neem*) (*Azadirachita indica*) với hoạt chất Azadirachtin có khả năng phòng trừ bọ trĩ, rầy nâu, sâu tơ... (Dương Anh Tuấn, 2002). Bên cạnh cây xoan Ấn Độ, dịch chiết từ lá cây kinh giới, từ hạt gấc có khả năng gây ngán ăn đối với sâu xanh bướm trắng (*Pieris rapae*) (Nguyễn Ngọc Hòa, 2011). Một nghiên cứu của Trần Đăng Hoà và Nguyễn Thị Trường vào năm 2014 đã chỉ ra dịch chiết từ lá cây đậu dầu có khả năng phòng trừ sâu kéo màng *Hellula undalis* Fabricius và rệp cải *Rhopalosiphum pseudobrassicae* (Homoptera: Aphididae).

Với những tiềm năng về nghiên cứu và ứng dụng thuốc trừ sâu sinh học có nguồn gốc từ thảo mộc ở Việt Nam rất lớn như đã nêu, nhóm nghiên cứu đã tìm hiểu về cây

dừa cạn (*Catharanthus roseus* L.) thuộc họ Apocynaceae để khảo sát hiệu lực phòng trừ sinh học sâu tơ (*Plutella xylostella* L.) hại rau ăn lá từ dịch chiết cây dừa cạn.

1.2. Tổng quan về cây dừa cạn:

1.2.1. Định danh:

Tên khoa học: *Catharanthus roseus* L.; *Vinca roseus* L.; *Lochnera rosea* Reich; *Ammocallis rosea*.

Tên gọi khác: Bông dừa, Hải đẳng, Dương giác, Dừa tây, Trường xuân hoa, Madagascar periwinkle, pervenche de Madagascar.

Bậc phân loại thực vật:

Ngành: (Magnoliophyta) Ngọc Lan

Lớp: (Magnoliopsida) Ngọc Lan

Phân lớp: (Lamiidae) Hoa Môi

Bộ: (Apocynales) Trúc Đào

Họ: (Apocynaceae) Trúc Đào

Chi: *Catharanthus*

Loài: *Catharanthus roseus* L.

1.2.2. Đặc điểm thực vật:

Dừa cạn là cây thân thảo hoặc cây bụi nhỏ thường xanh, sống lâu năm, là loài cây ưa sáng, ưa ẩm và có khả năng chịu được hạn, cao khoảng 40 - 80 cm, phân nhiều cành thẳng đứng, bộ rễ phát triển, thân gỗ ở phía gốc, mềm ở phần trên, mọc thành bụi.

Lá mọc đối, có dạng hình ôvan hay thuôn dài, đầu lá hơi nhọn, xanh bóng, không lông, gân lá giữa nhạt màu và cuống lá ngắn, hẹp, nhọn, dài 4 - 6 cm, rộng 2 - 3 cm, không có nhựa mủ.

Hoa có màu từ trắng tới hồng sẫm với phần tâm có màu đỏ hơn, hoa mọc riêng lẻ ở kẽ lá gần ngọn. Vòi nhụy dài bằng ống tràng có hình đỉnh dài khoảng 2,5 - 3 cm, tràng hoa có đường kính 2 - 5 cm và có 5 thùy tương tự như cánh hoa.

Quả là một cặp quả đại dài 2 - 4 cm, rộng 2 - 3 mm chứa khoảng 12 - 20 hạt nhỏ màu nâu nhạt, hình trứng, mọc thẳng đứng hơi ngả sang hai bên, trên mặt hạt có những mụn nổi thành hàng dọc. Mùa hoa và quả gần như quanh năm.

1.2.3. Nguồn gốc và sự phân bố:

Cây dứa cạn (*Catharanthus roseus* L.) có nguồn gốc xuất xứ ở đảo Madagascar thuộc châu Phi với 8 loài, chúng mọc hoang có thể tìm thấy rải rác ở Ấn Độ và Srilanca và được trồng ở nhiều nước nhiệt đới cũng như ôn đới.

Ở Việt Nam, dứa cạn là cây hoang dại, phân bố tự nhiên, từ tỉnh Quảng Ninh đến Kiên Giang dọc theo vùng ven biển và tập trung ở các tỉnh miền Trung như Thanh Hóa, Nghệ An, Thừa Thiên - Huế, Quảng Nam, Đà Nẵng, Bình Định, Phú Yên, Kiên Giang, đảo Phú Quốc và Côn đảo.

Dứa cạn là loài cây ưa sáng, ưa ẩm và có khả năng chịu được hạn. Cây ra hoa, quả hằng năm cho nên nguồn dứa cạn mọc tự nhiên ở Việt Nam tương đối dồi dào.

1.2.4. Giá trị và công dụng:

Trong các loài của chi *Catharanthus* thì dứa cạn (*C. roseus*) là loài có giá trị ứng dụng và kinh tế cao nhất. Ngoài việc được biết đến là một loại cây cảnh, dịch chiết alkaloid từ cây dứa cạn còn được sử dụng như một loại thảo dược làm thuốc chữa bệnh, và hơn cả là hiệu quả phòng trừ côn trùng gây hại trên cây trồng của loài cây này đang được nhiều nước trên thế giới nghiên cứu.

Cây dứa cạn được biết đến với khả năng kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, chữa lành vết thương và diệt côn trùng (Jaleel, 2006) và chúng cũng đã được chứng minh trước đây là có các hoạt chất chống ung thư, chống tăng huyết áp và kháng khuẩn (Maladalr, 2012). Một nghiên cứu gần đây nhất đã chỉ ra rằng, các hạt nano bạc chứa axit stearic được phân lập từ cây dứa cạn có tác động gây ức chế sinh trưởng đối với loài Sâu đục quả và chồi (*Earias vittella*) - một loài gây hại rất nghiêm trọng ở cây đậu bắp (*Abelmoschus esculentus*) ở Ấn Độ (Manickam Pavunraj, 2020). Bên cạnh đó, hiệu quả diệt ấu trùng muỗi sốt rét (*Anopheles stephensi*) của chiết xuất từ lá của cây dứa cạn (*C.roseus*) và *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*) khi kết hợp với nhau cũng được

chỉ ra và được nhìn nhận là một tiềm năng chống lại loài muỗi gây sốt rét mà vẫn thân thiện với môi trường (Chellasamy Panneerselvam, 2013).

Trong y học hiện đại Nghiên cứu về dược lý đã tiết lộ rằng Dừa cạn có chứa hơn 70 loại alkaloid (indol alkaloids) khác nhau và mang đến hiệu quả trong điều trị các loại ung thư như ung thư vú, ung thư phổi, ung thư tử cung, u ác tính, u lympho Hodgkin và không Hodgkin (Magdi El-Sayed, 2004). *Catharanthus* alkaloids ngăn chặn sự phát triển của tế bào ung thư bằng cách liên kết với các tubulin trong quá trình phân bào. *Catharanthus* alkaloids cũng gây nên apoptosis (trình tự hủy diệt của tế bào theo chương trình có sẵn trong gen). Chúng cũng ức chế sự lây lan của nhiều loại ung thư khác nhau (Rajesh Arora, 1998).

Cây dừa cạn có chứa một lượng các hợp chất dễ bay hơi và phenol bao gồm các axit caffeoylquinic và glycoside flavonol. Và nó được biết là có hoạt tính chống oxy hóa, nó có một vai trò quan trọng trong hệ thống cân bằng cơ thể, hoạt động như chất chống oxy hóa chống lại các loại oxy phản ứng (ROS) có hại bằng cách hình thành các sản phẩm thông qua hô hấp hiếu khí của tế bào bình thường. Vì thế nó được ứng dụng trong các ngành mỹ phẩm và dược phẩm.

1.3. Các hợp chất alkaloid trong cây dừa cạn:

Dừa cạn là cây có nguồn alkaloid tương đối nhiều thuộc chủng loại Terpenoid indole alkaloid (TIA) được tách chiết từ ba giống: *roseus* có cánh hoa màu hồng tím, *albus* có cánh hoa màu trắng vàng và *ocellatus* có cánh hoa màu trắng đỏ. Trong đó dừa cạn hoa màu hồng tím có hàm lượng Vincristine (VC) và Vinblastine (VB) cao nhất.



Hình 1.1: Hình ảnh hoa của ba giống cây dừa cạn (*Catharanthus roseus*)

A: *Catharanthus roseus* var. *roseus*; B: *Catharanthus roseus* var. *albus*;

C: *Catharanthus roseus* var. *ocellatus*.

Một số nghiên cứu dược lý có tiết lộ rằng cây dừa cạn có chứa hơn 70 loại alkaloid khác nhau (indole alkaloid) (Verpoorte, 1998), là một cây thuốc quan trọng, nó sản xuất hơn 130 monoterpenoids và indole alkaloid (Malabadi, 2009). Trong đó vinblastine và vincristine là hai hợp chất quan trọng nhất. Alkaloid có nhân indol được tìm thấy trong tất cả các bộ phận của cây, nhiều nhất trong lá và rễ. Alkaloid toàn phần có ở lá dừa cạn với hàm lượng 0,37% - 1,15%, thân 0,40%, rễ chính 0,7% - 2,4%, rễ phụ 0,9% - 3,7%, hoa 0,14% - 0,84%, vỏ quả 1,14%, hạt 0,18%.

Các alkaloid chủ yếu có trong cây dừa cạn đó là vinblastine, vincristine tetrahydroalstonine, catharanthine, ajmalicine, prinine, vindoline, vincosid. Trong các loại alkaloid đã được chiết từ cây dừa cạn, người ta nhận thấy được 20 nhóm alkaloid có hoạt tính chống ung thư bao gồm vincristine và vinblastine, từ thân và lá của dừa cạn hoa hồng tím có thể chiết xuất được sắc tố flavonoid, anthocyanine và pyrocatechic; ngoài ra, từ rễ dừa cạn chiết được choline và từ lá chiết được acid ursoloc.

Căn cứ vào cấu tạo hóa học, alkaloid trong cây dừa cạn được chia làm ba nhóm chính:

(1) Nhóm alkaloid nhân indoline gồm có các loại như vindoline, lochnericine, ajmaline, lochneridine, lochrovine...

(2) Nhóm alkaloid nhân indole gồm có các loại như peviridine, perosine, catharanthine, perivine, cavicine, ajmalicin...

(3) Nhóm alkaloid có 2 vòng indole hoặc một vòng indole và một vòng indoline như leurosine, leubcosidine... và đặc biệt là các alkaloid có tác dụng chữa bệnh ung thư nhưng có hàm lượng rất thấp như vincristine (leucocristine) 0,003 – 0,005% trong lá, vinblastine (vincaleucoblastine) 0,005– 0,015% trong lá.

Trong đó, vindoline là một tiền chất quan trọng trong chuỗi chuyển hóa tổng hợp nên vinblastine và vincristine. Vindoline kết hợp với catharanthine tạo nên iminium, từ iminium tạo thành α 3'4'anhydrovinblastine (AVLB) với sự xúc tác của

peroxidase 1 (Prx1) hình thành nên vinblastine và vincristine đánh dấu sự hoàn thiện quá trình sinh tổng hợp các terpenoid indole alkaloid (TIA) ở cây dừa cạn. Cả catharanthine và vindoline đều được tổng hợp ở trong thân, rễ và lá của cây dừa cạn, và nhận thấy khả năng tích lũy alkaloid ở lá cao hơn các bộ phận khác của cây, đặc biệt ở biểu bì lá cây dừa cạn là cao nhất. Các nghiên cứu trước đây cho thấy rằng, sự tích lũy catharanthine phụ thuộc vào các TIA trên bề mặt của lá, một phần catharanthine kết hợp với vindoline tạo sản phẩm cuối cùng là vinblastine và vincristine; một phần catharanthine có trên bề mặt lá được hoạt động như lớp sáp và có khả năng ngăn ngừa côn trùng, nấm mốc gây hại.

1.4. Tác động của các hoạt chất trong cây Dừa cạn đối với các loài dịch hại:

1.4.1. Một số nghiên cứu trên Thế giới:

Năm 2008, Ramya và cộng sự đã làm dịch chiết từ lá cây dừa cạn để làm thuốc trừ sâu sinh học phòng trừ ấu trùng sâu đục thân Gram - *Helicoverpa armigera* (Hübner). Nghiên cứu thử nghiệm sinh học được thực hiện với các phân đoạn khác nhau của chiết xuất lá cây dừa cạn và được tiến hành ở 27 ± 1 , độ ẩm 75%.

Năm 2010, Roepke và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của catharanthine (alkaloid trong cây dừa cạn) đến loài nấm *Phytophthora nicotianiae*. Kết quả cho thấy catharanthine ức chế sự phát triển của nấm trong môi trường có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$, nồng độ này thấp hơn rất nhiều so với nồng độ trung bình của catharanthine trong lá non và lá già là 14 μg và 23 $\mu\text{g/ml}$. Các tác dụng chống côn trùng xâm hại của catharanthine được thí nghiệm bằng cách cho các loài côn trùng như *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera eridania*, *Helicoverpa armigera*, *Phaedon cochleariae* and *Bombyx mori* ăn lá cây dừa cạn. Và kết quả cho thấy rằng ấu trùng của *S. Eridania* không ăn lá dừa cạn, trong khi hai loài là *Spodoptera* và *B. mori* ăn lá mà không bị chết; loài *P. cochleariae* không ăn lá trong vòng 5 ngày và bị chết đói. Kết quả khác khi cho ấu trùng *B. mori* ăn với chế độ ăn trộn lá dừa cạn với lá dâu tằm thì cho thấy tỷ lệ tử vong giảm khi nghiền lá thành bột, mặt khác khi cho ấu trùng ăn lá dâu tằm trộn với catharanthine tinh khiết thì chúng đã bị chết và tỷ lệ chết phụ thuộc vào liều lượng catharanthine.

Năm 2012, S Ponarulseivam cùng cộng sự đã nghiên cứu tổng hợp hạt nano bạc sử dụng lá cây dứa cựa và các hoạt chất phòng trừ ký sinh trùng sốt rét *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*). Kết luận cho thấy rằng lá của cây dứa cựa có khả năng tổng hợp các hạt nano bạc có hoạt chất phòng trừ *P. falciparum*.

Năm 2013, Dr. K. Kovendan và cộng sự đã nghiên cứu về hiệu quả diệt sâu non của chiết xuất từ lá cây dứa cựa và vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* phòng trừ *Anopheles stephensi* Liston. Tỷ lệ chết của ấu trùng *An. Stephensi* sau khi xử lý bằng chiết xuất ete dầu hòa của lá cây dứa cựa ở 20 g/l được ghi nhận ở ấu trùng lứa đầu tiên là 47%, và dần dần tăng lên 94% khi chiết xuất từ lá cây dứa cựa được sử dụng ở 14 g/l. Tỷ lệ tử vong là 33% đã được ghi nhận ở ấu trùng ca đầu tiên sau khi xử lý bằng *B. thuringiensis* ở 10 g/l, và nó tăng lên 84% ở 30 g/l. Và khi xử lý với chiết xuất cây dứa cựa ở 60 g/l và *B. thuringiensis* ở 2,5 g/l, tỷ lệ tử vong của *An. stephensi* trong mỗi giai đoạn ấu trùng là cao nhất.

Năm 2016, Manickam Pavunraj cùng cộng sự đã nghiên cứu hoạt tính kháng bệnh của các chiết xuất thô và các phân đoạn được phân lập từ lá cây dứa cựa phòng trừ loài sâu đục quả có đốm (*Earias vittella*). Nghiên cứu nhằm mục đích khám phá hoạt tính kháng bệnh của hexan, dichloromethane (DCM), aceton và các chất chiết xuất từ lá dứa cựa phòng trừ sâu đục thân và sâu đục quả (*Earias vittella*). Trong số các chiết xuất thô khác nhau được thử nghiệm, ở nồng độ 5% của chiết xuất DCM cho thấy hoạt tính kháng vi khuẩn *E. vittella* đáng kể. Sau đó, dịch chiết thô này được tiếp tục tách thành năm phần cho thấy hoạt tính tối đa là 84,60% ở nồng độ 1000 ppm. Nghiên cứu cho thấy rằng chiết xuất thô và các phân đoạn từ cây dứa cựa thể hiện hoạt tính diệt khuẩn sinh học phòng trừ *E. vittella*.

Năm 2020, Manickam Pavunraj cùng cộng sự đã nghiên cứu và chỉ ra rằng “Các hạt nano bạc có chứa axit stearic được phân lập từ cây dứa cựa: có tác động gây ức chế sinh trưởng đối với loài sâu đục thân và sâu đục quả (*Earias vittella*) - một loài gây hại rất nghiêm trọng ở cây đậu bắp (*Abelmoschus esculentus*) tại Ấn Độ.

1.4.2. Nghiên cứu trong nước:

Năm 2018, Dương Phương Quỳnh đã tiến hành nghiên cứu Tối ưu hóa quy trình chiết xuất alkaloid trong cây dừa cạn. Nghiên cứu đã khảo sát các dung môi và xây dựng được quy trình chiết xuất alkaloid toàn phần (định hướng vinblastin), xác định được vinblastin từ thuốc tiêm bằng: phản ứng hóa học, sắc ký lớp mỏng, khối phổ MS và sử dụng vinblastin này làm chất đối chiếu trong định tính alkaloid từ bột dược liệu. Đồng thời cũng khảo sát được sự hấp thụ của vinblastin bằng phương pháp quang phổ UV-Vis.

1.5. Phương pháp chiết xuất:

Alkaloid là những base yếu, thường tồn tại dưới dạng muối của acid hữu cơ hoặc vô cơ ở trong cây, đôi khi còn có dạng kết hợp với tanin nên phải tán nhỏ dược liệu để dễ thấm với dịch chiết và giải phóng alkaloid khỏi muối của nó bằng các kiềm trung bình hoặc kiềm mạnh.

Hầu hết các alkaloid base không tan trong nước nhưng dễ tan trong dung môi hữu cơ ít phân cực. Nhưng các muối alkaloid thường tan trong nước, còn và không tan trong các dung môi ít phân cực. Tuy nhiên còn tùy theo tính chất của alkaloid để sử dụng phương pháp chiết thích hợp.

Đối với những alkaloid bay hơi được như coniin (trong cây *Conium maculatum*), nicotin (trong cây thuốc lá), spartein (trong cây *Cytisus scoparius*)... có thể cất kéo bằng hơi nước sau khi sấy khô dược liệu, tán nhỏ, cho kiềm vào để đẩy alkaloid dạng muối thành dạng base, alkaloid được lấy ra khỏi dược liệu theo phương pháp cất kéo bằng hơi nước, người ta thường đựng dịch cất được vào trong dung dịch acid và từ đó thu được muối alkaloid.

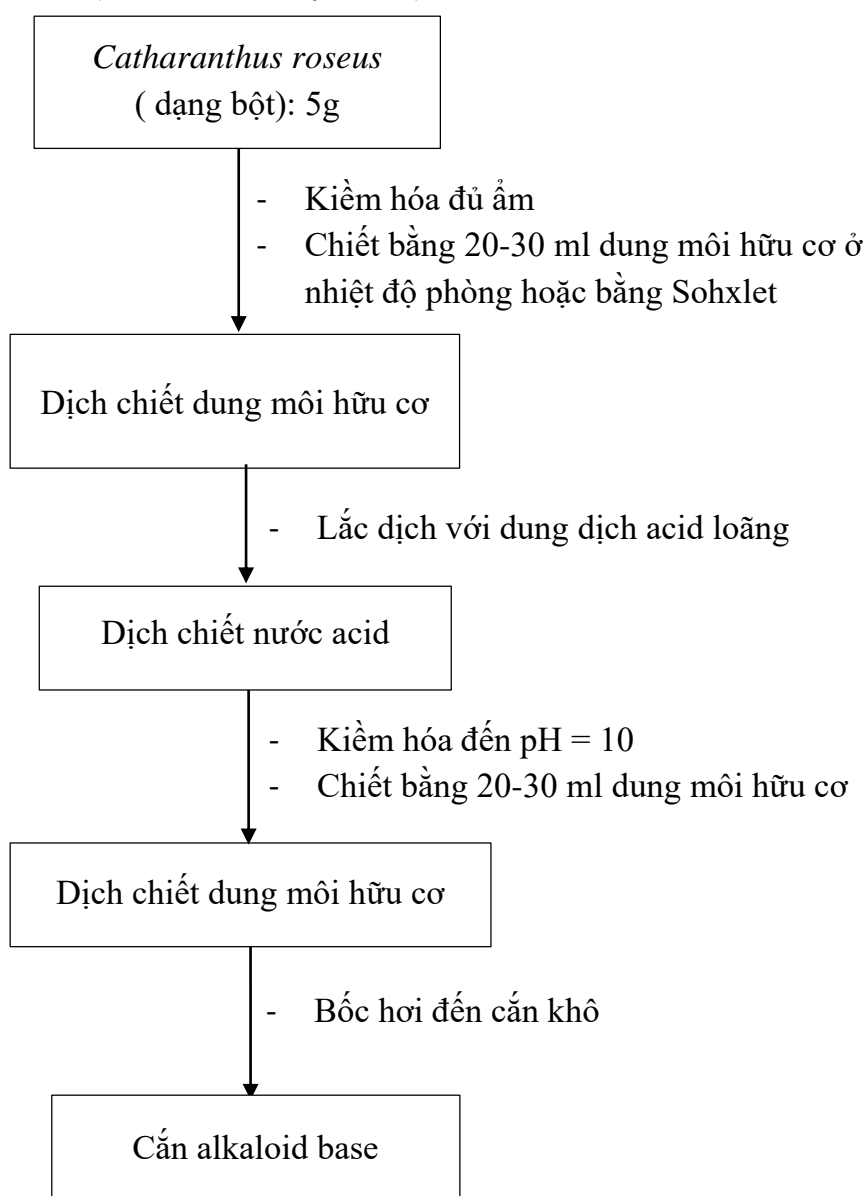
Đối với những alkaloid không bay hơi, có thể sử dụng những phương pháp sau (Phạm Thanh Kỳ, 2015):

1.5.1. Chiết bằng dung môi hữu cơ trong môi trường kiềm:

Dược liệu được tán nhỏ rồi tẩm bột dược liệu với dung dịch kiềm trong nước. Chiết bột dược liệu đã kiềm hóa bằng dung môi hữu cơ thích hợp, dung môi này hòa tan các alkaloid base vừa được giải phóng.

Cất thu hồi dung môi hữu cơ rồi lắ dịch chiết cô đặc với dung dịch acid loãng. Các alkaloid chuyển sang dạng muối tan trong nước, còn sắc tố và sterol... ở lại dung môi hữu cơ. Gộp các dịch chiết muối alkaloid rồi kiềm hóa để chuyển alkaloid sang dạng base, lắ với dung môi hữu cơ thích hợp nhiều lần để lấy kiệt alkaloid base.

Sau khi lấy riêng lớp dung môi hữu cơ chứa alkaloid base, loại nước bằng muối trung tính (Na_2SO_4) khan nước rồi cất thu hồi dung môi hoặc bốc hơi dung môi sẽ thu được alkaloid thô (Phạm Thanh Kỳ, 2015).



Hình 1.2: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng dung môi hữu cơ trong môi trường kiềm

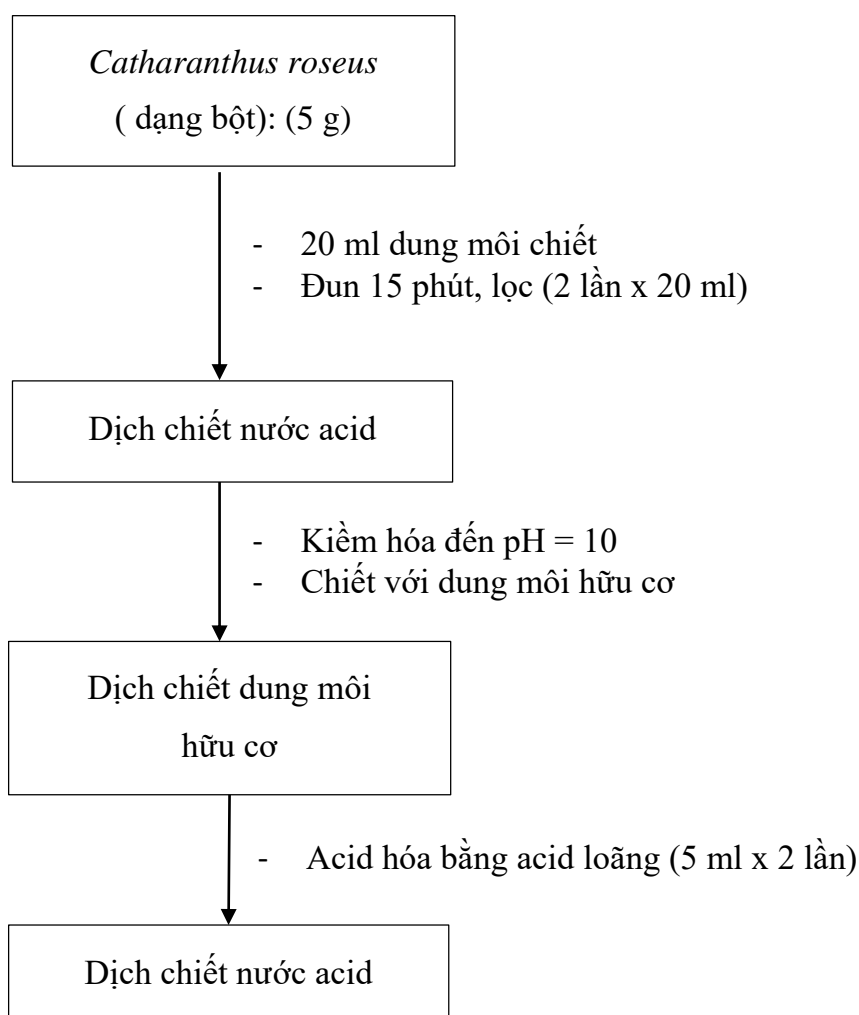
1.5.2. Chiết bằng dung dịch acid loãng trong cồn hoặc trong nước (Phương pháp STAS-OTTO):

Thẩm ẩm bột dược liệu bằng dung môi chiết xuất.

Chiết bột dược liệu bằng dung môi chiết xuất. Các alkaloid trong dược liệu sẽ chuyển sang dạng muối và tan trong dung môi trên.

Cất thu hồi dung môi hoặc bốc hơi dung môi dưới áp suất giảm, dùng ether rửa dịch chiết đậm đặc còn lại. Trong môi trường acid, ether thường hòa tan 1 số hợp chất chứ không hòa tan alkaloid.

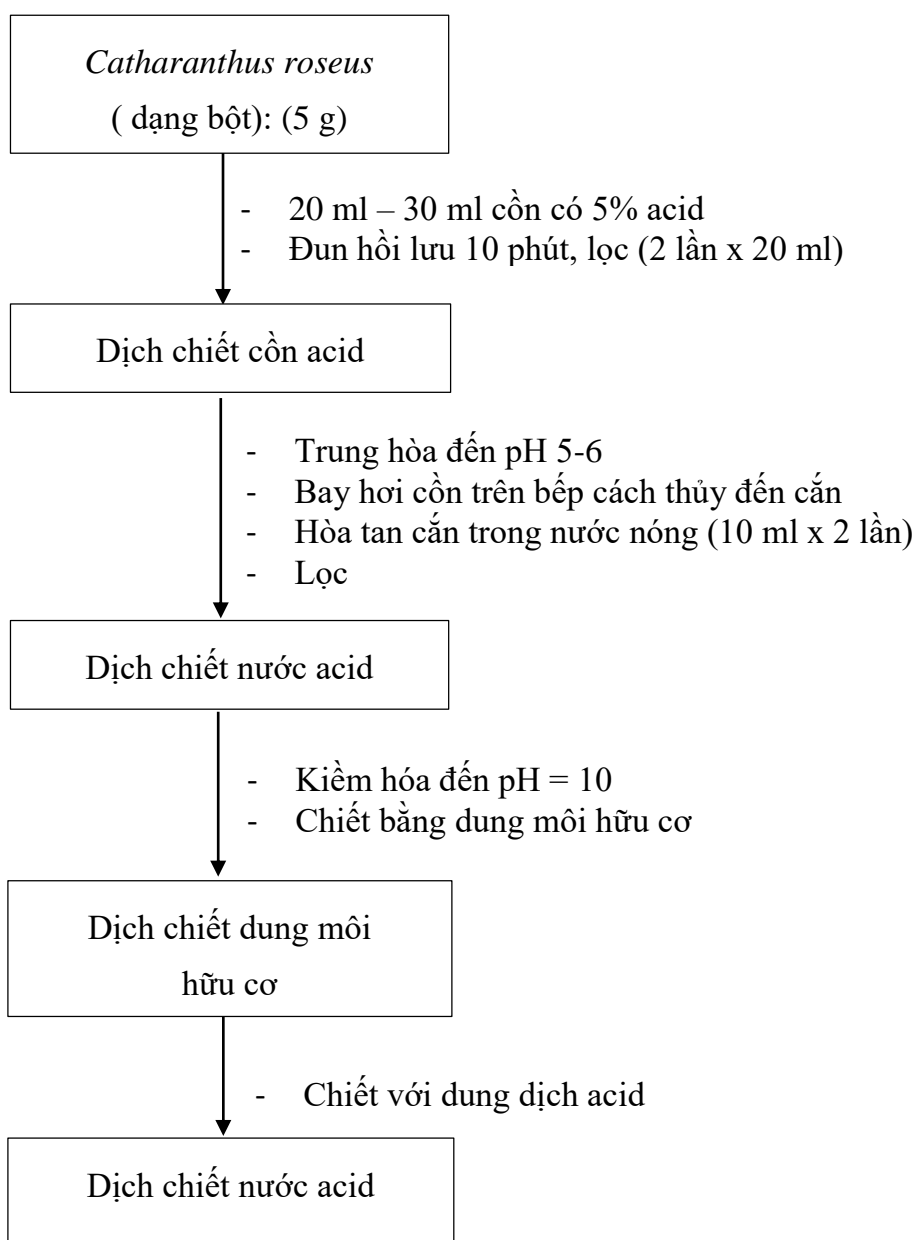
Sau khi tách lớp ether, kiềm hóa dung dịch nước rồi lấy alkaloid base được giải phóng ra bằng một dung môi hữu cơ thích hợp. Cất thu hồi dung môi hữu cơ rồi bốc hơi tới khô sẽ thu được căn alkaloid thô (Phạm Thanh Kỳ, 2015).



Hình 1.3: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng nước acid

1.5.3. Chiết bằng cồn acid:

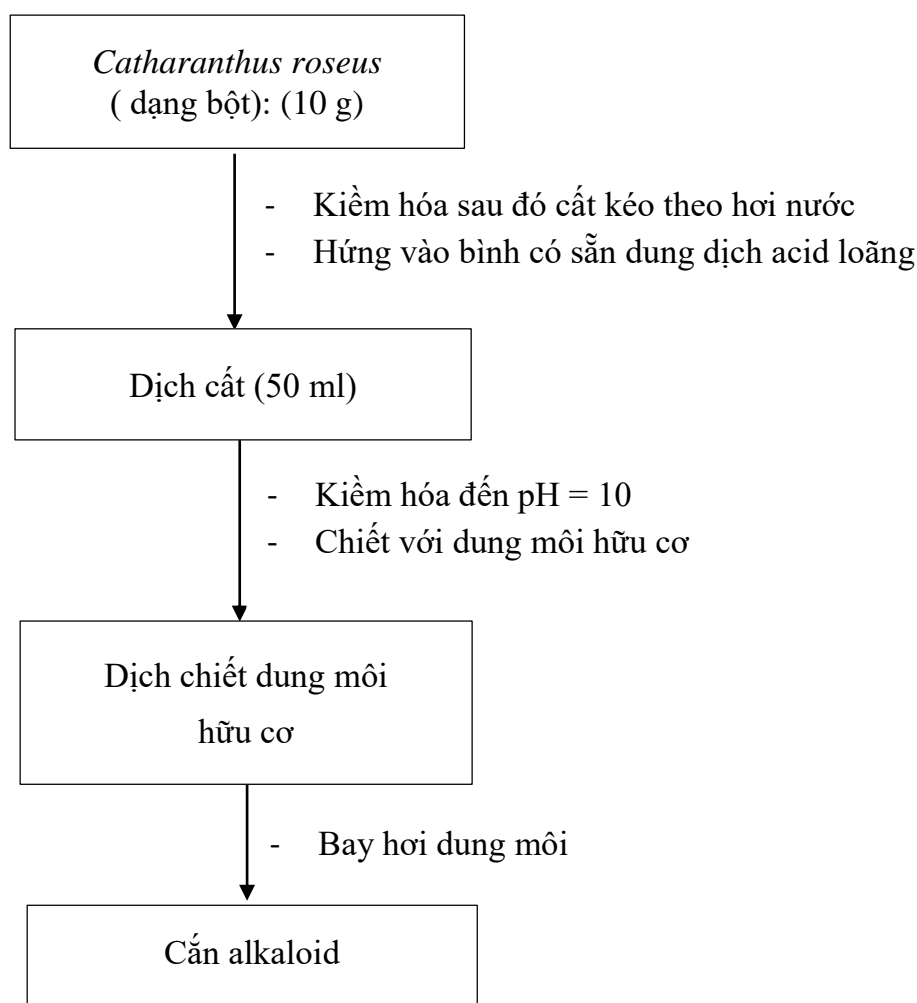
Có một số alkaloid trong dược liệu tồn tại dưới dạng muối tan tốt trong cồn ở môi trường trung tính. Do đó, sau khi tán nhỏ dược liệu ở kích thước thích hợp đem thấm ẩm và chiết bằng cồn etylic tới kiệt alkaloid. Quy trình tiếp theo được thực hiện tương tự. Trong quá trình chiết xuất người ta dùng thuốc thử tạo tủa để kiểm tra xem các alkaloid đã lấy kiệt chưa (Phạm Thanh Kỳ, 2015).



Hình 1.4: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng cồn acid

1.5.4. Chiết bằng cát kéo hơi nước:

Đây là phương pháp dùng để chiết tách những alkaloid bay hơi được như coniin, nicotin, spartein... Sau khi sấy khô dược liệu, tán nhỏ, cho kiềm vào để đẩy alkaloid dạng muối ra dạng base rồi lấy alkaloid ra khỏi dược liệu theo phương pháp cát kéo bằng hơi nước (Phạm Thanh Kỳ, 2015).

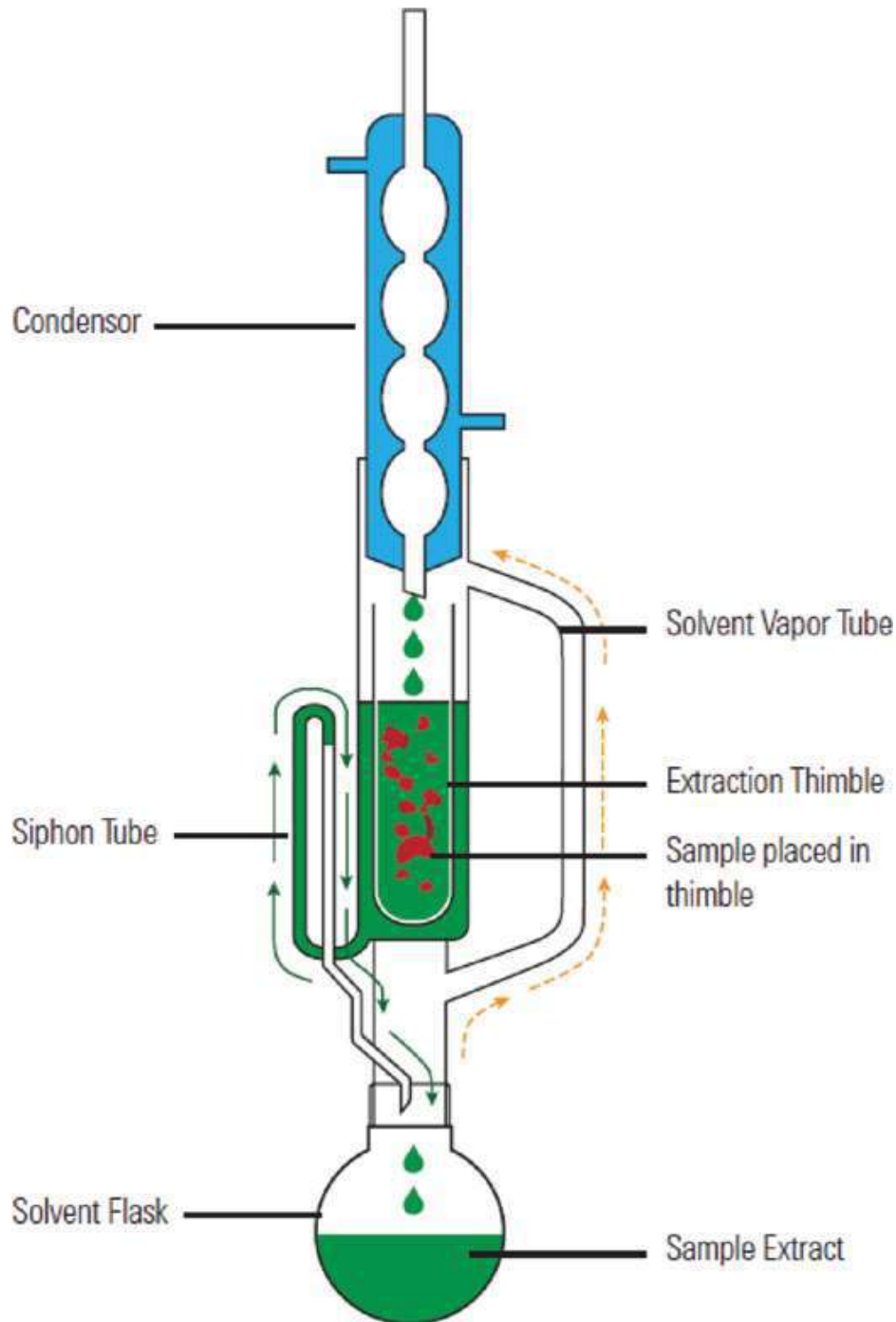


Hình 1.5: Sơ đồ chiết xuất alkaloid bằng cát kéo hơi nước

1.5.5. Chiết Soxhlet:

Chiết Soxhlet là một phương pháp chiết liên tục, được dùng để tách chất phân tích ra khỏi mẫu vật rắn (thực vật, đất, các mẫu sinh học,...) bằng một dung môi thích hợp được Franz Ritter von Soxhlet phát minh vào năm 1879.

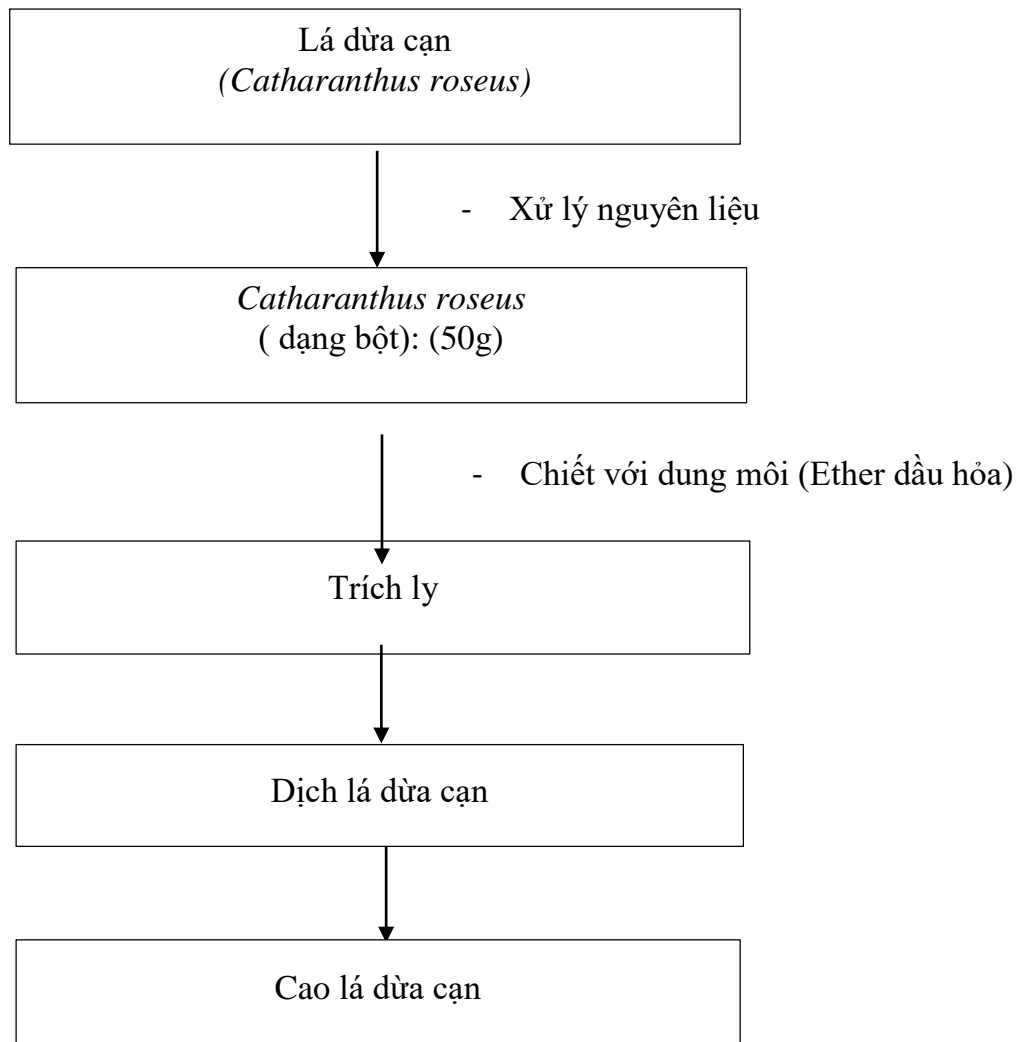
Bộ chiết soxhlet gồm một bình cầu, một thiết bị chiết và một sinh hàn hồi lưu. Chất phân tích chứa trong thiết bị chiết, dung môi chứa trong bình cầu. Quá trình chiết xảy ra khi hơi nóng dung môi bốc lên bao quanh thiết bị chiết gặp sinh hàn ngưng tụ ngấm vào chất phân tích. Với phương pháp này thì chất phân tích được chiết với dung môi nóng.



Hình 1.6. Cấu tạo bộ chiết Soxhlet (*nguồn: Douglas E. Raynie, New Sample Prep Products and Accessories, LCGC-North America*)

Cân 50g mẫu đã nghiền nhỏ, cho vào túi giấy lọc và cho vào tháp trích ly của máy Soxhlet. Lắp bình cầu đã sấy khô vào máy. Qua cổ ống sinh hàn rót dung môi vào bình cầu. Lượng dung môi rót vào khoảng 2/3 thể tích bình cầu hoặc hai lần dung tích tháp trích ly. Cho nước chảy liên tục vào ống làm lạnh.

Đun từ từ dung môi trong bình cầu bằng bếp cách thủy, dung môi sôi, bay hơi gặp lạnh, ngưng tụ ở tháp trích ly, khi dung môi trong tháp trích ly vượt quá đầu ống xiphông sẽ tràn về bình cầu kéo theo chất béo, ta gọi là một chu trình. Dung môi lại tiếp tục bay hơi, còn chất béo do có nhiệt độ sôi cao hơn không bay hơi ở lại bình cầu, quá trình lại diễn ra tiếp tục. Sau đó dịch chiết được cô quay chân không, đun cách thủy cho đến khi thu được cao chiết.



Hình 1.7: Sơ đồ chiết Soxhlet

Ưu điểm của phương pháp này là có thể thu hồi dung môi trực tiếp trên thiết bị chiết và có thể sử dụng lại cho quá trình chiết tiếp theo, tiết kiệm dung môi hơn, ít tốn thời gian, nồng độ chất chiết trong dịch chiết tách cao. Tuy nhiên, không thể tiến hành một lượng lớn mẫu cùng lúc và hợp chất có thể bị ảnh hưởng do nhiệt độ cao trong quá trình trích ly.

1.6. Tổng quan về rau hoa họ thập tự:

1.6.1. Định danh:

Tên khoa học: Brassicaceae Burn

Tên tiếng Anh: Mustard family

Rau hoa họ thập tự có hơn 300 chi và 3000 loài, hầu hết chúng sinh trưởng ở những nơi có khí hậu ôn hòa, một số loài sinh trưởng ở vùng cận Bắc Cực. Hiện nay ở nước ta có các loài chủ yếu như sau:

1.6.1.1. Cải bắp (Bắp súp): *Brassica oleracea L.var.capitata L.*

Cây cải bắp, còn được gọi là bắp súp (chou pommé) có tên khoa học là *Brassica oleracea L.var.capitata L* (thuộc họ Curcifereae) được trồng phổ biến ở nước ta và đặc biệt là tại Đà Lạt vào những năm 1940. Đây là cây rau thuộc họ thập tự chiếm diện tích canh tác chủ yếu trong các cây rau được trồng trọt tại Đà Lạt từ trước đến nay. Các vùng có sản xuất nông nghiệp của Đà Lạt đều có trồng cải bắp, nhất là các phường phường 5, 7, 8, 11, 12.

Về đặc điểm thực vật học, Cải bắp là cây thảo có thân to và cứng, trên thân mang vết sẹo của những lá đã rụng. Lá xếp óp vào nhau thành đầu, phiến lá màu lục nhạt hay màu mốc và có một lớp sáp mỏng, có những lá rộng với một thùy ở ngọn lớn, lượn sóng. Vào năm thứ hai cây ra hoa. Chùm hoa ở ngọn mang hoa màu vàng có 4 lá đài, 4 cánh hoa, cao 1,5-2,5cm, 6 nhị với 4 dài, 2 ngắn. Quả hạp có mỏ, dài khoảng 10 cm, chia 2 ngăn; hạt nhỏ xấp xỉ 1,5 mm. Cải bắp có chỉ số diện tích lá cao, hệ số sử dụng nước rất lớn, có bộ rễ chùm phát triển mạnh.



Hình 1.8. Hình ảnh Cải bắp (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) (nguồn: Trung tâm khuyến nông Lâm Đồng).

1.6.1.2. Su hào: *Brassica oleracea* L.var. *gongylodes*.

Cây su hào có tên khoa học là *Brassica oleracea* L.var. *gongylodes*, thuộc họ Cải (Brassicaceae), Chi Cải (*Brassica*) có nguồn gốc ở khu vực Địa Trung Hải và Châu Âu ven Đại Tây Dương, là tổ tiên của Cải Bắp, Cải Brussels, Cải Bông Xanh, ... và gần đây nhất là Súp Lơ Bông Xanh, một loại cây được lai ghép giữa Cải Bông Xanh và Súp Lơ.

Su hào được tạo ra từ quá trình chọn lọc nhân tạo để lấy phần tăng trưởng của mô phân sinh ở thân, mà chúng ta thường hay gọi là củ. Nguồn gốc tự nhiên của nó là Cải Bắp dại được thuần hóa lâu đời ở Châu Âu và vùng Địa Trung Hải.

Tại Việt Nam, cây su hào đã được người Pháp du nhập từ Châu Âu hoặc vùng Địa Trung Hải từ thế kỷ thứ 19 và được trồng ở các vùng núi cao và có nhiệt độ thấp như Đà Lạt, Lâm Đồng, và trồng được trong mùa đông ở vùng đồng bằng của một số tỉnh ở Miền Bắc.

Về đặc điểm hình thái của cây su hào, su hào là cây thân thảo, cao từ 30 – 50 cm. Phần gốc thân phình to được gọi là củ có dạng thon dài, hình tròn hay hình tròn dẹp. Phần vỏ củ có thể màu xanh nhạt hay màu tím. Lá su hào là lá đơn, cuộn lá mọc trên thân củ, kích cỡ khác nhau tùy theo giống.

Giống su hào trắng (White Kohlrabi): lá ngắn, cỡ 30 – 40 cm, có cọng dày như ngón tay. Khi lá rụng để lại trên củ những vết sẹo.

Giống Su Hào tím (Purple Kohlrabi), khác với giống trắng ở chỗ củ, cọng lá và gân lá đều màu tím.

Giống Vienna Kohlrabi: đây là giống ngắn ngày (2 tháng), rất ít lá và lá rất ngắn, cỡ 15 – 20 cm, cọng mỏng.

Hoa của su hào có màu vàng, 4 cánh hoa xếp hình chữ thập với 6 nhị hoa và quả là quả giác và có chứa nhiều hạt.



Hình 1.9. Hình ảnh Su hào: *Brassica oleracea* L.var. *gongylodes*. (nguồn: Frau-Doktor, *Plant Identification, Brassica oleracea* var. *gongylodes*).

1.6.1.3. Súp lơ trắng: *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.

Súp lơ trắng có tên khoa học là *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L. , là loại rau có giá trị dinh dưỡng cao, được trồng ở nhiều nước trên thế giới nhưng phạm vi phân bố hẹp hơn cây bắp cải và một số rau cải do kỹ thuật trồng khó khăn hơn, lại là loại rau khó bảo quản và vận chuyển. Tại Việt Nam, súp lơ là cây rau vụ đông, được trồng chủ yếu ở Hà Nội, Hải Phòng, Bắc Ninh và Đà Lạt.

Về đặc điểm thực vật học, rễ súp lơ là bộ rễ cạn, phân bố ở tầng đất mặt, nhưng có khả năng phát triển rất khỏe, súp lơ là cây trồng không chịu hạn, không chịu úng.

Thân súp lơ có chiều cao từ 50-70 cm, lá phân bố đều trên thân, mọc thưa. Lá có hình elip, thuôn dài, mặt lá thường nhẵn, lá có răng cưa, nhưng nông và đều, lá có màu xanh, xanh nhạt, xanh thẫm hoặc tím.

Nụ hoa súp lơ có màu trắng ngà, vàng nhạt, màu xanh và màu tím. Nụ hoa mới hình thành, còn non là bộ phận sử dụng chủ yếu. Nụ hoa nhỏ, mặt hoa mịn là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng súp lơ. Những nhánh non cũng dùng làm thực phẩm rất tốt.



Hình 1.10. Hình ảnh Súp lơ trắng: *Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L. (nguồn: Maria Kataeva, *Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries. Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds*).

1.6.1.4. Súp lơ xanh: *Brassica oleracea* L.var.*italica*.

Súp lơ xanh có tên khoa học là *Brassica oleracea* L.var.*italica*. Súp lơ xanh xuất hiện đầu tiên tại vùng Caribe, sau đó được du nhập vào Bắc Mỹ từ những người nhập cư. Ngày nay, súp lơ xanh đã được trồng phổ biến ở nhiều khu vực ôn đới và cả khu vực nhiệt đới gió mùa như: Ấn Độ, Nhật Bản, Trung Quốc, Hàn Quốc, và Việt Nam.

Về đặc điểm thực vật học, bộ rễ của súp lơ xanh thuộc loại rễ chùm, phân nhánh, khi bộ lá phát triển phía trên thì hệ rễ tiếp tục ăn sâu xuống đất, rễ chùm của súp lơ xanh phát triển mạnh hơn rễ cọc, khi cây ở giai đoạn thành thực, hệ rễ ăn sâu khoảng 30cm và rộng 40cm. Lá súp lơ thuôn hình thìa, gân lá thưa, lá gần giống với lá súp lơ trắng.

Hoa súp lơ giống như các dạng hoa của họ thập tự, nở thành từng chùm, hoa nở từ dưới lên vào buổi sáng khoảng 8-10 giờ, thụ phấn nhờ côn trùng.

Quả thuộc loại quả giác có hai ngăn chứa hạt nằm dọc theo rãnh quả túi thuộc vào giống mà trong mỗi quả có số lượng hạt khác nhau, sau khi hoa nở được 3-4 tuần thì quả đạt kích thước lớn nhất và chuyển vào giai đoạn chín.

Hạt của súp lơ xanh thường có dạng trứng đường kính khoảng 1-2mm màu nâu, hay hơi nâu xám hoặc đỏ nâu, trọng lượng 1000 hạt khoảng 3g.



Hình 1.11. Hình ảnh Súp lơ xanh: *Brassica oleracea* L.var.*italica*. (nguồn: *Un Mondo Ecosostenibile, Brassica oleracea var. italica*).

1.6.1.5. Cải bẹ xanh: *Brassica juncea* L.

Cải bẹ xanh hay còn gọi là cải xanh, cải cay, có tên khoa học là *Brassica juncea* L. Đây là loài cây của miền nhiệt đới và cận nhiệt đới châu Á, có nhiều ở vùng Trung Á. Ở nước ta, cây được trồng phổ biến khắp cả nước.

Về đặc điểm thực vật học, cây cải bẹ xanh là cây thân thảo hằng năm, cao 40 - 60cm hay hơn, rễ trụ ít phân nhánh. Lá mọc từ gốc, hình trái xoan, tù, có cuống lá có cánh vó 1 - 2 cặp tai lá; phiến dài tới 1m, rộng 60cm, hơi hay có răng không đều; các lá ở thân tiêu giảm hơn; các lá phía trên hình dải - ngọn giáo dài 5cm, rộng 5-10mm.

Hoa có màu vàng nhạt, kích thước khá lớn, cao 1,5cm, xếp thành chùm dạng ngù. Quả cải 35mm, tận cùng bởi một mũi nhọn, dài 4 - 5mm, mở thành các van lồi, có đường gân giữa rõ. Hạt hình cầu, có mạng màu hơi ngả đen, dài 2mm.



Hình 1.12. Hình ảnh Cải bẹ xanh: *Brassica juncea* L. (nguồn: Bách khoa toàn thư mở Wikipedia).

1.6.1.6. Cải ngọt: *Brassica chinensis* L.

Cây cải ngọt hay còn có tên gọi khác là cải thìa, cải bẹ trắng, cải trắng, cải rổ tàu, có tên khoa học là *Brassica chinensis* L.. Đây là một loài của Trung Quốc, được Việt Nam nhập trồng. Trước đây ở nước ta đã có giống cải Trung kiên, cải Nhật Tân ở Hà Nội; từ năm 1965 - 1966, ta nhập các giống của Trung Quốc như cải trắng Hồ Nam, cải trắng lá vàng, cải trắng lá thẫm, cải trắng tai ngựa, cải trắng Trạm Giang. Còn có cải trắng lớn, cuống dài của Nam Kinh, Hàng Châu, Giang Tô, cải đầu vụ đông, cải lùn, cải Vân Đài,...

Về đặc điểm thực vật học, cây cải ngọt là cây thân thảo sống 1 năm hoặc 2 năm, cao 25 - 70cm, có thể tới 1,5m. Rễ không phình thành củ. Lá ở gốc, to, màu xanh nhạt, gân giữa trắng, nạc; phiến hình bầu dục nhẵn, nguyên hay có răng không rõ, men theo cuống, tới gốc nhưng không tạo thành cánh. Các lá ở trên hình giáo.

Hoa màu vàng tươi hợp thành chùm ở ngọn; hoa dài 1 - 1,4cm, có 6 nhị. Quả cải dài 4 - 11cm, có mỏ; hạt tròn, đường kính 1 - 1,5mm, màu nâu tím.



Hình 1.13. Hình ảnh Cải ngọt: *Brassica chinensis* L. (nguồn: Bách khoa toàn thư mở Wikipedia).

1.6.1.7. Cải bẹ: *Brassica campestric* L. (*B. oleracea* var. *acephala* D.)

Cải bẹ hay còn có tên gọi khác là cải sen, cải dưa, có tên khoa học là *Brassica campestric* L., cải bẹ được trồng khắp nơi trong nước ta để lấy lá làm rau nấu canh hay muối dưa. Thời gian sinh trưởng 90-100 ngày, nhiệt độ thích hợp 8 - 22°C.

Về đặc điểm thực vật học, cây cải bẹ là cây mọc một năm hay hai năm, cao đến 1m, thân nhẵn hay hơi có lông. Lá có bẹ to, dài 4-5cm, phiến lá dài 40-50cm; lá phía dưới xẻ sâu, lá phía trên xẻ nông hơn. Hoa nhỏ màu trắng hay vàng. Quả hình trụ, dài 2-4 cm, đường kính 5mm, ở đầu có mỏ hơi dài ra. Hạt hình cầu, đường kính 1-2mm, vỏ màu nâu đen hay đỏ nâu, mặt sau có màu vàng.



Hình 1.14. Hình ảnh Cải bẹ: *Brassica campestric* L. (nguồn: Vtech – Farms)

1.6.1.8. Cải thảo (cải bao): *Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr

Cải thảo hay còn gọi là cải bao có tên tiếng anh là Chinese cabbage, tên khoa học là *Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr, là loài cải thuộc Chi *Brassica* họ Thập Tự

(Cruciferae) và cũng là loại rau được trồng rộng rãi nhất ở các nước Đông Á trong đó có Việt Nam.

Về đặc điểm thực vật học, cải thảo gồm có rễ chùm và rễ cọc với hệ rễ chùm phân nhánh mạnh. Trong thời gian đầu các rễ chùm khá mảnh mai chủ yếu ăn nông trên lớp đất mặt. Vào giai đoạn khi cây ra lá thật trên mặt đất thì rễ cọc tiếp tục sấn sâu xuống đất và từ đó bắt đầu hình thành các rễ ngang. Ở giai đoạn cây đã trưởng thành thì hệ rễ đã ăn sâu xuống đất 35 cm và ăn rộng tới 40 cm. Khi cây vào giai đoạn sinh sản thì hệ rễ còn phát triển mạnh hơn nữa.

Đặc điểm của thân cải thảo đó là trong giai đoạn sinh trưởng dinh dưỡng, thân không phân nhánh, không dài quá 20 cm. Trong thời gian này thân tiếp tục lớn lên, đường kính ở phần gốc thân rộng từ 4 – 7 cm. Vào giai đoạn sinh trưởng sinh thực, thân tiếp tục dài ra có khi đạt tới 60 -100 cm và xuất hiện các cành cấp.

Lá của cải thảo có hình dạng biến đổi theo từng giai đoạn sinh trưởng của cây theo các dạng: lá mầm, lá gốc, lá không cuộn, lá bắp, lá thân.

Hoa của cây cải thảo thuộc loài hoa lưỡng tính gồm 4 đài, 4 cánh, 6 ống phấn trong đó có 2 ngắn, 4 dài, 2 lá noãn. Các cánh hoa có màu vàng sáng mọc chéo nhau, quá trình nở hoa bắt đầu từ buổi chiều và hoa nở hoàn toàn vào sáng hôm sau, sau khi hoa nở vài giờ thì ống phấn bắt đầu nở và nhụy chín trước.

Quả của cải thảo thuộc nhóm quả giác (hình thuôn dài, dạng hình bầu dục) với chiều dài khoảng 7 cm, rộng 3 – 5 cm. Trong quả chứa từ 10 – 25 hạt, quả đạt kích cỡ tối đa sau khi hoa nở 3- 4 tuần. Khi quả chín hoàn toàn thì bắt đầu có hiện tượng khô quả, vỏ quả nứt dọc và hạt rơi ra ngoài.

Hạt của cải thảo có hình tròn hoặc hình trứng, có đường kính khoảng 1-2mm, hạt non có màu nâu sáng sau đó chuyển màu đen xám khi già.



Hình 1.15. Hình ảnh Cải thảo: *Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr (nguồn: Khuyến nông TP. Hồ Chí Minh).

1.6.1.9. Cải củ: *Raphanus sativus* L.

Cải củ có tên khoa học là *Raphanus sativus* L. var. raphanistroides Mak. Cây cải củ được trồng từ lâu ở Trung Quốc và Ai Cập. Tại Việt Nam, cây cải thường trồng để lấy củ làm rau, lá dùng để muối dưa.

Về đặc điểm thực vật học, cây cải củ là cây thân thảo có rễ trụ phình to thành củ tròn hay dài và có màu sắc khác nhau tùy từng giống. Lá thường xẻ ra và có lông.

Hoa có 4 cánh hoa vàng nhạt, trắng hoặc tím, cánh hoa có vân.

Quả loại cải phòng, xốp, không chia đốt, hình chuỗi hạt, một ô đựng nhiều hạt.



Hình 1.16. Hình ảnh Cải củ (*Raphanus sativus* L.) (nguồn: Bách khoa toàn thư mở Wikipedia).

1.6.2. Các dịch hại chính trong sản xuất rau hoa họ thập tự:

Lâm Đồng là tỉnh miền núi nằm ở phía Nam Tây Nguyên, có diện tích tự nhiên là 976.476 ha, trong đó diện tích đất nông nghiệp 255.000ha và là vùng sản xuất rau quan trọng của cả nước. Trong đó, rau họ hoa thập tự là một trong những cây được canh tác phổ biến nhất, với điều kiện thuận lợi nên thường bị nhiều loài sâu bệnh gây hại.

1.6.2.1. Sâu hại chính:

Có thể kể tên các loài sâu hại gây hại chính trên rau hoa họ thập tự như:

Sâu tơ: *Plutella xylostella* Linnaeus.

Sâu xanh bướm trắng: *Pieris rapae* Linnaeus.

Sâu khoang: *Spodoptera litura* Fabricius.

Sâu xám: *Agrotis ypsilon* Hufnagel.

Rệp: *Brevicolyne brassicae* Linnaeus.

Bọ nhảy: *Phyllotreta striolata* Fabricius.

1.6.2.2. Bệnh hại chính:

Có thể kể tên các loài bệnh hại gây hại chính trên rau hoa họ thập tự như:

Cháy lá vi khuẩn: *Xanthomonas campestris*.

Bệnh sương mai: *Peronospora parasitica*.

Bệnh thối hạch: *Sclerotinia sclerotium*.

Bệnh thối nhũn: *Erwinia carotovora*.

1.7. Sơ lược một số đặc điểm của sâu tơ (*Plutella xylostella* Linnaeus):

1.7.1. Định danh:

Tên khoa học: *Plutella xylostella* Linnaeus

Ngành: Arthropoda

Lớp: Insecta

Bộ: Lepidoptera

Họ: Plutellidae

Sâu tơ – *Plutella xylostella* (L.) hay còn gọi là sâu đu, sâu đeo, sâu nhảy dù, ... là một trong những loại sâu bệnh nguy hiểm và gây hại nghiêm trọng đến các loài thực vật họ cải (Xia và cộng sự, 2018).

1.7.2. Phân bố:

Trên thế giới, sâu tơ phân bố ở rất nhiều nước, ở cả nước ôn đới và nhiệt đới, nhưng được ghi nhận là có nguồn gốc từ phía Bắc Châu Âu. Theo tác giả Lê Trường (1982) ở Việt Nam sâu tơ bắt đầu gây hại từ cuối thập niên 40. Hiện nay, chúng xuất hiện hầu như ở tất cả các vùng trồng rau họ hoa Thập tự từ đồng bằng ven biển lên tận vùng cao ở miền núi.

1.7.3. Đặc điểm sinh học, sinh thái:

Sâu non tuổi 1 khi ăn đục 1 lỗ nhỏ dưới mặt lá, chui đầu vào ăn nhu mô lá, để lại biểu bì. Sâu non tuổi 2 gặm ăn mặt dưới lá, để lại lớp biểu bì mặt trên lá, tạo thành những đốm trong mờ. Cuối tuổi 2 trở đi, sâu gặm thủng lá thành những lỗ thủng. Sâu non thường tập trung ở dưới mặt lá, thích ăn lá non và lá bánh tẻ.

Ban ngày ngài sâu tơ ẩn náu dưới lá, chiều tối ngài bay ra giao phối và đẻ trứng, thường đẻ phân tán từng quả hay thành cụm (ở dưới mặt lá, hai bên gân lá hoặc chỗ lõm trên lá). Nhiệt độ thích hợp cho sâu phát triển tốt là 20-30°C và độ ẩm dưới 70°C.

Sâu gây hại nặng nhất ở sâu non, nhất là tuổi 4 và 5, gây hại nặng trong vụ đông xuân. Vòng đời sâu tơ thay đổi theo nhiệt độ, nhiệt độ thấp có thể kéo dài 50 ngày và khoảng 15 ngày ở nhiệt độ cao, nhiệt độ thích hợp cho sâu phát triển là 20 - 30°C (Chi cục trồng trọt và bảo vệ thực vật Thành phố Hồ Chí Minh, 2019).

Sâu tơ là loài sâu ăn hẹp (olygophagus), thức ăn chính của chúng chủ yếu là các loại rau thuộc họ thập tự (Crusifera) như cải bắp, súp lơ, cải thảo v.v..., ngoài ra sâu tơ còn sử dụng một số loài rau khác như: Rau dền (*Amaranthus viridis*), họ cây thuốc phiện (*Papaveraceae*) và họ rau muối (*Chenopodiaceae*).

Vòng đời sâu tơ trải qua 4 giai đoạn: trứng, sâu non, nhộng và trưởng thành. Giai đoạn sâu non gồm 4 tuổi là tuổi 1, tuổi 2, tuổi 3 và tuổi 4, đây là giai đoạn mà loài sâu này phá hại mùa màng. Thời gian phát triển của sâu tơ phụ thuộc khá chặt chẽ vào điều kiện khí hậu, thức ăn và tập quán canh tác của từng vùng.



Hình 1.17: Vòng đời sâu tơ.

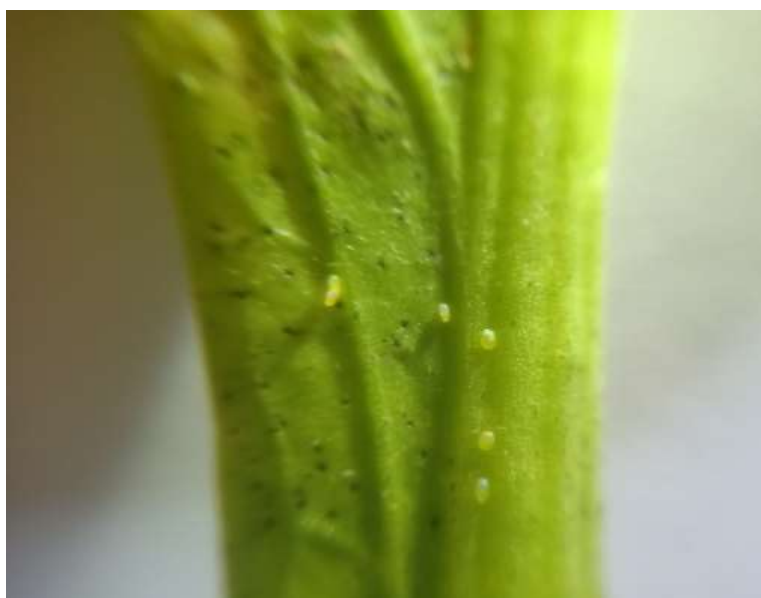
1.7.4. Hình thái:

Trưởng thành thân dài 6 - 7mm, sải cánh rộng 12 - 15mm, màu xám đen. Cánh trước màu nâu xám, trên có nhiều chấm nhỏ màu nâu. Từ chân cánh đến góc sau cánh trước có một dải màu trắng ở ngài đực và nâu vàng ở ngài cái; dải này hình nhấp nhô nên có cảm giác như chia làm 3 đoạn. Khi đậu, cánh xếp xiên hình mái nhà, cuối cánh hơi cao lên, mép ngoài có lông dài.



Hình 1.18: Hình ảnh con ngài trưởng thành

Trứng rất nhỏ hình bầu dục, màu vàng nhạt, có đường kính 0.44 x 0.26 mm



Hình 1.19: Hình ảnh trứng sâu tơ

Sâu non có 4 tuổi, tuổi 1 có màu tương tự như màu của lá cây kí chủ, sau đó chuyển dần sang màu xanh lá cây nhạt, đầy sức dài 10-12 mm. Mỗi đốt đều có lông nhỏ. Phía trước mép ngoài của phân gốc chân bụng có một u lông hình tròn, trên đó có 3 lông nhỏ. Trên mảnh cứng của lưng ngực trước có những chấm xếp thành hình chữ U.



Hình 1.20: Hình ảnh sâu non

Nhộng màu vàng nhạt, dài 5 - 6mm, mắt rất rõ. Kén rất mỏng màu trắng, hình thoi.



Hình 1.21: Hình ảnh hóa kén của sâu tơ (*nguồn: Salvador Vitanza, Iowa State University Department of Entomology, 2015*).



Hình 1.22: Sâu tơ giai đoạn đóng kén (trái) và sâu tơ tuổi 4 (phải)
(*nguồn: John Gavloski, Heads-up on diamondback moth, Manitoba Co-operator Farming matter, 2020*)

Sâu tơ (*Plutella xylostella* Linnaeus) là một loài gây hại nghiêm trọng cho các loại cây trồng thuộc họ thập tự. Sự tổn thất do chúng gây ra hàng năm đã lên đến 42.2 triệu tấn hoa màu trên toàn thế giới và chi phí cho việc phòng trừ loài sâu này, nếu chỉ tính riêng cho việc nghiên cứu các biện pháp phòng trừ cũng đã lên đến 1 tỷ đôla một năm.

Ban đầu việc sử dụng thuốc trừ sâu hóa học tỏ ra có hiệu quả cao đối với việc phòng trừ sâu tơ. Tuy nhiên, chỉ sau một thời gian, hiệu lực trừ sâu của các loại thuốc này giảm hẳn, đôi khi không còn tác dụng nữa. Một trong những nguyên nhân chủ yếu là do sự hình thành tính kháng thuốc ở sâu tơ. Nhưng đến nay các kết quả nghiên cứu cho thấy sâu tơ đã kháng lại 46 loại thuốc trừ sâu và tần số kháng thuốc ngày càng tăng.



Hình 1.23: Sâu tơ khi gây hại trên rau ăn lá

A: Sâu tơ gây hại, B: Cải bắp bị sâu tơ gây hại. (nguồn: Nelson Mpumi. NM-AIST, Arusha, Tanzania.)

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu:

Sử dụng lá của cây dừa cạn để nghiên cứu. Mẫu lá cây dừa cạn được thu thập từ các khuôn viên trồng cây cảnh trên địa bàn thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng. Thu các lá dừa cạn thành thực ở tầng thứ 3 và 4 tính từ gốc, không bị nấm, sâu bệnh hại hay bị cháy lá.

2.1.1. Dung môi, hóa chất:

Bảng 2.1: Dung môi và hóa chất cần dùng.

STT	Tên dung môi, hóa chất	Xuất xứ
1	Petroleum ether 60 - 90	Trung Quốc
2	Acetone	Trung Quốc
3	Nước cất	Việt Nam

2.1.2. Dụng cụ, trang thiết bị:

- Bộ chiết Soxhlet ISOLAB xuất xứ từ Đức.
- Máy cô quay chân không.
- Máy xay sinh tố.
- Cân phân tích.
- Tủ sấy.
- Bình phun thuốc.
- Vở ghi chép.



Hình 2.1: Chiết tách bột lá dứa cạn tại phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

2.2.1. Phương pháp chiết và thu dịch chiết từ lá cây dứa cạn:

2.2.1.1. Chiết Soxhlet

Các mẫu lá dứa cạn sau khi thu thập được đem rửa sạch dưới vòi nước chảy, thấm khô bằng giấy ăn và cho vào tủ sấy ở nhiệt độ 60°C sấy cho đến khi khối lượng lá không đổi. Sau khi sấy nghiền nhỏ các mẫu bằng máy say sinh tố rồi cho vào ly nhựa có nắp để bảo quản.

Cân 500g mẫu bột lá và hút lấy 1,5L petroleum ether rồi cho vào bộ chiết Soxhlet và tiến hành chiết ở 60°C trong 8 giờ. Sau đó dịch chiết được cô quay chân không cho đến khi dung dịch còn lại khoảng 100ml, đem đun cách thủy cho đến khi thu được cao chiết. Cân đúng 20g cao chiết hòa tan trong 100ml acetone thu được dung dịch gốc.

2.2.1.2. Phương pháp cô quay chân không:

Máy cô quay chân không hoạt động dựa trên nguyên tắc nhiệt độ sôi thay đổi theo sự thay đổi áp suất. Khi áp suất giảm thì nhiệt độ sôi của chất lỏng sẽ giảm. Khi máy hoạt động cần để bình chứa mẫu dung dịch ngập trong bể gia nhiệt, nước trong bể được gia nhiệt đến một nhiệt độ xác định. Bơm chân không hút không khí ra khỏi bình chứa mẫu để làm giảm áp suất trong bình. Khi áp suất trong bình giảm thì nhiệt độ sôi của dung dịch trong bình cũng sẽ giảm và khi nhiệt độ sôi của dung dịch thấp hơn nhiệt độ trong bể thì sẽ sôi. Trong quá trình cô quay, bình chứa dung dịch sẽ được quay tròn liên tục để tăng diện tích tiếp xúc giữa dung dịch và bể gia nhiệt, nhằm giúp cho nhiệt được phân bố đều trong dung dịch, tránh bị quá nhiệt cục bộ. Hơi của dung môi bay ra khỏi bình sẽ được làm lạnh bởi hệ thống sinh hàn và được thu lại ở bình thu dung môi.



Hình 2.2: Cô quay chân không tại phòng thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp khảo sát hiệu lực của dịch chiết lá cây dứa cạo đối với sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm:

Thí nghiệm gồm có 6 nghiệm thức, gồm:

- NT1: đối chứng (ĐC)
- NT2: nồng độ dịch chiết 10% (DC 10).
- NT3: nồng độ dịch chiết 25% (DC 25).
- NT4: nồng độ dịch chiết 40% (DC 40).
- NT5: nồng độ dịch chiết 55% (DC 55).
- NT6: nồng độ dịch chiết 70% (DC 70).

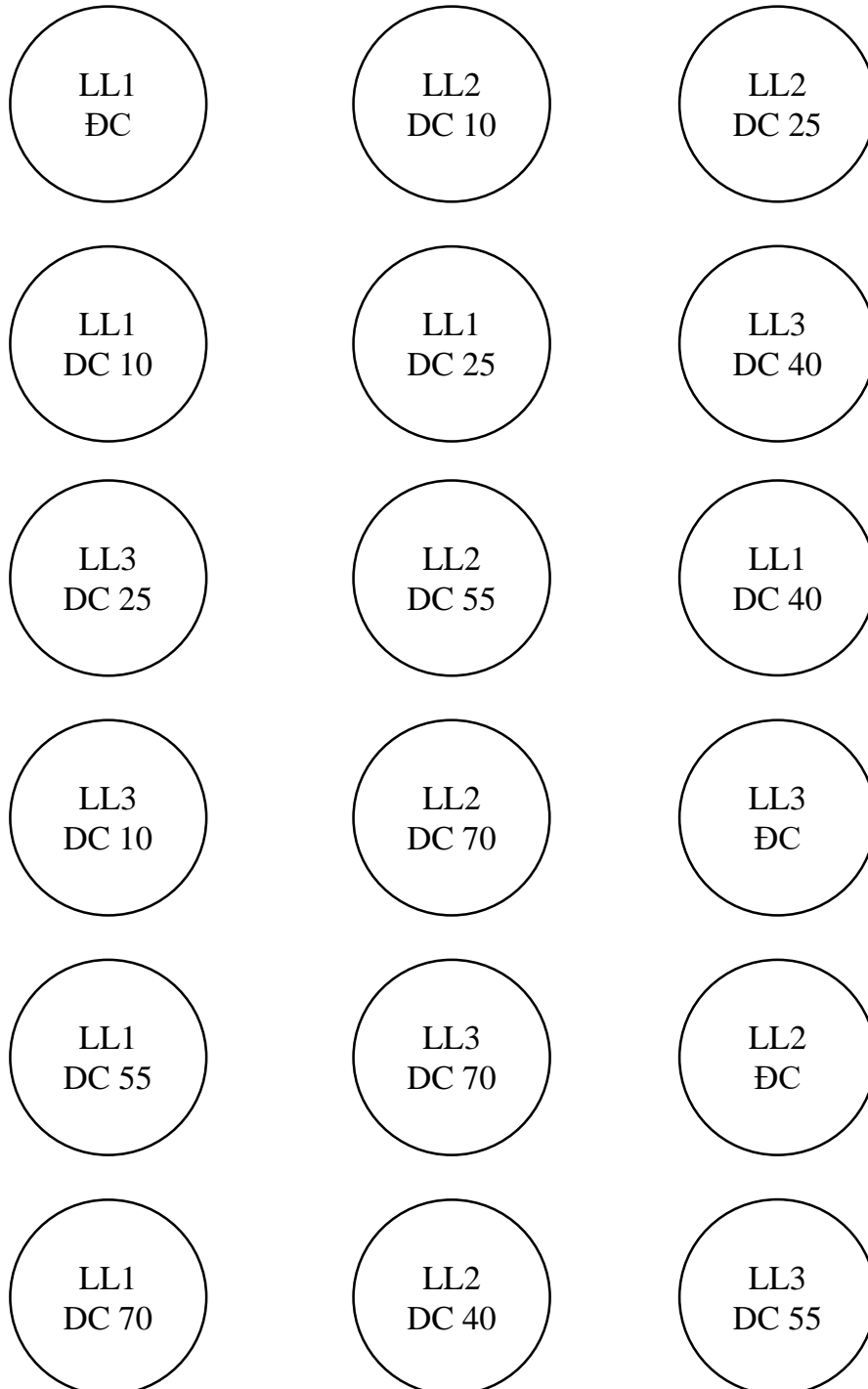
Các nghiệm thức được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là 10 sâu non trong một đĩa petri.

Cách tiến hành thí nghiệm như sau:

Thu thập sâu tơ ở các vườn lơ tại khu vực phường 7 đường Thánh Mẫu thành phố Đà Lạt. Dùng chổi, quét nhẹ chúng xuống hộp chứa bởi vì sâu tơ là một loài rất nhạy cảm nếu sử dụng tay không bắt dẫn đến chúng bị tổn thương. Sâu sau khi thu về sẽ được chia đều ra và tiếp tục nuôi trong các hộp nhựa tròn và cung cấp thức ăn là lá cải ngọt hằng ngày và quan sát. Khi sâu chuyển sang giai đoạn nhộng (hóa kén) giữ nguyên lá sâu bám vào khoảng trời gian kén vũ hoá thành ngài thì không cần cung cấp thức ăn cho chúng, cho trưởng thành vào hộp với tỷ lệ đực : cái là 1:1. Sau khoảng 2-3 ngày ngài đẻ trứng trên lá, những lá cải này sẽ được đưa vào hộp riêng để nuôi. Sau khoảng 2 – 4 ngày để trứng thì sâu non nở bắt đầu tính tuổi của sâu theo ngày. Lá cải được lấy ra và thay hàng ngày để nuôi sâu non.

Sau khi sâu tơ ở thế hệ F1 đã được nuôi đến giai đoạn sinh sản, cho ngài đẻ trứng và bắt đầu nuôi sâu ở thế hệ F2 trên đĩa petri, khi sâu non đến tuổi 2 thì bắt đầu thí nghiệm khảo sát hiệu lực. Từ dung dịch gốc đem pha loãng với nước cất để thu được các nồng độ khác nhau theo tỷ lệ nguyên liệu (bột dứa cạo)/ dung môi (petroleum ether) lần lượt là: 20g/l, 50g/l, 80g/l, 110g/l, 140g/l (Chellasamy Panneerselvam, 2013) tương ứng với các nồng độ 10%; 25%; 40%; 55%; 70% so với dung dịch gốc và chỉ phun nước ở mẫu đối chứng. Phun dịch chiết ở 5 nồng độ khác nhau tương ứng với 5 nghiệm thức và một mẫu đối chứng chỉ phun nước, chỉ phun sương đều hết 2 mặt lá cho ướt da của

toàn bộ sâu trong đĩa thì dừng. Sau khi phun xong lấy miếng vải mỏng đặt lên, tiếp tục nuôi sâu và ghi nhận số lượng sâu còn sống vào các khoảng thời gian: 12 giờ, 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ sau khi phun. Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, bố trí theo sơ đồ thí nghiệm như sau:



Hình 2.3: Sơ đồ bố trí các ô thí nghiệm trong phòng thí nghiệm.

2.2.3. Phương pháp khảo sát hiệu lực của dịch chiết lá cây dứa dại đối với sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ:

Các nghiệm thức tương tự thí nghiệm trong phòng thí nghiệm được thực hiện trên các luống cải ngọt đã bị sâu tơ hại trong nhà che phủ - Vườn thực nghiệm khoa Nông lâm, trường Đại học Đà Lạt để khảo sát hiệu lực của dịch chiết lá cây dứa dại. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp lại. Diện tích mỗi ô thí nghiệm là 25 m².

Bố trí thí nghiệm trên 6 luống trồng tương đương với 6 nghiệm thức, mỗi luống gồm có 3 ô thí nghiệm tương đương với 3 lần lặp, lựa chọn các cây ở chính giữa các ô thí nghiệm. Mỗi luống có 62 ô vuông, mỗi ô rộng 0,12 m² trồng 4 cây, tương đương với mật độ trồng là 33.333 cây/1.000 m².

Tiến hành phun dung dịch chiết theo các nồng độ đã định ướt đều hai mặt lá của cây cải ngọt vào buổi chiều mát. Lựa chọn 28 cây ở giữa mỗi ô thí nghiệm, đánh dấu các cây có sâu tơ để theo dõi số lượng sâu còn sống trước và sau xử lý dịch chiết lá cây dứa dại 1 ngày, 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày. Các nghiệm thức được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, các ô thí nghiệm được bố trí như sau:

LL3 DC 70	LL3 ĐC	LL1 DC 25	LL3 DC 10	LL2 DC 40	LL1 DC 70
LL2 DC 10	LL1 DC 55	LL1 DC 40	LL2 DC 25	LL3 DC 55	LL2 DC 70
LL3 DC 25	LL1 DC 10	LL2 ĐC	LL3 DC 40	LL2 DC 55	LL1 ĐC

Hình 2.4: Sơ đồ bố trí các ô thí nghiệm trên các luống trồng.



Hình 2.5: Các luống trồng được sử dụng để khảo sát hiệu lực của dịch chiết tại nhà che phủ - Vườn thực nghiệm khoa Nông Lâm, trường Đại học Đà Lạt.

2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu:

Ghi nhận kết quả từ các nghiệm thức và tiến hành tính hiệu lực của dịch chiết:

Với thí nghiệm khảo sát hiệu lực của dịch chiết cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm thì hiệu lực của dịch chiết được tính bằng công thức của Abbott (1925): $H (\%) = [(C-T)/C] \times 100\%$. Trong đó:

- C: số sâu sống ở nghiệm thức đối chứng;
- T: số sâu sống ở nghiệm thức có xử lý dịch chiết.

Với thí nghiệm khảo sát hiệu lực của dịch chiết thô cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ thì hiệu lực của dịch chiết được tính theo TCVN 12561:2018 trong trường hợp xử lý thuốc khi sâu hại đã xuất hiện và có thể đếm được mật độ: tính theo công thức Henderson - Tilton dựa trên mật độ sinh vật gây hại:

$$E (\%) = [1 - (Ta * Cb) / (Tb * Ca)] * 100\%. \text{ Trong đó:}$$

- E: Hiệu lực của thuốc khảo nghiệm
- Ta: Mật độ sâu tơ còn sống ở công thức xử lý thuốc tại thời điểm sau xử lý.
- Tb: Mật độ sâu tơ còn sống ở công thức xử lý thuốc tại thời điểm trước xử lý.
- Ca: Mật độ sâu tơ còn sống ở công thức đối chứng tại thời điểm sau xử lý.
- Cb: Mật độ sâu tơ còn sống ở công thức đối chứng tại thời điểm trước xử lý.

Các số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel và SPSS, dựa vào số liệu đã xử lý rút ra nhận xét và kết luận.

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu mẫu, chiết và thu dịch chiết:

Đề tài đã thu thập 5kg lá tươi, sau khi sấy nghiền thu 831,25g bột lá khô.

Sử dụng bộ chiết Soxhlet thu được 1,5L dịch chiết, cô quay thu được 72,87g cao chiết. Như vậy hiệu suất chiết đạt 14,57%.

Chuẩn bị dung dịch gốc: cân đúng 20g cao chiết hòa tan trong 100ml acetone thu được dung dịch gốc, hút 20ml dung dịch gốc đem pha loãng với nước cất theo tỷ lệ dung dịch gốc/nước cất lần lượt là: 5/45ml, 10/30ml, 20/30ml, 30/24ml, 30/12ml tương ứng với các nồng độ dịch chiết lần lượt là: 10%, 25%, 40%, 55%, 70%.



Hình 3.1: Cây dừa cạn tại địa phương được dùng làm nguyên liệu thí nghiệm



Hình 3.2.: Cây dừa cạn được dùng để thu hái lá trên địa bàn thành phố Đà Lạt.



Hình 3.3: Lá dừa cạn được nghiền nhỏ bằng máy xay sinh tố sau khi sấy.



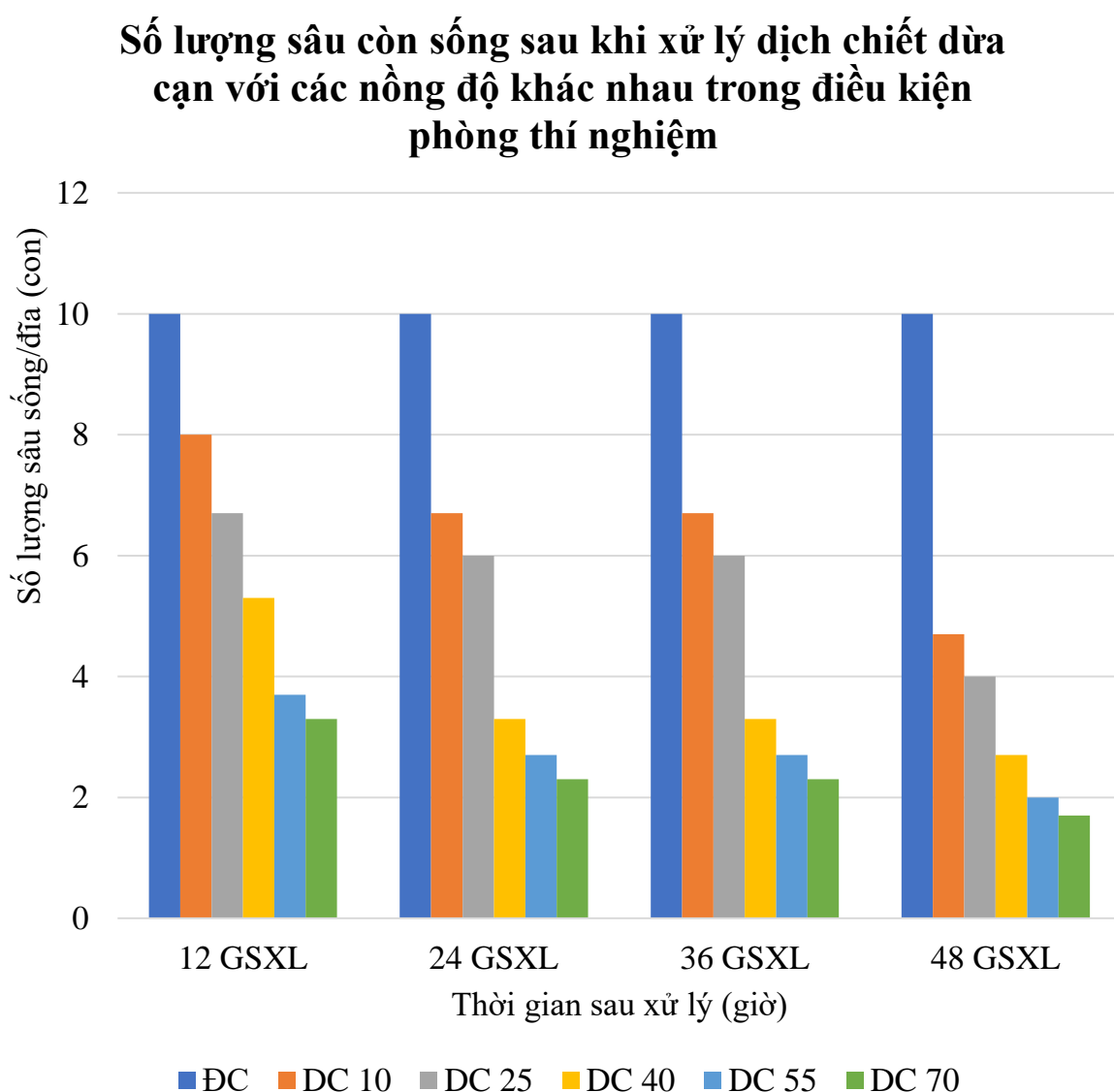
Hình 3.4: Lá dừa cạn sau khi được sấy và nghiền nhỏ



Hình 3.5: Lá dừa cạn sau khi được nghiền nhỏ và rây lấy bột mịn

3.2. Kết quả khảo sát hiệu lực của dịch chiết cây dừa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm:

Kết quả theo dõi số lượng sâu còn sống tại các thời điểm được thể hiện ở Hình 3.6 dưới đây:



Hình 3.6: Số lượng sâu còn sống sau khi xử lý dịch chiết dừa cạn với các nồng độ khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Nhận xét:

Qua 12, 24, 36 và 48 giờ sau xử lý thì số lượng sâu còn sống ở nghiệm thức DC 10 là nhiều nhất còn ở nghiệm thức DC 70 là ít nhất.



Hình 3.7: Sâu tơ sau khi xử lý dịch chiết.

Bảng 3.1: Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết đến hiệu lực phòng trừ sâu tơ trong điều kiện phòng thí nghiệm (Lâm Đồng, 2021).

Nghiệm thức	Hiệu lực trừ sâu tơ sau xử lý (giờ)			
	12 GSXL	24 GSXL	36 GSXL	48 GSXL
DC 10	16,67 d	20,00 d	33,33 c	53,33 c
DC 25	20,00 cd	33,33 c	40,00 c	60,00 c
DC 40	26,67 bc	46,67 b	66,67 b	73,33 b
DC 55	30,00 ab	63,33 a	73,33 ab	80,00 ab
DC 70	36,67 a	66,67 a	76,67 a	83,33 a

CV(%)	17,20	11,23	8,90	6,39
--------------	-------	-------	------	------

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột đi cùng chữ cái khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0.05$.

Nhận xét:

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy sau xử lý 12, 24, 36 và 48 giờ, nghiệm thức DC 70 cho hiệu lực diệt trừ sâu tơ là cao nhất và tương đương với nghiệm thức DC 55. Nghiệm thức DC 10 cho hiệu lực diệt trừ sâu tơ thấp nhất.

So sánh với kết quả với một số nghiên cứu sử dụng dịch chiết thực vật để phòng trừ côn trùng hại (Nguyễn Ngọc Bảo Châu, 2016) thì hiệu lực tiêu diệt sâu tơ của dịch chiết cây dứa cạn cao hơn không đáng kể (60,00% so với 53,24%).

Hiệu lực diệt trừ sâu tơ tỷ lệ thuận với nồng độ dịch chiết tuy nhiên khi tăng nồng độ dịch chiết từ 55% lên 70% hiệu lực diệt trừ sâu tơ không tăng và chỉ tương đương nhau.

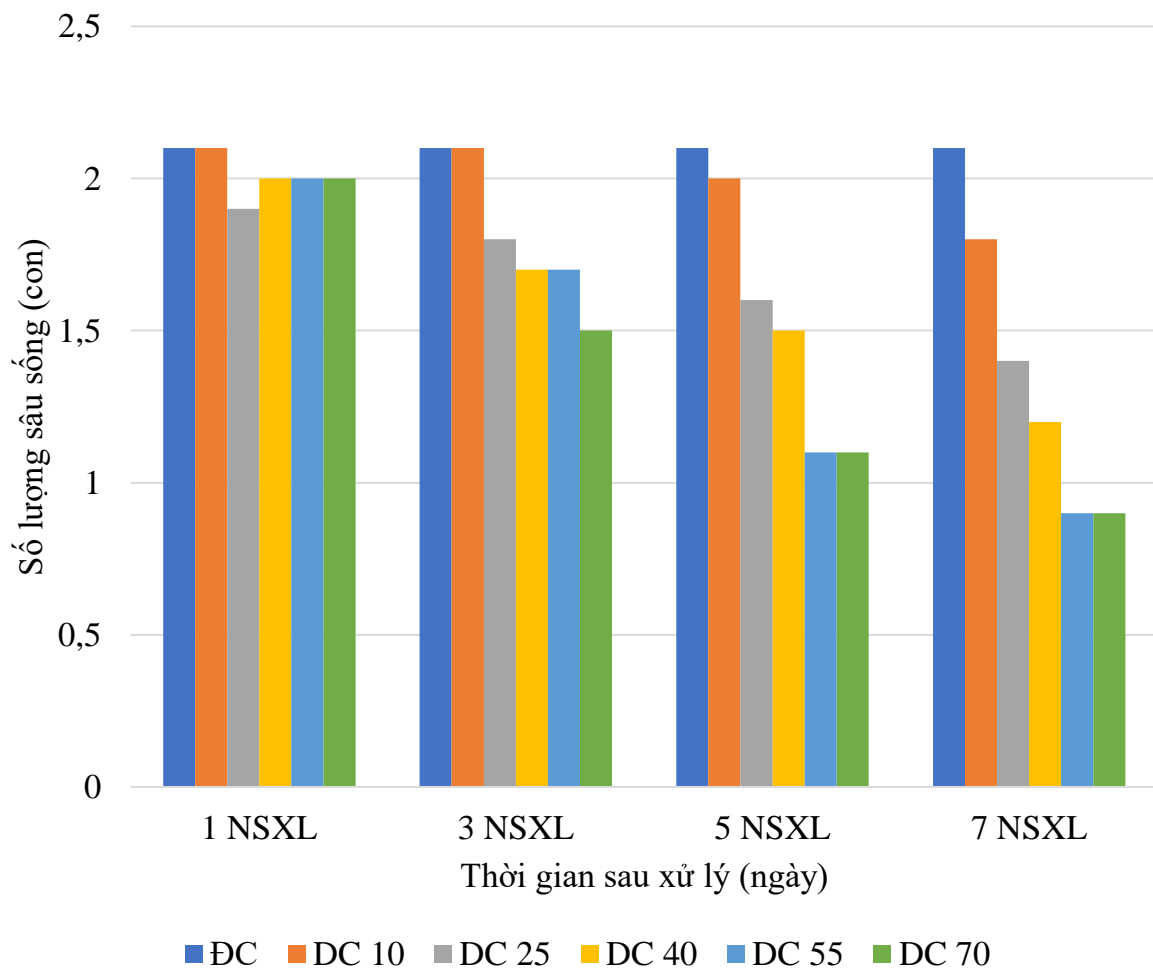
Nghiệm thức DC 10 cho kết quả tỷ lệ sâu chết là thấp nhất (53,33 %) và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức DC 25 (60,00 %). Còn nghiệm thức DC 70 (83,33 %) cho kết quả tỷ lệ sâu chết là cao nhất và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức DC 55 (80,00 %). Chứng tỏ rằng nồng độ dịch chiết dưới 25% không đáp ứng được hiệu quả diệt sâu. Hiệu quả của nồng độ dịch chiết 55% lại không có sự khác biệt so với nồng độ 70% nên có thể nói ở dịch chiết nồng độ 55% là ngưỡng giới hạn hiệu quả diệt sâu tối thiểu.

Tóm lại, dịch chiết từ lá cây dứa cạn có hiệu lực tiêu diệt sâu tơ tuổi 2 cao khi phun ở nồng độ 55% - 70%, hiệu lực khá khi phun ở nồng độ 40%, thời gian sâu chết nhiều từ 36 – 48h sau khi xử lý dịch chiết.

3.3. Kết quả khảo sát hiệu lực của dịch chiết cây dứa cạn đối với sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ:

Kết quả theo dõi số lượng sâu còn sống tại các thời điểm được thể hiện ở Hình 3.8 dưới đây:

Số lượng sâu còn sống sau khi xử lý dịch chiết dứa cặn với các nồng độ khác nhau trong điều kiện nhà che phủ



Hình 3.8: Số lượng sâu còn sống sau khi xử lý dịch chiết dứa cặn với các nồng độ khác nhau trong điều kiện nhà che phủ (Lâm Đồng, 2021).

Nhận xét:

Qua 1, 3, 5 và 7 ngày sau xử lý thì số lượng sâu còn sống ở nghiệm thức DC 10 là nhiều nhất còn ở nghiệm thức DC 55 và DC 70 là ít nhất.

Bảng 3.2: Ảnh hưởng của nồng độ dịch chiết đến hiệu lực phòng trừ sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ (Lâm Đồng, 2021).

Nghiệm thức	Hiệu lực trừ sâu tơ sau xử lý (ngày)			
	1 NSXL	3 NSXL	5 NSXL	7 NSXL
DC 10	0.00 d	5.81 d	15.32 d	38.04 d
DC 25	6.48 c	16.20 c	26.85 c	43.98 cd
DC 40	13.06 b	26.67 b	39.72 b	54.17 bc
DC 55	12.96 b	46.29 a	56.48 a	63.89 ab
DC 70	26.67 a	46.67 a	52.78 a	67.22 a
CV(%)	30.10	18.41	10.29	11.95

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột đi cùng chữ cái khác nhau thì khác nhau ở mức ý nghĩa $\alpha = 0.05$.

Nhận xét:

Kết quả ở Bảng 3.4 cho thấy sau xử lý 1, 3, 5 và 7 ngày, nghiệm thức DC 70 cho hiệu lực diệt trừ sâu tơ là cao nhất và tương đương với nghiệm thức DC 55 còn nghiệm thức DC 10 và DC 25 cho hiệu lực diệt trừ sâu tơ thấp nhất.

Kết thúc thí nghiệm, nghiệm thức DC 10 cho kết quả tỷ lệ sâu chết là thấp nhất (38.04 %) và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức DC 25 (43.98 %). Còn nghiệm thức DC 70 cho kết quả tỷ lệ sâu chết là cao nhất (67.22 %) và không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức DC 55 (63.89 %).

Hiệu lực trừ sâu đạt mức trung bình khá sau 7 ngày khi xử lý ở nồng độ dịch chiết 55% và không khác biệt so với xử lý ở nồng độ 70%.

Tóm lại, dịch chiết từ lá cây dứa cạn có hiệu lực mức trung bình khá tiêu diệt sâu tơ trong điều kiện nhà che phủ khi xử lý ở nồng độ từ 55%, thời gian sâu chết nhiều từ 3 – 7 ngày sau khi xử lý dịch chiết.

CHƯƠNG 4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận:

Từ các kết quả của các thí nghiệm, nhóm nghiên cứu đưa ra một số kết luận sau:

- Đã thu được 5kg lá dứa cạn, chế biến được 831,25g bột lá khô, thu được 1,5 lít dịch chiết và cô quay thu được 72,87g cao chiết từ lá cây dứa cạn. Hiệu suất chiết đạt 14,57%.
- Trong điều kiện phòng thí nghiệm, hiệu lực diệt trừ sâu tơ cao nhất khi xử lý dịch chiết từ lá cây dứa cạn ở nồng độ 55% và 70% (đạt 80% và 83% sau 48 giờ). Sử dụng dịch chiết có nồng độ 40% đã có hiệu lực khá diệt trừ sâu tơ (đạt 73% sau 48 giờ). Hiệu lực diệt sâu tơ thấp khi xử lý dịch chiết ở nồng độ 10% và 25%. Có trên 50% số sâu chết ở 12 giờ sau xử lý dịch chiết cây dứa cạn nồng độ $\geq 40\%$.
- Hiệu lực trừ sâu tơ hại cải của dịch chiết cây dứa cạn trong điều kiện nhà che phủ cao nhất khi xử lý ở nồng độ 55% và 70% (đạt 63,89 và 67,22% sau xử lý 7 ngày), ở nồng độ dưới 40%, 25% và 10% cho hiệu lực diệt trừ sâu tơ thấp (tương ứng 54,17%, 43,98% và 38,04% ở 7 ngày sau xử lý).
- Sử dụng dịch chiết từ lá cây dứa cạn ở nồng độ 55% cho hiệu lực phòng trừ sâu tơ cao và tiết kiệm được nguyên vật liệu.

4.2. Kiến nghị:

Chúng tôi sẽ dựa trên những kết quả đã đạt được từ nghiên cứu này để tiếp tục nghiên cứu:

- Nghiên cứu phương pháp chiết, dung môi chiết để làm tăng hiệu suất chiết cũng như giảm giá thành dịch chiết từ lá loài cây dứa cạn.

- Nghiên cứu dung môi, phụ gia để hoà tan, bảo quản hợp lý dịch chiết, đánh giá hiệu lực chiết ở nồng độ cao hơn, hiệu quả kinh tế khi sử dụng dịch chiết để xử lý sâu tơ.
- Kiểm tra hoạt chất có trong dịch chiết và đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết xuất từ lá cây dứa cựa đến các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển cây rau ăn lá thuộc họ Thập tự.
- Đánh giá ảnh hưởng dịch chiết cây dứa cựa đến thiên địch và các sinh vật có ích khác.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm sinh viên thực hiện đề tài “Khảo sát hiệu lực phòng trừ sâu tơ (*Plutella xylostella*) hại rau ăn lá từ dịch chiết cây dứa cạn (*Catharanthus roseus L.*) xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Đà Lạt đã tài trợ kinh phí để nhóm có thể thực hiện đề tài Nghiên cứu Khoa học sinh viên cấp trường năm 2021.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cục BVTV, Bộ Nông nghiệp và PTNT. Hội nghị phát triển và sử dụng thuốc BVTV sinh học tại Việt Nam, 6/ 2020. Trang 5- 27
- Chellasamy Panneerselvam, (2013), Larvicidal efficacy of *Catharanthus roseus* Linn. (Family: Apocynaceae) leaf extract and bacterial insecticide *Bacillus thuringiensis* against *Anopheles stephensi* Liston.
- Dr. K. Kovendan, Division of Entomology, Chellasamy Panneerselvam et al./ Asian Pacific Journal of Tropical Medicine (2013) 847-853.
- Dương Anh Tuấn, 2002. Azadirachtin và các phân đoạn dầu neem trong hạt cây neem (*Azadirachta indica*), họ Meliaceae di thực vào Việt Nam có hoạt tính gây ngăn ăn mạnh đối với sâu khoang. Báo cáo khoa học Hội nghị Côn trùng học Toàn quốc lần thứ 4: 504-509.
- Dwijendra Singh, Sucheta S. Mehta, Nirmal K. Neoliya, Yogendra N. Shukla and Mamta Mishra, (2003), New possible insect growth regulators from *Catharanthus roseus*, Current Science, 10 May 2003, Vol. 84, No. 9 (10 May 2003), pp. 1184-1186.
- Đỗ Tất Lợi (2006), Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, tr. 307-309.
- F. Soxhlet, Dingler's Polytechnisches Journal 232, 461–465 (1879).

- Magdi El-Sayed, Young H. Choi, M. Frédérick, Sittiruk Roytrakul¹, Rob Verpoorte (2004), "Alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus* cell suspension cultures fed with stemmadenine", *Biotechnology Letters* 26, pp. 793– 798.
- Malabadi, (2012), Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus cultures and in vitro derived plants of *Catharanthus roseus*. *Res. Pharm.*, 2, 18-31.
- Manickam Pavunraj, (2020), Silver nanoparticles containing stearic acid isolated from *Catharanthus roseus*: Ovicidal and oviposition-deterrent activities on *Earias vittella* and ecotoxicological studies.
- Manickam Pavunraj, Kathirvelu Baskar, Kanniah Paulkumar, Sundaram Janarthanan, Palanisamy Rajendran, (2016), Antifeedant activity of crude extracts and fractions isolated from *Catharanthus roseus* leaf against spotted bollworm, *Earias vittella*.
- Manickam Pavunraj, Toxicity of Ag Nanoparticles Synthesized Using Stearic Acid from *Catharanthus roseus* Leaf Extract Against *Earias vittella* and Mosquito Vectors (*Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*), *Journal of Cluster Science* volume 28, pages2477–2492 (2017).
- Nayak and Pereira, *Catharanthus roseus* flower extract has wound-healing activity in Sprague Dawley rats, licensee BioMed Central Ltd, *BMC Complementary and Alternative Medicine* (2006).
- Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Đặng Thanh Nghĩa, Nguyễn Minh Hoàng và Nguyễn Bảo Quốc, (2016). Khảo sát hiệu lực phòng trừ sinh học sâu tơ (*Plutella xylostella* L.) hại rau ăn lá từ dịch chiết thô lá cây ngũ sắc (*Lantana camara* L.), *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, Phần B: Nông nghiệp, Thủy sản và Công nghệ Sinh học*: 46 (2016), 54-60.
- Nguyễn Ngọc Hòa, Đinh Thị Phương, Nguyễn Văn Du, Lưu Thị Phương, Nguyễn Thị Cẩm Châu, Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Thị Phương Thảo, Đặng Xuân Nghiêm, (2011). Nghiên cứu khả năng tiêu diệt và gây ngán ăn đối với sâu xanh bướm

- trắng (*Pieris rapae*) của dịch chiết một số thực vật tiềm năng. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 9 (4): 535-541.
- Nguyễn Thanh Thủy Tiên, Luận án thạc sĩ “Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đối với sự phát triển của sâu tơ (*Plutella xylostella* L.) tại Đà Lạt”, 1997.
- Nguyễn Xuân Thành, ATLAS côn trùng Việt Nam tập 1, Nhà xuất bản khoa học tự nhiên và công nghệ, 2010.
- Plants Database, *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, United States Department of Agriculture, <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=CARO14>, 28/04/2021.
- Phạm Thanh Kỳ (2015), Dược liệu học tập II, Bộ Y Tế, Hà Nội, tr. 9-174.
- R.E. Majors, Sample Preparation Fundamentals for Chromatography, Agilent Technologies (2013).
- R.L. Noble, C.T. Beer, J.H. Cutts (1958), "Role of chance observations in chemotherapy: *Vinca rosea*", Annals of the New York Academy of Sciences, 76(3), pp. 882–894.
- S Ponarulsevam, Asian Pacific Tropical Biomedical Magazine. Published by Elsevier (Singapore) Pte Ltd. 2012.
- S. Ramya, (2008), Biopesticidal Effect of Leaf Extracts of *Catharanthus roseus* L (G) Don. on the Larvae of Gram Pod Borer - *Helicoverpa armigera* (Hübner), Ethnobotanical Leaflets 12: 1096-1101. 2008.
- Stevens LH., Blom TJ., Verpoorte R., Subcellular localization of tryptophan decarboxylase, strictosidine synthase and strictosidine glucosidase in suspension cultured cells of *Catharanthus roseus* and *Tabernaemontana divaricata*, Plant Cell Reports, 1993.
- Sungjin Kwon, Yonggyun Kim (2007), Immunosuppressive action of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, enhances pathogenicity of *Bacillus thuringiensis*

subsp. kurstaki against diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae).

TCVN 12561:2018. Thuốc bảo vệ thực vật - khảo nghiệm hiệu lực sinh học của thuốc trên đồng ruộng, Pesticides - Bio-efficacy field trials

Thangavel Rajagopal, (2014), Synthesis of silver nanoparticles using *Catharanthus roseus* root extract and its larvicidal effects.

Trần Đăng Hòa và Nguyễn Thị Trường, 2014. Hiệu lực của dịch chiết lá cây đậu dầu (*Pongamia pinnata* L.) đối với rệp rau cải *Rhopalosiphum pseudobrassicae* (Homoptera: Aphididae). Hội nghị Côn trùng học Quốc gia Lần thứ 8, Hà Nội, 408-413.

Trần Văn Thanh (2002), Nghiên cứu chiết xuất ajmacilin từ rễ Dừa cạn (*Catharanthus roseus* G. Don) và bào chế viên nén ajmacilin, Luận án tiến sĩ Dược học, Đại học Dược Hà Nội.

Van der Heijden R., Jabos DJ., Snoeijer W., Hallard D., Verpoorte R. (2004). “The *Catharanthus* alkaloids: pharmacognosy and biotechnology”, *Curent medicinal chemistry* 11(5),pp.607 – 628.

Xia, X., Sun, B., Gurr, G. M. (2018). Gut microbiota mediate insecticide resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Frontiers in microbiology*, 9, 25.

Plants Database, *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, United States Department of Agriculture, <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=CARO14>, 28/04/2021.

PHỤ LỤC

Data file:

Title:

Function: ANOVA-1

Data case no. 1 to 15

One way ANOVA grouped over variable 1 (1)
with values from 1 to 5.

Variable 2 (2)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

Degrees of Sum of Mean

Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 1174.462 293.615 23.149 0.0000

Within 10 126.835 12.683

Total 14 1301.296

Coefficient of Variation = 30.10%

Var. VARIABLE No. 2

1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 0.000 0.000 0.00 2.06

2 3.00 19.440 6.480 5.78 2.06

3 3.00 39.170 13.057 3.37 2.06

4 3.00 38.890 12.963 3.21 2.06

5 3.00 80.000 26.667 2.89 2.06

Total 15.00 177.500 11.833 9.64 2.49

Within 3.56

Bartlett's test

Chi-square = 26.875
Number of Degrees of Freedom = 4
Approximate significance = 0.000

WARNING: One or more factor levels have a variance of zero.
This will cause a large Chi-Square value.

Error Mean Square = 12.68
Error Degrees of Freedom = 10
No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test
LSD value = 6.479 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 0.0000 D Mean 5 = 26.67 A
Mean 2 = 6.480 C Mean 3 = 13.06 B
Mean 3 = 13.06 B Mean 4 = 12.96 B
Mean 4 = 12.96 B Mean 2 = 6.480 C
Mean 5 = 26.67 A Mean 1 = 0.0000 D

=====
=====

Variable 3 (3)

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 3948.114 987.028 36.308 0.0000
Within 10 271.845 27.185

Total 14 4219.959

Coefficient of Variation = 18.41%

Var. V A R I A B L E No. 3
1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 17.420 5.807 5.04 3.01

2 3.00 48.610 16.203 7.65 3.01
3 3.00 80.000 26.667 2.89 3.01
4 3.00 138.880 46.293 3.21 3.01
5 3.00 140.000 46.667 5.77 3.01

Total 15.00 424.910 28.327 17.36 4.48
Within 5.21

Bartlett's test

Chi-square = 2.081
Number of Degrees of Freedom = 4
Approximate significance = 0.721

Error Mean Square = 27.19
Error Degrees of Freedom = 10
No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test
LSD value = 9.486 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 5.807 D Mean 5 = 46.67 A
Mean 2 = 16.20 C Mean 4 = 46.29 A
Mean 3 = 26.67 B Mean 3 = 26.67 B
Mean 4 = 46.29 A Mean 2 = 16.20 C
Mean 5 = 46.67 A Mean 1 = 5.807 D

=====
=====
Variable 4 (4)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 3604.177 901.044 58.222 0.0000
Within 10 154.760 15.476

Total 14 3758.937

Coefficient of Variation = 10.29%

Var. V A R I A B L E No. 4

1 Number Sum Average SD SE

1	3.00	45.960	15.320	3.72	2.27
2	3.00	80.550	26.850	5.78	2.27
3	3.00	119.170	39.723	2.10	2.27
4	3.00	169.450	56.483	1.60	2.27
5	3.00	158.330	52.777	4.81	2.27

Total 15.00 573.460 38.231 16.39 4.23

Within 3.93

Bartlett's test

Chi-square = 3.325

Number of Degrees of Freedom = 4

Approximate significance = 0.505

Error Mean Square = 15.48

Error Degrees of Freedom = 10

No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test

LSD value = 7.157 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 15.32 D Mean 4 = 56.48 A

Mean 2 = 26.85 C Mean 5 = 52.78 A

Mean 3 = 39.72 B Mean 3 = 39.72 B

Mean 4 = 56.48 A Mean 2 = 26.85 C

Mean 5 = 52.78 A Mean 1 = 15.32 D

Variable 5 (5)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 1878.773 469.693 11.515 0.0009
Within 10 407.905 40.791

Total 14 2286.678

Coefficient of Variation = 11.95%

Var. V A R I A B L E No. 5
1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 114.130 38.043 5.74 3.69
2 3.00 131.940 43.980 6.26 3.69
3 3.00 162.500 54.167 7.22 3.69
4 3.00 191.670 63.890 4.82 3.69
5 3.00 201.670 67.223 7.52 3.69

Total 15.00 801.910 53.461 12.78 3.30
Within 6.39

Bartlett's test

Chi-square = 0.411
Number of Degrees of Freedom = 4
Approximate significance = 0.982

Error Mean Square = 40.79
Error Degrees of Freedom = 10
No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test
LSD value = 11.62 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 38.04 D Mean 5 = 67.22 A
Mean 2 = 43.98 CD Mean 4 = 63.89 AB
Mean 3 = 54.17 BC Mean 3 = 54.17 BC
Mean 4 = 63.89 AB Mean 2 = 43.98 CD
Mean 5 = 67.22 A Mean 1 = 38.04 D

=====
=====
Variable 6 (6)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 760.000 190.000 9.500 0.0019
Within 10 200.000 20.000

Total 14 960.000

Coefficient of Variation = 17.20%

Var. VARIABLE No. 6
1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 50.000 16.667 5.77 2.58
2 3.00 60.000 20.000 0.00 2.58
3 3.00 80.000 26.667 5.77 2.58
4 3.00 90.000 30.000 0.00 2.58
5 3.00 110.000 36.667 5.77 2.58

Total 15.00 390.000 26.000 8.28 2.14
Within 4.47

Bartlett's test

Chi-square = 53.483
Number of Degrees of Freedom = 4
Approximate significance = 0.000

WARNING: One or more factor levels have a variance of zero.
This will cause a large Chi-Square value.

Error Mean Square = 20.00
Error Degrees of Freedom = 10
No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test
LSD value = 8.136 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 16.67 D Mean 5 = 36.67 A
Mean 2 = 20.00 CD Mean 4 = 30.00 AB
Mean 3 = 26.67 BC Mean 3 = 26.67 BC
Mean 4 = 30.00 AB Mean 2 = 20.00 CD
Mean 5 = 36.67 A Mean 1 = 16.67 D

=====
=====

Variable 7 (7)

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 4693.333 1173.333 44.000 0.0000
Within 10 266.667 26.667

Total 14 4960.000

Coefficient of Variation = 11.23%

Var. V A R I A B L E No. 7

1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 60.000 20.000 0.00 2.98
2 3.00 100.000 33.333 5.77 2.98
3 3.00 140.000 46.667 5.77 2.98
4 3.00 190.000 63.333 5.77 2.98
5 3.00 200.000 66.667 5.77 2.98

Total 15.00 690.000 46.000 18.82 4.86
Within 5.16

Bartlett's test

Chi-square = 27.011
Number of Degrees of Freedom = 4
Approximate significance = 0.000

WARNING: One or more factor levels have a variance of zero.
This will cause a large Chi-Square value.

Error Mean Square = 26.67
Error Degrees of Freedom = 10
No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test
LSD value = 9.395 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 20.00 D Mean 5 = 66.67 A
Mean 2 = 33.33 C Mean 4 = 63.33 A
Mean 3 = 46.67 B Mean 3 = 46.67 B
Mean 4 = 63.33 A Mean 2 = 33.33 C
Mean 5 = 66.67 A Mean 1 = 20.00 D

=====

Variable 8 (8)

A N A L Y S I S O F V A R I A N C E T A B L E

Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 4773.333 1193.333 44.750 0.0000
Within 10 266.667 26.667

Total 14 5040.000

Coefficient of Variation = 8.90%

Var. V A R I A B L E No. 8
1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 100.000 33.333 5.77 2.98
2 3.00 120.000 40.000 0.00 2.98
3 3.00 200.000 66.667 5.77 2.98
4 3.00 220.000 73.333 5.77 2.98
5 3.00 230.000 76.667 5.77 2.98

Total 15.00 870.000 58.000 18.97 4.90
Within 5.16

Bartlett's test

Chi-square = 27.011
Number of Degrees of Freedom = 4
Approximate significance = 0.000

WARNING: One or more factor levels have a variance of zero.
This will cause a large Chi-Square value.

RANGE

Error Mean Square = 26.67
Error Degrees of Freedom = 10
No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test
LSD value = 9.395 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 33.33 C Mean 5 = 76.67 A
Mean 2 = 40.00 C Mean 4 = 73.33 AB
Mean 3 = 66.67 B Mean 3 = 66.67 B
Mean 4 = 73.33 AB Mean 2 = 40.00 C
Mean 5 = 76.67 A Mean 1 = 33.33 C

=====
=====
Variable 9 (9)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE
Degrees of Sum of Mean
Freedom Squares Square F-value Prob.

Between 4 2000.000 500.000 25.000 0.0000

Within 10 200.000 20.000

Total 14 2200.000

Coefficient of Variation = 6.39%

Var. V A R I A B L E No. 9

1 Number Sum Average SD SE

1 3.00 160.000 53.333 5.77 2.58
2 3.00 180.000 60.000 0.00 2.58
3 3.00 220.000 73.333 5.77 2.58
4 3.00 240.000 80.000 0.00 2.58
5 3.00 250.000 83.333 5.77 2.58

Total 15.00 1050.000 70.000 12.54 3.24

Within 4.47

Error Mean Square = 20.00

Error Degrees of Freedom = 10

No. of observations to calculate a mean = 3

Least Significant Difference Test

LSD value = 8.136 at alpha = 0.050

Original Order Ranked Order

Mean 1 = 53.33 C Mean 5 = 83.33 A

Mean 2 = 60.00 C Mean 4 = 80.00 AB

Mean 3 = 73.33 B Mean 3 = 73.33 B

Mean 4 = 80.00 AB Mean 2 = 60.00 C

Mean 5 = 83.33 A Mean 1 = 53.33 C

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021

**NGHIÊN CỨU TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH CHIẾT TÁCH TINH DẦU SẢ CHANH
NHỜ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZYME CELLULASE**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Khoa học Tự nhiên

Lâm Đồng, tháng 5/2021

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

**NGHIÊN CỨU TỐI ƯU HÓA QUÁ TRÌNH CHIẾT TÁCH TINH DẦU SẢ CHANH
NHỜ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZYME CELLULASE**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Tự nhiên

Sinh viên thực hiện: Nguyễn Thị Mỹ Lệ

Nam, Nữ: Nữ

Dân tộc: Kinh

Lớp, khoa: HHK42SP

Năm thứ: 3 /Số năm đào tạo: 4

Ngành học: Sư Phạm Hóa Học

Người hướng dẫn: Th.S Vũ Thị Bảo Ngọc

Lâm Đồng, tháng 5/2021

LỜI CẢM ƠN

Trước hết, chúng em xin chân thành cảm ơn nhà trường đã tạo điều kiện cho sinh viên được tham gia nghiên cứu khoa học nhằm củng cố và tích lũy được nhiều hơn các kiến thức cũng như nâng cao kỹ năng.

Chúng em xin bày tỏ lòng biết ơn đến cô Vũ Thị Bảo Ngọc - Khoa Hóa học và Môi trường - Trường Đại học Đà Lạt, người đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ, động viên, giải quyết những vấn đề khó khăn, cung cấp kiến thức và tạo mọi điều kiện tốt nhất cho chúng em trong suốt quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu.

Chúng em xin chân thành cảm ơn cô Trịnh Thị Diệp, cô Nguyễn Thị Tố Uyên đã hướng dẫn, góp ý trong quá trình nghiên cứu để chúng em hoàn thành đề tài tốt hơn.

Chúng em cũng xin cảm ơn anh Huỳnh Long Cương, anh Nguyễn Văn Hà đã giúp chúng em thu hoạch mẫu.

Chúng em xin gửi lời cảm ơn đến quý thầy cô trường Đại học Đà Lạt, đặc biệt là quý thầy cô Khoa Hóa học và Môi trường, Khoa Sư phạm đã tận tâm truyền thụ những kiến thức, kỹ năng và cả sự đam mê với bộ môn Hóa học cho chúng em trong nhiều năm học, giúp chúng em có thêm động lực để thực hiện đề tài nghiên cứu này.

Chúng con xin cảm ơn gia đình đã luôn ở bên, động viên khuyến khích trong quá trình thực hiện đề tài cũng như theo học tại trường.

Cuối cùng, xin cảm ơn tập thể lớp HHK42SP đã chia sẻ, động viên trong cả quá trình thực hiện đề tài này.

Kính chúc mọi người sức khỏe, hạnh phúc và luôn thành công trong cuộc sống.

Nhóm sinh viên

Nguyễn Thị Mỹ Lê

Từ Mỹ Ngân

DANH SÁCH SINH VIÊN THAM GIA NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI

Họ và tên	Lớp	Mã số sinh viên
Nguyễn Thị Mỹ Lệ	HHK42SP	1810081
Từ Mỹ Ngân	HHK42SP	1810084

MỤC LỤC

LỜI MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN	2
1.1 TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ NƯỚC NGOÀI	2
1.1.1 Trong nước.....	2
1.1.2 Nước ngoài.....	3
1.2 GIỚI THIỆU VỀ SẢ CHANH VÀ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA LOÀI.....	4
1.3 TINH DẦU SẢ CHANH	6
1.3.1 Tổng quan về tinh dầu	6
1.3.2 Tinh dầu sả chanh	9
1.3.3 Công dụng.....	11
1.4 GIỚI THIỆU VỀ EMZYME CELLULASE.....	14
1.4.1 Cấu trúc của enzyme Cellulase.....	14
1.4.2 Tính chất của enzyme Cellulase	15
1.4.3 Nguồn gốc của enzyme Cellulase.....	15
1.4.4 Phân loại enzyme Cellulase	15
1.4.5 Hoạt lực của enzyme Cellulase (cơ chế thủy phân cellulose)	16
1.5 CÁC PHƯƠNG PHÁP CẮT VÀ XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU	17
1.5.1 Các phương pháp chung cắt	17
1.5.2 Phương pháp sắc khí - khối phổ (GC - MS).....	19
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	21
2.2 THỜI GIAN NGHIÊN CỨU	21
2.3 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	21
2.3.1 Phương pháp cắt tinh dầu nhờ có sự hỗ trợ của enzyme cellulase	21
2.3.2 Phương pháp phân tích thành phần tinh dầu.....	22

2.3.3 Phương pháp xử lý mẫu.....	23
2.3.4 Phương pháp xử lý số liệu	23
CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ	24
3.1 DỤNG CỤ VÀ HÓA CHẤT	24
3.1.1 Hóa chất.....	24
3.1.2 Dụng cụ.....	24
3.2 TIẾN HÀNH THỰC NGHIỆM CÁT TINH DẦU KHI KHÔNG CÓ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZYME CELLULASE.....	25
3.2.1 Nguyên liệu.....	25
3.2.2 Quá trình chiết tách tinh dầu.....	25
3.2.3 Kết quả của quá trình cất tinh dầu	25
3.2.4 Phân tích thành phần hóa học của tinh dầu	26
3.3 KHẢO SÁT CÁC ĐIỀU KIỆN ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH THU HỒI TINH DẦU SẢ CHANH KHI CÓ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZYME CELLULASE ..	28
3.3.1 Hàm lượng enzyme cellulase.....	28
3.3.2 Thời gian ủ enzyme	30
3.3.3 Nồng độ muối của dung môi chiết.....	31
3.3.4 Thời gian ủ muối.....	32
3.3.5 Tỷ lệ nước và mẫu	34
3.3.6 Các yếu tố khác.....	35
3.3.7 Quy trình tối ưu hóa quá trình thu hồi tinh dầu sả chanh dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase.....	36
3.3.8 Xác định thành phần tinh dầu thu được khi có sự hỗ trợ của enzyme.....	36
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT	39
TÀI LIỆU THAM KHẢO	40

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1 Một số loại Tecpen.....	8
Bảng 2.1 Thông tin mẫu nghiên cứu	21
Bảng 3.1 Hiệu suất tinh dầu thu được theo thời gian cất	26
Bảng 3.2 Kết quả phân tích thành phần tinh dầu sả mẫu SA1	27
Bảng 3.3 Hiệu suất tinh dầu thu được theo hàm lượng enzyme cellulase	29
Bảng 3.4 Hiệu suất tinh dầu thu được theo thời gian ủ enzyme.....	31
Bảng 3.5 Hiệu suất thu hồi tinh dầu theo nồng độ muối của dung môi	32
Bảng 3.6 Hiệu suất tinh dầu thu được theo thời gian ủ dung dịch muối.....	33
Bảng 3.7 Hiệu suất tinh dầu theo tỷ lệ mẫu và nước.....	35
Bảng 3.8 Kết quả phân tích thành phần tinh dầu sả mẫu SA2	37

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1 Cây sả chanh (<i>Cymbopogon citratus</i>)	4
Hình 1.2 Công thức cấu tạo của Geraniol và Nerol	10
Hình 1.3 Công thức cấu tạo của Geranial (Citral A) và Neral (Citral B).....	11
Hình 3.1 Quá trình cất tinh dầu không có enzyme cellulase	25
Hình 3.2 Sắc ký đồ GC của mẫu tinh dầu sả chanh (SA1).....	28
Hình 3.3 Quá trình cất tinh dầu tối ưu hàm lượng enzyme	29
Hình 3.4 Quá trình cất tinh dầu tối ưu thời gian ủ enzyme	30
Hình 3.5 Qui trình tối ưu hóa nồng độ muối của dung môi chiết	31
Hình 3.6 Quá trình tối ưu hóa thời gian ủ muối	33
Hình 3.7 Quá trình tối ưu hóa tỷ lệ mẫu và nước	34
Hình 3.8 Quy trình tối ưu hóa quá trình chiết tinh dầu sả chanh dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase.....	36
Hình 3.9 Sắc ký đồ GC của mẫu tinh dầu sả chanh (SA2).....	38

LỜI MỞ ĐẦU

Đời sống ngày càng phát triển, xã hội ngày càng hiện đại thì con người làm việc trong môi trường đó cũng bị cuốn theo làm cho cường độ làm việc căng thẳng hơn, môi trường bị ô nhiễm, thời gian nghỉ ngơi vui chơi ít đi. Con người ít có thời gian chăm sóc đến sức khỏe của mình và người thân, từ đó dễ nảy sinh ra nhiều vấn đề về sức khỏe. Việc tìm kiếm và sử dụng nguồn nguyên liệu từ thực vật để làm tăng hệ thống miễn dịch, giúp điều trị bệnh là một trong những vấn đề thiết yếu mà xã hội đặt ra cho khoa học chúng ta.

Việt Nam là quốc gia nằm ở vùng nhiệt đới, có nhiều điều kiện cho các loài sinh vật phát triển và tạo ra sự phong phú đa dạng về hệ sinh thái với gần 12.000 loài thực vật, trong số những cây xung quanh cuộc sống thường nhật thì sả là một cây vô cùng thông dụng. Con người không chỉ biết đến sả như là một gia vị đi kèm với các món ăn lạnh mà còn được sử dụng làm thuốc và sản xuất tinh dầu.

Tinh dầu này được sử dụng trong các chất khử mùi, nước hoa, dầu gội đầu, có tác dụng chống nôn, giảm đau đầu và đau nửa đầu, hỗ trợ hoạt động của hệ tiêu hóa, và giảm nguy cơ trầm cảm, xoa đuổi côn trùng...Ở đất nước Indonesia, rễ sả được phối hợp với nhiều vị thuốc khác để chữa bệnh vàng da ở dạng nước sắc; dùng nước này súc miệng hằng ngày để chữa đau răng. Nếu dùng ngoài da, tinh dầu sả còn được dùng chung với các tinh dầu khác để xoa bóp giảm đau cơ, nhức mỏi. Tinh dầu sả với mùi thơm dễ chịu còn được dùng trong ngành công nghiệp mỹ phẩm và hương liệu.

Cho đến hiện tại, ở nước ta đã có rất nhiều đề tài nghiên cứu về tính chất, thành phần cũng như ứng dụng...về các hợp chất có trong tinh dầu sả. Tuy nhiên hiệu suất của quá trình chiết tách tinh dầu có lợi này còn khá thấp, chính vì vậy chúng tôi quyết định tiến hành nghiên cứu phương pháp tách chiết tinh dầu cây sả với nội dung: **“Nghiên cứu tối ưu hóa quá trình chiết tách tinh dầu sả chanh nhờ sự hỗ trợ của enzyme cellulase”**

Chúng tôi hi vọng rằng với những kết quả nghiên cứu được của đề tài hết hợp với nhiều công trình nghiên cứu trước đây về sả cũng như tinh dầu sả chúng ta sẽ có một kiến thức tổng hợp để nâng cao hiệu quả sử dụng của loại tinh dầu này.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

1.1 TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ NƯỚC NGOÀI

1.1.1 Trong nước

Tác giả Phùng Thị Ái Hữu vào năm 2012 với đề tài: “Nghiên cứu chiết tách và xác định thành phần hóa học tinh dầu cây sả chanh ở quận Cẩm Lệ- Đà Nẵng” đã trình bày một số kết quả: Tinh dầu sả chanh có một số thành phần hóa học là β -Citral (22,96%); trans-Geraniol (3,58%); (R)-(+)- β -citronellol (32,76%); selina-6-en-4-ol (10,97%); α -Cadinol (3,66%); và (\pm)- Cadinene (2,32%), 2-Isopropenyl-4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthelene (2,10%). Trong đó β -Citral, trans-Geraniol có ứng dụng rất lớn trong cuộc sống.

Tác giả Nguyễn Quốc Châu Thanh vào năm 2013 với đề tài “Trích ly và khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu sả chanh (*Cymbopogon Citratus* Stapf.)” và nghiên cứu trên kết luận: Tinh dầu sả chanh có các thành phần chính (S)-cis-Verbenol (4,94%); beta-Myrcene (9,98%); cis-Citral (37,20%); trans-Citral (44,27%); 2,6-Octadien-1-ol, 3,3-dimethyl-acetate (1,00%).

Tác giả Hoàng Thị Bích vào năm 2017 với đề tài “Nghiên cứu sử dụng enzyme trong chiết tách và làm giàu một số sản phẩm nguồn gốc thiên nhiên”. Luận án tiến sĩ này nghiên cứu về một số enzym đã được nghiên cứu ứng dụng nhằm hỗ trợ quá trình chiết tinh dầu từ cành lá, từ vỏ quế *Cinnamomum cassia* và từ gỗ gió bầu *Aquilaria crassna*. Và luận án đã thành công khi sử dụng hệ enzyme Laccase-Htec2 để xử lý các nguyên liệu cành lá và vỏ lá quế trước khi chưng cất cho hiệu suất thu hồi tinh dầu tăng lên rõ rệt, tỷ lệ gia tăng cành lá quế đạt 41,7%, vỏ quế đạt 14,57%, thời gian chưng cất tinh dầu được rút ngắn. Trên cơ sở các kết quả thu được, một qui trình công nghệ chưng cất tinh dầu cành lá quế có enzyme hỗ trợ đã được đề xuất. Nghiên cứu trên là nghiên cứu ứng dụng enzyme đầu tiên ở Việt Nam trong việc chiết xuất tinh dầu.

Tác giả Đoàn Bảo Duy với công trình “Nghiên cứu quy trình chiết tách tinh dầu sả chanh ở vùng Quảng Nam- Đà Nẵng” năm 2018 đã thu được một số kết quả như sau. Nghiên cứu đã đề cập đến việc chiết tách tinh dầu sả chanh bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước và ảnh hưởng của thời gian thu hoạch và thời gian chiết đến tinh dầu thu được. Đề tài này nhận xét hàm lượng tinh dầu sả thu được bằng phương

pháp lôi cuốn hơi nước là 0,64%; hàm lượng tinh dầu sả thu được giảm theo thời gian thu hoạch, đồng thời có thời gian chiết tối ưu là 3h.

1.1.2 Nước ngoài

Vào năm 2011, Nur Ain. AH, và các cộng sự là Zaibunnisa. AH, Halimahton Zahrah. MS và Norashikin. S đã nghiên cứu một phương pháp thiết kế thử nghiệm để chiết xuất sả (*Cymbopogon citratus*), sử dụng chiết xuất lỏng có áp suất (PLE). Kết quả của đề tài được công bố như sau: các điều kiện hoạt động được tối ưu hóa thu được cho PLE chiết xuất tinh dầu sả chanh, đun nóng ở 167°C, áp suất 1203 psi và thời gian tĩnh là 20,43 phút.

Hai năm sau đó, tác giả Ranitha M, cùng một số cộng sự Abdurahman H. Nour, Ziad A. Sulaiman, Azhari H. Nour và ThanaRaj S đã nghiên cứu so sánh tinh dầu sả chiết được bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước truyền thống và tinh dầu chiết được dưới sự hỗ trợ của lò vi sóng. Nghiên cứu đưa ra kết luận rằng, hàm lượng tinh dầu chiết được dưới sự hỗ trợ của lò vi sóng là 1,46% trong khi phương pháp chiết thông thường chỉ đạt 0,98%

Đồng thời năm 2013, Karim Hosnia, Imed Hassenb, Hedia Chaâbanec, Maroua Jemlic, Sana Dallalid, Houcine Sebeid và Hervé Casabiancae đã nghiên cứu về sự hỗ trợ của enzyme đến việc chiết xuất tinh dầu từ cỏ xạ hương và hương thảo. Nghiên cứu đã có được kết luận như sau: Ở xạ hương, ứng dụng của cellulase, hemicellulase và sự kết hợp của cả hai enzyme làm tăng sản lượng tinh dầu lần lượt là 63, 55%, 23,72% và 109%. Ở hương thảo, xử lý bằng enzyme dẫn đến tăng sản lượng dầu lên 5%, 50% và 20% đối với cellulase, hemicellulase và sự kết hợp của cả hai enzyme tương ứng.

Năm 2019, Y Variyana cùng các đồng nghiệp là M Mahfud, Z Ma'sum, BI Ardianto, LP Syahbana và DSBhuana đã nghiên cứu tối ưu hóa quá trình chưng cất tinh dầu sả bằng lò vi sóng theo phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM). Dựa trên phân tích, thử nghiệm và sự thống nhất của các kết quả thử nghiệm, có thể kết luận rằng các điều kiện tối ưu là công suất của lò vi sóng ở 600W, kích thước nguyên liệu trong 0,5 cm và thời gian chiết là 90 phút. Trong điều kiện tối ưu này, sản lượng tinh dầu chiết được là 1,817%.

1.2 GIỚI THIỆU VỀ SẢ CHANH VÀ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM CỦA LOÀI

Cây sả chanh (*Cymbopogon citratus*) thuộc họ Lúa (Poaceae) và có nguồn gốc ở vùng nhiệt đới và ôn đới ẩm của lục địa Á, Âu, Phi. Loài sả này phân bố nhiều ở Ấn Độ, các nước Đông Nam Á như Việt Nam, Thái Lan, Campuchia, Malaysia, một số nước châu Phi, và vùng Caribe. Ở nước ta, sả chanh được trồng hầu hết ở khắp các tỉnh phía Bắc nước ta, tập trung ở một số nông trường như Việt Trung (Quảng Bình), Thạch Ngọc (Nghệ Tĩnh cũ), Cửu Long (Hà Sơn Bình cũ), Bắc Sơn (Bắc Thái cũ). Sau năm 1975, cây sả còn được nghiên cứu và trồng trọt ở các tỉnh phía Nam như miền Đông Nam Bộ, Tây Nguyên, ...



Hình 1.1 Cây sả chanh (*Cymbopogon citratus*)

Sả chanh là cây thân cỏ, sống được lâu năm thường mọc thành bụi rậm, thân cao khoảng từ 80 -150cm. Thân sả hình tròn và được tạo thành bởi các bẹ lá ôm sát vào nhau. Phần gốc sả có nhiều đốt màu tím, củ sả thực ra là thân sả phình to ra và nổi lên mặt đất. Củ sả có màu xanh nhạt, thon dài. Lá sả hẹp, dài giống như lá lúa, mép lá có răng cưa nhỏ, đầu lá cong. Hoa sả có nhiều bông nhỏ, không có cuống. Cụm hoa gồm nhiều bông nhỏ không cuống. Toàn bộ cây có mùi thơm đặc biệt. Mùa hoa sả thường nằm vào khoảng tháng 3 đến tháng 4, nhưng ở Việt Nam chưa thu được quả. Sả có thể sống lâu năm nhờ vào bộ rễ phát triển rất mạnh mẽ.

Ngoài ra còn có một số loài khác như sả dụ (*Cymbopogon flexuosus*) có nguồn gốc ở Ấn Độ, Sri Lanka, Myanma và Thái Lan. Sả Sri Lanka (*Cymbopogon nardus*) và sả Java (*Cymbopogon winterianus*) là tương tự như các loài trên, nhưng có thể mọc cao tới 2m và có phân gốc cây màu đỏ, loài này có được dùng để sản xuất tinh dầu sả, được dùng trong xà phòng, thuốc trừ muỗi trong các loại bình xịt diệt côn trùng hay nến cũng như trong điều trị bằng xoa bóp dầu thơm. Các thành phần cơ bản của tinh dầu sả là geraniol và citronelol, là các chất khử trùng, vì thế nó được dùng trong các chất tẩy uế và xà phòng dùng trong gia đình. Ngoài việc sản xuất tinh dầu sả, cả hai loài này cũng được dùng trong ẩm thực hay làm chè để uống.

Sả hồng hay sả hoa hồng (*Cymbopogon martinii*) là một loài khác được sử dụng trong công nghiệp sản xuất nước hoa. Nó là loài cỏ sống lâu năm mọc thành bụi cao tới 150 cm với các lá nhỏ và thân củ nhỏ hơn so với các loài trên. Các lá và hoa chứa tinh dầu có hương vị thơm ngọt, được sử dụng trong sản xuất geraniol. Nó cũng được chưng cất thành tinh dầu palmarosa và được sử dụng trong điều trị bằng dầu thơm vì có tác dụng làm dịu để giảm bớt các căng thẳng thần kinh.

Là cây chịu hạn nhưng chịu ngập úng kém. Nhiệt độ thích hợp đối với cây sả là 24-28°C. Cây sả phát triển kém khi nhiệt độ dưới 10°C. Trên 35°C sả cũng sinh trưởng kém. Lượng mưa thích hợp là 1500 – 2000 mm/năm.

Rễ sả là rễ chùm, mọc tập trung ở đốt thân đầu tiên của cây sả và có khả năng phát sinh trên tất cả các đốt của thân, nhánh. Trong điều kiện đất tơi xốp giàu chất hữu cơ, bộ rễ có thể phân bố rộng tới hơn 20cm và ăn sâu vào trong lòng đất từ 15- 20 cm. Mặc dù là loài cây hòa thảo nhưng cây sả chanh lại có bộ rễ có khả năng chịu hạn khá tốt so với các loài cây cùng họ khác, tuy nhiên độ ẩm cao và đất tơi xốp vẫn là điều kiện tốt nhất cho bộ rễ phát triển. Độ ẩm của đất thấp hay quá cao đều rất bất lợi cho rễ phát triển.

Thân cây sả có nhiều đốt, các gốc có đốt rất ngắn chỉ từ 0,2 đến 3cm, các đốt ở phía trên dài dần nhưng không quá 2cm. Vì vậy chiều cao cây biến động từ 10 đến 20cm. Trên mỗi đốt cây mang một mầm lá, mỗi mầm ngủ mọc so le và đại rễ có thể phát sinh ra nhiều rễ, nên các đốt của đoạn thân trên cũng phát sinh rễ bất định. Các mầm ngủ phát sinh trên thân khỏe tạo thành nhánh cấp I, các nhánh cấp I cũng phát sinh ra nhiều nhánh cấp II. Do vậy ban đầu trồng cây sả về sau sẽ phát triển thành bụi. Trung bình

một cây sả có thể phát sinh 80 - 100 nhánh. Đất tốt và đủ dinh dưỡng, đủ ẩm có thể đạt tới 130 - 150 nhánh. Do bẹ lá ôm gần vòng thân và xếp sát nhau nên thân sả phía trên có màu trắng ngà, đoạn gốc thân có màu nâu vàng.

Lá sả là bộ phận để chưng cất tinh dầu. Lá gồm có bẹ lá ôm sát thân, có gốc lá và phiến lá dài, mềm hơn bẹ. Chiều dài phiến lá gấp 1,5 tới 2 lần bẹ lá. Chiều dài lá biến động rất lớn từ 0,5 đến 0,7m cá biệt có thể lên đến 1,3 hay 1,6m. Trong kỹ thuật chăm sóc chúng ta cần chú ý để cho cây có tán lá rộng, phiến lá phát triển tốt để năng suất và tỷ lệ tinh dầu trong lá cao.

Cũng như các hoa màu khác, lá sả phải thu hoạch đúng lứa thì mới được sản lượng lá lớn và tỉ lệ, chất lượng tinh dầu cao. Thời gian đụn đúng lứa ấy cũng chỉ ở phạm vi một số ngày nhất định, cho nên cần bố trí nhân lực thu hoạch kịp thời, nếu muốn có năng suất cao.

1.3 TINH DẦU SẢ CHANH

1.3.1 Tổng quan về tinh dầu

1.3.1.1 Định nghĩa

Tinh dầu (essential oils) là một hỗn hợp của nhiều thành phần, thường có mùi thơm, không tan trong nước, tan trong dung môi hữu cơ, bay hơi được ở nhiệt độ thường và có thể điều chế được từ thảo mộc bằng phương pháp cất kéo hơi nước.

1.3.1.2 Đặc tính chung của tinh dầu

Về trạng thái, đa số là chất lỏng ở nhiệt độ thường. Một số ở dạng rắn: methol, borneol, camphor, vanillin, heliotropin. Tinh dầu thường không màu hoặc có màu vàng nhạt, một số hợp chất azulen lại có màu xanh mực. Đa số tinh dầu có mùi dễ chịu, một số ít có mùi hắc gây khó chịu. Chúng có vị cay, số khác lại có vị ngọt tùy theo thành phần cấu tạo. Tinh dầu không tan hoặc ít tan trong nước nhưng lại tan trong ethanol và các dung môi hữu cơ khác. Những tinh dầu khác nhau thì có nhiệt độ sôi khác nhau, có năng suất quay cực cao tả huyền hoặc hữu huyền, chỉ số khúc xạ dao động từ 1,45 đến 1,56. Tinh dầu rất dễ bị oxy hóa, sự oxy hóa này thường xảy ra cùng với sự trùng hợp hóa chuyển tinh chất dầu thành nhựa.

1.3.1.3 Thành phần hóa học

Nhóm sả cho tinh dầu với thành phần chủ yếu là Citronellal và genariola (citronnelle). Trong nhóm này có loài *Cymbopogon winterianus*, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendl. (*Andropogon nardus* L.) có hàm lượng tinh dầu cao và chất lượng tốt nhất, sau đấy đến cây sả *Cymbopogon confertiflorus* Stapf cho ít tinh dầu hơn, chất lượng cũng kém hơn.

Nhóm sả cho tinh dầu với thành phần chủ yếu là xitraia (Lemon grass-Verveine des indes) làm tinh dầu có mùi chanh rất rõ. Đứng đầu nhóm sả này là sả *Cymbopogon flexuosus* Stapf. (*Andropogon flexuosus* Nees), sau đến loài *Cymbopogon citratus* Stapf, (*Andropogon schoenanthus* L.).

Ngoài hai nhóm này còn một số loài sả cho tinh dầu có thành phần khác hẳn mặc dầu về hình thái và giải phẫu rất khó phân biệt như loài sả *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats, thì thứ motia cho tinh dầu gọi là essence Palma rosa hay *Geranium des Indes* chứa tới 75-95% geraniola, còn thứ Sofia lại cho một thứ tinh dầu không chứa geraniola mà lại chỉ có ancol perilic.

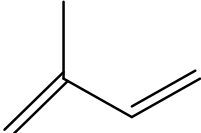
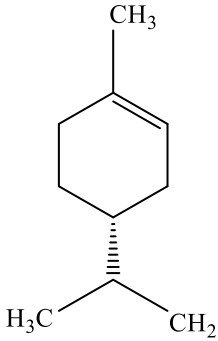
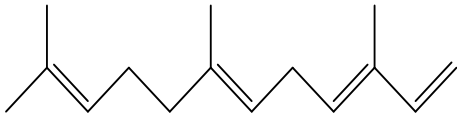
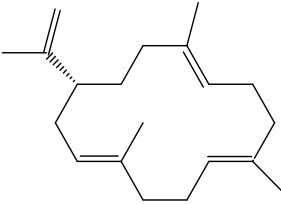
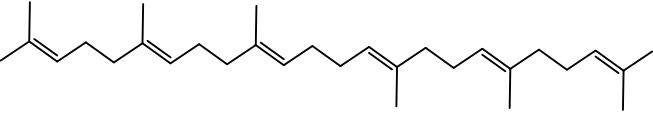
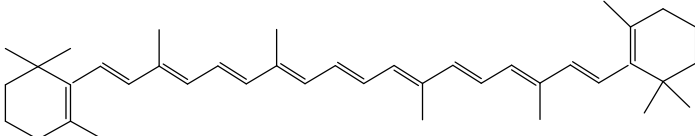
Phần lớn tinh dầu chứa terpen và những dẫn xuất có chứa oxy của terpen như ancol, anhehit, ete, este, lacton,... Một số thành phần chính trong tinh dầu cho các phản ứng đặc biệt của nhóm chức, tạo thành các sản phẩm kết tinh hay cho màu. Dựa vào đặc tính này để định tính và định lượng các thành phần chính có trong tinh dầu.

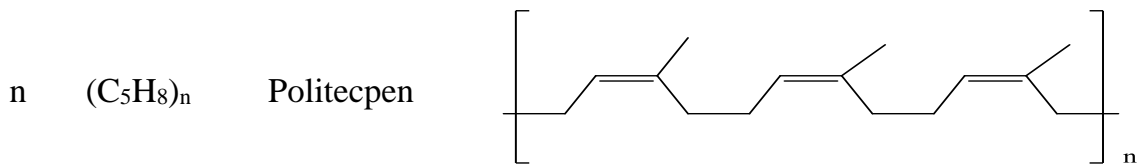
Tecpen là tên gọi nhóm hidrocarbon không no thường có công thức chung là $(C_5H_8)_n$ với $n \geq 2$, thường gặp trong giới thực vật. Tecpen có nhiều trong tinh dầu thảo mộc như tinh dầu thông sả, quế, chanh, cam,...

Các dẫn xuất chứa oxi của tecpen như ancol tecpen, xeton, andehit tecpen hay cacboxylic, este tecpen,... lại được gọi là tecpenoit. Chúng thường có mùi thơm hấp dẫn hơn so với các tecpen cùng loại.

Tecpen và tecpenoit đôi khi còn được gọi chung là isoprenoit bởi cấu tạo chung của mạch cacbon của chúng chính là sự lắp ghép các mắc xích isoprene với nhau theo trật tự “đầu nối đuôi”.

Bảng 1.1 Một số loại Tecpen

n	CTPT	Loại Tecpen	Ví dụ
1	C_5H_8	Hemitecpen	 <p data-bbox="1118 528 1225 562">Isopren</p>
2	$C_{10}H_{16}$	Monotecpen	 <p data-bbox="847 999 1289 1032">Limonen- Tinh dầu cam, chanh</p>
3	$C_{15}H_{24}$	Sesquitecpen	 <p data-bbox="815 1301 1321 1335">Farnensen- Tạo ra mùi của táo xanh</p>
4	$C_{20}H_{32}$	Ditecpen	 <p data-bbox="847 1608 1289 1641">Cembren- Có trong nhựa thông</p>
6	$C_{30}H_{48}$	Tritecpen	 <p data-bbox="887 1827 1254 1861">Squalen- Dầu gan cá mập</p>
8	$C_{40}H_{64}$	Tetratecpen	



Polyisopren- Cao su thiên nhiên

1.3.1.4 Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết tách tinh dầu

Độ chín: nguyên liệu được khảo sát khi củ của cây sả có độ căng mọng, màu xanh đậm ở lá, thân cứng không bị mềm, khi đó sẽ ổn định về lượng tinh dầu.

Độ tươi: nguyên liệu bị khô, dập, úng cũng làm ảnh hưởng đến hàm lượng và chất lượng tinh dầu trước khi tiến hành chiết tách tinh dầu. Do đó, nếu để nguyên liệu héo trong một thời gian dài sẽ đưa đến giảm khối lượng tinh dầu chứa trong nguyên liệu, việc này sẽ dẫn đến một số thành phần không bền của tinh dầu bị phân hủy làm cho tinh dầu thu được không còn có chất lượng cao

Độ sạch: nguyên liệu càng sạch thì chất lượng tinh dầu thu được càng cao. Do vậy, khi chiết tách cần phải làm sạch, loại bỏ chất bẩn, các đối tượng không phải là đối tượng cần chiết tách ra khỏi nguyên liệu.

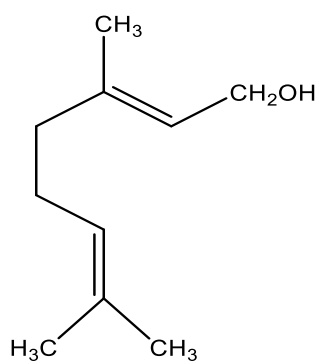
Muối cho vào dung môi chiết: khi nồng độ muối thay đổi làm ảnh hưởng đến nồng độ và thời gian chiết tinh dầu.

1.3.2 Tinh dầu sả chanh

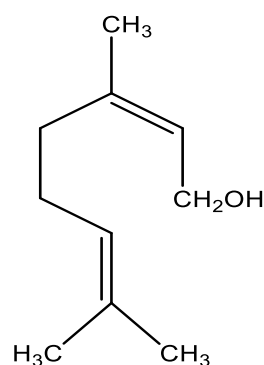
Sả chanh chứa 1-2% tinh dầu màu vàng nhạt, thơm mùi chanh với thành phần chủ yếu là citral (32-35%), geraniol. Tùy theo loài sả, thành phần của tinh dầu thay đổi và có giá trị khác nhau. Tinh dầu sả cất từ cây sả *Cymbopogon nardus* (L.) Rendl. (sả Xrilanca) và cây *Cymbopogon winterianus* Jowitt (sả Giava) có từ 20 đến 40% geraniola và citronellola, 40% đến 60% xitronellala. Loài thứ hai được trồng nhiều ở Giava, Đài Loan, Trung Mỹ (Guatemala), Ghine, Mangat. Tinh dầu sả cất từ cây sả chanh *Cymbopogon flexuosus* và *C. citratus* chứa từ 70% đến 80% citral. Loại sả chanh này được trồng nhiều ở Ấn Độ, Mangat, đảo Como, Trung Mỹ (Guatemala), Châu Phi (Congo, Kenya).

1.3.2.1 Geraniol

- Có công thức phân tử là $C_{10}H_{18}O$.
- Hợp chất thuộc loại ancol không no có hai nối trong phân tử mạch không vòng.
- Công thức cấu tạo: $(CH_3)_2C=CH-CH_2-CH_2-C(CH_3)=CH-CH_2OH$ (2,6-octadien-1-ol, 3,7-dimethyl)
- Geraniol là hỗn hợp của hai đồng phân hình học : dạng Z là geraniol, dạng E là nerol
- Chất lỏng không màu có $t_s = 229^{\circ}C$, khối lượng riêng $d = 0,881g/cm^3$, không tan trong nước, tan trong etanol hoặc etc.
- Geraniol còn có trong tinh dầu các loại hoa hồng, khuynh diệp, cải hương...



Geraniol (Z)

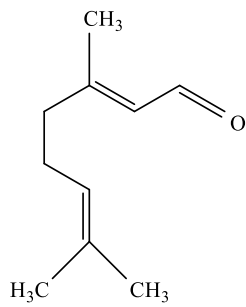


Nerol (E)

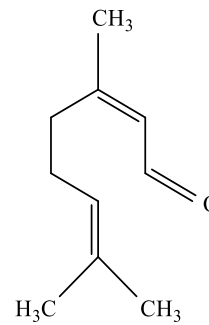
Hình 1.2 Công thức cấu tạo của Geraniol và Nerol

1.3.2.2 Citral

- Công thức phân tử: $C_{10}H_{16}O \equiv C_9H_{15}CHO$
- CTCT là $(CH_3)_2C=CH-CH_2-CH_2-(CH_3)C=CH-CHO$
- Danh pháp IUPAC: 3,7-dimethylocta-2,6-dienal
- Là một hợp chất thuộc loại andehit không no và là một trong những andehit quan trọng nhất của tinh dầu sả chanh.
- Citral là hỗn hợp của hai đồng phân hình học: dạng Z là geranial (citral A) và dạng E neral (citral B).



Geranial



Neral

Hình 1.3 Công thức cấu tạo của Geranial (Citral A) và Neral (Citral B)

1.3.3 Công dụng

1.3.3.1 Trong ẩm thực

Sả là loại cây được biết đến như một nguyên liệu quen thuộc đối với người dân Việt Nam trong đời sống hằng ngày qua các món ăn đậm chất dân tộc. Trong cuộc sống hiện đại ngày nay, sả chanh và tinh dầu sả chanh còn được sử dụng rộng rãi và ứng dụng vào nhiều trong thực phẩm, sả được dùng để làm gia vị, ăn sống hay chế biến các món ăn, ướp thịt, cá,... Thân sả dùng để nấu các món lẩu với nhiều hương vị khác nhau hoặc cắt nhuyễn để làm các loại nước chấm ăn kèm rất đậm đà.

1.3.3.2 Trong mỹ phẩm

Sả còn là nguyên liệu không thể thiếu trong ngành công nghiệp mỹ phẩm vì nó có rất nhiều lợi ích cho da. Đặc biệt với mùi hương dịu nhẹ và các chất vitamin tự nhiên có sẵn mà tinh dầu sả chanh còn được chiết xuất làm nước hoa và là một thần dược trị rụng tóc rất hiệu quả.

- Tác dụng của tinh dầu sả chanh với làn da: tinh dầu sả chanh có tác dụng kháng nấm, kháng khuẩn rất mạnh, giúp da sạch mụn, căng mịn; có thể dùng hỗn hợp 1-2 giọt tinh dầu sả chanh trộn với các loại dầu nền để tạo thành mặt nạ dưỡng da thiên nhiên, giữ ẩm cho da, giúp tế bào da phát triển. Bên cạnh đó, cũng có thể xông hơi thường xuyên với tinh dầu sả chanh giúp hạn chế sự phát triển của mụn, ngăn ngừa lão hóa da cực kỳ hiệu quả. Tinh dầu sả cải thiện chất lượng làn da như giảm mụn trứng cá và mụn nhọt; dùng trong massage cũng có tác dụng làm săn chắc các cơ và các mô trong cơ thể, tạo cảm giác thư giãn, thoải mái

- Chăm sóc tóc: tinh dầu sả có khả năng tiêu diệt các tế bào ung thư trong cơ thể, nhờ đó các tế bào nang nuôi tóc sẽ được bảo vệ khỏi nguy cơ bị tổn thương dẫn đến bệnh rụng tóc; có thể pha vài giọt tinh dầu sả chanh với nước ấm để gội đầu, sau đó gội lại với nước sạch, giúp mái tóc trở nên sáng bóng, chắc khỏe và giảm rụng tóc. Lưu ý khi dùng tinh dầu sả chanh thì không nên dùng dầu xả.

- Làm nước hoa: tinh dầu sả chanh thường được dùng trong sản xuất nước hoa, tạo ra những mùi hương nhẹ nhàng và thơm mát.

1.3.3 Trong y học

Sả chanh và tinh dầu sả chanh rất có giá trị trong việc hỗ trợ điều trị các bệnh đối với các hệ tim mạch, thần kinh tiêu hóa và hệ miễn dịch.

- Rối loạn tiêu hóa: Trà từ cây sả có tác dụng hỗ trợ tiêu hóa, đau dạ dày, nóng trong người, co thắt ruột, tiêu chảy. Nó cũng giúp giảm thiểu các vấn đề về khí trong cơ thể vì có khả năng thư giãn các cơ dạ dày, không chỉ loại bỏ khí từ ruột mà còn ngăn ngừa sự đầy hơi. Hơn nữa sả còn có vị cay, tính ấm có tác dụng làm ra mồ hôi, ấm bụng, giúp tiêu hoá, khỏi nôn, thông khí, sát trùng, khử uế, tiêu đờm... Có thể nấu phối hợp với Hương nhu, Húng chanh, Bưởi... để xông giải cảm, sốt. Lá sả dùng pha nước uống giải nhiệt và thông tiểu, tiêu thực; phòng ngừa sơn lam chướng khí, sốt rét ngã nước. Tinh dầu sả chanh có tác dụng rất tốt trong việc giải độc cho cơ thể, kích thích tiêu hóa và khắc phục các bệnh về đường ruột. Khi bị ợ nóng, khó tiêu hãy trộn vài giọt tinh dầu sả chanh với dầu nền như dầu dừa, dầu hạnh nhân, jojoba và chà xát hỗn hợp trên vào cổ họng, vùng ngực và bụng để giảm đau và cải thiện tiêu hóa.

- Tinh dầu sả được sử dụng để tăng cường và cải thiện các chức năng hệ thần kinh, hỗ trợ điều trị một số rối loạn của hệ thần kinh như Alzheimer, bệnh Parkinson, co giật, chóng mặt, run rẩy chân tay...

- Bổ sung các tinh chất có trong sả sẽ có hiệu quả trong việc giảm huyết áp, tăng tuần hoàn máu và giúp giảm bớt tất cả các vấn đề về huyết áp.

- Bên cạnh đó, một nghiên cứu gần đây của Đại học Ben Gurion (Israel) cho thấy trong cây sả có chất Citral, một hợp chất chính có tác dụng tiêu diệt các tế bào chết trong các tế bào gây ung thư và giữ lại các tế bào thường. Ngoài ra, tinh dầu sả chanh còn có

khả năng chống viêm sưng, nấm mốc, kháng khuẩn, diệt côn trùng và chống oxy hóa rất hiệu quả.

- Tinh dầu sả chanh giúp khử trùng, làm lành vết thương: Với đặc tính kháng khuẩn cực cao, tinh dầu sả chanh có tác dụng rất tốt trong việc khử trùng, làm lành vết thương. Pha tinh dầu sả chanh với nước theo tỉ lệ 1:3 rồi lấy bông gòn rửa sạch vết thương, vết cắt nhỏ, vết bầm tím... sẽ giúp sát trùng, hạn chế sự phát triển của vi khuẩn giúp vết thương nhanh hồi phục hơn. Ngoài ra công thức này cũng có thể sử dụng trong việc hạn chế sự phát triển của các loại kí sinh, nấm mốc trên da và các yếu tố khác gây ra mụn nhọt.

- Tinh dầu sả chanh giúp giảm căng thẳng và ngủ ngon: Bên cạnh sự nổi bật về tính kháng khuẩn thì tinh dầu sả chanh còn nhờ vào mùi hương đặc trưng mà đem lại nhiều công dụng trong việc chăm sóc sức khỏe cho con người. Với mùi thơm dịu nhẹ, dễ chịu, tươi mát, tinh dầu sả chanh giúp giảm căng thẳng, bớt lo lắng và điều trị chứng mất ngủ, giúp ngủ sâu và ngon hơn. Chỉ cần dùng máy khuếch tán hoặc đèn xông tinh dầu để khuếch tán tinh dầu vào trong không khí, phòng ngủ, chỗ nghỉ ngơi. Ngoài ra có thể dùng tinh dầu massage sả chanh hoặc cho tinh dầu sả chanh vào kem dưỡng da rồi massage khắp cơ thể, sử dụng đều đặn mỗi ngày sẽ giúp cải thiện được chứng đau đầu, mất ngủ.

- Xông hơi giải cảm: Khi bị cảm chúng ta cần phải có phương pháp điều trị ngay tránh bị cảm nặng hơn. Nhưng việc lạm dụng thuốc tây để giải cảm cũng không phải là sự lựa chọn tối ưu. Trong các bài thuốc dân gian sả được xem là một thành phần không thể thiếu giúp giải cảm vô cùng hiệu quả. Với tinh dầu sả nhỏ hỗn hợp vài giọt tinh dầu sả chanh và tinh dầu hương nhu kết hợp tinh dầu bưởi vào chậu nước nóng, dùng khăn trùm kín mặt và chậu nước khoảng 15-20 phút giúp ra mồ hôi, lưu thông khí huyết, hết cảm cúm. Hoặc có thể nhỏ vài giọt tinh dầu sả chanh vào bồn tắm nước ấm để tắm cũng giúp giải cảm và ngăn ngừa mụn trên da hiệu quả.

- Thư giãn cơ bắp: Nếu cơ bắp căng và đau, có thể sử dụng tinh dầu massage sả chanh làm giảm viêm và giảm đau. Hoặc chỉ cần cho vài giọt tinh dầu sả chanh vào bồn tắm nước ấm để ngâm mình rồi massage nhẹ nhàng tại các chỗ bị đau giúp cải thiện lưu thông máu, giảm đau hiệu quả. Ngoài ra việc ngâm chân trước khi đi ngủ bằng hỗn hợp

nước ấm và tinh dầu sả chanh giúp giảm đau nhức gan bàn chân, chữa hôi chân và khử độc rất tốt.

- Giảm đau đầu: Hương thơm dịu nhẹ, tươi mát trong tinh dầu sả chanh có khả năng thông mũi, mát họng, đi sâu vào từng hệ thống cảm xúc của não bộ mang lại cảm giác thoải mái, dễ chịu. Nên khi bị đau đầu do căng thẳng hay do hormone trong cơ thể thì hãy pha loãng tinh dầu sả chanh với các loại dầu nền như jojoba, cám gạo, dầu dừa... bôi lên thái dương và sau gáy rồi massage nhẹ nhàng sẽ cả thấy dễ chịu hơn rất nhiều. Đồng thời có thể sử dụng phương pháp rất phổ biến và tiện lợi hơn đó là sử dụng đèn xông tinh dầu, máy khuếch tán để mùi hương lan tỏa vào không gian, không chỉ giảm đau đầu mà còn có nhiều tác dụng tốt khác cho sức khỏe.

1.4 GIỚI THIỆU VỀ ENZYME CELLULASE

Enzyme Cellulase là một phức hệ enzyme có tác dụng thủy phân cellulose thông qua phân cắt các liên kết β -1,4-glucoside trong cellulose, là một enzyme rất phổ biến trong công nghiệp chỉ đứng sau amylase và protease nên ứng dụng của chúng đối với công nghiệp là rất lớn. Cellulase có khả năng thủy phân cellulose thành đường. Chế phẩm cellulase thường dùng để tăng chất lượng thực phẩm và thức ăn gia súc, đồng thời cũng dùng để làm tăng hiệu suất trích ly các chất từ nguyên liệu thực vật.

1.4.1 Cấu trúc của enzyme Cellulase

Cellulase có bản chất là protein được cấu tạo từ các đơn vị axit amin, các axit amin được nối với nhau bởi các liên kết peptid $-CO-NH-$. Ngoài ra, trong cấu trúc còn có những phần phụ khác, cấu trúc hoàn chỉnh của các loại enzyme nhóm endoglucanase (EG) và exoglucanase (CBH) giống nhau trong hệ cellulase của nấm sợi, gồm một trung tâm xúc tác và một đuôi tận cùng, phần đuôi này xuất phát từ trung tâm xúc tác và được gắn thêm vùng glycosil hóa, cuối đuôi là vùng gắn kết với cellulose (CBD: cellulose binding domain). Vùng này có vai trò tạo liên kết với cellulose, trong quá trình thủy phân cellulose có sự tương quan mạnh giữa khả năng xúc tác phân giải cellulose của các enzyme và ái lực của enzyme này đối với cellulose. Hơn nữa, hoạt tính của enzyme này dựa vào cellulose và khả năng kết hợp của CBD với cellulose. Sự có mặt của CBD sẽ hỗ trợ cho enzyme cellulase thực hiện việc cắt đứt nhiều liên kết trong cellulose. Vùng gắn kết với cellulose có cấu tạo khác với liên kết thông thường của protein và việc thay đổi chiều dài của vùng glycosil hóa có ảnh hưởng đến hoạt tính xúc tác của enzyme.

1.4.2 Tính chất của enzyme Cellulase

Cellulase thủy phân cellulose tự nhiên và các dẫn xuất như carboxymethyl cellulose (CMC) hoặc hydroxyethyl cellulose (HEC). Cellulase cắt liên kết β -1,4-glucosid trong cellulose, lichenin và các β -D-glucan của ngũ cốc.

Cellulase hoạt động ở pH từ 3 - 7, nhưng pH tối ưu trong khoảng 5 - 6, hoạt tính cao ở pH= 6. Nhiệt độ hoạt động thích hợp là 55°C, bền ở 30- 40°C. Hoạt tính bị phá hủy hoàn toàn ở 80°C trong 10 đến 15 phút.

Cellulase bị ức chế bởi các sản phẩm của nó như glucose, cellobiose và bị ức chế hoàn toàn bởi Hg. Ngoài ra, enzyme này còn bị ức chế bởi các ion kim loại như Mn, Ag, Zn ở mức độ nhẹ.

1.4.3 Nguồn gốc của enzyme Cellulase

Enzyme Cellulase được thu nhận từ các nguồn khác nhau, rất phong phú như: động vật, thực vật, hay vi sinh vật,...

- Động vật: dịch tiết dạ dày bò, các nhóm thân mềm,...
- Thực vật: trong hạt ngũ cốc nảy mầm như đại mạch, yến mạch, lúa mì, mạch đen...
- Vi sinh vật: các loại xạ khuẩn, vi khuẩn, nấm sợi, nấm men,...

Trong thực tế người ta thường thu nhận enzyme cellulase từ sinh vật, các chủng sinh vật thường sử dụng là:

- Nấm mốc: *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus candidus*...
- Xạ khuẩn: *Actinomyces griseus*, *Streptomyces reticuli*...
- Vi khuẩn: *Acetobacter xylinum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilis*...

1.4.4 Phân loại enzyme Cellulase

Về phương diện hóa học, cellulose là một polyme được cấu tạo từ các đơn vị β -glucose nối với nhau bằng liên kết β -1,4-glucoside. Cellulose là thành phần polysaccharide chủ yếu của vách tế bào thực vật. Dựa vào đặc điểm của cơ chất và cơ chế phân cắt, enzyme Cellulase được chia thành 3 loại:

- + 1,4- β -D-glucan cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91)

+ 1,4- β -D-glucan 4-glucanohydrolase (EC 3.2.1.4)

+ β -D-glucoside glucohydrolase (EC 3.2.1.21)

Các enzyme này được tìm thấy trong vi khuẩn sống trong dạ dày cỏ bò và một số nấm như: *Trichoderma*, *Aspergillus*,...

1.4.5 Hoạt lực của enzyme Cellulase (cơ chế thủy phân cellulose)

Thủy phân cellulose phải có sự tham gia của cả 3 loại enzyme cellulase, nếu thiếu đi một trong ba loại enzyme trên thì không thể thủy phân phân tử cellulose đến cùng.

Từ những nghiên cứu riêng lẻ đối với từng loại enzyme đến nghiên cứu tác động tổng hợp của cả ba loại enzyme trên sẽ thay phiên nhau phân hủy cellulose để tạo thành sản phẩm cuối cùng là glucose. Có nhiều cách giải thích khác nhau về cơ chế tác động của cellulase, trong đó cách giải thích do Erikson đưa ra được nhiều người công nhận hơn cả.

Theo Erikson và các cộng tác viên (1980), cơ chế tác động hiệp đồng của 3 loại cellulase như sau: đầu tiên endoglucanase tác động vào vùng vô định hình trên bề mặt cellulose, cắt liên kết β -1,4-glucosid và tạo ra các đầu mạch tự do. Tiếp đó, exoglucanase tấn công cắt ra từng đoạn cellobiose từ đầu mạch được tạo thành. Kết quả tác động của endoglucanase và exoglucanase tạo ra các celloligosaccharit mạch ngắn, cellobiose, glucose, β -glucosidase thủy phân tiếp tạo thành glucose.

Các loài vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp cellulose trong điều kiện tự nhiên thường bị ảnh hưởng bởi tác động nhiều mặt của các yếu tố ngoại cảnh nên có loài phát triển rất mạnh, có loài lại phát triển yếu. Chính vì thế, việc phân hủy cellulose trong tự nhiên được tiến hành không đồng bộ và xảy ra rất chậm.

Trong điều kiện phòng thí nghiệm hay điều kiện công nghiệp, việc phân hủy cellulose bằng enzyme, ngoài các yếu tố kỹ thuật như nhiệt độ, pH, nồng độ, hàm lượng enzyme..., một yếu tố ảnh hưởng hết sức quan trọng là tính đồng bộ của hệ enzyme từ nhiều nguồn sinh vật khác nhau. Quá trình thủy phân chỉ có thể được tiến hành đến sản phẩm cuối cùng khi sử dụng đồng bộ ba loại enzyme cellulase.

1.5 CÁC PHƯƠNG PHÁP CẮT VÀ XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HÓA HỌC TINH DẦU

1.5.1 Các phương pháp chưng cất

1.5.1.1 Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước.

Phương pháp này được coi là phương pháp cổ điển và phổ biến nhất hiện nay. Phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước dựa trên sự khuếch tán và lôi cuốn theo hơi nước của những hợp chất hữu cơ trong tinh dầu khi tiếp xúc với hơi nước ở nhiệt độ cao. Sự khuếch tán sẽ dễ dàng khi tế bào chứa tinh dầu trương phồng do nguyên liệu tiếp xúc với hơi nước bão hòa trong một thời gian nhất định.

Chưng cất có thể được định nghĩa là: “Sự tách rời của một hỗn hợp nhiều chất lỏng dựa trên sự khác biệt về áp suất hơi của chúng”. Trong trường hợp đơn giản, khi chưng cất một hỗn hợp gồm 2 chất lỏng không hòa tan vào nhau, áp suất hơi tổng cộng của hai áp suất hơi riêng phần. Do đó nhiệt độ sôi của hỗn hợp sẽ tương ứng với áp suất hơi tổng cộng xác định, không phụ thuộc vào thành phần của hỗn hợp, miễn là lúc đó hai pha lỏng vẫn còn tồn tại. Nếu vẽ đường cong áp suất hơi của từng chất theo nhiệt độ, rồi vẽ đường cong áp suất hơi tổng cộng, thì ứng với một áp suất, sẽ dễ dàng suy ra nhiệt độ sôi tương ứng của hỗn hợp và nhận thấy nhiệt độ sôi của hỗn hợp luôn luôn thấp hơn nhiệt độ sôi của từng hợp chất.

Chính vì đặc tính làm giảm nhiệt độ sôi này mà từ lâu phương pháp chưng cất hơi nước là phương pháp đầu tiên được dùng để tách tinh dầu ra khỏi nguyên liệu thực vật

Ngay khi nguyên liệu được làm vỡ vụn thì chỉ có một số mô chứa tinh dầu bị vỡ và cho tinh dầu thoát tự do ra ngoài theo hơi nước cuốn đi. Phần lớn tinh dầu còn lại trong các mô thực vật sẽ tiến dần ra ngoài bề mặt nguyên liệu bằng sự hòa tan và thẩm thấu. Như vậy sự hiện diện của nước rất cần thiết, cho nên trong trường hợp chưng cất sử dụng hơi nước quá nhiệt, chú ý tránh dùng để nguyên liệu bị khô. Nhưng nếu lượng nước sử dụng quá thừa thì cũng không có lợi, nhất là trong trường hợp tinh dầu có chứa những cấu phần dễ tan trong nước.

Ngoài ra, vì nguyên liệu được làm vỡ vụn ra càng nhiều càng tốt, cần làm cho lớp nguyên liệu có một độ xốp nhất định để hơi nước có thể xuyên ngang qua lớp này đồng đều và dễ dàng.

Những cấu phần ester trong tinh dầu thường dễ bị thủy phân cho ra acid và alcol khi đun nóng trong một thời gian dài với nước. Do đó, để hạn chế hiện tượng này, sự chưng cất hơi nước phải được thực hiện trong một thời gian càng ngắn càng tốt.

Khi chưng cất, nước cần phủ kín nguyên liệu nhưng phải chừa một khoảng không gian tương đối lớn phía trên lớp nước, để tránh nước sôi mạnh làm văng chất nạp qua hệ thống hoàn lưu. Nhiệt cung cấp có thể đun trực tiếp bằng củi lửa hoặc hơi nước dẫn từ nồi hơi vào. Trong trường hợp chất nạp quá mịn, lắng chặt xuống phía dưới thì cần trang bị thêm những thiết bị khuấy trộn trong suốt thời gian chưng cất.

Sự chưng cất này không thích hợp với những tinh dầu dễ bị thủy phân, những nguyên liệu xốp và rời rạc rất thích hợp cho phương pháp này. Những cấu phần có nhiệt độ sôi cao dễ tan trong nước sẽ khó hóa hơi trong khối lượng lớn nước phủ, khiến cho tinh dầu sản phẩm sẽ thiếu những chất này.

Ưu điểm của phương pháp này là nhiệt độ của luồng hơi nước dẫn qua nguyên liệu chứa tinh dầu có thể cao hơn 100°C (hơi quá nhiệt), nhờ đó có thể tăng nhiệt độ cất và tăng hiệu quả cất tinh dầu. Nhiệt độ của hơi nước được điều chỉnh cao hay thấp phụ thuộc vào bản chất của nguyên liệu và tinh dầu. Hơn nữa, với việc dùng hơi nước sẽ không xảy ra hiện tượng quá nhiệt cục bộ gây cháy. Chính vì vậy phương pháp này rất phù hợp với nhiều nhiên liệu và nguồn nguyên liệu đa dạng, đặc biệt là nguyên liệu rễ, củ, quả có nhiều chất bột.

Tuy nhiên phương pháp này lại có thời gian chưng cất khá lâu, nên không có lợi đối với những nguyên liệu có hàm lượng tinh dầu thấp, chất lượng tinh dầu thu được có thể bị ảnh hưởng nếu trong tinh dầu có những cấu phần dễ bị phân hủy. Đối với những tinh dầu có nhiệt độ sôi cao thường cho hiệu suất chiết kém.

1.5.1.2 Kỹ thuật chiết có hỗ trợ vi sóng

Kỹ thuật chiết có hỗ trợ vi sóng đã được ứng dụng trong chiết xuất nhiều hợp chất hữu cơ, các hợp chất tự nhiên và tinh dầu. Do tính đặc biệt trong quá trình truyền năng lượng, kỹ thuật chiết có hỗ trợ vi sóng làm tăng hiệu quả chiết lên nhiều lần so với phương pháp chiết truyền thống.

Khi chiếu bức xạ điện từ ở tần số 2450 MHz (bức xạ trong vùng vi sóng của dải sóng điện từ) vào môi trường các chất phân cực, các phân tử sẽ chịu đồng thời 2 tác

động: sự dẫn truyền ion và sự quay lưỡng cực dưới tác dụng của điện trường. Cả 2 tác động này làm sinh ra nhiệt trong lòng khối vật chất làm cho việc gia nhiệt nhanh và hiệu quả hơn rất nhiều so với phương pháp dẫn nhiệt truyền thống.

Dưới tác dụng của vi sóng, nước trong các tế bào thực vật bị nóng lên, áp suất bên trong tăng đột ngột làm các mô chứa tinh dầu bị vỡ ra. Tinh dầu thoát ra bên ngoài, lôi cuốn theo hơi nước sang hệ thống ngưng tụ (phương pháp cất kéo hơi nước) hoặc hòa tan vào dung môi hữu cơ đang bao phủ bên ngoài nguyên liệu (phương pháp chiết). Ngoài việc nước bị tác dụng nhanh chóng, các thành phần tinh dầu cũng bị ảnh hưởng bởi vi sóng, nóng lên rất nhanh làm tăng tốc độ khuếch tán và bốc hơi của tinh dầu.

1.5.2 Phương pháp sắc khí - khối phổ (GC - MS)

Khối phổ thường được áp dụng để phân tích định tính các hợp chất hữu cơ đã được tinh chế. Ngoài ra nó còn được ứng dụng trong sắc ký như là phương pháp phân tích có tính chọn lọc cao. Sắc ký kết hợp nối khối phổ (gas chromatography/ mass spectrometry, GC/MS) được áp dụng rộng rãi trong phân tích định tính và định lượng hỗn hợp các hợp chất hữu cơ bay hơi. Ngược lại, sắc ký lỏng kết nối khối phổ (liquid chromatography/ mass spectrometry, LS/MS) lại là phương pháp phân tích định tính và định lượng rất mạnh cho hỗn hợp các hợp chất hữu cơ khó bay hơi.

Hệ thống GC - MS bao gồm hai phần chính: máy sắc ký khí và máy quang phổ khối. Hai thành phần máy sắc ký khí và quang được sử dụng cùng nhau, cho phép mức độ nhận dạng nguyên tố tốt hơn nhiều so với việc tách rời sử dụng riêng biệt hai thành phần này vì:

- Không thể xác định chính xác một phân tử cụ thể bằng máy sắc ký khí hoặc quang phổ khối.
- Quá trình quang phổ khối thường đòi hỏi một mẫu rất tinh khiết trong khi sắc ký khí sử dụng máy dò truyền thống không thể phân biệt giữa nhiều phân tử xảy ra trong cùng một khoảng thời gian để đi qua cột (nghĩa là có cùng thời gian lưu).
- Đôi khi hai phân tử khác nhau cũng có thể có một mẫu tương tự các mảnh ion hóa trong máy quang phổ khối.

Kết hợp hai quá trình làm giảm khả năng xảy ra lỗi, vì rất khó có khả năng hai phân tử khác nhau sẽ hoạt động theo cùng một cách trong cả sắc ký khí và máy quang

phổ khối. Do đó, khi phổ khối lượng xác định xuất hiện tại thời điểm lưu giữ đặc trưng trong phân tích GC - MS, thông thường sẽ làm tăng sự chắc chắn rằng chất phân tích có trong mẫu.

Ngày nay nhờ sự kết hợp của sắc ký khí và khối phổ có thể nhận nhanh chóng các thành phần của tinh dầu. Các thành phần của tinh dầu sau khi đi qua cột sắc ký được chuyển vào buồng bắn phá của khối phổ. Ở đây, chúng bị bắn phá bởi một chùm điện tử có năng lượng 70eV dưới áp suất $10^{-6} - 10^{-7}$ mmHg thành các phần mảnh nhỏ. Các mảnh này được chuyển qua khối phổ ký ghi lại số lượng các mảnh cùng khối lượng của chúng thành phổ. Do cấu trúc phân tử của các thành phần là xác định nên số mảnh và quy luật phân mảnh là xác định. Nhờ vậy, nếu có một thư viện phổ khối của các chất thì có thể so sánh phổ này với các phổ khối của các chất trong thư viện phổ. Nếu có sự trùng lặp trên 90% thì có thể coi là trùng nhau và các thành phần của tinh dầu được nhận dạng. Điều này càng chính xác hơn khi kết hợp với kinh nghiệm phân tích và quy luật phân rã chất.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Bảng 2.1 Thông tin mẫu nghiên cứu

Ký hiệu	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Mô tả mẫu	Nơi lấy mẫu	Ngày lấy	Khối lượng
SA1	Sả chanh	<i>Cymbopogon citratus</i>	Mẫu tươi, có mùi thơm nhẹ	Đơn Dương-Lâm	10/3/2021	5000g
SA2	Sả chanh*		Đồng			20/3/2021
					10/4/2021	5000g

(*) Mẫu có sự hỗ trợ của enzyme trong quá trình cất tinh dầu

2.2 THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

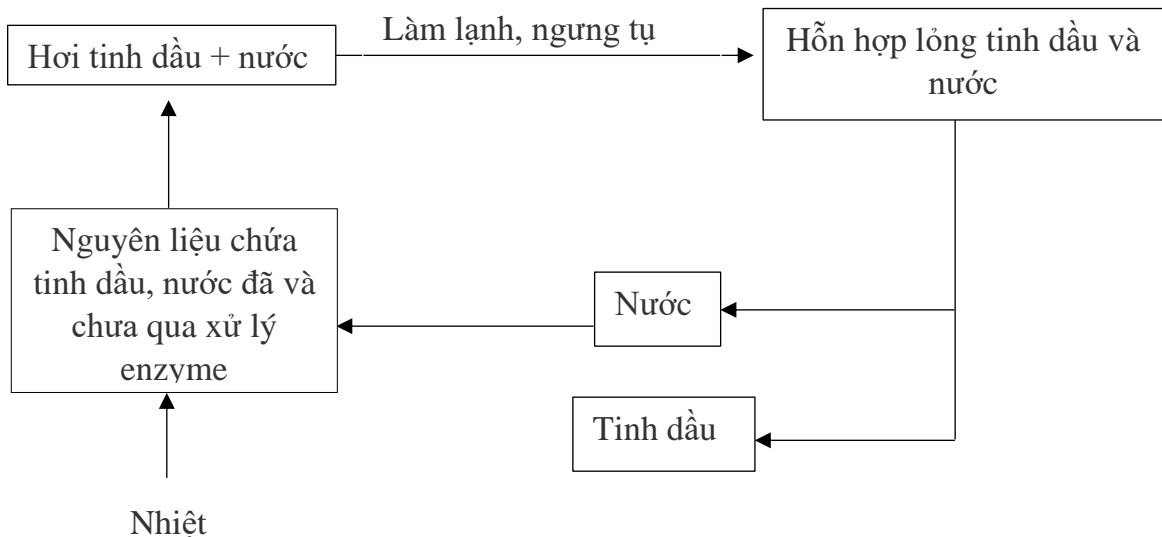
Đề tài được thực hiện từ tháng 12/2020 đến tháng 5/2021 tại Phòng thí nghiệm Chuyên đề Hóa Hữu cơ, Trường Đại học Đà Lạt.

2.3 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.3.1 Phương pháp cất tinh dầu nhờ có sự hỗ trợ của enzyme cellulase

Trên cơ sở phân tích các tài liệu tham khảo và điều kiện khả thi của phòng thí nghiệm, đề tài này dùng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase để thu tinh dầu trong mẫu nghiên cứu.

Nguyên liệu, nước và enzyme cellulase được cho vào bình cầu, cung cấp nhiệt trực tiếp để hỗn hợp nguyên liệu và nước biến thành hỗn hợp hơi tinh dầu - nước, chuyển qua bộ phận làm lạnh (ống sinh hàn) để ngưng tụ lại thành hỗn hợp lỏng tinh dầu - nước. Hỗn hợp được dẫn vào bộ phận phân ly để tách tinh dầu và nước thành 2 phần riêng biệt. Quá trình này được mô tả trên sơ đồ Hình 2.1



Hình 2.1 Sơ đồ quá trình cất kéo hơi nước tinh dầu

2.3.2 Phương pháp phân tích thành phần tinh dầu

Sử dụng phương pháp sắc ký khí kết hợp khối phổ (GC- MS) để nhận dạng các thành phần của tinh dầu. Mẫu được gửi đi phân tích tại Trung Tâm Nghiên cứu và chuyển giao công nghệ. Phòng thí nghiệm Nghiên cứu và Phát triển Hóa Dược TP.HCM bằng phương pháp GC- MS dưới các điều kiện sau:

- Tên thiết bị GC-MS: Máy sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) hiệu SCION SQ 456-GC.

- Loại cột: Rxi-5ms hiệu RESTEK (30m x 0.25mm (i.d), 0.25 μ m df).

- Điều kiện sắc ký:

- Khí mang: Heli (helium)

- Tốc độ dòng không đổi: 1ml/ phút

- Nhiệt độ đầu phun: 250 $^{\circ}$ C

- Mẫu được bơm theo tỷ lệ 1:50

- Nhiệt độ nguồn ion hóa : 250 $^{\circ}$ C

- Chương trình sắc ký:

- Bắt đầu với nhiệt độ là 50 $^{\circ}$ C và giữ trong 1 phút

- Sau đó nhiệt độ được tăng lên 80⁰C với tốc độ 30⁰C/ phút
- Tiếp tục tăng nhiệt độ lên 170⁰C với tốc độ tăng nhiệt 5⁰C/ phút
- Cuối cùng tăng nhiệt độ lên 280⁰C với tốc độ tăng nhiệt 50⁰/ phút và giữ đẳng nhiệt ở 280⁰C trong vòng 3 phút.

2.3.3 Phương pháp xử lý mẫu

Sau đây là một số chỉ tiêu để tiến hành thu hoạch sả trong quá trình nghiên cứu:

- Thời điểm thu hái lúc cây sả đã có từ 5 - 6 lá trưởng thành. Lá tươi có màu xanh, không có dấu hiệu của hiện tượng lá vàng hay khô.

- Khi thu hái chú ý không nên cắt thâm vào thân cây sả. Nếu cắt thâm vào thân cây vừa tổn công cắt, công vận chuyển, tổn nhiên liệu được ít tinh dầu mà lại ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của cây sả vì cây sả bị cắt thâm vào thân khi mưa dễ bị ngập nước và thối nơi bị cắt, gặp trời nắng cây cũng dễ bị khô và có thể sinh bệnh khô lá, cho nên ở các nước khác người ta quy định cắt sả 20cm trở lên.

- Thời gian thu hoạch lá sả trong ngày là từ 9 - 10 giờ sáng đến 3 - 4 giờ chiều. Sả được trồng ít nhất 3 tháng.

- Những biểu hiện của nguyên liệu bị giảm chất lượng có thể là bị mất mùi thơm đặc trưng, màu lá chuyển từ xanh vàng sang bạc xám.

Lá sả sau khi thu hoạch về được loại bỏ bớt các phần héo úa và rửa sạch cắt nhỏ để chuẩn bị cho cá giai đoạn chưng cất tinh dầu tiếp theo. Mẫu thu hoạch về nên tiến hành xử lý và chưng cất sớm nhất có thể để tránh việc hao hụt lượng tinh dầu có trong mẫu.

2.3.4 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý theo hàm Student. Khoảng tin cậy được tính bởi công thức sau:

$$\varepsilon(\bar{x}) = \pm t_{p,f} \frac{S(X)}{\sqrt{n}}$$

Biểu diễn kết quả dưới dạng BGTC(μ) = $\bar{x} \pm \varepsilon(\bar{x})$. Xác suất tin cậy của đề tài P=95%

Đôi khi ta đọc thấy báo cáo kết quả dưới dạng BGTC(μ) = $\bar{x} \pm S(X)$. Cảnh báo các số liệu này vẫn còn thiếu sót. Theo một số tài liệu tham khảo, có thể biểu diễn kết quả ở dạng này nhưng phải ghi kèm theo kết quả số phép đo lặp lại đã tiến hành. Khi

đó, người quan tâm mới có thể chuyển kết quả này sang dạng khoảng tin cậy bằng cách tra cứu giá trị t, tức phải ghi $BGTC(\mu) = \bar{x} \pm S(X)$ với $n=...$

CHƯƠNG 3. THỰC NGHIỆM VÀ KẾT QUẢ

3.1 DỤNG CỤ VÀ HÓA CHẤT

3.1.1 Hóa chất

- Dietyl eter
- Nước cất
- Canxi clorua
- Natri clorua
- Enzyme cellulase

3.1.2 Dụng cụ

- Ống sinh hàn hồi lưu
- Cốc baker 100ml, 250ml, 500ml
- Cân và máy xay
- Phễu thủy tinh, giấy lọc
- Ống đong
- Hũ thủy tinh tối màu đựng sản phẩm
- Đũa thủy tinh
- Bộ dụng cụ chưng cất tinh dầu bằng phương pháp cất kéo hơi nước
- Giá đỡ
- Tủ sấy
- Bể cách thủy điều nhiệt
- Đèn cồn
- Máy đo pH

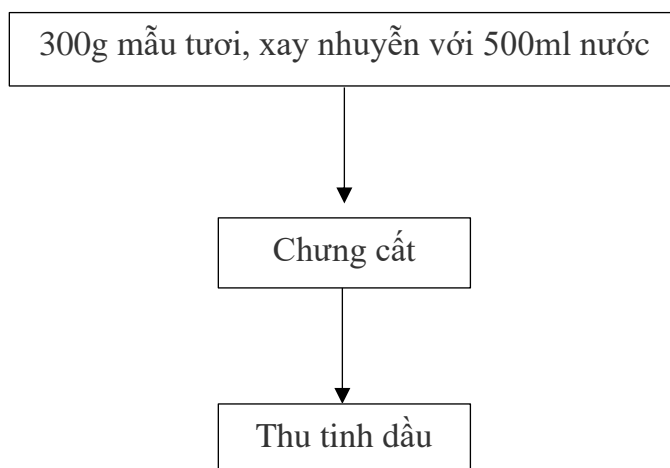
3.2 TIẾN HÀNH THỰC NGHIỆM CẮT TINH DẦU KHI KHÔNG CÓ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZYME CELLULASE.

3.2.1 Nguyên liệu

Lá của các mẫu sả đã thu trước đó.

3.2.2 Quá trình chiết tách tinh dầu

Quá trình chiết tinh dầu của mẫu khi không có sự hỗ trợ của enzyme cellulase được thể hiện ở Hình 3.1



Hình 3.1 Quá trình cắt tinh dầu không có enzyme cellulase

Từ bộ phận hứng tinh dầu và hơi nước, tinh dầu không tan trong nước và nhẹ hơn nước nên bị tách khỏi nước và tạo thành phần dầu riêng (ở phía trên) và phần nước riêng (ở phía dưới), cách ly với nhau bởi mặt phân cách, dùng phiễu chiết để lấy được phần dầu riêng và phần nước riêng.

Dùng CaCl_2 khan để loại bỏ hoàn toàn lượng nước còn lẫn trong tinh dầu. Tinh dầu thu được có màu vàng nhạt, được cho vào lọ thủy tinh tối màu, đậy nắp kĩ để bảo quản.

3.2.3 Kết quả của quá trình cắt tinh dầu

Thí nghiệm được làm 3 lần và lấy giá trị trung bình, kết quả được thể hiện qua Bảng 3.1

Bảng 3.1 Hiệu suất tinh dầu thu được theo thời gian cất

Thời gian thu hồi (phút)	Hiệu suất thu hồi (%)
15	0,19±0,01
30	0,29±0,01
45	0,32±0,02
60	0,35±0,02
75	0,38±0,01
90	0,38±0,02
105	0,39±0,01
120	0,44±0,02
135	0,44±0,02
150	0,45±0,03
165	0,45±0,02
180	0,46±0,01
195	0,46±0,02
210	0,46±0,02

Từ Bảng 3.1 cho thấy mẫu lá đem cất tinh dầu theo phương pháp cất kéo hơi nước có mùi thơm nhẹ, có màu vàng nhạt. SA1 cho hàm lượng tinh dầu đạt 0,46% ±0,01 so với khối lượng nguyên liệu tươi trong thời gian cất tối ưu là 3 giờ 00 phút.

Thời gian chiết càng lâu thì lượng tinh dầu thu được càng lớn tuy nhiên khi thời gian chiết đạt đến 2 giờ 30 phút thì lượng tinh dầu thu được không còn tăng nữa, chứng tỏ thời gian chiết có ảnh hưởng đến lượng tinh dầu chiết được.

3.2.4 Phân tích thành phần hóa học của tinh dầu

3.2.4.1 Cách tiến hành

Mẫu được gửi đi phân tích tại Trung Tâm Nghiên cứu và chuyển giao công nghệ, phòng thí nghiệm Nghiên cứu và Phát triển Hóa Dược TP.HCM bằng phương pháp GC-MS theo các điều kiện đã trình bày.

3.2.4.2 Kết quả phân tích tinh dầu mẫu SA1

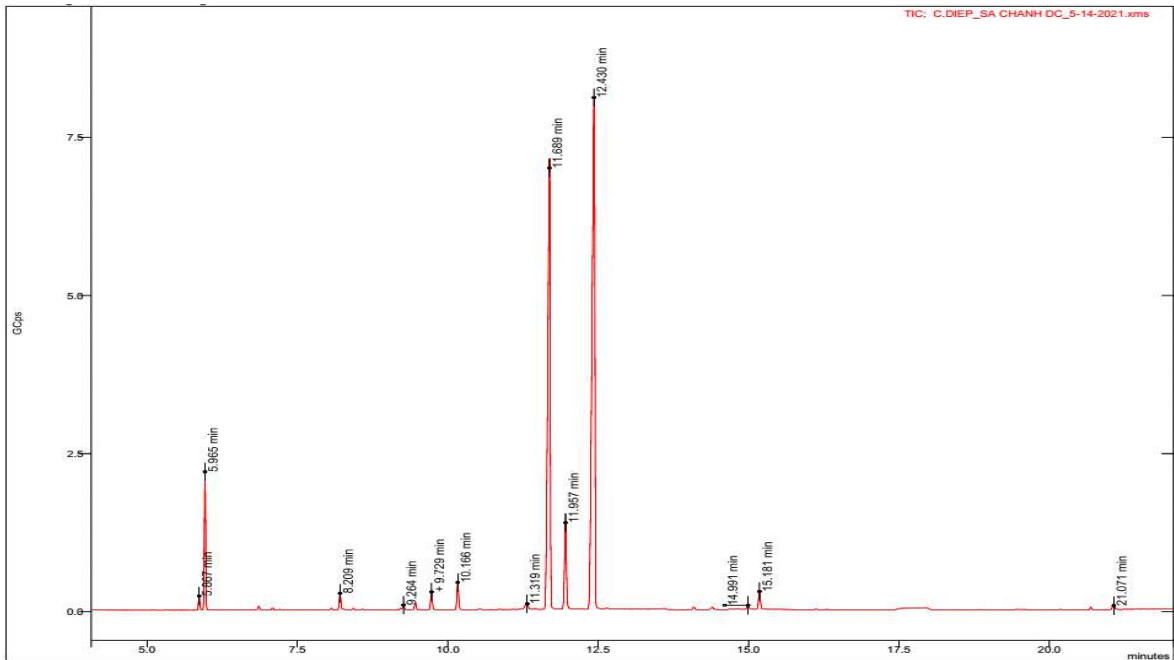
Phổ khối của các pic chất và độ tương hợp khối phổ so với thư viện NIST được trình bày ở Phụ lục 2.

Bảng 3.2 Kết quả phân tích thành phần tinh dầu sả mẫu SA1

STT	Rt	Tên chất	Hàm lượng (%)	Độ tương hợp khối phổ
1	5,867	Sulcatone	0,626	905
2	5,965	β -Myrcene	6,087	954
3	8,209	Linalool	0,893	901
4	9,264	6-Octenal, 7-methyl-3-methylene	0,267	902
5	9,460	Isogeraniol	0,378	819
6	9,729	Isoneral	0,993	877
7	10,166	Isogeranial	1,571	921
8	11,319	Citronellol	0,554	733
9	11,689	β-Citral	35,285	941
10	11,957	Geraniol	5,371	915
11	12,430	α-Citral	46,350	959
12	14,991	(2,2,6-Trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-methanol	0,266	772
13	15,181	Nerol acetate	1,083	888

Kết quả phân tích thành phần đã cho thấy đã nhận dạng được 13 hợp chất khác nhau trong mẫu tinh dầu sả chanh (SA1), trong đó có các thành phần chính lần lượt là β -Citral (35,285%), Geraniol (5,371%), α -Citral(46,350%).

Sắc ký đồ GC của mẫu tinh dầu sả chanh (SA1) được trình bày ở Hình 3.2



Hình 3.2 Sắc ký đồ GC của mẫu tinh dầu sả chanh (SA1)

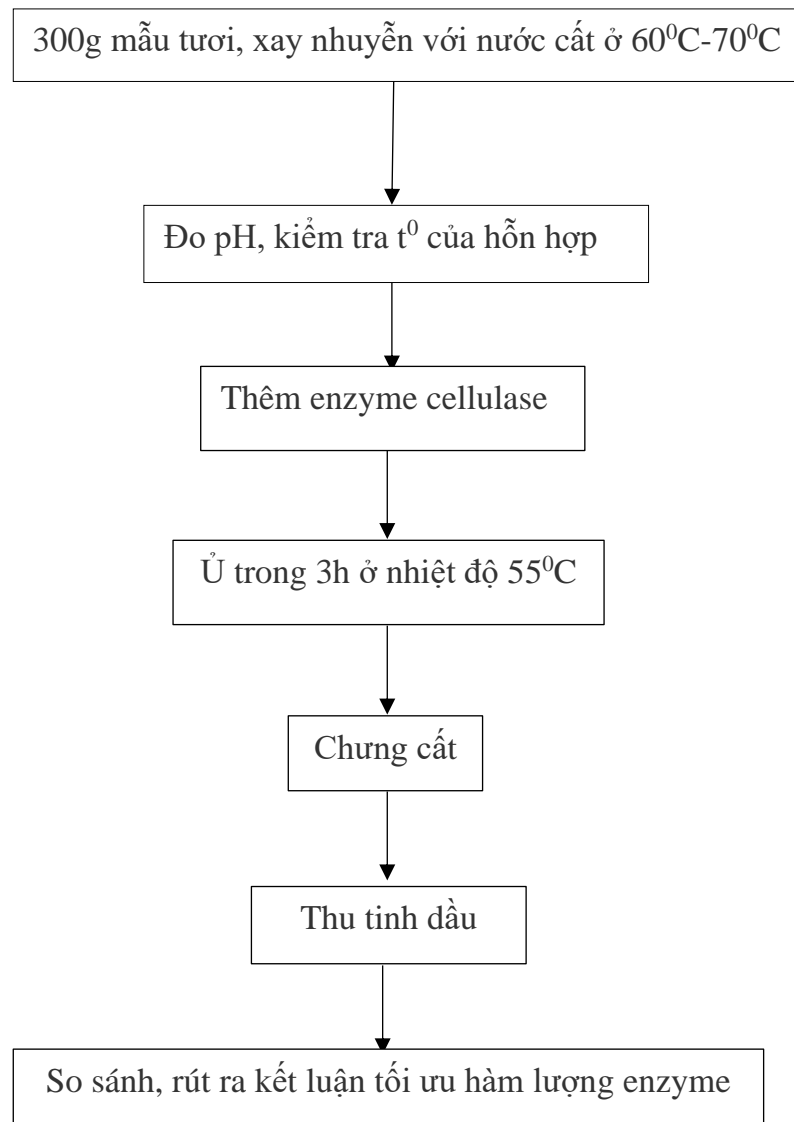
3.3 KHẢO SÁT CÁC ĐIỀU KIỆN ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH THU HỒI TINH DẦU SẢ CHANH KHI CÓ SỰ HỖ TRỢ CỦA ENZYME CELLULASE

Nguyên liệu: Lá sả của mẫu thu được và enzyme cellulase

3.3.1 Hàm lượng enzyme cellulase

3.3.1.1 Quy trình tiến hành

Quy trình thực hiện theo quá trình được thể hiện ở Hình 3.3



Hình 3.3 Quá trình cất tinh dầu tối ưu hàm lượng enzyme

3.3.1.2 Kết quả của quá trình

Các thí nghiệm đều được thực hiện 3 lần và lấy giá trị trung bình. Kết quả được trình bày thông qua Bảng 3.3

Bảng 3. 3 Hiệu suất tinh dầu thu được theo hàm lượng enzyme cellulase

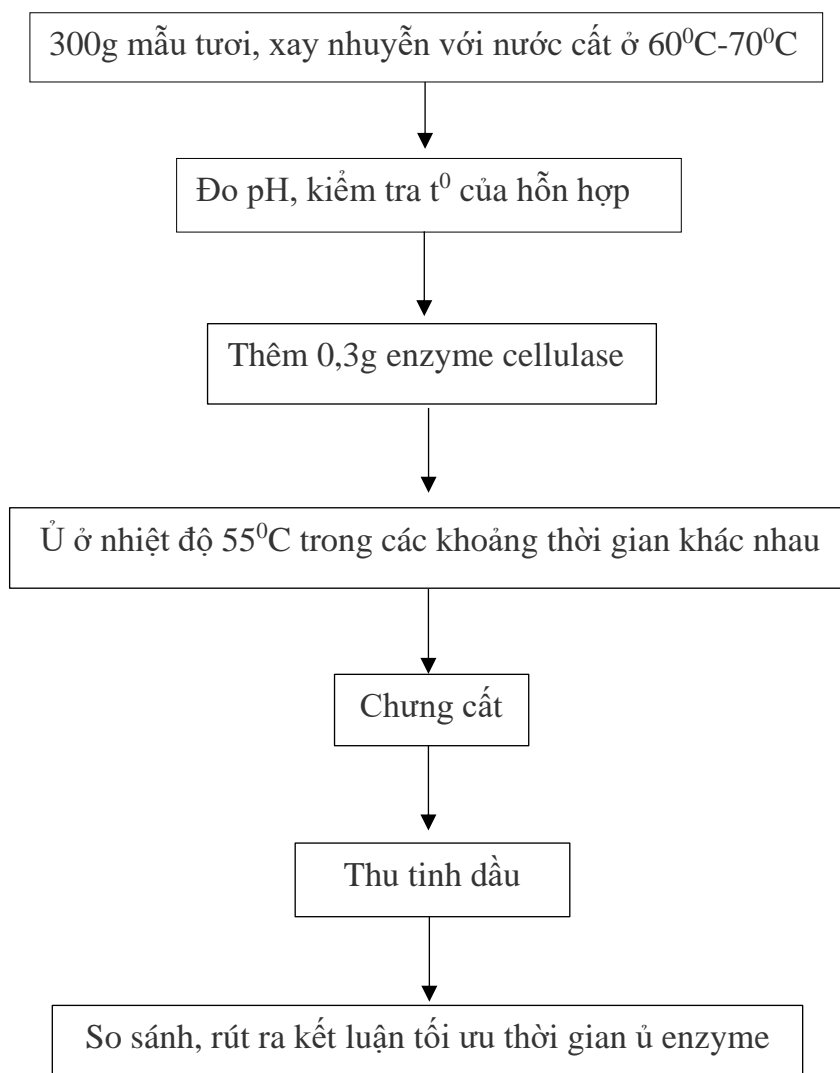
Lượng enzyme (g)	Hiệu suất thu hồi (%)
0	0,46±0,01
0,2	0,55±0,02
0,3	0,68±0,02
0,6	0,68±0,02
1,2	0,67±0,03

Từ Bảng 3.3 kết luận được hàm lượng enzyme celulase tối ưu là 0,3g/300g mẫu tươi.

3.3.2 Thời gian ủ enzyme

3.3.2.1 Quá trình tiến hành

Quá trình tiến hành tối ưu hóa thời gian ủ enzyme cellulase được tiến hành theo Hình 3.4



Hình 3. 4 Quá trình cất tinh dầu tối ưu thời gian ủ enzyme

3.3.2.2 Kết quả

Kết quả thu được trình bày ở Bảng 3.4

Bảng 3.4 Hiệu suất tinh dầu thu được theo thời gian ủ enzyme

Thời gian ủ enzyme (Giờ)	Hiệu suất thu hồi (%)
3h	0,68±0,02
4h	0,79±0,02
5h	0,79±0,02
6h	0,79±0,02
12h	0,67±0,01

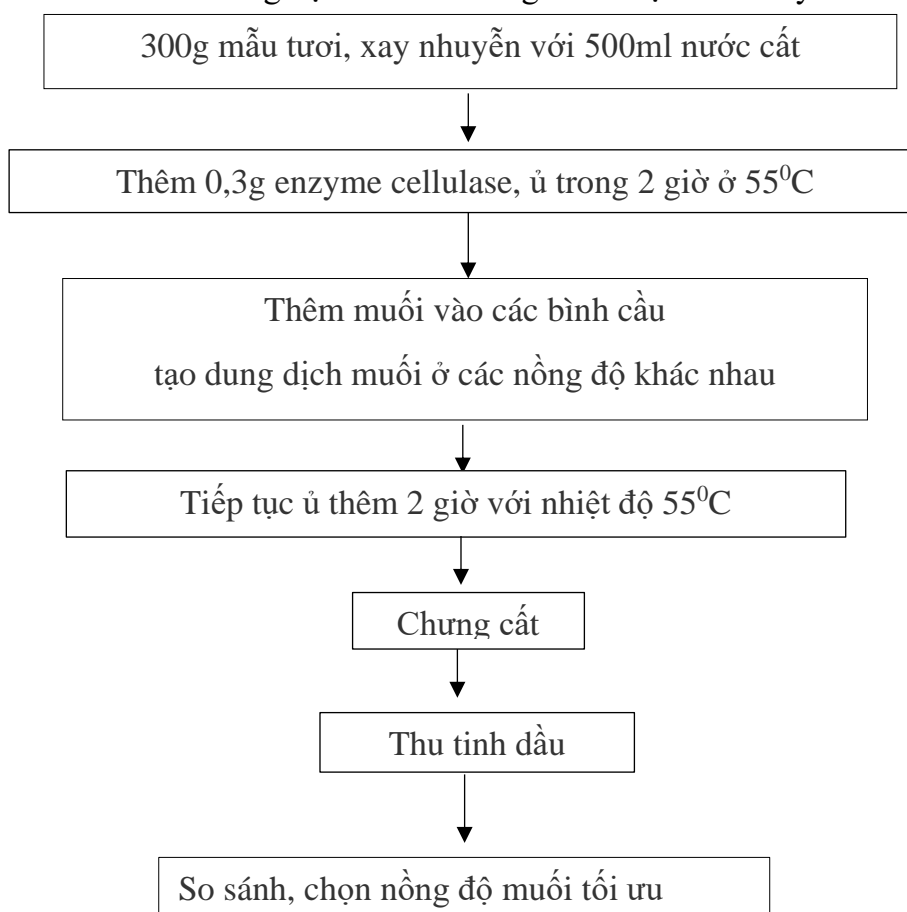
Theo Bảng 3.4 kết luận được thời gian ủ tối ưu của enzyme cellulase là 4 giờ và hiệu suất thu hồi tinh dầu là 0,79±0,02%.

Hàm lượng tinh dầu thu được tăng theo giờ ủ, tuy nhiên khi thời gian ủ đạt đến 4 giờ lúc này lượng tinh dầu thu được không còn tăng theo. Khi ủ quá lâu, một số thành phần trong tinh dầu bị phân hủy khiến cho hàm lượng tinh dầu khi ấy bị giảm đi.

3.3.3 Nồng độ muối của dung môi chiết

3.3.3.1 Quá trình tiến hành

Qui trình tối ưu hóa nồng độ muối của dung môi được trình bày ở Hình 3.5



Hình 3.5 Qui trình tối ưu hóa nồng độ muối của dung môi

3.3.3.2 Kết luận

Kết quả của quá trình tối ưu hóa nồng độ muối của dung môi được trình bày ở Bảng 3.5

Bảng 3.5 Hiệu suất thu hồi tinh dầu theo nồng độ muối của dung môi

Nồng độ muối của dung môi (%)	Hiệu suất thu hồi (%)
0	0,79±0,02
5	0,80±0,02
10	0,82±0,02
15	0,79±0,03
20	0,80±0,02

Từ Bảng 3.5 rút ra kết luận: Nồng độ muối tối ưu cho quá trình thu hồi là 10% và hiệu suất tinh dầu thu được là 0,82±0,02%

Hàm lượng tinh dầu thu được tăng theo nồng độ muối cho vào, tuy nhiên khi nồng độ muối đạt ngưỡng 10% thì hàm lượng tinh dầu sau đó không còn có dấu hiệu tăng lên mà lại giảm xuống. Điều này có thể giải thích như sau:

Lượng NaCl thêm vào dịch ngâm nguyên liệu không chỉ có tác dụng giúp tăng khả năng thẩm thấu của nước bên trong tế bào ra ngoài (kéo theo các cấu tử tinh dầu) mà còn làm tăng độ phân cực của dung dịch và giảm tương tác giữa các cấu tử tinh dầu (kém phân cực) với nước. Nhờ đó, tinh dầu dễ dàng bay hơi hơn trong quá trình chưng cất.

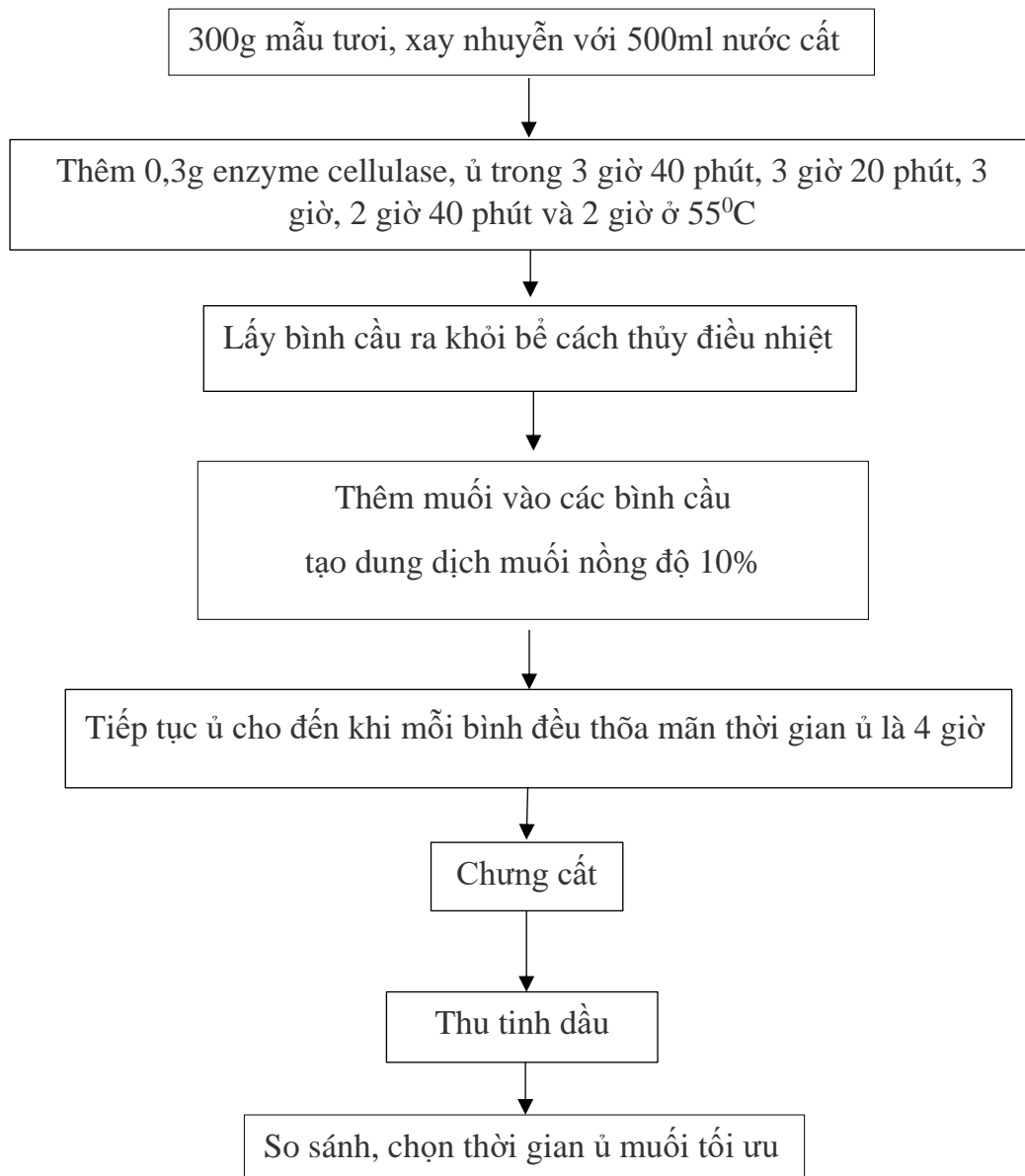
Tuy nhiên, nếu ngâm nguyên liệu ở nồng độ NaCl quá cao (>15%) thì màng bào của nguyên liệu sẽ bị co rút lại làm giảm kích thước các lỗ xốp trên màng tế bào (hiện tượng co nguyên sinh) do đó quá trình khuếch tán các phần tử tinh dầu ra khỏi tế bào sẽ trở nên khó khăn hơn từ đó làm giảm hiệu suất thu hồi tinh dầu.

Như vậy nồng độ NaCl trong dịch ngâm được cố định là 10%

3.3.4 Thời gian ủ muối

3.3.4.1 Quá trình tối ưu hóa thời gian ủ muối

Quá trình tối ưu hóa thời gian ủ muối được thể hiện qua Hình 3.6



Hình 3. 6 Quá trình tối ưu hóa thời gian ủ muối

3.3.4.2 Kết luận

Kết quả của quá trình tối ưu hóa thời gian ủ muối được thể hiện qua Bảng 3.6

Bảng 3.6 Hiệu suất tinh dầu thu được theo thời gian ủ dung dịch muối

Thời gian ủ (phút)	Hiệu suất thu hồi (%)
20	0,79±0,02
40	0,89±0,02
60	0,92±0,02
80	0,91±0,02
120	0,80±0,02

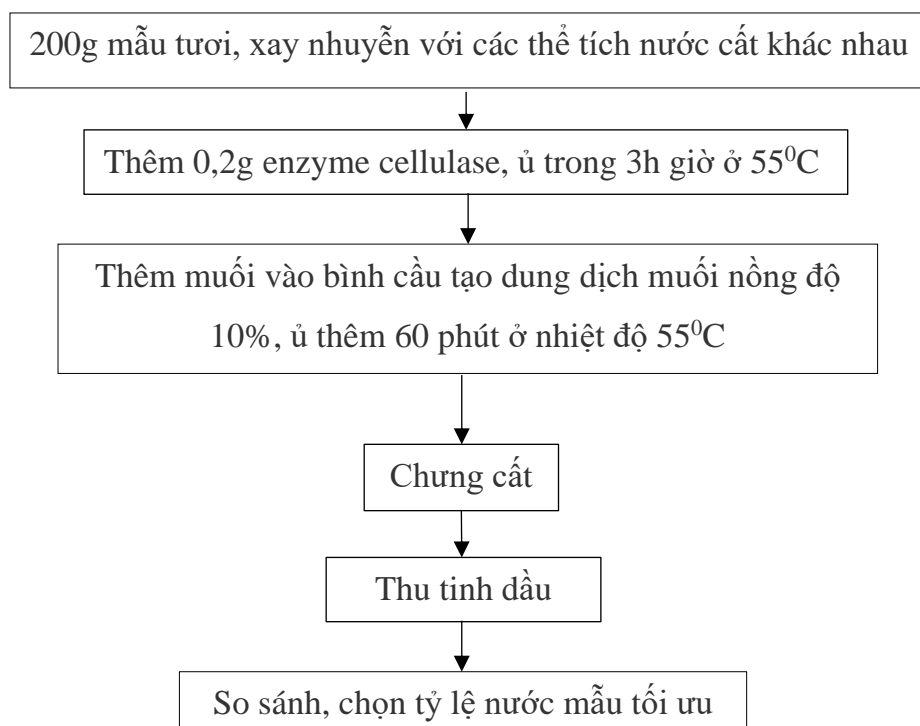
Từ Bảng 3.6 suy ra thời gian ủ muối tối ưu là 60 phút và hiệu suất thu hồi là 0,92±0,02%.

Khi tăng thời gian ngâm muối từ 20 - 120 phút thì lượng tinh dầu chưng cất tăng dần, nhưng nếu tiếp tục tăng thời gian ngâm lên tới 80 phút thì lượng tinh dầu thu được lại giảm đi. Điều này cho thấy nếu ngâm ở thời gian quá ngắn thì tác dụng của muối đến dung dịch chưa nhiều, do vậy lượng tinh dầu thu được vẫn còn ít, nhưng nếu kéo dài thời gian ngâm muối lên tới 80 phút thì một số cấu tử tinh dầu (chứa các nối đôi kém bền) có thể bị phân hủy bởi ánh sáng ở nhiệt độ phòng thành các phần tử dễ bay hơi và thất thoát ra môi trường trong quá trình chưng cất, từ đó làm giảm lượng tinh dầu chưng cất được.

Do đó, chúng tôi chọn thời gian ngâm muối là 60 phút để hiện bước khảo sát tiếp theo

3.3.5 Tỷ lệ nước và mẫu

3.3.5.1 Quá trình tối ưu hóa tỷ lệ nước và mẫu được trình bày ở Hình 3.7



Hình 3.7 Quá trình tối ưu hóa tỷ lệ mẫu và nước

3.3.5.2 Kết quả

Kết quả của quá trình được trình bày ở Bảng 3.7

Bảng 3.7 Hiệu suất tinh dầu theo tỷ lệ mẫu và nước

Tỷ lệ mẫu/nước	Hiệu suất thu hồi (%)	Thời gian đun (phút)
1/2	0,86± 0,02	150
1/ 2.5	0,92±0,03	150
1/3	0,93±0,03	180
1/ 3.5	0,92±0,02	210

Theo Bảng 3.7 rút ra được kết luận: tỷ lệ mẫu và nước tối ưu nhất là 1/3 và hiệu suất thu tinh dầu là 0,93±0,03% trong thời gian đun là 180 phút.

Khi tăng tỷ lệ nguyên liệu và nước từ 1:2 đến 1:3,5 thì lượng tinh dầu thu hồi tách được tăng theo, tuy nhiên nếu tiếp tục tăng tỷ lệ này lên thì lượng tinh dầu thu được lại giảm đi, điều này có thể được giải thích như sau: khi gia nhiệt hỗn hợp nguyên liệu và nước thì nước sẽ thẩm thấu qua màng tế bào, thâm nhập vào bên trong các tế bào chứa tinh dầu làm chúng trương phồng lên rồi bị phá vỡ. Các cấu tử trong hỗn hợp tinh dầu có trong tế bào sẽ được khuếch tán ra ngoài rồi bị lôi cuốn theo hơi nước. Nếu sử dụng tỷ lệ nguyên liệu nước thấp thì lượng nước ngấm vào tế bào không đủ để hòa tan các chất keo của màng tế bào do đó làm giảm tốc độ thẩm thấu của hai nước vào bên trong tế bào và tốc độ khuếch tán tinh dầu ra ngoài. Hơn nữa, tỷ lệ nguyên liệu/nước quá thấp sẽ không tạo ra sự trương nở và áp lực cần thiết để phá vỡ hoàn toàn các túi tinh dầu cũng như không tạo đủ lượng hơi nước cần thiết để lôi cuốn tinh dầu ra khỏi hỗn hợp. Do vậy trong trường hợp này, lượng tinh dầu chưng cất được sẽ ít. Tuy nhiên, nếu tỷ lệ nước quá nhiều (> 1/3) thì những cấu tử tinh dầu có tính phân cực khá cao sẽ tan nhiều vào nước, do vậy lượng tinh dầu thu được trong ống ngưng tụ cũng sẽ giảm đi. Chúng tôi chọn được tỷ lệ nguyên liệu : nước thích hợp là 1:3

3.3.6 Các yếu tố khác

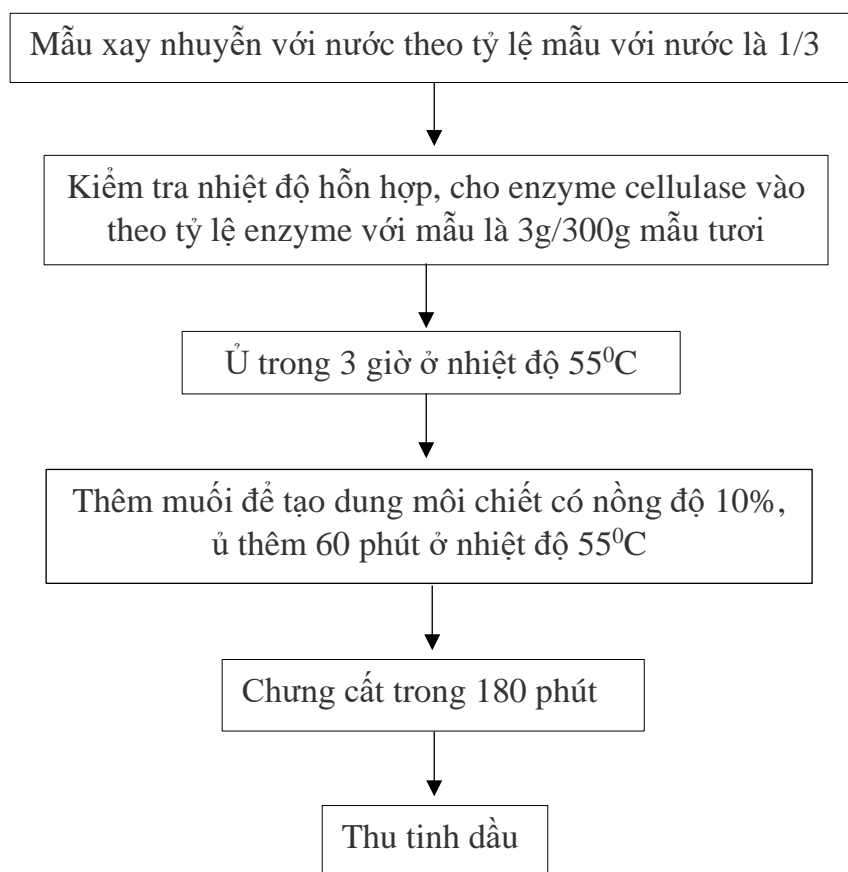
Thông qua rất nhiều nghiên cứu của những nhà khoa học các yếu tố như nhiệt độ ủ enzyme cellulase, khoảng pH khi ủ được tối ưu hóa ở 55⁰C và pH từ 5,5 đến 6. Mẫu khi được đã được xử lý, kiểm tra khoảng pH luôn có pH nằm trong khoảng tối ưu vì thế không cần điều chỉnh pH.

Vì vậy, điều kiện tối ưu nhiệt độ ủ là 55⁰C và ở pH của mẫu là 5,67.

3.3.7 Quy trình tối ưu hóa quá trình thu hồi tinh dầu sả chanh dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase.

3.3.7.1 Quy trình

Quy trình tối ưu hóa quá trình thu hồi tinh dầu sả chanh dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase được biểu thị ở Hình 3.8



Hình 3.8 Quy trình tối ưu hóa quá trình thu hồi tinh dầu sả chanh dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase.

3.3.7.2 Kết quả của quá trình

Quá trình trên cho tinh dầu thu được với hiệu suất đạt $0,930\% \pm 0,03$ với thời gian ủ enzyme cellulase là 4 giờ ở 55°C, nồng độ muối của dung môi thu hồi là 10%, thời gian ủ muối là 60 phút ở nhiệt độ 55°C, thời gian chưng cất là 180 phút.

3.3.8 Xác định thành phần tinh dầu thu được khi có sự hỗ trợ của enzyme

3.3.8.1 Cách tiến hành

Mẫu được gửi đi phân tích tại Trung Tâm Nghiên cứu và chuyển giao công nghệ. Phòng thí nghiệm Nghiên cứu và Phát triển Hóa Dược TP.HCM bằng phương pháp GC-MS theo các điều kiện đã được nêu.

3.3.8.2 Kết quả phân tích tinh dầu mẫu SA2

Phổ khối của các pic chất và độ tương hợp khối phổ so với thư viện NIST được trình bày ở Phụ lục 2.

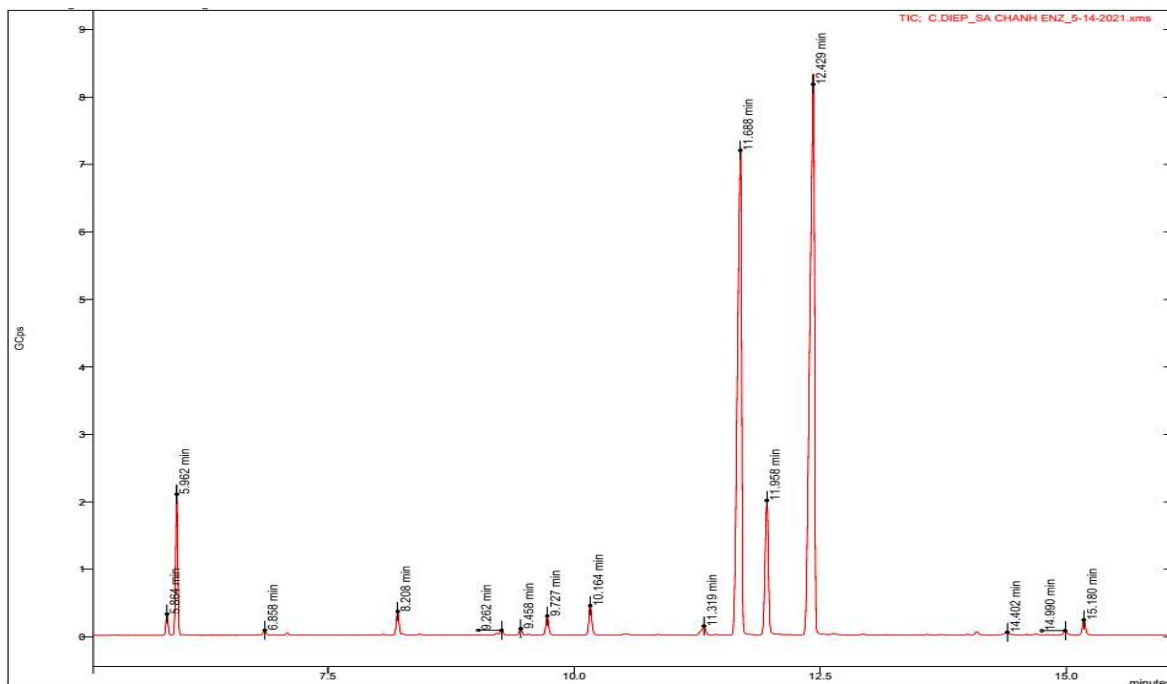
Kết quả phân tích thành phần của mẫu tinh dầu sả có sự hỗ trợ của enzyme cellulase được thể hiện ở Bảng 3.8

Bảng 3.8 Kết quả phân tích thành phần tinh dầu sả mẫu SA2

TT	Rt	Tên chất	Hàm lượng (%)	Độ tương hợp khối phổ
1	5.864	Sulcatone	0.841	911
2	5.962	β -Myrcene	5.337	949
3	6.858	trans- β -Ocimene	0.236	876
4	8.208	Linalool	1.123	902
5	9.262	6-Octenal, 7-methyl-3-methylene	0.248	868
6	9.458	Isogeraniol	0.319	817
7	9.727	Isoneral	0.942	868
8	10.164	Isogeranial	1.541	904
9	11.319	cis-Geraniol	0.657	889
10	11.688	β-Citral	35.186	937
11	11.958	Geraniol	7.651	908
12	12.429	α-Citral	44.636	951
13	14.402	Neric acid	0.225	881
14	14.990	(2,2,6-Trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-methanol	0.256	783

Kết quả phân tích thành phần đã cho thấy đã nhận dạng được 15 hợp chất khác nhau trong mẫu tinh dầu sả chanh (SA2), trong đó có các thành phần chính lần lượt là β -Citral (35,186%), Geraniol (7,651%), α -Citral(44,636%) và cis-Geraniol (0,6575%)

Sắc ký đồ GC của mẫu tinh dầu sả chanh (SA2) được trình bày ở Hình 3.9



Hình 3.9 Sắc ký đồ GC của mẫu tinh dầu sả chanh (SA2)

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Qua quá trình tìm hiểu và tiến hành thực nghiệm chưng cất, tối ưu hóa các điều kiện thu hồi tinh dầu sả chanh đồng thời xác định thành phần hóa học của tinh dầu, nhóm nghiên cứu rút ra một số kết luận sau:

- Quy trình tối ưu hóa thu hồi tách tinh dầu sả chanh ở địa bàn tỉnh Lâm Đồng đã được trình bày ở Hình 3.8
- Hàm lượng tinh dầu thu hồi được nhờ sự hỗ trợ của enzyme cellulase ở các điều kiện đã tối ưu là **0,930%** gấp 2,057 lần so với trường hợp không có enzyme này hỗ trợ.
- Thành phần tinh dầu của mẫu có enzyme hỗ trợ có thêm thành phần cis-Geraniol (0,657%) và các thành phần khác như β -Citral (35,186%) sấp xỉ thành phần này trong mẫu tinh dầu không có sự góp mặt của enzyme, Geraniol (7,651%) lại lớn hơn Geraniol (5,371%) trong mẫu tinh dầu không có enzyme cellulase hỗ trợ; α -Citral (44,636%) thấp hơn mẫu tinh dầu không có enzyme cellulase α -Citral (46,350%).

Trong quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu, điều kiện thiết bị và thời gian còn hạn chế nên chúng tôi chưa tìm hiểu thêm các loại enzyme khác cũng có ảnh hưởng đến quá trình thu hồi tách tinh dầu sả chanh ở địa bàn tỉnh Lâm Đồng. Chúng tôi đề xuất một số hướng nghiên cứu tiếp theo như sau:

- Tìm và tiến hành nghiên cứu khảo sát trên các loài Sả khác nhau.
- Tiến hành tối ưu hóa quá trình dưới sự hỗ trợ của các enzyme khác nhau.
- Tinh dầu sau khi điều chế sẽ được mang thử nghiệm một số hoạt tính khác như kháng viêm, chống oxi hóa.
- Chiết tách tinh dầu sả chanh kết hợp của mẫu xử lý bằng enzyme và kỹ thuật lò vi sóng
- Tinh dầu sả chanh thu hồi được nhờ sự hỗ trợ của enzyme cellulase có hàm lượng Geraniol cao hơn phương pháp chiết thông thường, đề xuất tách Geraniol nhằm ứng dụng vào công nghệ sản xuất mỹ phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi. (1992). *Những cây thuốc và vị thuốc*. NXB KHKT Hà Nội.
2. Đoàn Bảo Duy. *Nghiên cứu quy trình chiết tách tinh dầu sả chanh(C.ciratus) ở vùng Quảng Nam- Đà Nẵng* (2018), tr 14-28
Dược điển Việt Nam. (2013). NXB Y học.
3. Hoàng Thị Bích.(2018). *Nghiên cứu sử dụng kết hợp enzyme trong chiết tách và làm giàu một số sản phẩm*.
4. Lê Ngọc Thạch. (2003). *Tinh dầu*. NXB ĐHQG Hà Nội.
5. Nguyễn Quốc Châu Thanh. (2013). *Khóa luận Tốt Nghiệp Ly Trích Và Khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu sả chanh*. Trường Đại Học Cần Thơ.
6. Nguyễn Thị Thu Huyền, Nguyễn Quý Bảy, Lương Thị Lưu, Hồ Lương Nhật Vinh, *Nghiên cứu chiết xuất tinh dầu sả (Cymbopogon sp) và màng tang (Litsea cubeba L.(Lour) Pers thu tại Thái Nguyên*.
7. Nguyễn Văn Đán, Ngô Ngọc Khuyển. (1999). *Hợp chất thiên nhiên dùng làm thuốc*. NXB y học Hà Nội.
8. Tập thể tác giả. (2006). *Sổ tay quá trình và thiết bị công nghệ hóa chất tập 1*, NXB KHKT Hà Nội.
9. Trần Tứ Hiếu, (2015) phần 3 -*Các phương pháp phân tích công cụ*. NXBKHK4.
10. Đỗ Tất Lợi. (1985). *Tinh dầu Việt Nam*, NXB Y học TP HCM.
11. Trịnh Thị Điệp. (2015). *Giáo trình hóa học tinh dầu và hương liệu*. Khoa Hóa học và Môi trường- Đại học Đà Lạt.
12. Võ Văn Chi, Vũ Văn Chuyên, Phan Nguyên Hồng, Trần Hợp. (1973). *Cây cỏ thường thấy ở Việt Nam*, tập 1, NXB KHKT.
13. J. Zhuang, M. A. Marchant, S. E. Nokes, H. J. Strobel. (2007). *economic analysis of cellulase production methods for bio-ethanol* .679-687
14. Karim Hosni , Imed Hassen, Hedia Chaâbane, Maroua Jemli, Sana Dallali, Houcine Sebei, Hervé Casabianca .(2013). *Enzyme-assisted extraction of essential*

oils from thyme (Thymus capitatus L.) and rosemary (Rosmarinus officinalis L.): Impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity

15. Mónica L. Chávez-González, bLluvia I. López-López, aRaúl Rodríguez-Herrera, aJuan C. Contreras-Esquivel, aCristóbal N. Aguilar. (2015). *Enzyme-assisted extraction of citrus essential oil*

16. N Safitri, T Rihayat , Suryani , S Riskina , M Jazuli , J P Siregar , J Jaafar , T Cionita and Fitria. (2020). *Efficiency of photovoltaic technology for Citronella oil distillation*

17. Qi Xu, William S. Adney, Shi-You Ding and Michael E. Himmel. (2007). *Cellulases for biomass conversion, Industrial Enzymes.*

18. R. Amudan, D.V. Kamat , S. D. Kamat. (2011). *Enzyme-assisted extraction of essential oils from Syzygium aromaticum*

19. Ramesh Chander Kuhad, Rishi Gupta, and Ajay Singh. (2011) *Review Article Microbial Cellulases and Their Industrial Applications.*

20. Ranitha M , Abdurahman H. Nour , Ziad A. S , Azhari H. N , ThanaRaj S,. (2014). *Optimization of microwave assisted hydrodistillation of lemongrass (cymbopogon citratus) using response surface methodology*

21. Ranitha M., Abdurahman H. Nour, Ziad A. Sulaiman, Azhari H. Nour, and Thana Raj S. (2014). *A Comparative Study of Lemongrass (Cymbopogon Citratus) Essential Oil Extracted by Microwave-Assisted Hydrodistillation (MAHD) and Conventional Hydrodistillation (HD) Method*

22. Sibtain Ahmed, Ammara Bashir, Huma Saleem, Mubshara Saadia and Amer Jamil. (2009). *Production and purification of cellulosedegrading enzymes from a filamentous fungus trichoderma harzianum.*

22. Teuku Rihayat¹, Suryani¹ , Zaimahwati¹ , Salmyah¹ , Sariadi¹ , Fitria² , Satriananda¹ , Alfian Putra¹ , Zahra Fona¹ , Juanda¹ , Raudah¹ , Aida Safitri¹ , Mawaddah¹ , Nurhanifa¹ , Shafira Riskina¹ , Wildan Syahputra¹. (2019). *Composition on Essential Oil Extraction from Lemongrass Fragrant by Microwave Air Hydro Distillation Method to Perfume Dermatitis Production*

23. Xu Chun-Ping, Liu Yuanshang, Zhao Shanshan, Zeng Ying, Liu Shaohua & Hu Zhizhong. (2015). *Optimization of Essential Oil from Chrysanthemum morifolium Ramat by Enzymatic Extraction and Application as Cigarette Flavor*
24. Y Variyana, M Mahfud , Z Ma'sum, B I Ardianto, L P Syahbana, and D S Bhuana. (2019). *Optimization of microwave hydro-distillation of lemongrass leaves (Cymbopogon nardus) by response surface methodology.*

PHỤ LỤC 1

PHÔI KHỐI CỦA CÁC THÀNH PHẦN TRONG TINH DẦU SẢ CHANH

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

1. Tên khách hàng : Cô Diệp
2. Công ty :
3. Địa chỉ :
4. Số lượng mẫu : 1
5. Ngày nhận mẫu : 06/05/2021
6. Kết quả thử nghiệm :

TT	Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp thử
1.	Tinh dầu sả chanh_Mẫu 1	Phân tích thành phần và hàm lượng tương đối các hợp chất trong mẫu	GC-MS

TT	Rt	Tên chất	Hàm lượng (%)	Mass	Độ tương hợp khối phổ
1	5.867	Sulcatone	0.626	126	905
2	5.965	β -Myrcene	6.087	136	954
3	8.209	Linalool	0.893	154	901
4	9.264	6-Octenal, 7-methyl-3-methylene	0.267	152	902
5	9.460	Isogeraniol	0.378	154	819
6	9.729	Isoneral	0.993	152	877
7	10.166	Isogeranial	1.571	152	921

1. Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi
2. Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả
3. Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ.

BM 5.10/02
Lần ban hành: 3.1
Trang 1 / 59

8	11.319	Citronellol	0.554	156	733
9	11.689	β -Citral	35.285	152	941
10	11.957	Geraniol	5.371	154	915
11	12.430	α -Citral	46.350	152	959
12	14.991	(2,2,6-Trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-methanol	0.266	168	772
13	15.181	Nerol acetate	1.083	196	888

Tp.HCM, ngày 17 tháng 05 năm 2021

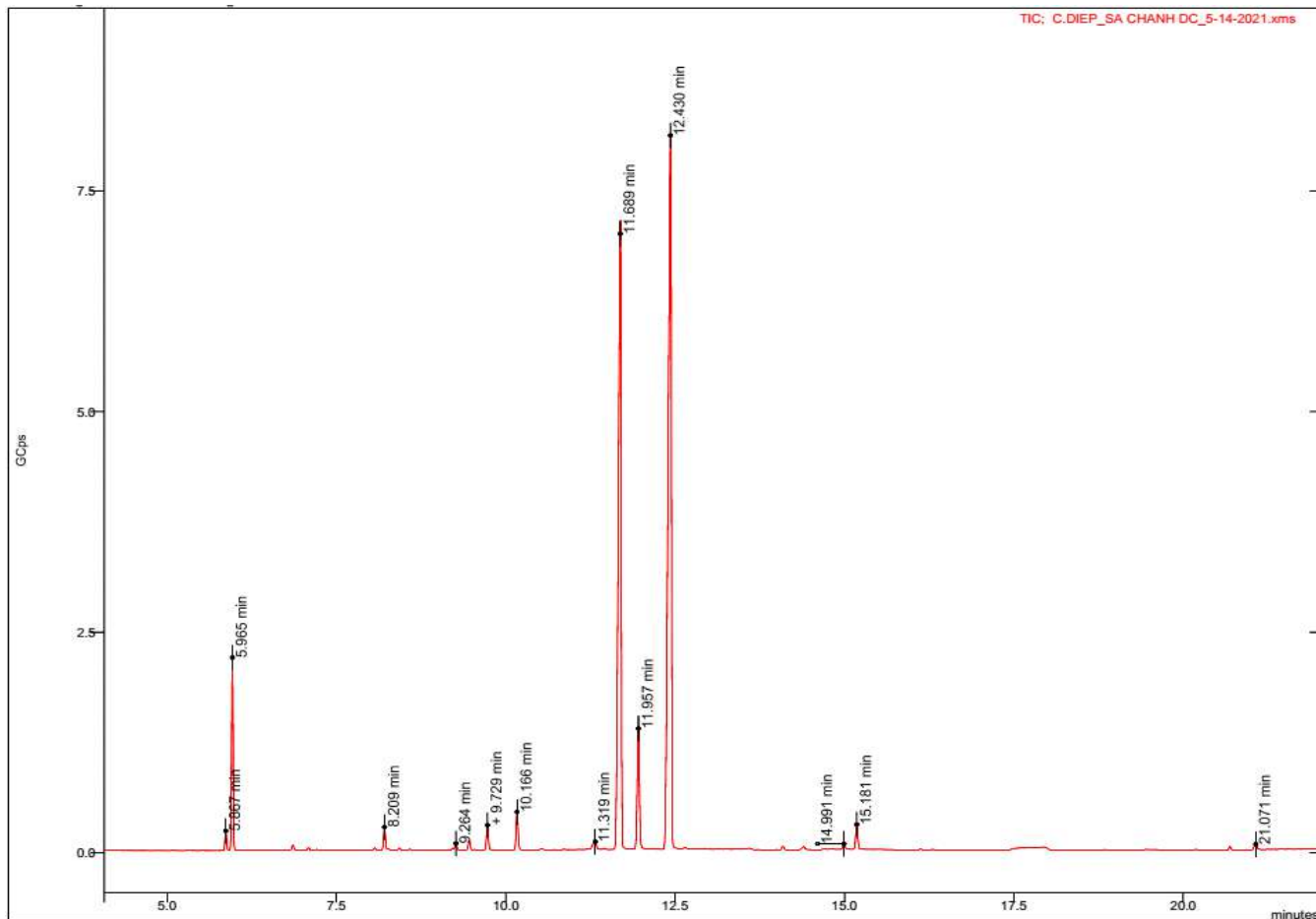
QUẢN LÝ KỸ THUẬT

NatPro
Phùng Văn Trung

1. Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi
2. Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả
3. Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ.

BM 5.10/02
Lần ban hành: 3.1
Trang 2 / 59

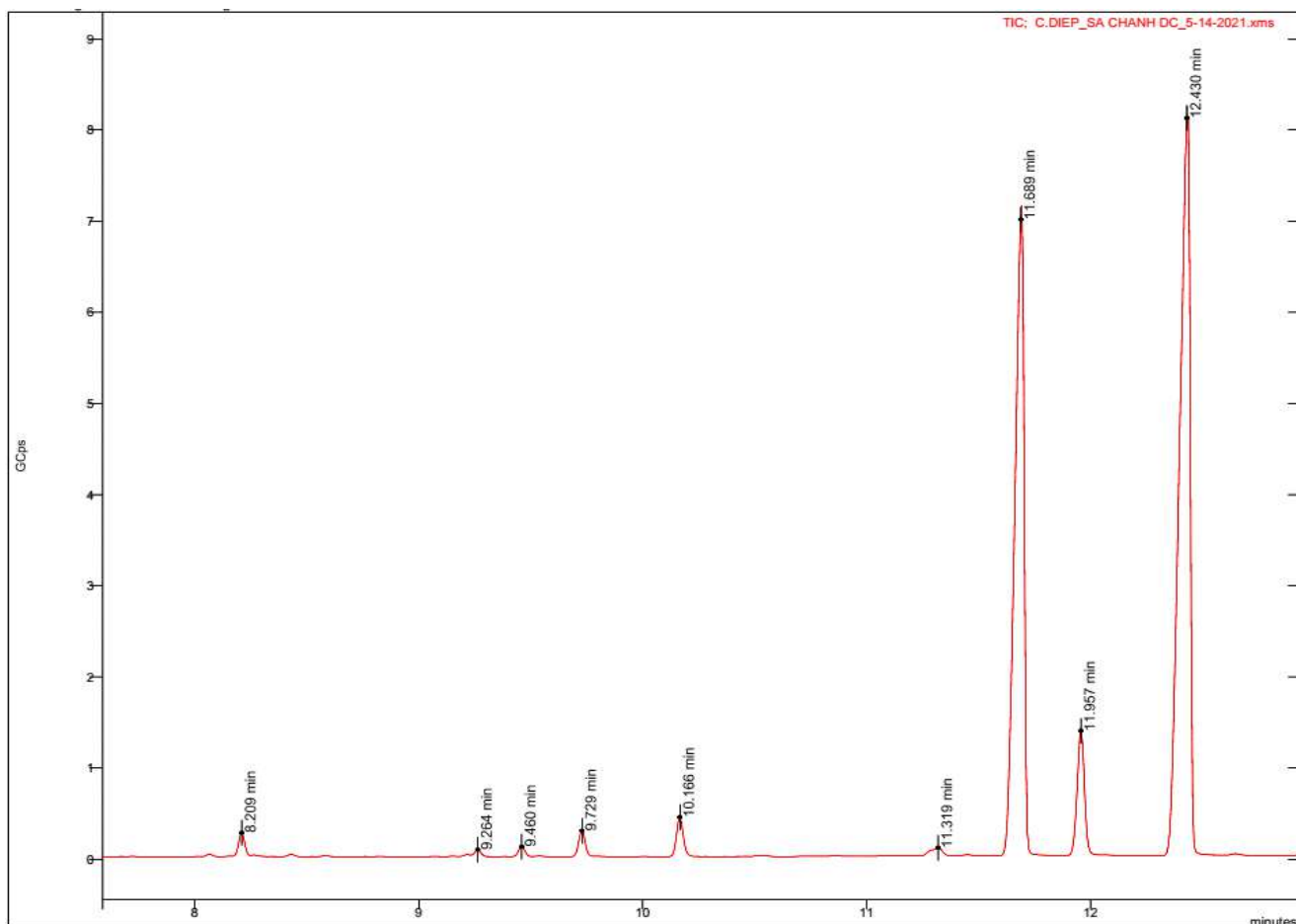
Sắc ký đồ tinh dầu sả chanh_Mẫu 1_Full scale



Sắc ký đồ tinh dầu sả chanh_Mẫu 1_Extended 1

- Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi
- Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả
- Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ.

BM 5.10/02
Lần ban hành: 3.1
Trang 1 / 59



4. Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi

5. Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả

6. Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ.

BM 5.10/02

Lần ban hành: 3.1

Trang 2 / 59

PHIẾU KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

7. Tên khách hàng : Cô Diệp
8. Công ty :
9. Địa chỉ :
10. Số lượng mẫu : 1
11. Ngày nhận mẫu : 06/05/2021
12. Kết quả thử nghiệm :

TT	Tên mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp thử
2.	Tinh dầu sả chanh_Mẫu 2	Phân tích thành phần và hàm lượng tương đối các hợp chất trong mẫu	GC-MS

TT	Rt	Tên chất	Hàm lượng (%)	Mass	Độ tương hợp khối phổ
1	5.864	Sulcatone	0.841	126	911
2	5.962	β -Myrcene	5.337	136	949
3	6.858	trans- β -Ocimene	0.236	136	876
4	8.208	Linalool	1.123	154	902
5	9.262	6-Octenal, 7-methyl-3-methylene	0.248	152	868
6	9.458	Isogeraniol	0.319	154	817
7	9.727	Isoneral	0.942	152	868
8	10.164	Isogeranial	1.541	152	904

4. Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi

5. Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả

6. Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ.

BM 5.10/02

Lần ban hành: 3.1

Trang 3 / 59

9	11.319	cis-Geraniol	0.657	154	889
10	11.688	β -Citral	35.186	152	937
11	11.958	Geraniol	7.651	154	908
12	12.429	α -Citral	44.636	152	951
13	14.402	Neric acid	0.225	168	881
14	14.990	(2,2,6-Trimethyl-bicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-methanol	0.256	168	783
15	15.180	Nerol acetate	0.803	196	882

Tp.HCM, ngày 17 tháng 05 năm 2021

QUẢN LÝ KỸ THUẬT

NatPro

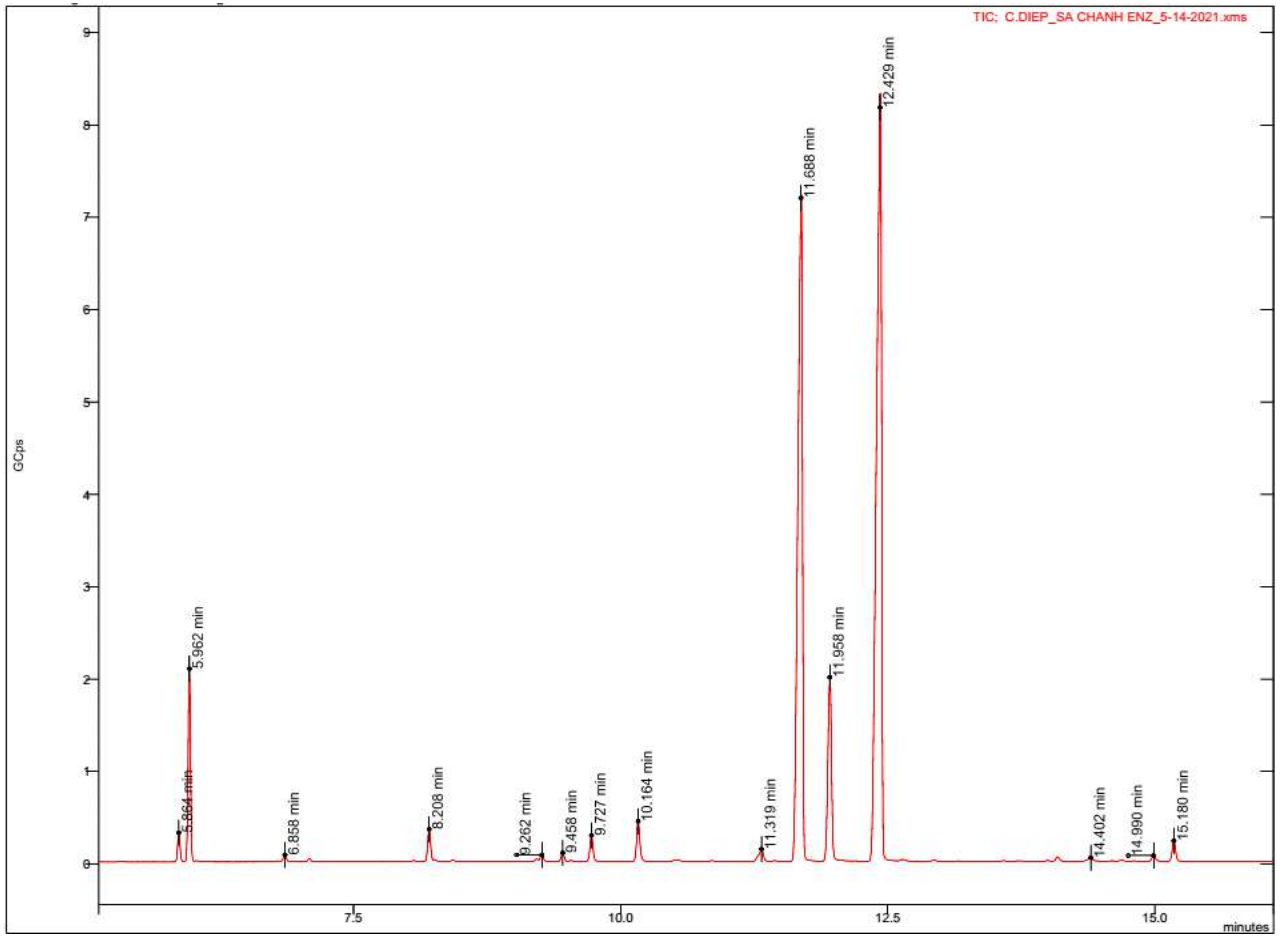
Phùng Văn Trung

4. Kết quả thử nghiệm chỉ có giá trị trên mẫu gửi

5. Mẫu được lưu 7 ngày kể từ ngày trả kết quả

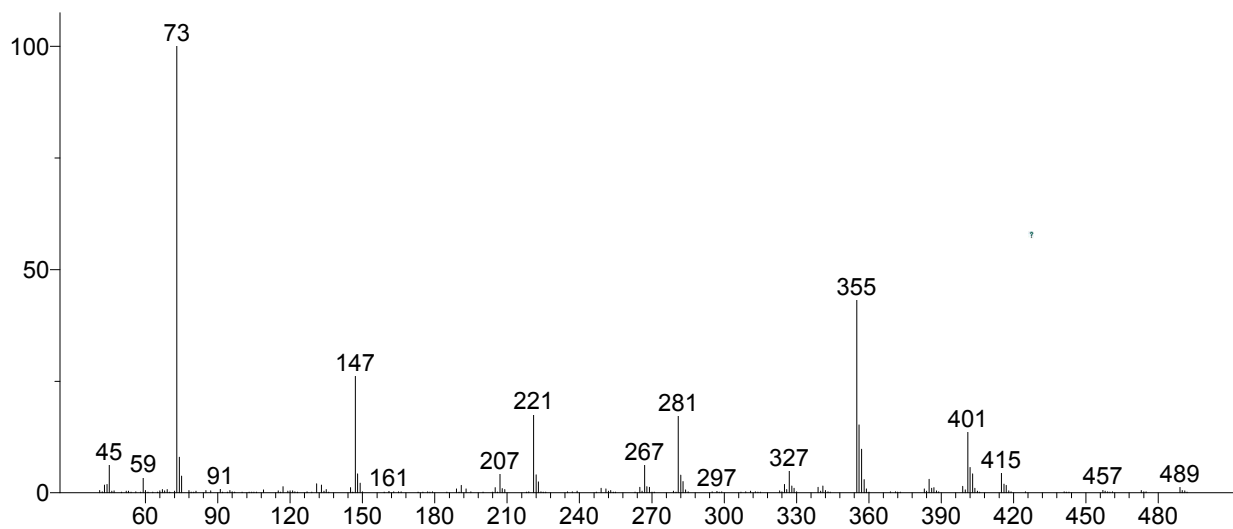
6. Phiếu kết quả này không được trích sao nếu chưa có sự đồng ý bằng văn bản của Trung tâm Nghiên cứu và Chuyển giao Công nghệ.

Sắc ký đồ tinh dầu sả chanh_Mẫu 2_Full scale



PHỤ LỤC 2

Unknown; InLib=257



(Text File) 21.075 min, Scan: 2639

Name: 21.075 min, Scan: 2639

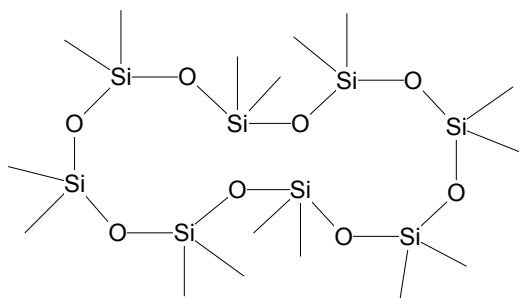
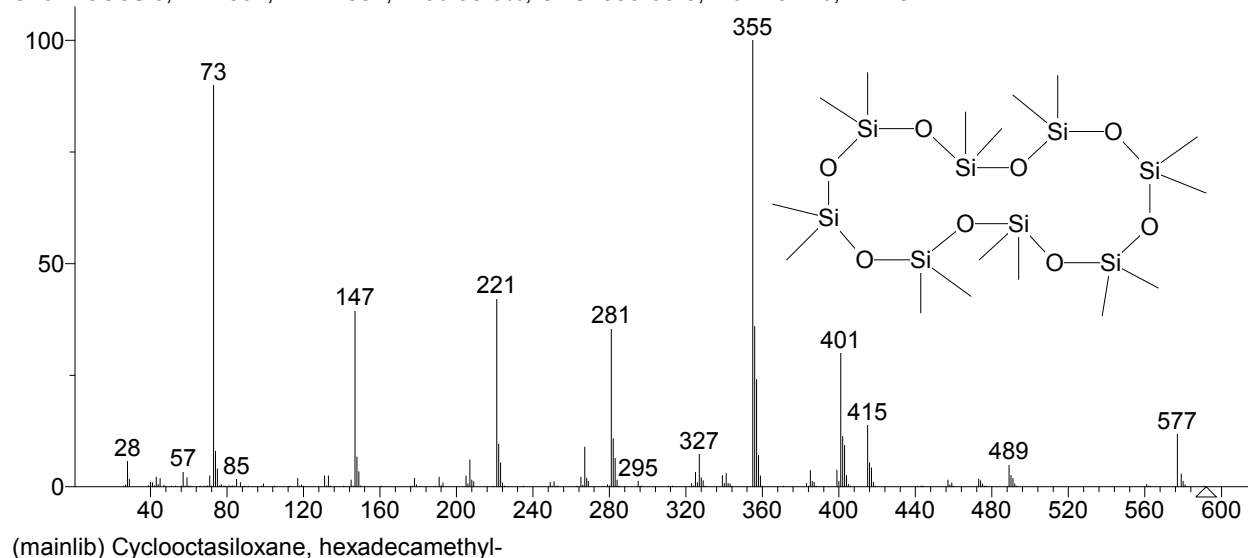
MW: N/A ID#: 30249 DB: Text File

Comment: C.DIEP_SA CHANH DC_5-14-2021.xms

Synonyms:

no synonyms.

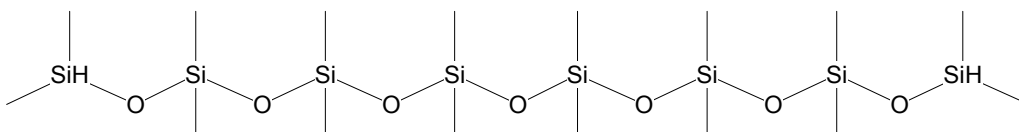
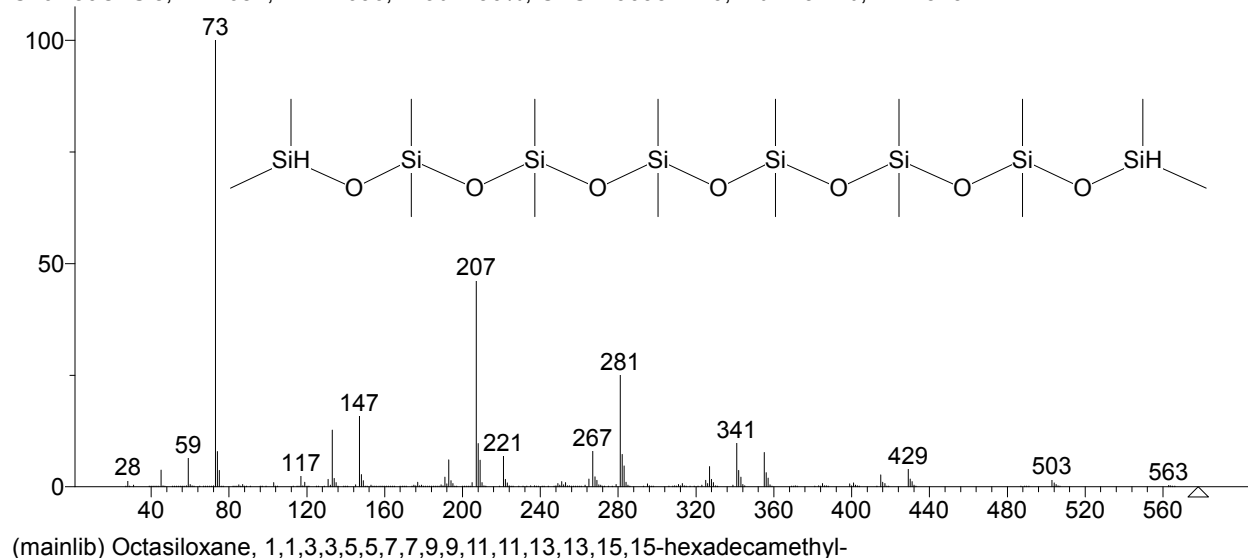
Hit 1 : Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
C₁₆H₄₈O₈Si₈; MF: 867; RMF: 884; Prob 95.6%; CAS: 556-68-3; Lib: mainlib; ID: 234277.



Name: Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-
Formula: C₁₆H₄₈O₈Si₈
MW: 592 Exact Mass: 592.15033 CAS#: 556-68-3 NIST#: 153821 ID#: 234277 DB: mainlib
Other DBs: HODOC, EINECS
Contributor: Chemical Concepts
InChIKey: XKJMZYFAWYREL-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.Hexadecamethyl-cyclooctasioxane
2.Hexadecamethylcyclooctasiloxane
3.2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12,14,14,16,16-Hexadecamethylcyclooctasiloxane #

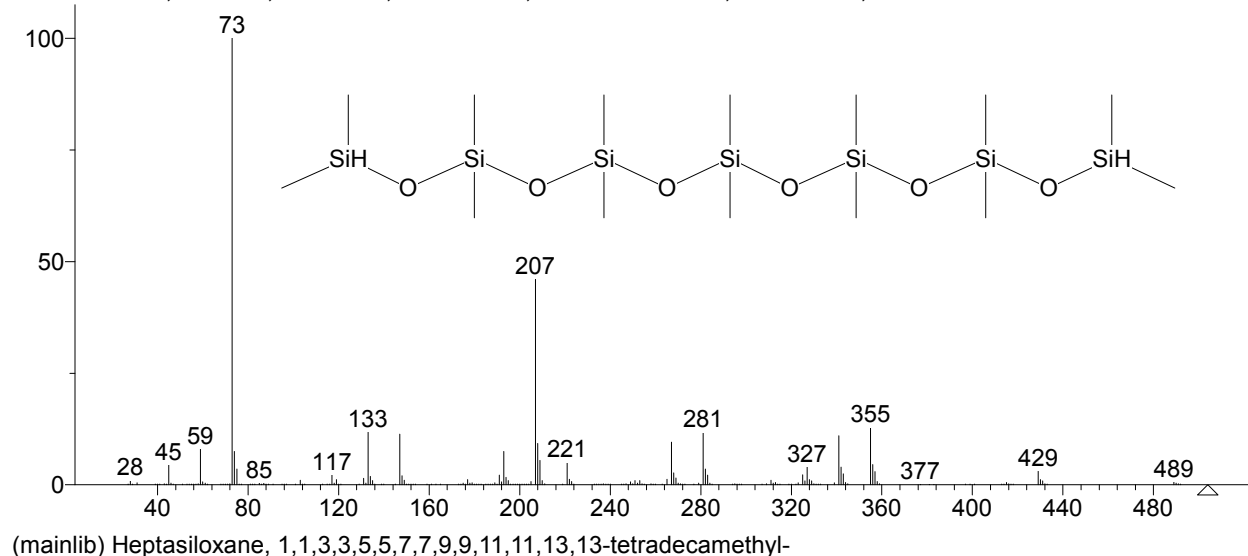
Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar:1704±N/A (1)
Standard non-polar: 1703±8 (10)

Hit 2 : Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-
C₁₆H₅₀O₇Si₈; MF: 681; RMF: 696; Prob 1.50%; CAS: 19095-24-0; Lib: mainlib; ID: 43294.

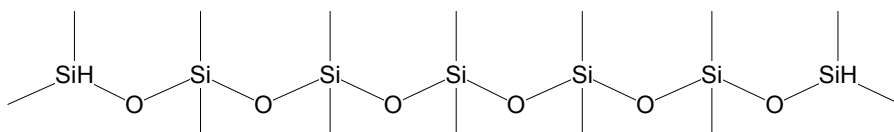


Name: Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-
Formula: C₁₆H₅₀O₇Si₈
MW: 578 Exact Mass: 578.171066 CAS#: 19095-24-0 NIST#: 153848 ID#: 43294 DB: mainlib
Other DBs: None
Contributor: Chemical Concepts
InChIKey: QXHIBROWKKWYFM-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1,1,1,3,3,3,5,5,5,7,7,7,9,9,9,11,11,13,13,15,15-Hexadecamethyloctasiloxane #

Hit 3 : Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-tetradecamethyl-
C₁₄H₄₄O₆Si₇; MF: 657; RMF: 727; Prob 0.50%; CAS: 19095-23-9; Lib: mainlib; ID: 43295.



(mainlib) Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-tetradecamethyl-



Name: Heptasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13-tetradecamethyl-

Formula: C₁₄H₄₄O₆Si₇

MW: 504 Exact Mass: 504.152275 CAS#: 19095-23-9 NIST#: 153847 ID#: 43295 DB: mainlib

Other DBs: None

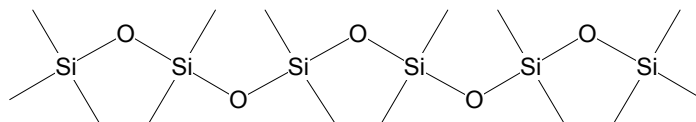
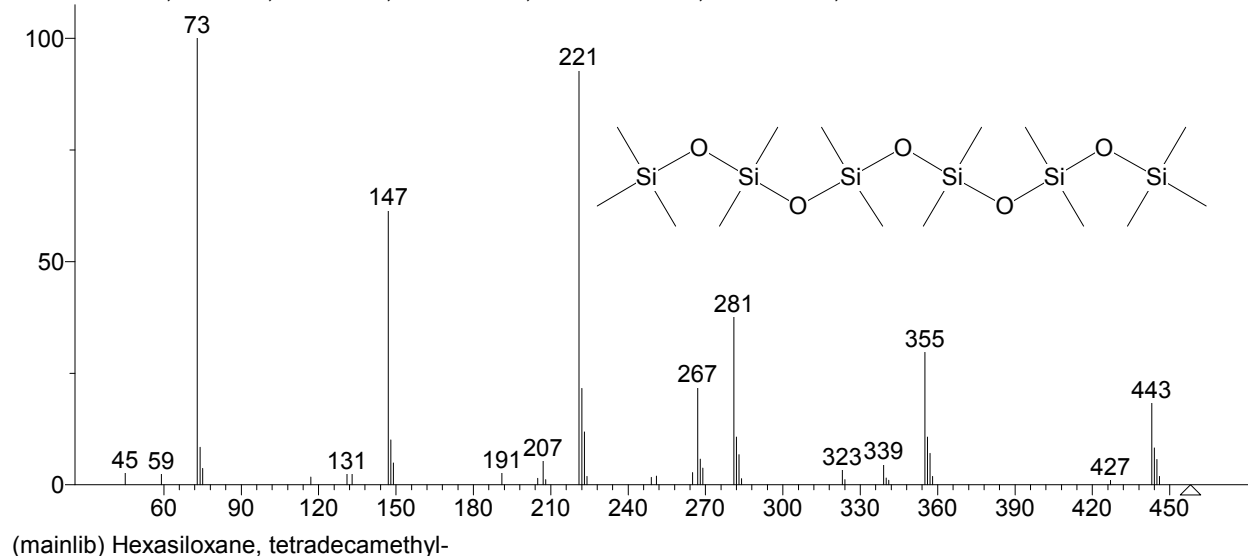
Contributor: Chemical Concepts

InChIKey: GCEPWHJTXMREAT-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1,1,1,3,3,3,5,5,5,7,7,7,9,9,9,11,11,11,13,13-Tetradecamethylheptasiloxane #

Hit 4 : Hexasiloxane, tetradecamethyl-
C₁₄H₄₂O₅Si₆; MF: 650; RMF: 801; Prob 0.38%; CAS: 107-52-8; Lib: mainlib; ID: 43443.



Name: Hexasiloxane, tetradecamethyl-

Formula: C₁₄H₄₂O₅Si₆

MW: 458 Exact Mass: 458.164783 CAS#: 107-52-8 NIST#: 52161 ID#: 43443 DB: mainlib

Other DBs: TSCA, HODOC, EINECS

Contributor: P. BRUCK, MAGYAR TUDOMANYOS AKADEMIA, HUNGARY

InChIKey: ADANNTQYRVPQLJ-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

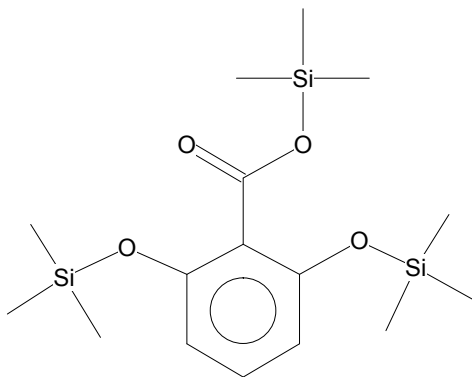
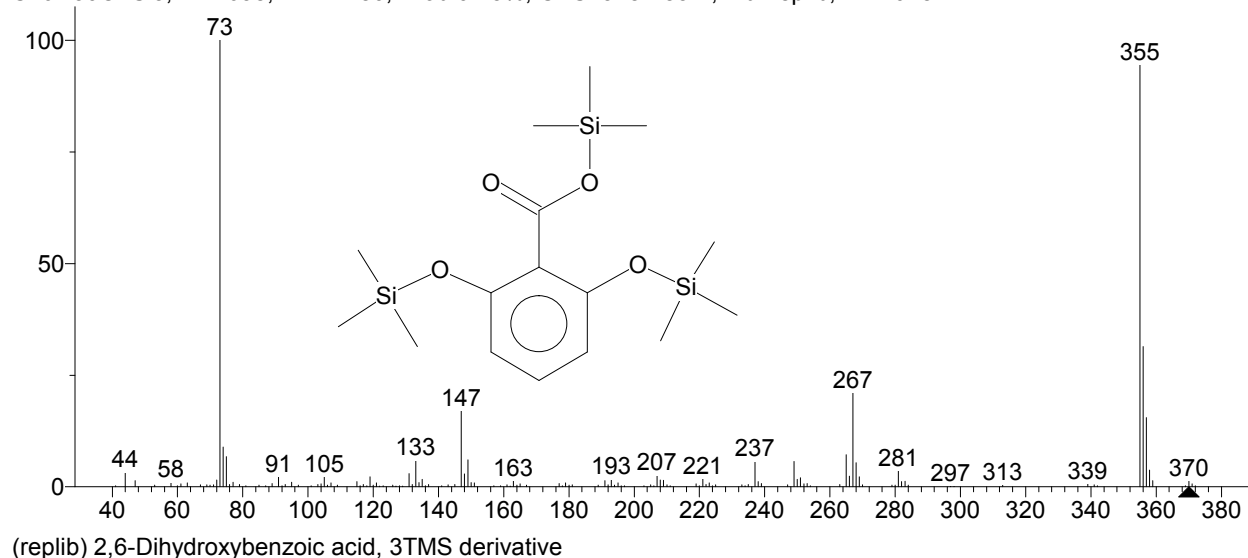
1.Tetradecamethylhexasiloxane

2.1,1,1,3,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,11-Tetradecamethylhexasiloxane #

Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar:1353±N/A (1)

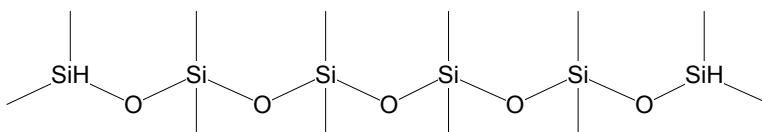
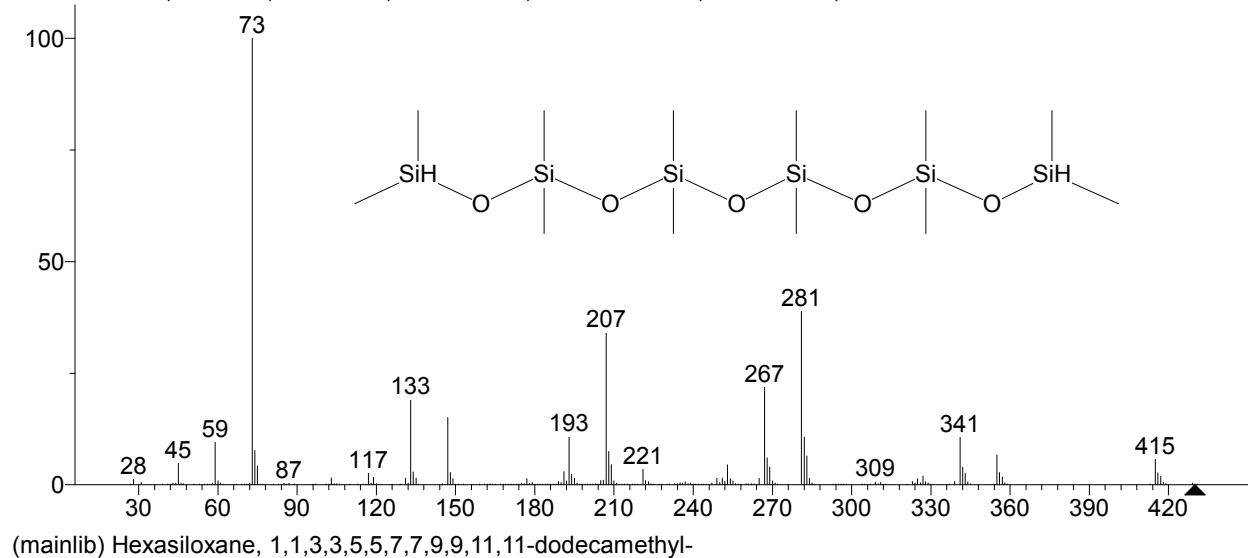
Hit 5 : 2,6-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
C₁₆H₃₀O₄Si₃; MF: 638; RMF: 780; Prob 0.25%; CAS: 3782-85-2; Lib: replib; ID: 10281.



Name: 2,6-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
Formula: C₁₆H₃₀O₄Si₃
MW: 370 Exact Mass: 370.14519 CAS#: 3782-85-2 NIST#: 79351 ID#: 10281 DB: replib
Other DBs: None
Contributor: O A MAMER, MCGILL UNIVERSITY, MONTREAL
InChIKey: APVNJYLNHAHEL-F-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1. Benzoic acid, 2,6-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
2. Trimethylsilyl 2,6-bis[(trimethylsilyl)oxy]benzoate #
3. 2,6-Dihydroxybenzoic acid, bis(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyl ester
4. Benzoic acid, 2,6-dihydroxy, tri-TMS

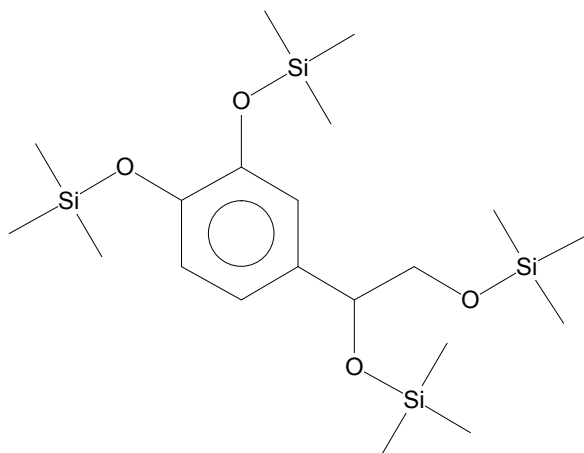
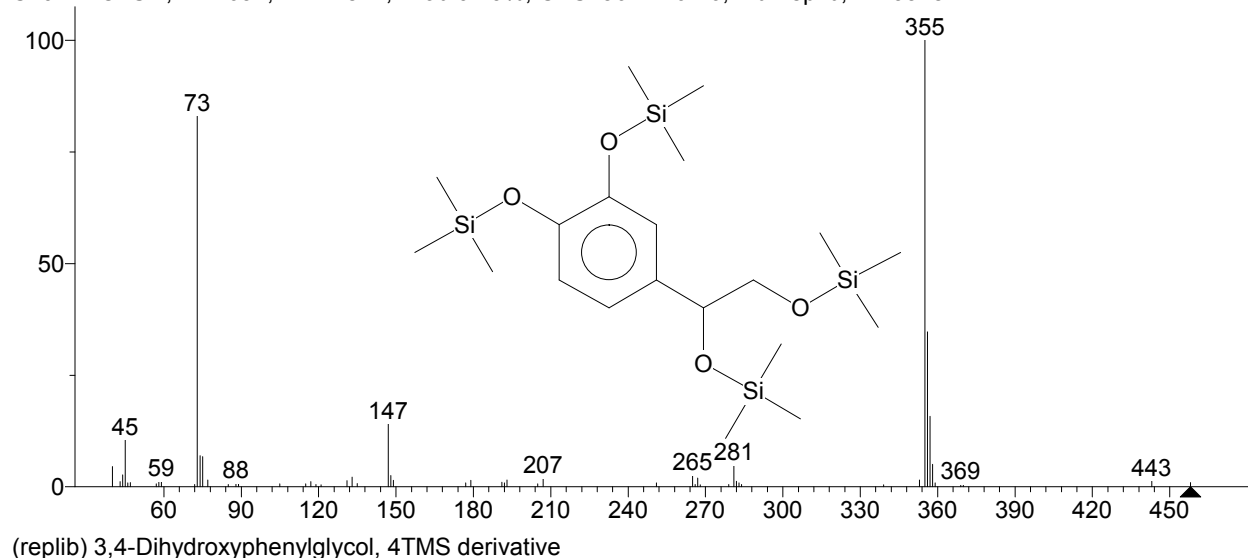
Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar: 1763±16 (2)
Standard non-polar: 1768±0 (2)

Hit 6 : Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-
C₁₂H₃₈O₅Si₆; MF: 633; RMF: 709; Prob 0.20%; CAS: 995-82-4; Lib: mainlib; ID: 43771.



Name: Hexasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethyl-
Formula: C₁₂H₃₈O₅Si₆
MW: 430 Exact Mass: 430.133484 CAS#: 995-82-4 NIST#: 153846 ID#: 43771 DB: mainlib
Other DBs: None
Contributor: Chemical Concepts
InChIKey: HFKXCDXJZSSRJX-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1,1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-Dodecamethylhexasiloxane #

Hit 7 : 3,4-Dihydroxyphenylglycol, 4TMS derivative
C₂₀H₄₂O₄Si₄; MF: 632; RMF: 844; Prob 0.19%; CAS: 56114-62-6; Lib: replib; ID: 33284.



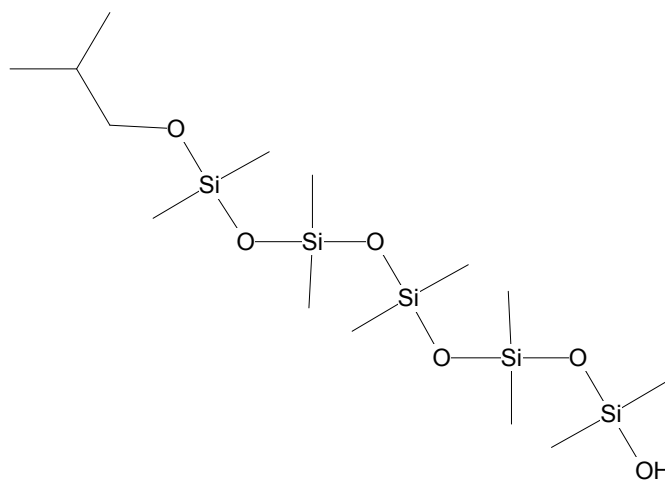
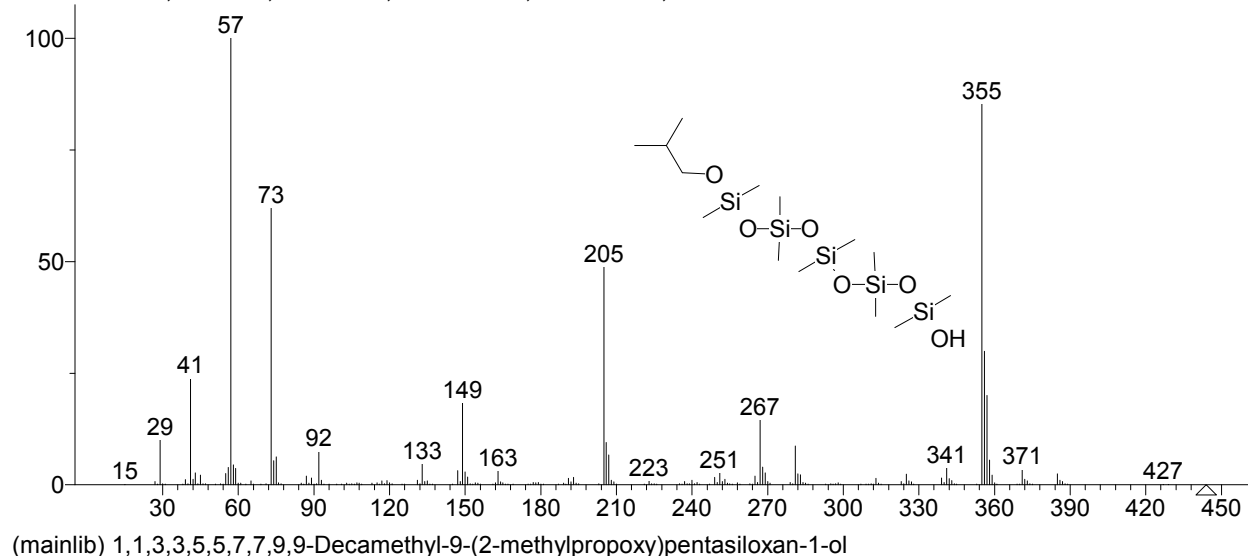
Name: 3,4-Dihydroxyphenylglycol, 4TMS derivative
Formula: C₂₀H₄₂O₄Si₄
MW: 458 Exact Mass: 458.216017 CAS#: 56114-62-6 NIST#: 72212 ID#: 33284 DB: replib
Other DBs: None
Contributor: F.A.J.MUSKIET, LAB. CLIN. CHEM., UNIV. HOSP., GRONINGEN, NET
InChIKey: NIWMXZKSKPCCQX-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:

- 1.Silane, [[4-[1,2-bis(trimethylsilyloxy)ethyl]-1,2-phenylene]bis(oxy)]bis(trimethyl-
- 2.Silane, [[4-[1,2-bis(trimethylsilyloxy)ethyl]-1,2-phenylene]bis(oxy)]bis*trimethyl-
- 3.4-(3,4-Bis(trimethylsilyloxy)phenyl)-2,2,7,7-tetramethyl-3,6-dioxa-2,7-disilaoctane #
- 4.1,2-Ethandiol, 3,4-dihydroxyphenyl, tetrakis-TMS
- 5.3,4-Dihydroxyphenyl glycol, tetrakis(trimethylsilyl) ether
- 6.3,6-Dioxa-2,7-disilaoctane, 4-[3,4-bis(trimethylsilyloxy)phenyl]-2,2,7,7-tetramethyl-

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar:1852±N/A (1)

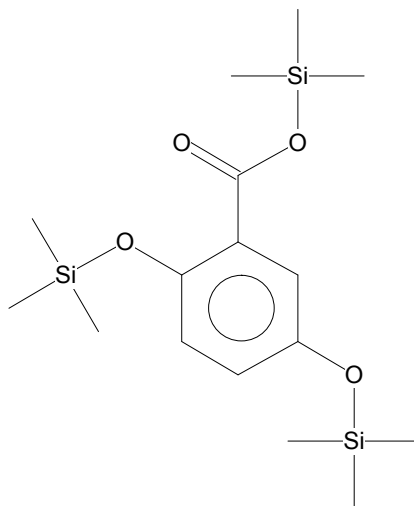
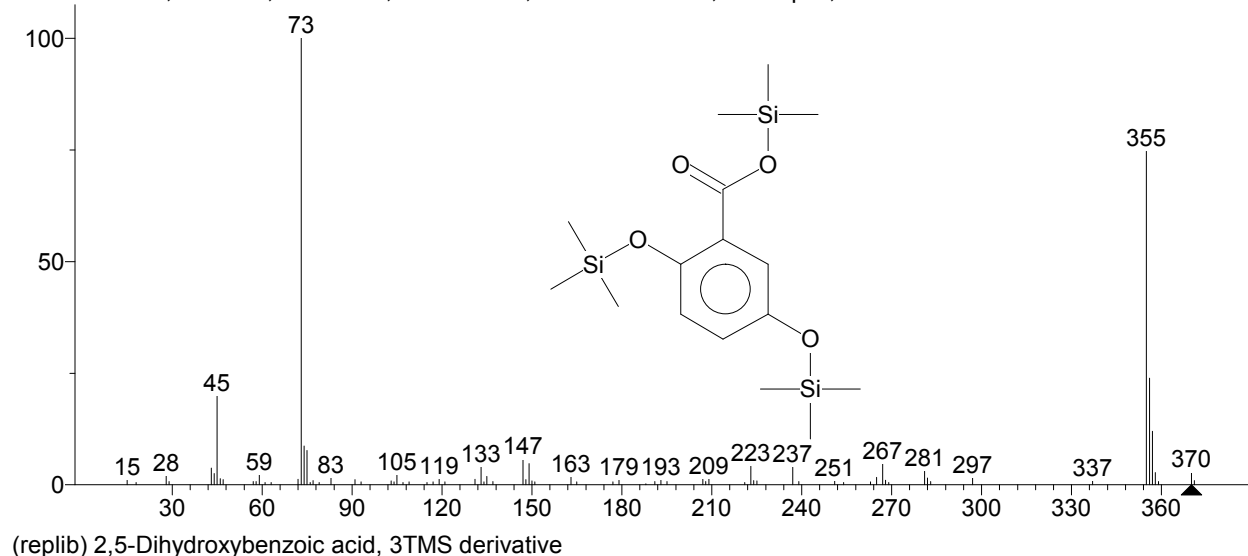
Standard non-polar: 1909±N/A (1)

Hit 8 : 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9-Decamethyl-9-(2-methylpropoxy)pentasiloxan-1-ol
C₁₄H₄₀O₆Si₅; MF: 621; RMF: 707; Prob 0.13%; Lib: mainlib; ID: 27596.



Name: 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9-Decamethyl-9-(2-methylpropoxy)pentasiloxan-1-ol
Formula: C₁₄H₄₀O₆Si₅
MW: 444 Exact Mass: 444.167122 NIST#: 364613 ID#: 27596 DB: mainlib
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: RUVMAVDYFDDASU-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
no synonyms.

Hit 9 : 2,5-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
C₁₆H₃₀O₄Si₃; MF: 620; RMF: 786; Prob 0.13%; CAS: 3618-20-0; Lib: replib; ID: 10280.



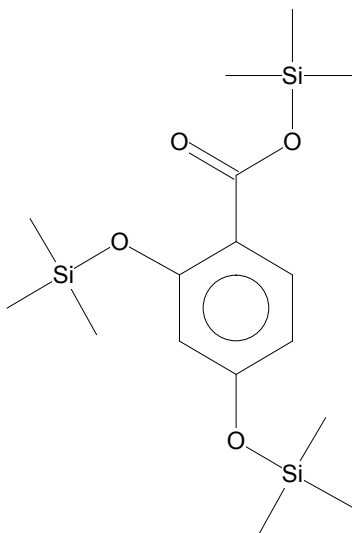
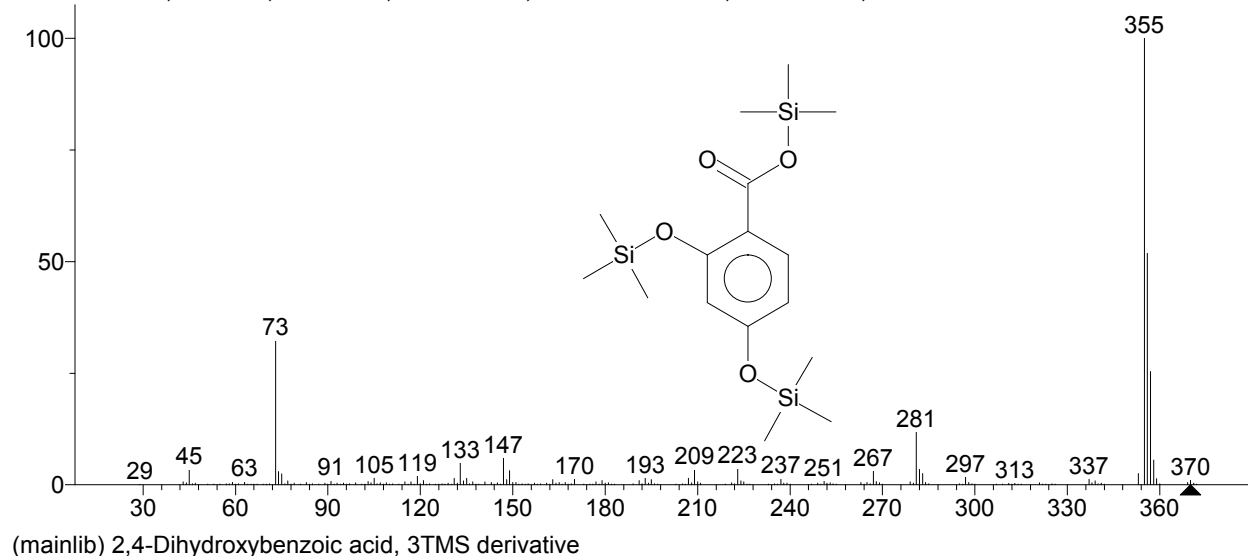
Name: 2,5-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
Formula: C₁₆H₃₀O₄Si₃
MW: 370 Exact Mass: 370.14519 CAS#: 3618-20-0 NIST#: 23990 ID#: 10280 DB: replib
Other DBs: None
Contributor: ORVAL A. MAMER, ROYAL VICTORIA HOSPITAL, MONTREAL, CANADA
InChIKey: UBHIYVHURJXNOQ-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:

1. Benzoic acid, 2,5-bis(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester
2. Gentisic acid (tms)
3. Trimethylsilyl 2,5-bis[(trimethylsilyloxy)]benzoate #
4. Benzoic acid, 2,5-bis-(trimethylsilyloxy), trimethylsilyl ester
5. Benzoic acid, 2,5-dihydroxy, tri-TMS
6. Gentisic acid, O,O'-bis(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester
7. Gentisic acid, tri-TMS

Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar: 1798 ± 4 (20)
Standard non-polar: 1781 ± 2 (4)

Hit 10 : 2,4-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
C₁₆H₃₀O₄Si₃; MF: 619; RMF: 731; Prob 0.12%; CAS: 10586-16-0; Lib: mainlib; ID: 234374.

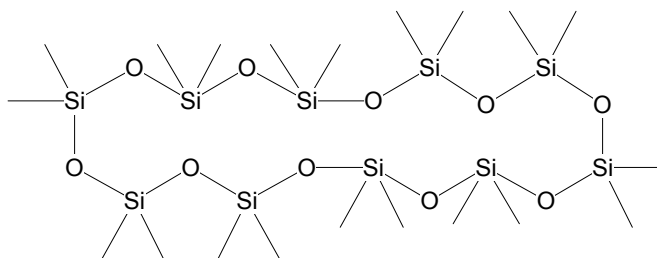
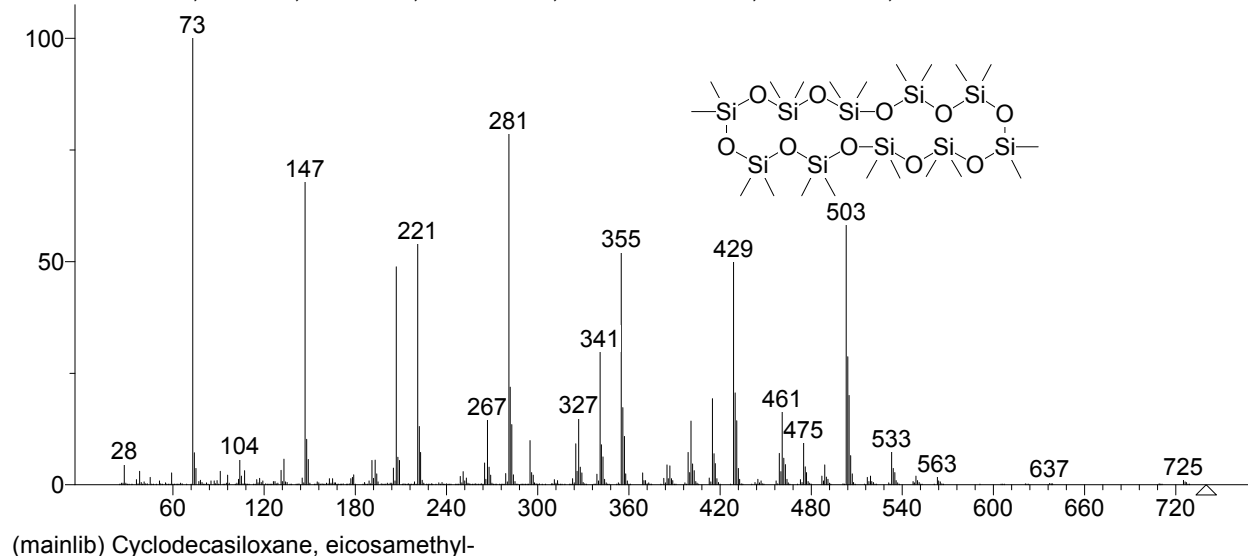


Name: 2,4-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
Formula: C₁₆H₃₀O₄Si₃
MW: 370 Exact Mass: 370.14519 CAS#: 10586-16-0 NIST#: 352817 ID#: 234374 DB: mainlib
Other DBs: None
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: VOVIHULKTBZND-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1. Benzoic acid, 2,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
2. β-Resorcylic acid (TMS)
3. 2,4-Bis(trimethylsiloxy)trimethylsilylbenzoate
4. Trimethylsilyl 2,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]benzoate #
5. 2,4-Dihydroxybenzoic acid, bis(trimethylsilyl) ether, trimethylsilyl ester
6. 2-Resorcylic acid, tri-TMS
7. Benzoic acid, 2,4-dihydroxy, TMS

Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar: 1833 ± 2 (4)
Standard non-polar: 1822 ± 2 (4)
Polar: $1637 \pm \text{N/A}$ (1)

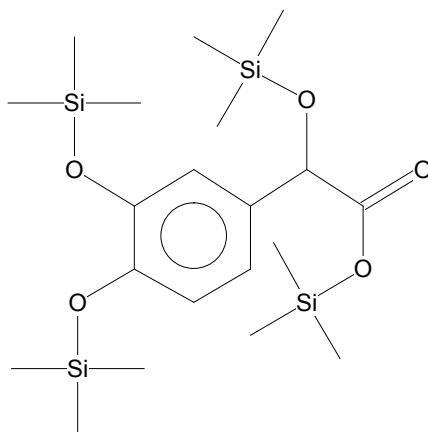
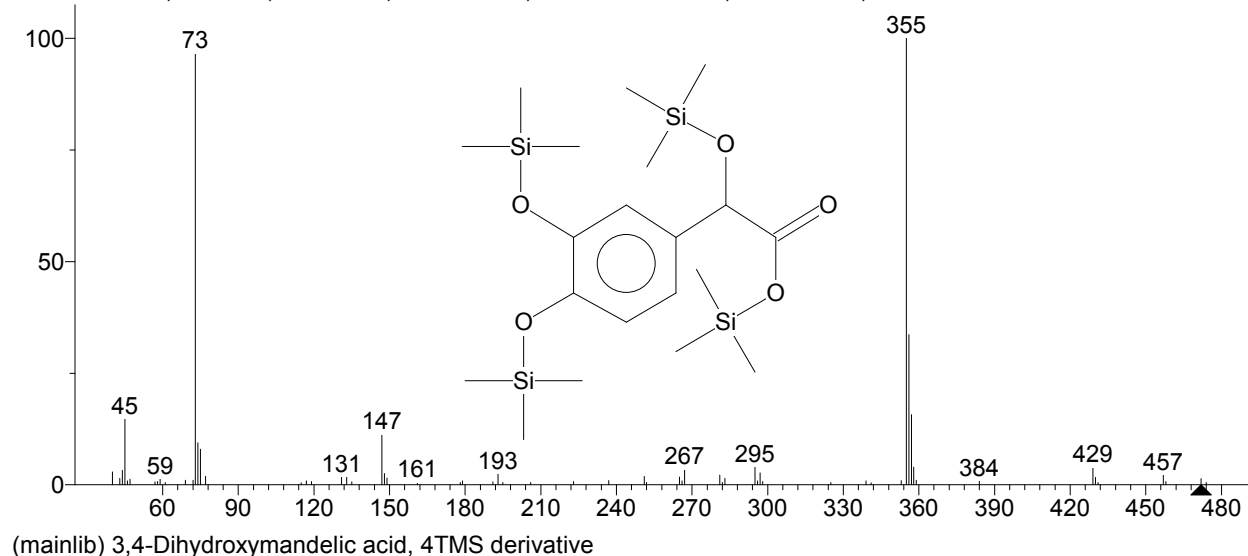
Hit 11 : Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-
C₂₀H₆₀O₁₀Si₁₀; MF: 618; RMF: 620; Prob 0.12%; CAS: 18772-36-6; Lib: mainlib; ID: 43767.



Name: Cyclodecasiloxane, eicosamethyl-
Formula: C₂₀H₆₀O₁₀Si₁₀
MW: 740 Exact Mass: 740.187912 CAS#: 18772-36-6 NIST#: 161274 ID#: 43767 DB: mainlib
Other DBs: None
Contributor: Chemical Concepts
InChIKey: CDNNKGWZSNSADW-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1,2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12,14,14,16,16,18,18,20,20-Icosamethylcyclodecasiloxane #
2.Eicosamethyl-cyclodecasiloxane

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar:2035±N/A (1)
Standard non-polar: 2030±3 (7)

Hit 12 : 3,4-Dihydroxymandelic acid, 4TMS derivative
C₂₀H₄₀O₅Si₄; MF: 614; RMF: 815; Prob 0.10%; CAS: 37148-65-5; Lib: mainlib; ID: 234289.



Name: 3,4-Dihydroxymandelic acid, 4TMS derivative

Formula: C₂₀H₄₀O₅Si₄

MW: 472 Exact Mass: 472.19528 CAS#: 37148-65-5 NIST#: 72214 ID#: 234289 DB: mainlib

Other DBs: None

Contributor: F.A.J.MUSKIET, LAB. CLIN. CHEM., UNIV. HOSP., GRONINGEN, NET

InChIKey: MDAKQGIALDYWHV-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

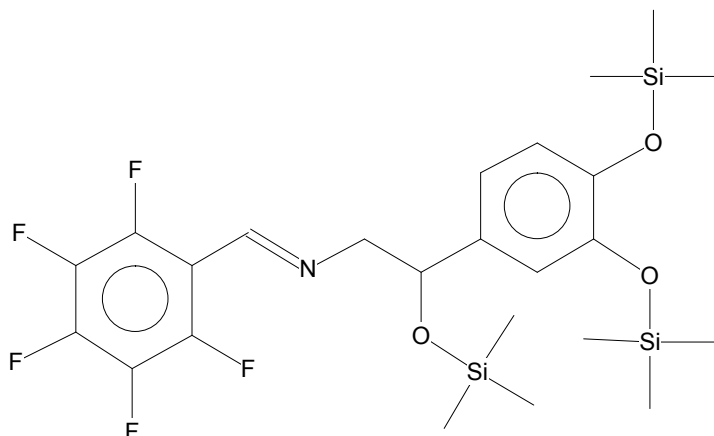
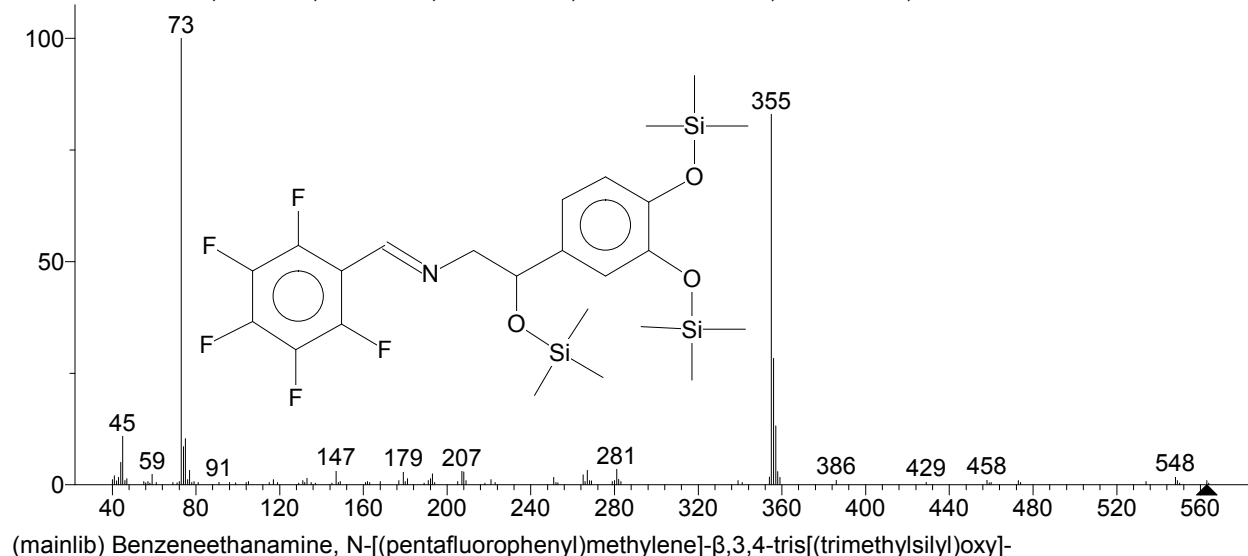
Synonyms:

1. Benzeneacetic acid, α ,3,4-tris[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
2. 3,4-Dihydroxymandelic acid, (tetrakis-TMS)-
3. Trimethylsilyl 3,4-dihydroxymandelate tris(trimethylsilyl) ether
4. Trimethylsilyl (3,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]phenyl)[(trimethylsilyl)oxy]acetate
5. Mandelic acid, 3,4-dihydroxy, tetrakis-TMS
6. Mandelic acid, 3,4-dihydroxy, (4TMS)-

Experimental RI median \pm deviation (#data)

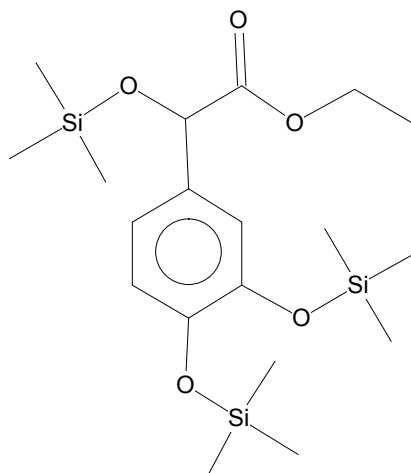
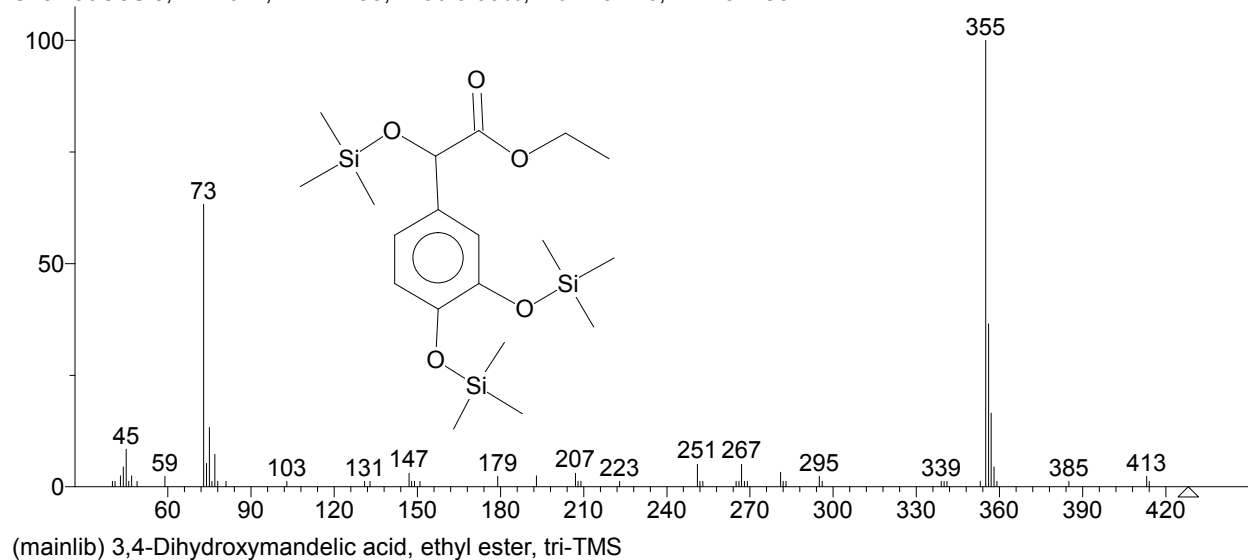
Standard non-polar: 1943 \pm 6 (4)

Hit 13 : Benzeneethanamine, N-[(pentafluorophenyl)methylene]-β,3,4-tris[(trimethylsilyl)oxy]-
 C₂₄H₃₄F₅NO₃Si₃; MF: 614; RMF: 760; Prob 0.10%; CAS: 55429-13-5; Lib: mainlib; ID: 44145.



Name: Benzeneethanamine, N-[(pentafluorophenyl)methylene]-β,3,4-tris[(trimethylsilyl)oxy]-
 Formula: C₂₄H₃₄F₅NO₃Si₃
 MW: 563 Exact Mass: 563.176666 CAS#: 55429-13-5 NIST#: 105039 ID#: 44145 DB: mainlib
 Other DBs: None
 Contributor: B.F. MAUME, DEP. BIOCHIM., UNIV. DIJON, DIJON, FR.
 InChIKey: VYKNVWCCWFXWCV-VVEOGCPPSA-N Non-stereo
 Synonyms:
 1.N-(Pentafluorobenzylidene)-β,3,4-tris(trimethylsilyloxy) phenylethylamine
 2.2-(3,4-Bis[(trimethylsilyl)oxy]phenyl)-N-[(E)-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)methylidene]-2-[(trimethylsilyl)oxy]
 ethanamine #

Hit 14 : 3,4-Dihydroxymandelic acid, ethyl ester, tri-TMS
C₁₉H₃₆O₅Si₃; MF: 611; RMF: 793; Prob 0.09%; Lib: mainlib; ID: 234280.



Name: 3,4-Dihydroxymandelic acid, ethyl ester, tri-TMS

Formula: C₁₉H₃₆O₅Si₃

MW: 428 Exact Mass: 428.187054 NIST#: 71702 ID#: 234280 DB: mainlib

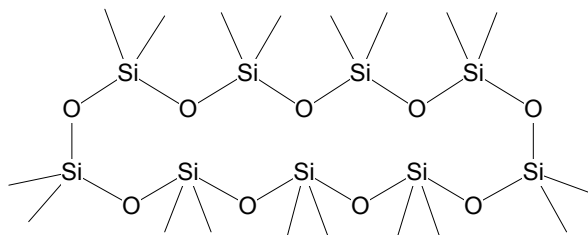
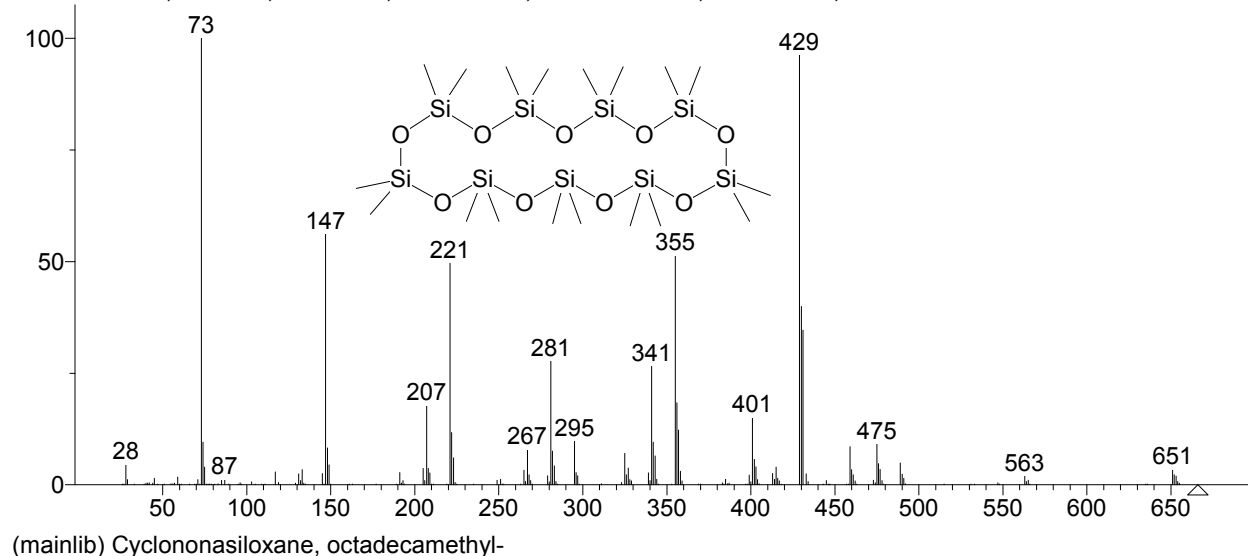
Contributor: G.S. KING, CHEM. PATHOL. DEP., QUEEN CHARLOTTE'S HOSP., LONDON

InChIKey: HDFZMIKRLKMIBX-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.Ethyl (3,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]phenyl)[(trimethylsilyl)oxy]acetate #

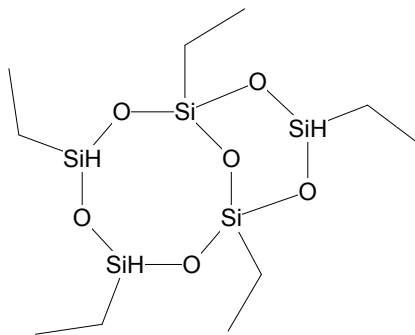
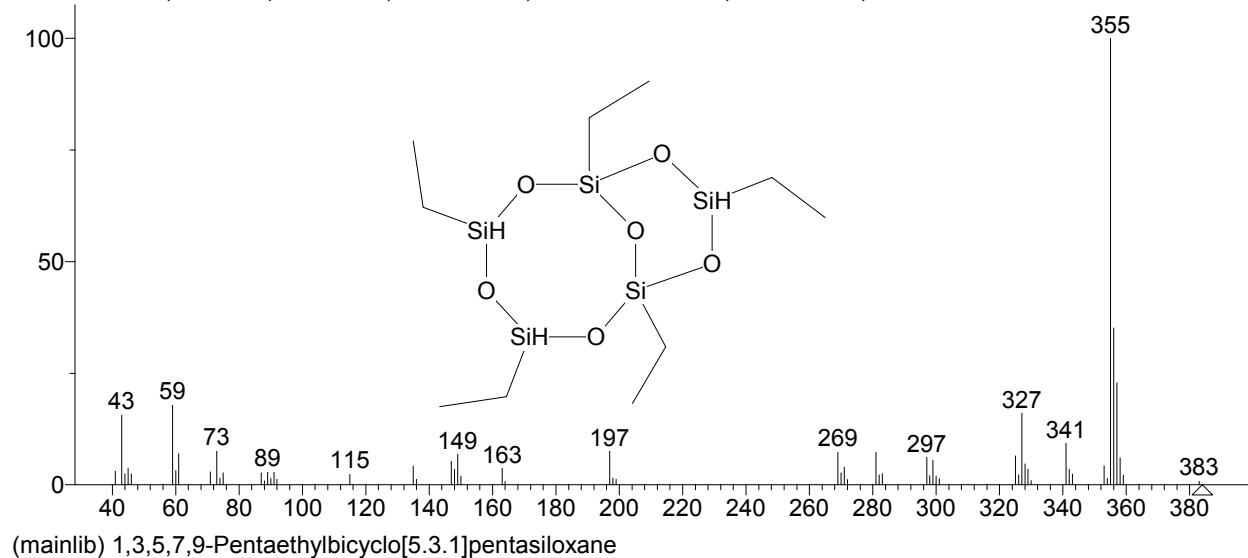
Hit 15 : Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
C₁₈H₅₄O₉Si₉; MF: 610; RMF: 620; Prob 0.08%; CAS: 556-71-8; Lib: mainlib; ID: 44296.



Name: Cyclononasiloxane, octadecamethyl-
Formula: C₁₈H₅₄O₉Si₉
MW: 666 Exact Mass: 666.16912 CAS#: 556-71-8 NIST#: 153822 ID#: 44296 DB: mainlib
Other DBs: HODOC
Contributor: Chemical Concepts
InChIKey: ISXOGOLHEGHGQF-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.Octadecamethyl-cyclononasiloxane
2.2,2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12,14,14,16,16,18,18-Octadecamethylcyclononasiloxane #
3.Octadecamethylcyclononasiloxane

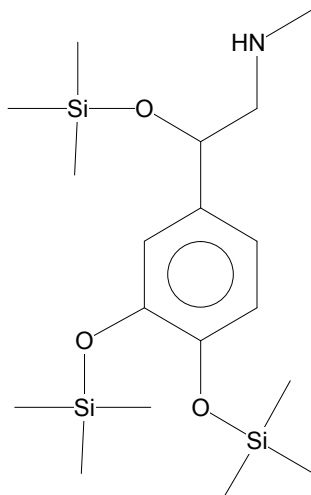
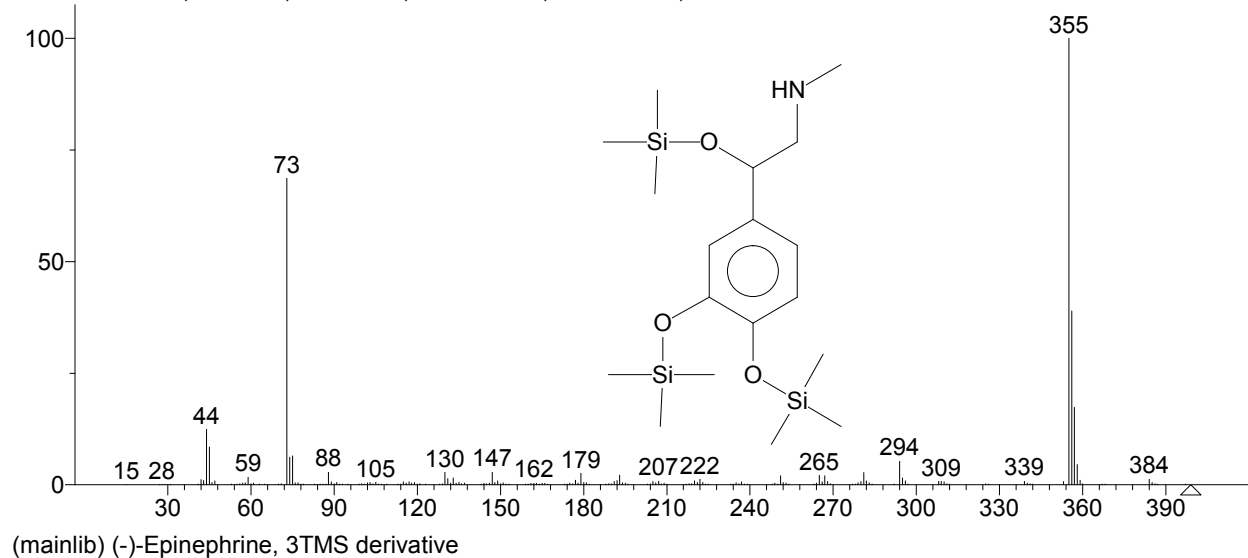
Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar:1893±N/A (1)
Standard non-polar: 1868±3 (9)

Hit 16 : 1,3,5,7,9-Pentaethylbicyclo[5.3.1]pentasiloxane
C₁₀H₂₈O₆Si₅; MF: 593; RMF: 766; Prob 0.04%; CAS: 73420-26-5; Lib: mainlib; ID: 234399.



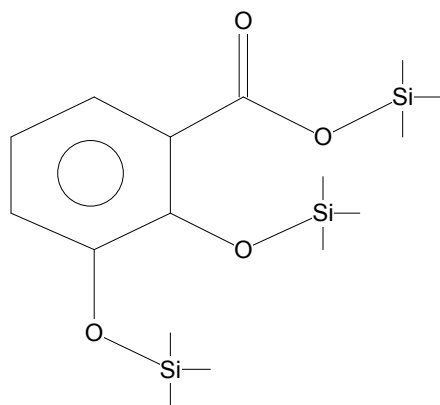
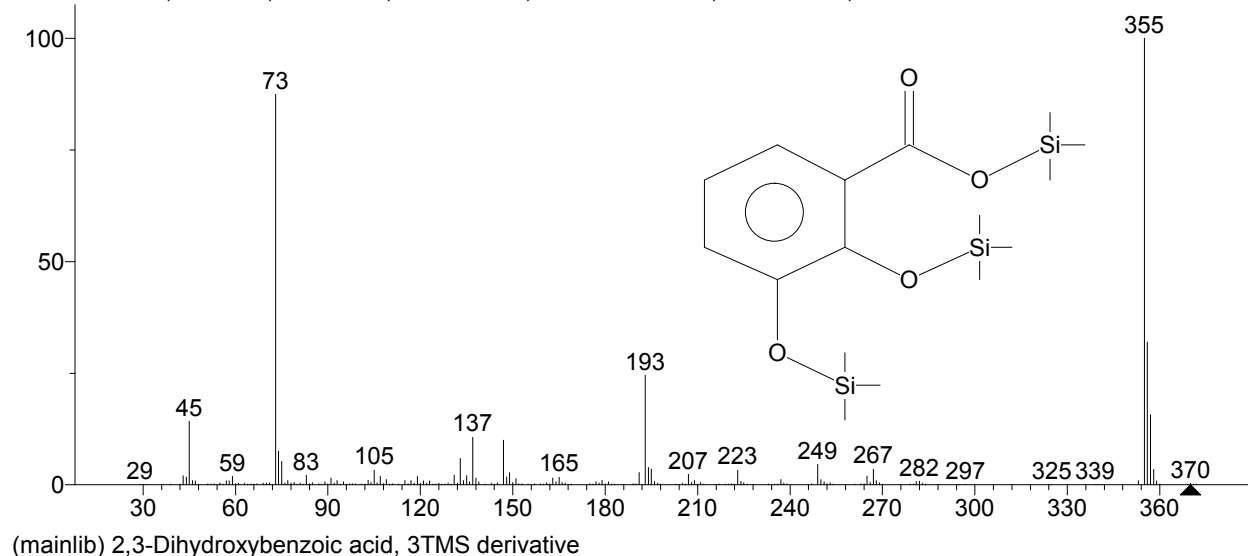
Name: 1,3,5,7,9-Pentaethylbicyclo[5.3.1]pentasiloxane
Formula: C₁₀H₂₈O₆Si₅
MW: 384 Exact Mass: 384.073221 CAS#: 73420-26-5 NIST#: 102762 ID#: 234399 DB: mainlib
Other DBs: None
Contributor: Institute of Organic Chemistry, Novosibirsk, USSR 1988
InChIKey: IBTWGHXUBZSUFU-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
no synonyms.

Hit 17 : (-)-Epinephrine, 3TMS derivative
C₁₈H₃₇NO₃Si₃; MF: 589; RMF: 691; Prob 0.04%; Lib: mainlib; ID: 234281.



Name: (-)-Epinephrine, 3TMS derivative
Formula: C₁₈H₃₇NO₃Si₃
MW: 399 Exact Mass: 399.208124 NIST#: 333513 ID#: 234281 DB: mainlib
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: GXPIVEGQECSBV-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.(-)-Epinephrine, tris(trimethylsilyl) ether

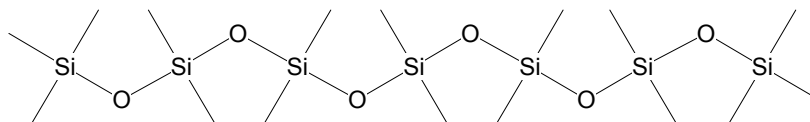
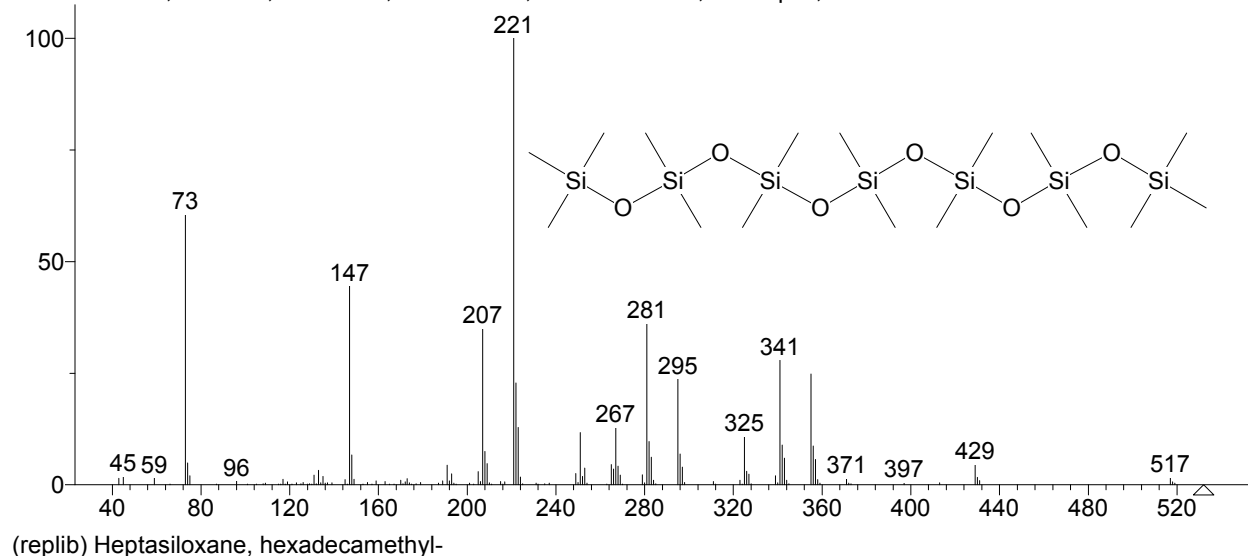
Hit 18 : 2,3-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
C₁₆H₃₀O₄Si₃; MF: 588; RMF: 700; Prob 0.03%; CAS: 3618-19-7; Lib: mainlib; ID: 234285.



Name: 2,3-Dihydroxybenzoic acid, 3TMS derivative
Formula: C₁₆H₃₀O₄Si₃
MW: 370 Exact Mass: 370.14519 CAS#: 3618-19-7 NIST#: 332767 ID#: 234285 DB: mainlib
Other DBs: None
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: IPIPXIWUUYKNS-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1. Benzoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
2. Trimethylsilyl 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]benzoate #
3. Benzoic acid, 2,3-dihydroxy, tri-TMS

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar: 1756±1 (3)
Standard non-polar: 1744±1 (3)

Hit 19 : Heptasiloxane, hexadecamethyl-
C₁₆H₄₈O₆Si₇; MF: 588; RMF: 688; Prob 0.03%; CAS: 541-01-5; Lib: replib; ID: 29913.



Name: Heptasiloxane, hexadecamethyl-

Formula: C₁₆H₄₈O₆Si₇

MW: 532 Exact Mass: 532.183575 CAS#: 541-01-5 NIST#: 309079 ID#: 29913 DB: replib

Other DBs: TSCA, HODOC, EINECS

Contributor: Zaikin V.G., Institute of petrochemical synthesis

InChIKey: NFVSFLUJRHSJG-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

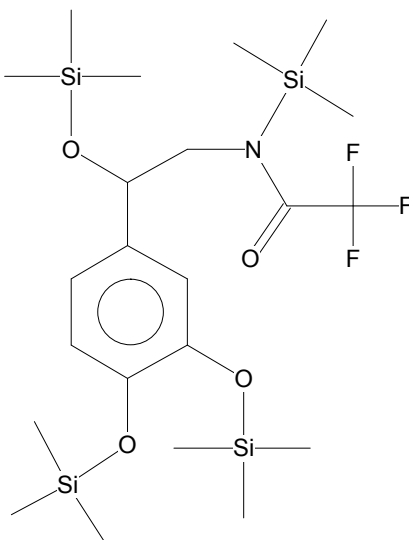
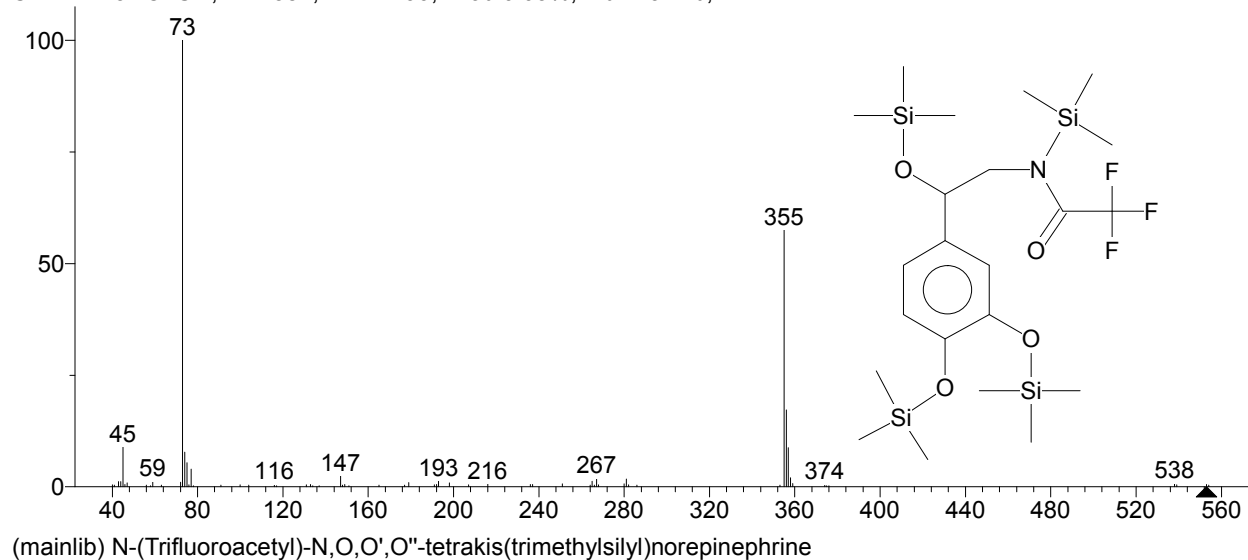
1.Hexadecamethylheptasiloxane

2.1,1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,13-Hexadecamethylheptasiloxane #

Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar:1553±N/A (1)

Hit 20 : N-(Trifluoroacetyl)-N,O,O',O''-tetrakis(trimethylsilyl)norepinephrine
C₂₂H₄₂F₃NO₄Si₄; MF: 587; RMF: 799; Prob 0.03%; Lib: mainlib; ID: 44144.



Name: N-(Trifluoroacetyl)-N,O,O',O''-tetrakis(trimethylsilyl)norepinephrine

Formula: C₂₂H₄₂F₃NO₄Si₄

MW: 553 Exact Mass: 553.2143 NIST#: 72267 ID#: 44144 DB: mainlib

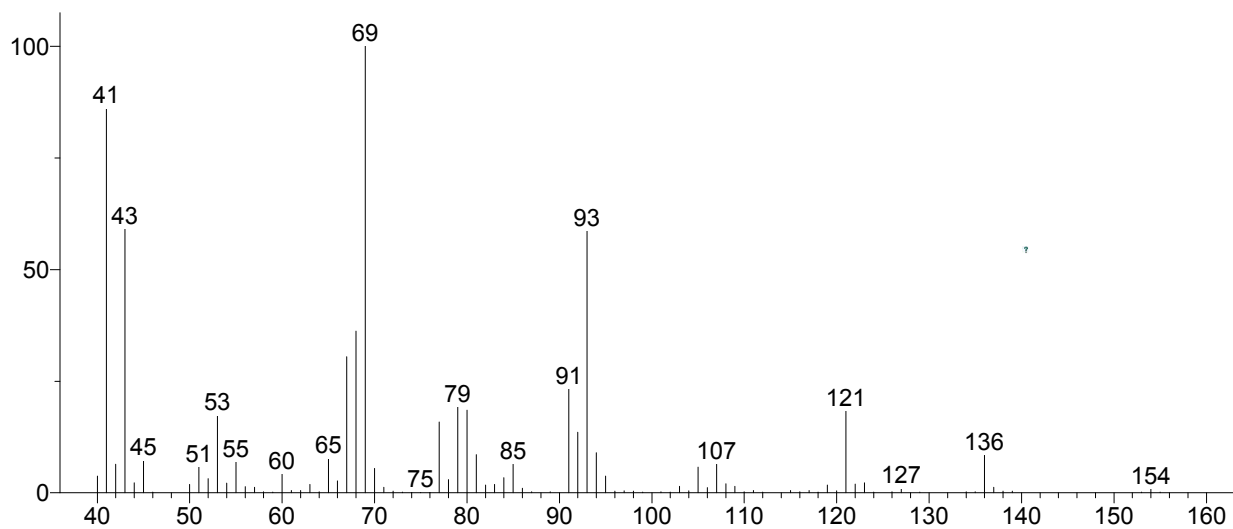
Contributor: F.A.J.MUSKIET, LAB. CLIN. CHEM., UNIV. HOSP., GRONINGEN, NET

InChIKey: JUWADJGDSYFFCZ-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.N-(2-(3,4-Bis[(trimethylsilyl)oxy]phenyl)-2-[(trimethylsilyl)oxy]ethyl)-2,2,2-trifluoro-N-(trimethylsilyl)acetamide #

Unknown; InLib=-138



(Text File) 15.179 min, Scan: 1729

Name: 15.179 min, Scan: 1729

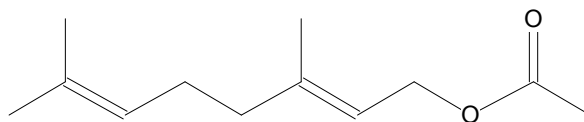
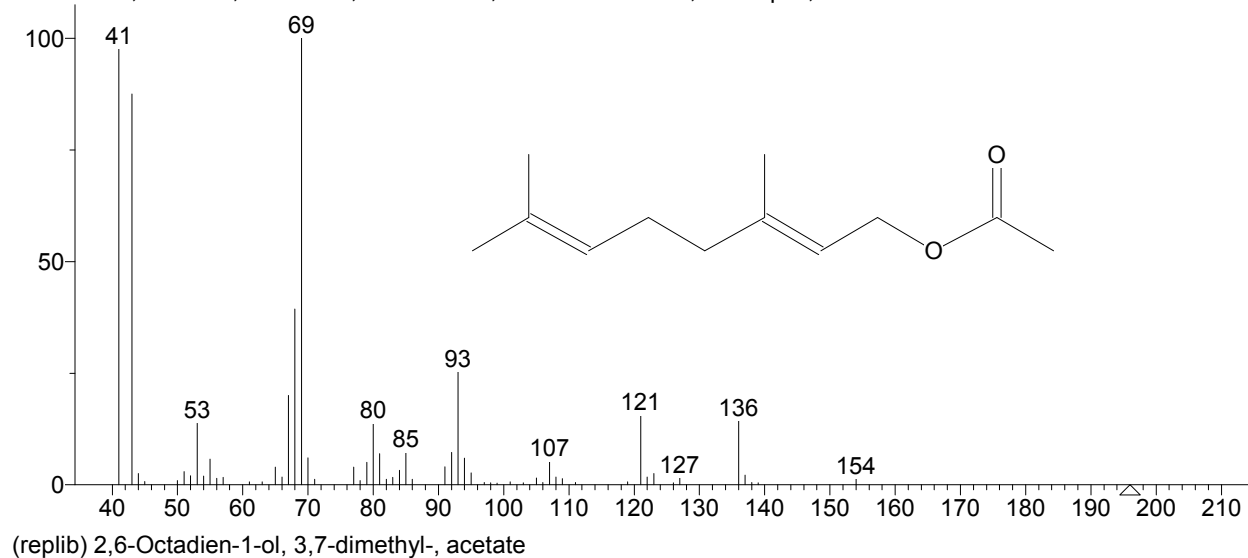
MW: N/A ID#: 30264 DB: Text File

Comment: C.DIEP_SA CHANH ENZ_5-14-2021.xms

Synonyms:

no synonyms.

Hit 1 : 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate
C₁₂H₂₀O₂; MF: 891; RMF: 902; Prob 24.0%; CAS: 16409-44-2; Lib: replib; ID: 8437.



Name: 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate

Formula: C₁₂H₂₀O₂

MW: 196 Exact Mass: 196.14633 CAS#: 16409-44-2 NIST#: 140944 ID#: 8437 DB: replib

Other DBs: HODOC, EINECS

Contributor: Mark Whitten, Florida Museum of Natural History, U. of Florida

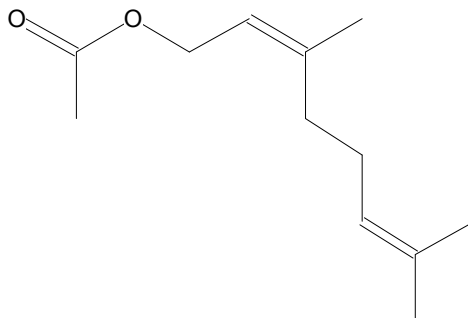
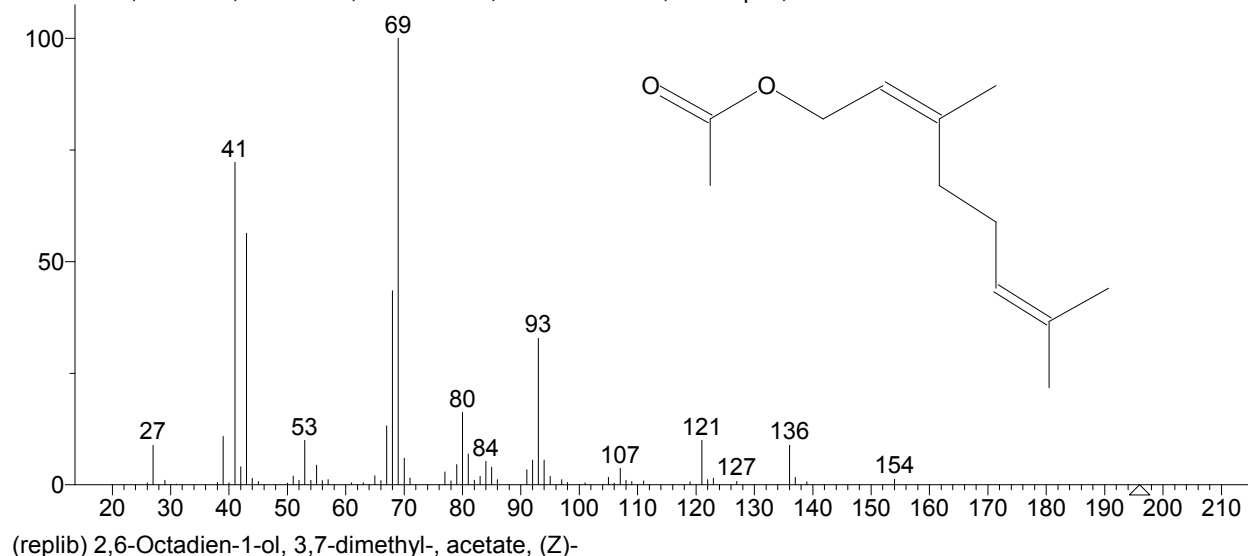
InChIKey: HIGQPQRQIQDZMP-DHZHZOJOSA-N Non-stereo

Synonyms:

1,2,6-Dimethyl-2,6-octadien-8-yl acetate

2,3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol-acetate

Hit 2 : 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-
C₁₂H₂₀O₂; MF: 882; RMF: 893; Prob 17.4%; CAS: 141-12-8; Lib: replib; ID: 8433.

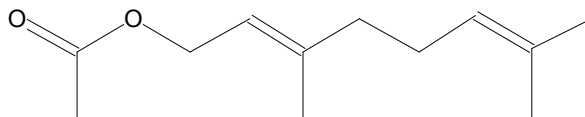
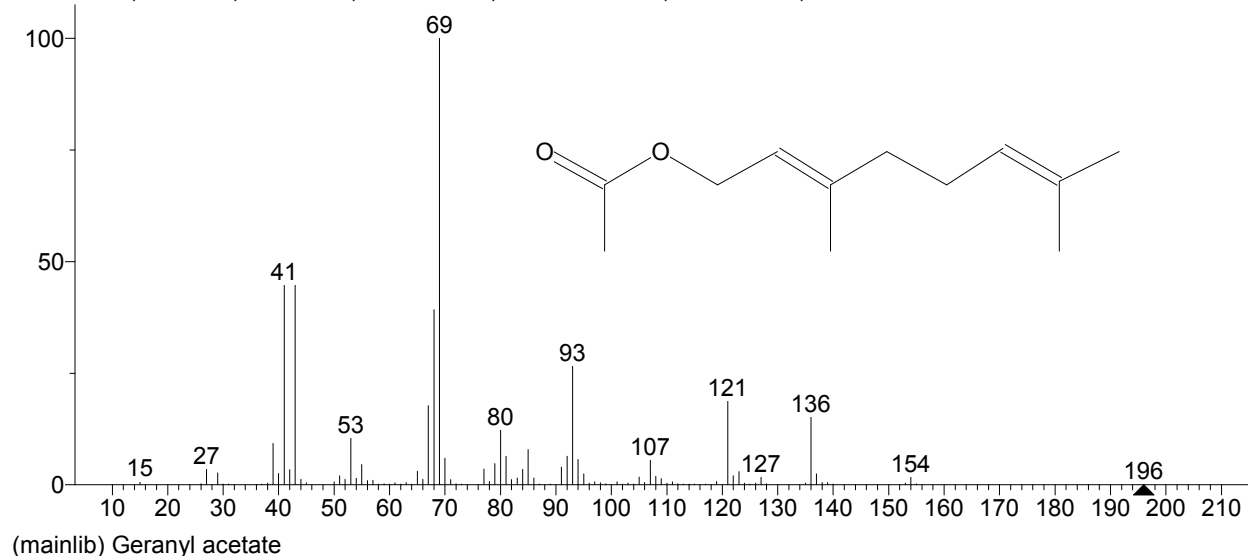


Name: 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-
Formula: C₁₂H₂₀O₂
MW: 196 Exact Mass: 196.14633 CAS#: 141-12-8 NIST#: 249586 ID#: 8433 DB: replib
Other DBs: TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS
Contributor: TNO Volatile Compounds in Food - Chemical Concepts
InChIKey: HIGQPQRQIQDZMP-FLIBITNWSA-N Non-stereo
Synonyms:
1. Nerol acetate
2. Neryl acetate
3. (2Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl acetate #
4. cis-Geranyl acetate

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar: 1364±3 (151)
Standard non-polar: 1343±2 (136)
Polar: 1724±9 (117)

Hit 3 : Geranyl acetate

C₁₂H₂₀O₂; MF: 871; RMF: 872; Prob 12.0%; CAS: 105-87-3; Lib: mainlib; ID: 34129.



Name: Geranyl acetate

Formula: C₁₂H₂₀O₂

MW: 196 Exact Mass: 196.14633 CAS#: 105-87-3 NIST#: 291328 ID#: 34129 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, NIH, EINECS

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1998.

Related CAS#: 8022-83-1; 130396-84-8

InChIKey: HIGQPQRQIQDZMP-DHZHZOJOSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (E)-

2.Acetic acid, geraniol ester

3.Bay pine (oyster) oil

4.Geraniol acetate

5.trans-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol, acetate

6.NCI-C54728

7.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, trans-

8.3,7-Dimethyl-2-trans, 6-octadienyl acetate

- 9.trans-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl acetate
- 10.trans-2,6-Dimethyl-2,6-octadien-8-yl ethanoate
- 11.Geranyl ethanoate
- 12.(E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl acetate
- 13.Meraneine
- 14.(2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl acetate #
- 15.trans-Geranyl acetate
- 16.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, 1-acetate, (2E)-
- 17.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (2E)-
- 18.NSC 2584

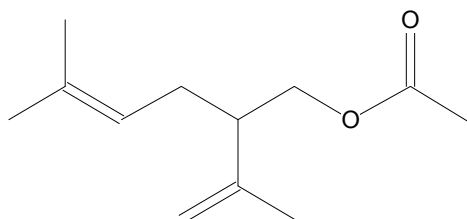
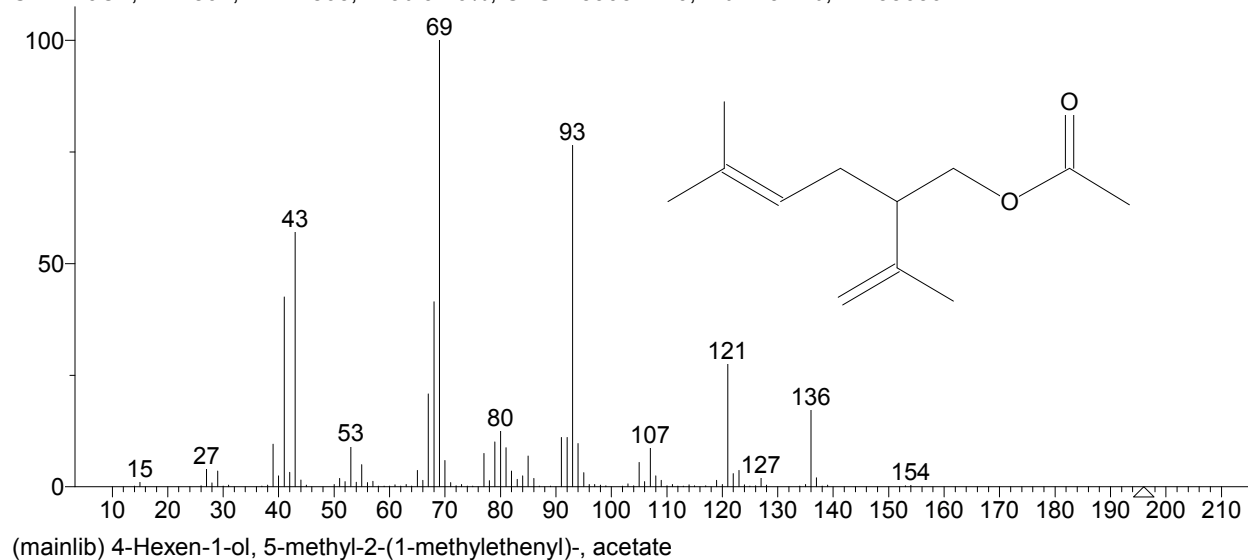
Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar:1382±3 (206)

Standard non-polar: 1361±2 (201)

Polar: 1752±11 (200)

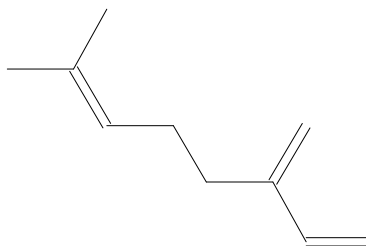
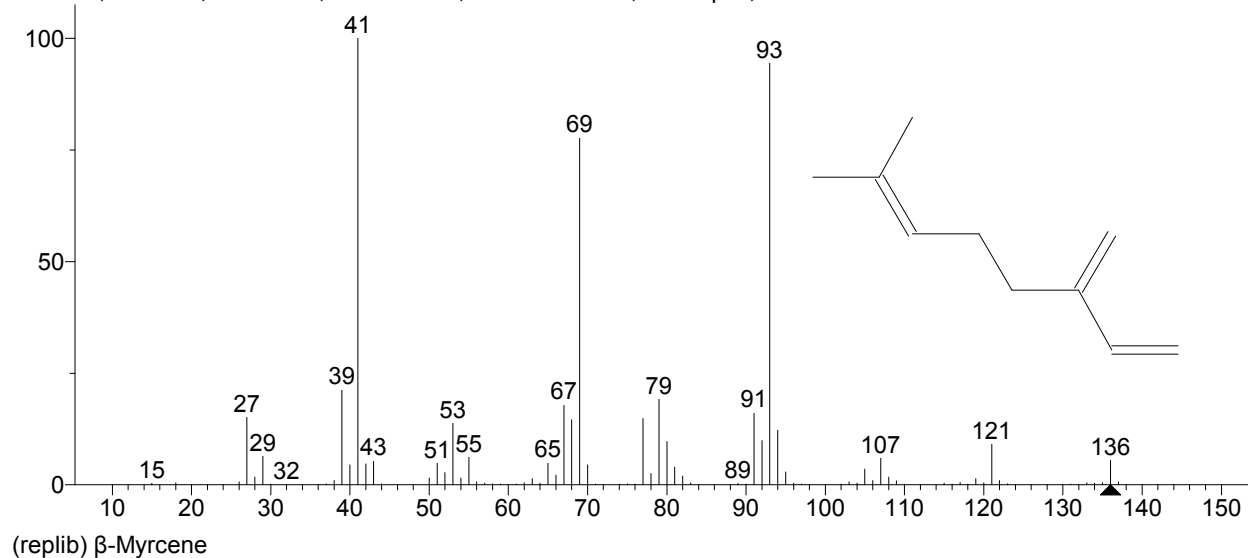
Hit 4 : 4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, acetate
C₁₂H₂₀O₂; MF: 864; RMF: 865; Prob 9.16%; CAS: 25905-14-0; Lib: mainlib; ID: 35656.



Name: 4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, acetate
Formula: C₁₂H₂₀O₂
MW: 196 Exact Mass: 196.14633 CAS#: 25905-14-0 NIST#: 352626 ID#: 35656 DB: mainlib
Other DBs: TSCA, EINECS
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: HYNQAVZPWXXQIU-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexenyl acetate #
2.(±)-Lavandulyl acetate
3.Lavandulol acetate
4.4-Hexen-1-ol, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-, 1-acetate
5.Lavandulyl acetate
6.5-Methyl-2-(prop-1-en-2-yl)hex-4-en-1-yl acetate
7.3-Acetoxyethyl-2,6-dimethyl-1,5-heptadiene

Hit 5 : β -Myrcene

C₁₀H₁₆; MF: 842; RMF: 863; Prob 3.62%; CAS: 123-35-3; Lib: replib; ID: 1330.



Name: β -Myrcene

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 Exact Mass: 136.1252 CAS#: 123-35-3 NIST#: 238431 ID#: 1330 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS, IRDB

Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-8501

Related CAS#: 2153-31-3

InChIKey: UAHWPYUMFXFJY-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-

2.Myrcene

3.7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene

4.7-Methyl-3-methyleneoctadiene-(1,6)

5.2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene

6.3-Methylene-7-methyl-1,6-octadiene

7. β -Geraniolene

8.7-Methyl-3-methyleneocta-1,6-diene

9.beta-Myrcene
10.Myrcene, β-
11.NSC 406264

Experimental RI median±deviation (#data)

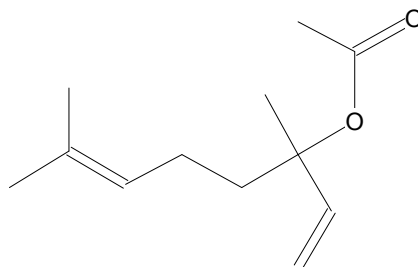
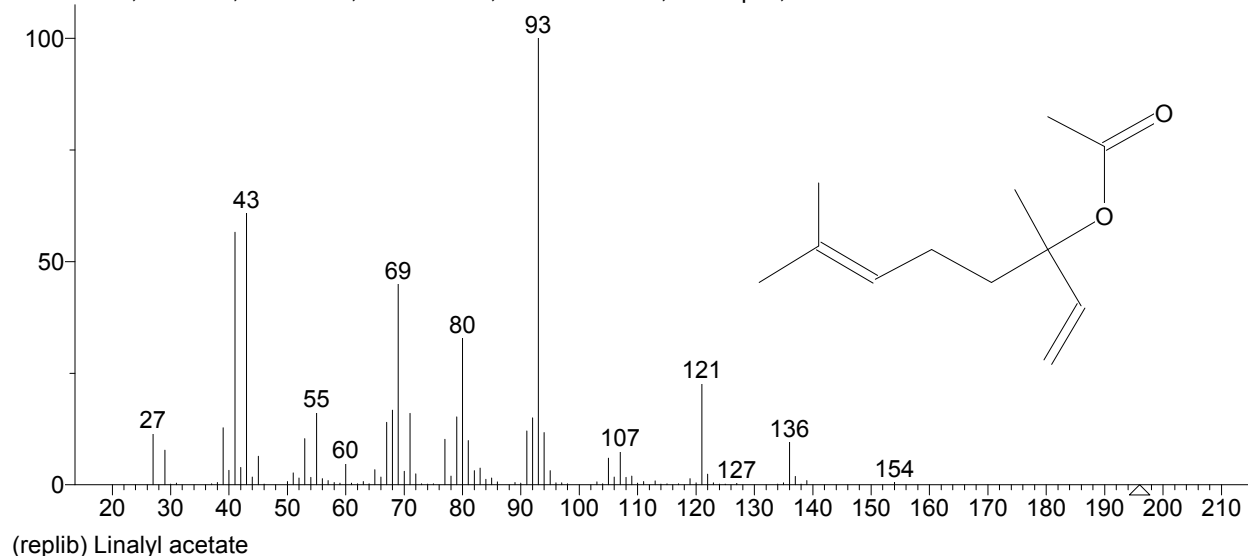
Semi-standard non-polar: 991±2 (841)

Standard non-polar: 983±3 (580)

Polar: 1161±7 (569)

Hit 6 : Linalyl acetate

C₁₂H₂₀O₂; MF: 839; RMF: 840; Prob 3.20%; CAS: 115-95-7; Lib: replib; ID: 14011.



Name: Linalyl acetate

Formula: C₁₂H₂₀O₂

MW: 196 Exact Mass: 196.14633 CAS#: 115-95-7 NIST#: 152503 ID#: 14011 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, NIH, EINECS

Contributor: Chemical Concepts

Related CAS#: 8022-85-3; 40135-38-4; 16509-66-3

InChIKey: UWKAYLJWKGQEPM-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, acetate

2.Acetic acid linalool ester

3.Bergamiol

4.Bergamol

5.Bergamot mint oil

6.Linalool acetate

7.1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl acetate

8.Licareol acetate

- 9.Linalol acetate
- 10.Linalyl acetate
- 11.3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol acetate
- 12.3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-yl acetate
- 13.Phanteine
- 14.(±)-Linalyl acetate
- 15.1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, 3-acetate
- 16.Linaloyl acetate
- 17.NSC 2138

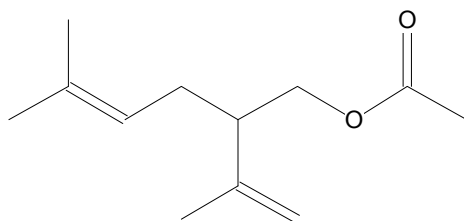
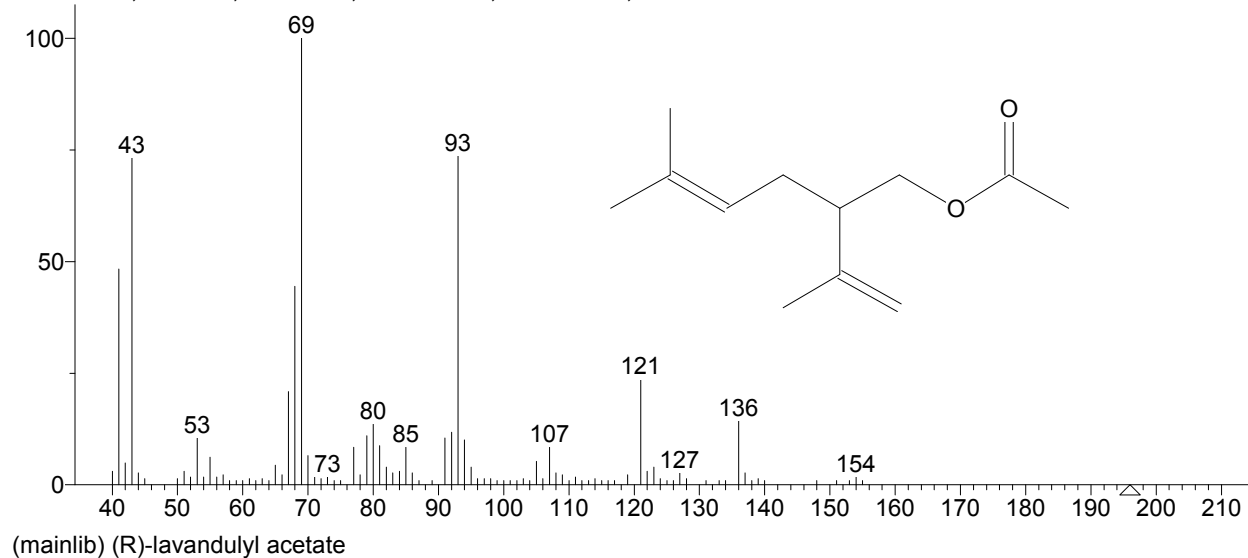
Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar:1257±3 (153)

Standard non-polar: 1241±3 (116)

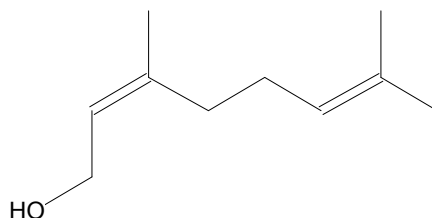
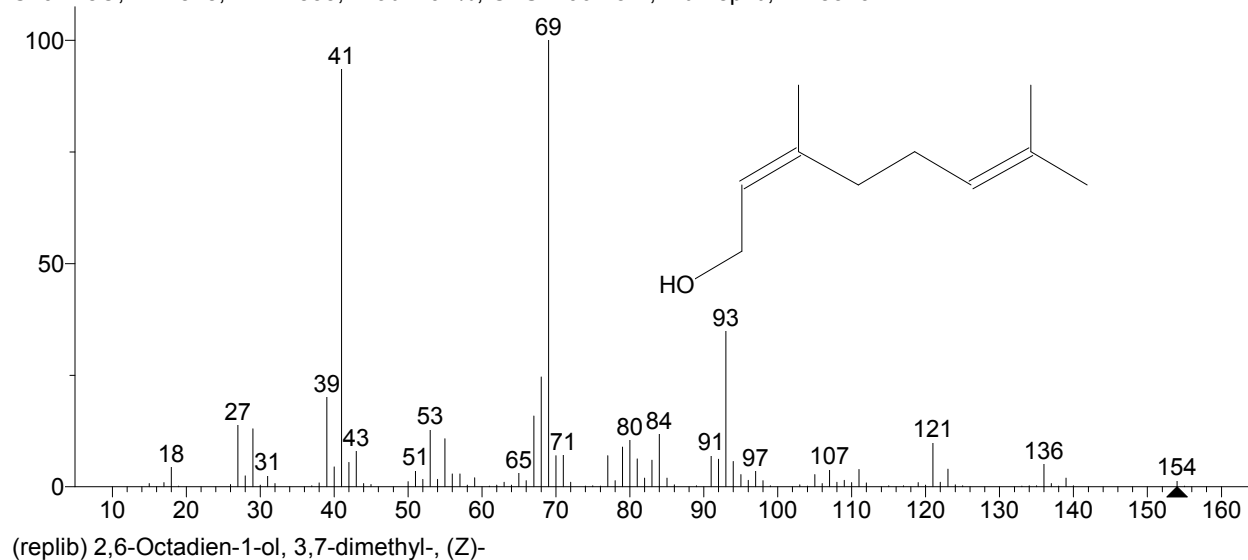
Polar: 1555±10 (99)

Hit 7 : (R)-lavandulyl acetate
C₁₂H₂₀O₂; MF: 833; RMF: 834; Prob 2.51%; Lib: mainlib; ID: 35654.



Name: (R)-lavandulyl acetate
Formula: C₁₂H₂₀O₂
MW: 196 Exact Mass: 196.14633 NIST#: 360396 ID#: 35654 DB: mainlib
Contributor: J.G.C. Hamilton ET AL, J. Chem. Ecology, 31, 1369 (2005)
InChIKey: HYNGAVZPWWXQIU-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
no synonyms.

Hit 8 : 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-
C₁₀H₁₈O; MF: 828; RMF: 833; Prob 2.02%; CAS: 106-25-2; Lib: replib; ID: 8529.



Name: 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-
Formula: C₁₀H₁₈O
MW: 154 Exact Mass: 154.135765 CAS#: 106-25-2 NIST#: 233928 ID#: 8529 DB: replib
Other DBs: TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS, IRDB
Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-1493
InChIKey: GLZPCOQZEFWAFX-YFHOEESVSA-N Non-stereo
Synonyms:

- 1.cis-Geraniol
- 2.cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol
- 3.Nerol
- 4.Neryl alcohol
- 5.2-cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol
- 6.(2Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol #
- 7.(Z)-Geraniol
- 8.cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadien-8-ol
- 9.(Z)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol

10.(Z)-Nerol
11.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (2Z)-
12.3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol, cis-

Experimental RI median±deviation (#data)

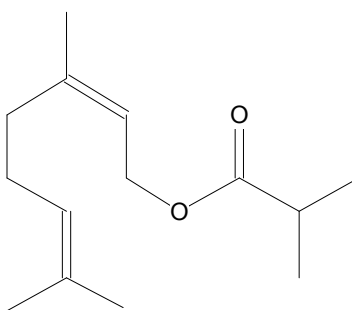
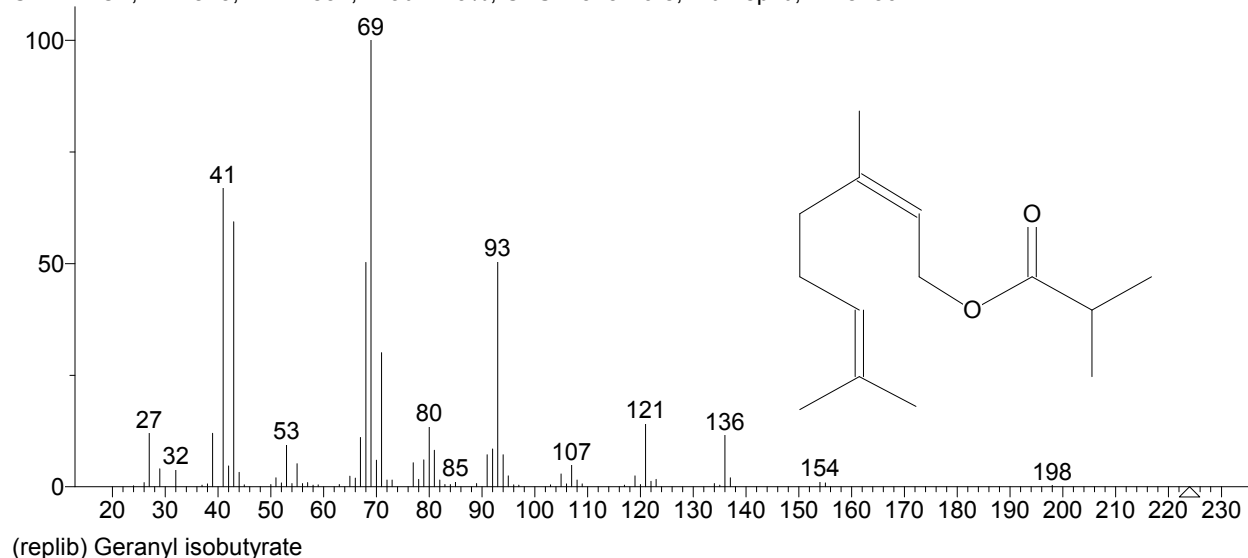
Semi-standard non-polar: 1228±2 (174)

Standard non-polar: 1213±5 (160)

Polar: 1797±11 (229)

Hit 9 : Geranyl isobutyrate

C₁₄H₂₄O₂; MF: 825; RMF: 837; Prob 1.79%; CAS: 2345-26-8; Lib: replib; ID: 8430.



Name: Geranyl isobutyrate

Formula: C₁₄H₂₄O₂

MW: 224 Exact Mass: 224.17763 CAS#: 2345-26-8 NIST#: 249339 ID#: 8430 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, EINECS

Contributor: TNO Volatile Compounds in Food - Chemical Concepts

InChIKey: OGJYXQFXLSCKTP-LCYFTJDESA-N Non-stereo

Synonyms:

1. Propanoic acid, 2-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (E)-
2. Isobutyric acid, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (E)-
3. Isobutyric acid, (E)-3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester
4. 3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl isobutyrate, (E)-
5. Propionic acid, 2-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, trans-
6. trans-3-7-Dimethyl-2,6-octadienyl isobutyrate
7. Isobutyric acid, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, trans-
8. 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, isobutyrate, trans-
9. Propanoic acid, 2-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, trans-

10. Geranyl iso-butyrate
11. (2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl 2-methylpropanoate #
12. Geranyl 2-methylpropanoate
13. Geranyl isobutanoate
14. Geraniol isobutyrate
15. Propanoic acid, 2-methyl-, (2E)-3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-yl ester
16. Propanoic acid, 2-methyl-, (2E)-3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester

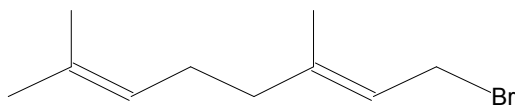
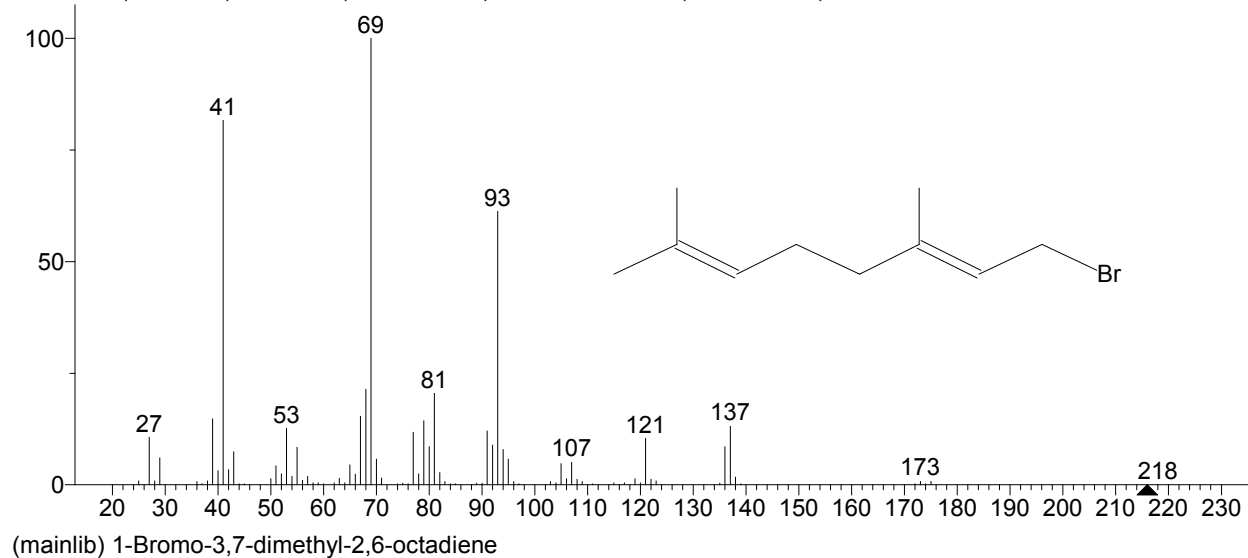
Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar: 1514±2 (12)

Standard non-polar: 1492±2 (8)

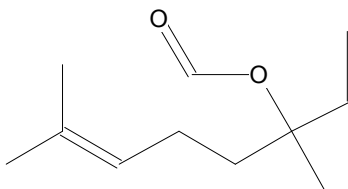
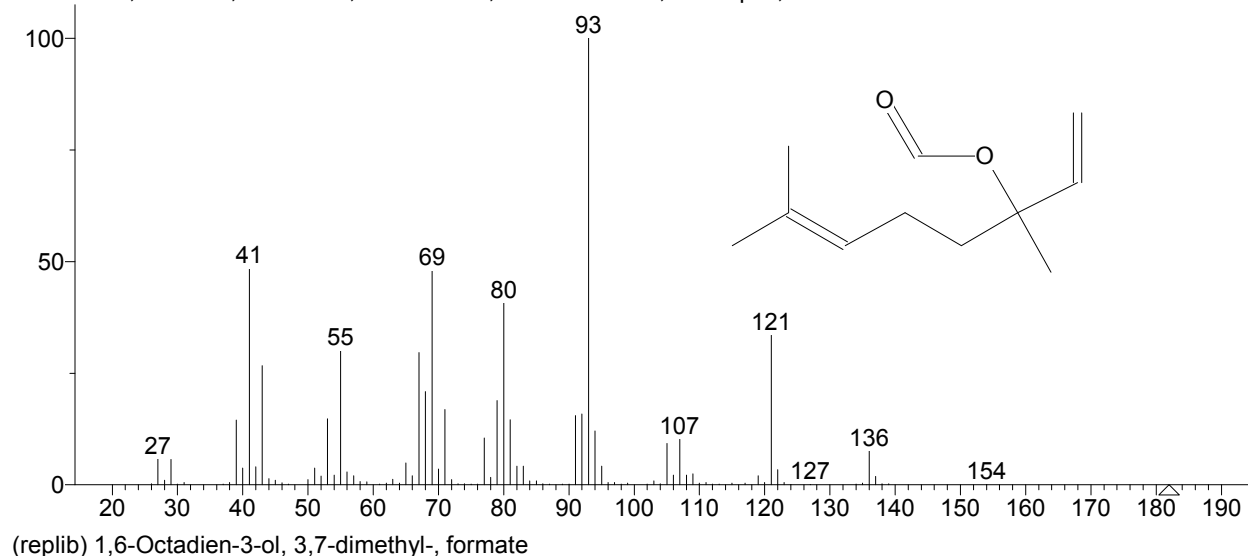
Polar: 1819±13 (8)

Hit 10 : 1-Bromo-3,7-dimethyl-2,6-octadiene
C₁₀H₁₇Br; MF: 824; RMF: 829; Prob 1.72%; CAS: 35719-26-7; Lib: mainlib; ID: 34432.



Name: 1-Bromo-3,7-dimethyl-2,6-octadiene
Formula: C₁₀H₁₇Br
MW: 216 Exact Mass: 216.051363 CAS#: 35719-26-7 NIST#: 190270 ID#: 34432 DB: mainlib
Other DBs: Fine
Contributor: Chemical Concepts
InChIKey: JSCUZAYKVZ XKQE-JXMROGBWSA-N Non-stereo
Synonyms:
1,2,6-Octadiene, 1-bromo-3,7-dimethyl-

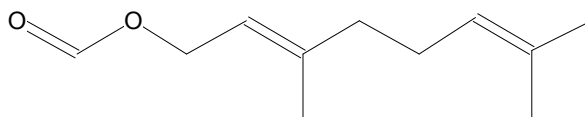
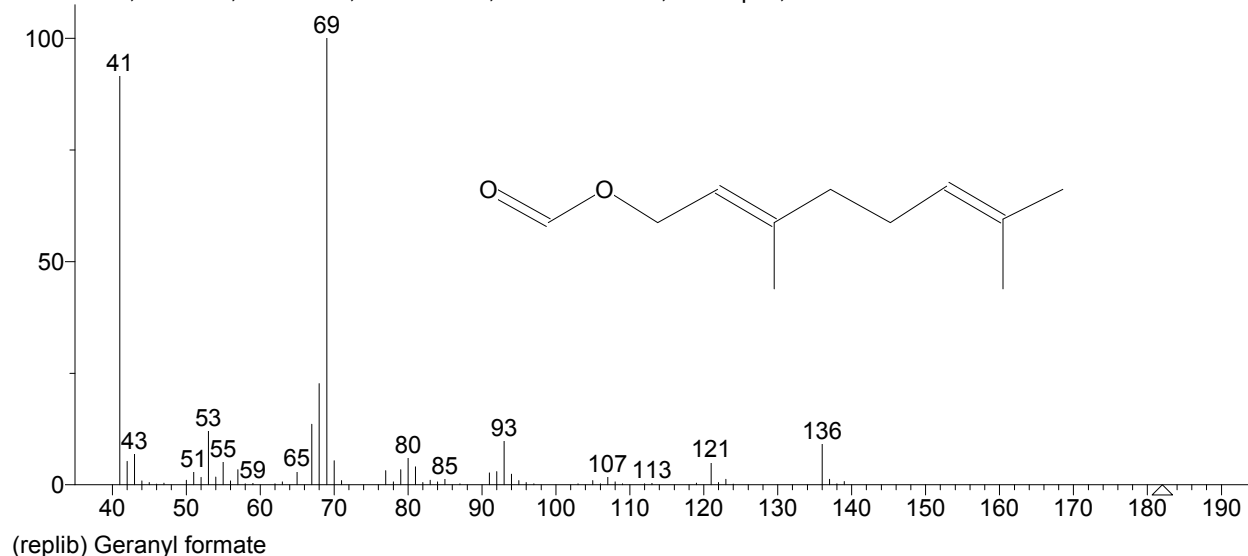
Hit 11 : 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, formate
C₁₁H₁₈O₂; MF: 824; RMF: 827; Prob 1.72%; CAS: 115-99-1; Lib: replib; ID: 13990.



Name: 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, formate
Formula: C₁₁H₁₈O₂
MW: 182 Exact Mass: 182.13068 CAS#: 115-99-1 NIST#: 413538 ID#: 13990 DB: replib
Other DBs: TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: JZOCDHMHLGUPFI-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.Linalool, formate
2.Linalyl formate
3.Linolool, formate
4.1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl formate #

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar:1215±16 (10)
Standard non-polar: 1206±1 (7)
Polar: 1570±9 (5)

Hit 12 : Geranyl formate
C₁₁H₁₈O₂; MF: 813; RMF: 827; Prob 1.18%; CAS: 105-86-2; Lib: replib; ID: 8489.



Name: Geranyl formate
Formula: C₁₁H₁₈O₂
MW: 182 Exact Mass: 182.13068 CAS#: 105-86-2 NIST#: 141011 ID#: 8489 DB: replib
Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, HODOC, NIH, EINECS, IRDB
Contributor: Mark Whitten, Florida Museum of Natural History, U. of Florida
InChIKey: FQMZVFJYMPNUCT-YRNVUSSQSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, formate, (E)-
2.Geraniol formate
3.trans-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol formate
4.trans-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-yl formate
5.Formic acid, geraniol ester
6.Formic acid, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (E)-
7.(2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl formate
8.(E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol formate
9.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, 1-formate, (2E)-

10.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, formate, (2E)-
11.NSC 21736

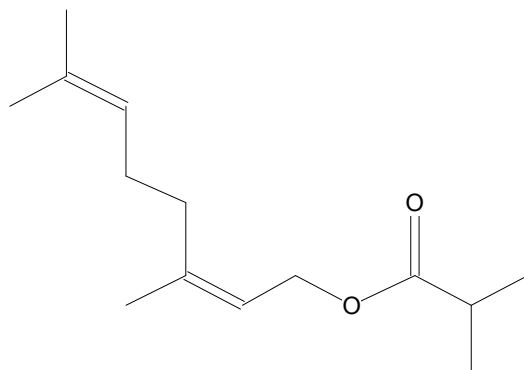
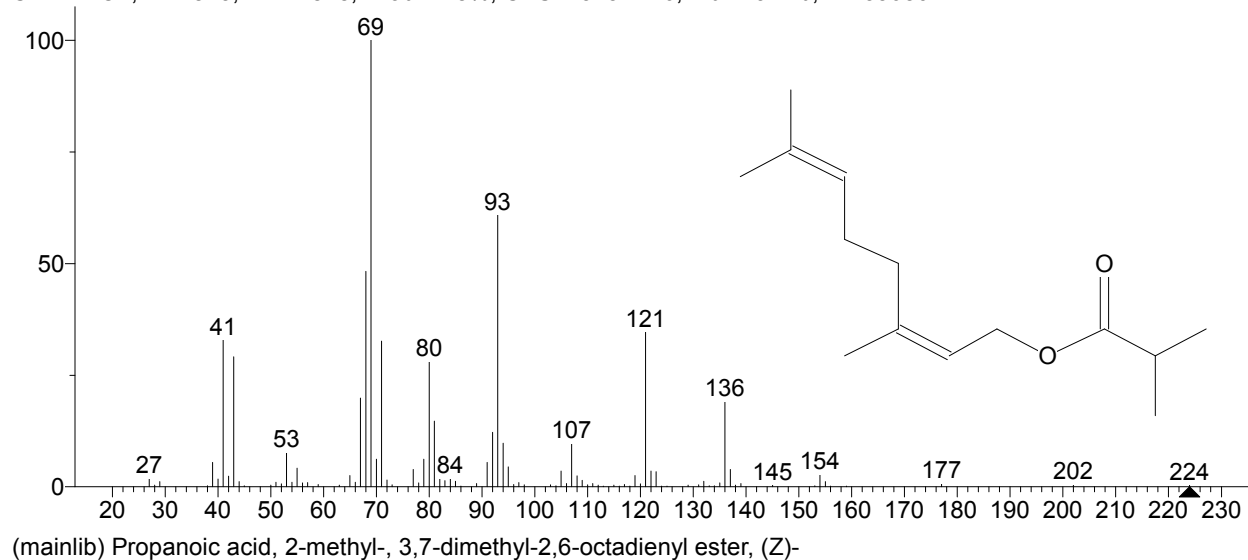
Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar: 1300±4 (23)

Standard non-polar: 1282±2 (34)

Polar: 1695±11 (17)

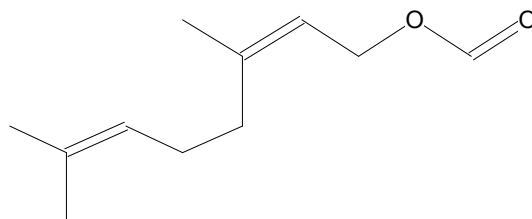
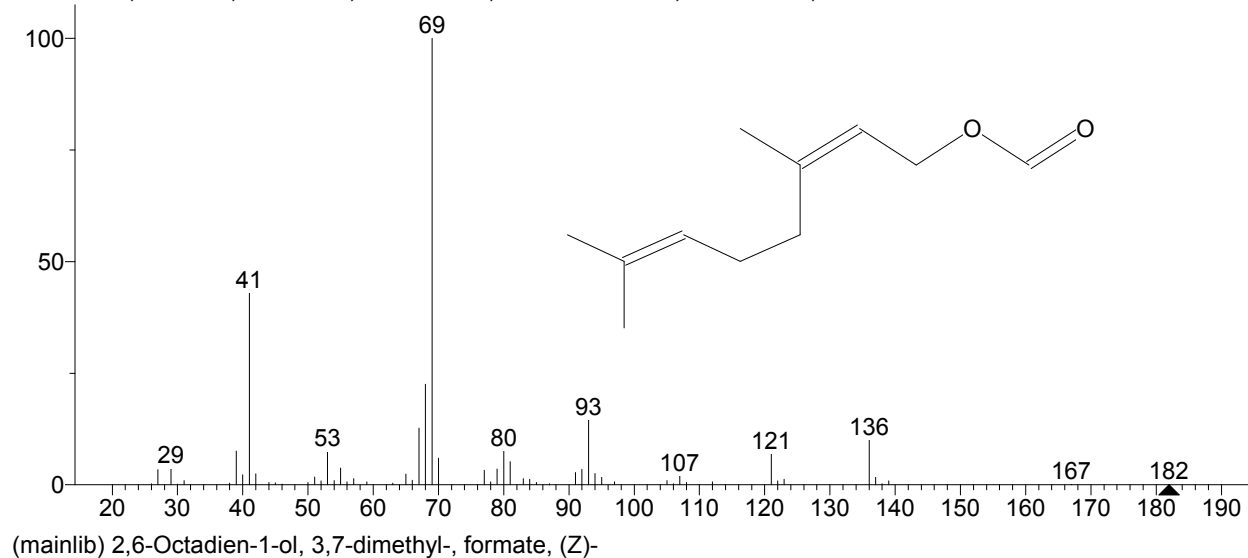
Hit 13 : Propanoic acid, 2-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (Z)-
C₁₄H₂₄O₂; MF: 813; RMF: 818; Prob 1.18%; CAS: 2345-24-6; Lib: mainlib; ID: 35680.



Name: Propanoic acid, 2-methyl-, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (Z)-
Formula: C₁₄H₂₄O₂
MW: 224 Exact Mass: 224.17763 CAS#: 2345-24-6 NIST#: 413798 ID#: 35680 DB: mainlib
Other DBs: TSCA, RTECS, EINECS
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: OGJYXQFXLSCKTP-LCYFTJDESA-N Non-stereo
Synonyms:
no synonyms.

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar: 1487±4 (5)
Standard non-polar: 1475±6 (10)
Polar: 1780±10 (9)

Hit 14 : 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, formate, (Z)-
C₁₁H₁₈O₂; MF: 812; RMF: 864; Prob 1.13%; CAS: 2142-94-1; Lib: mainlib; ID: 34295.



Name: 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, formate, (Z)-

Formula: C₁₁H₁₈O₂

MW: 182 Exact Mass: 182.13068 CAS#: 2142-94-1 NIST#: 412584 ID#: 34295 DB: mainlib

Other DBs: TSCA, RTECS, EINECS

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center

InChIKey: FQMZVFJYMPNUCT-XFFZJAGNSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol, formate

2.Formic acid, neryl ester

3.Neryl formate

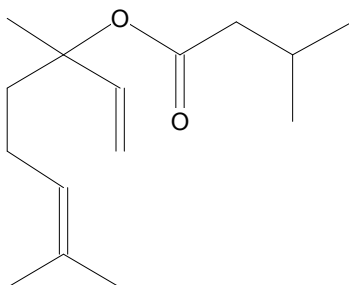
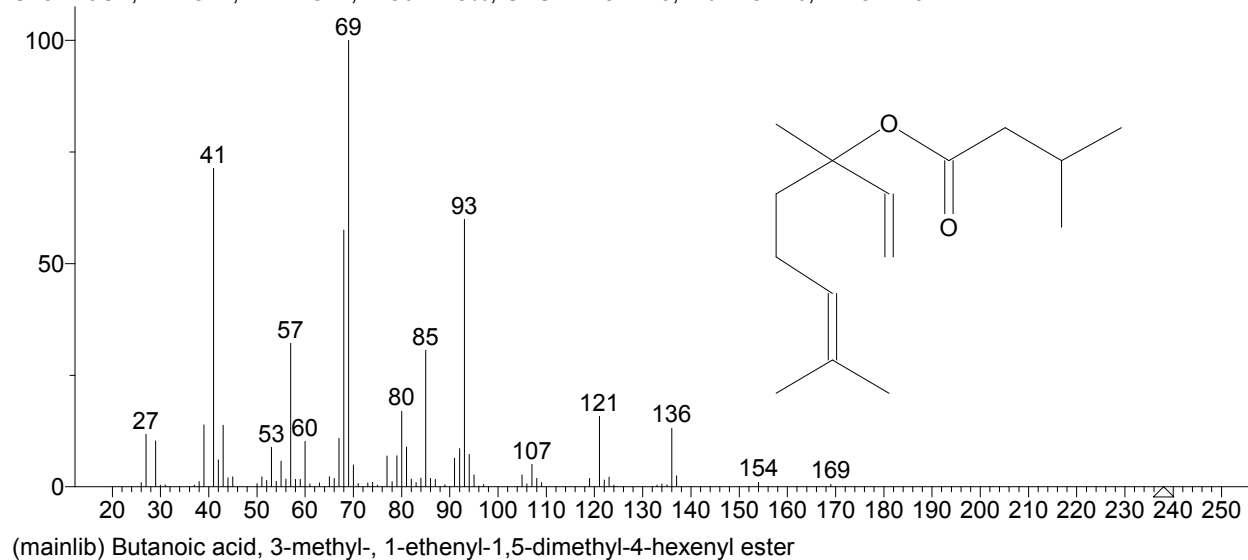
Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar:1283±2 (6)

Standard non-polar: 1267±3 (15)

Polar: 1666±3 (9)

Hit 15 : Butanoic acid, 3-methyl-, 1-ethenyl-1,5-dimethyl-4-hexenyl ester
C₁₅H₂₆O₂; MF: 812; RMF: 822; Prob 1.13%; CAS: 1118-27-0; Lib: mainlib; ID: 34429.

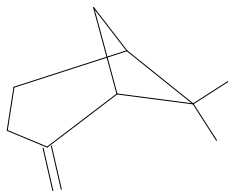
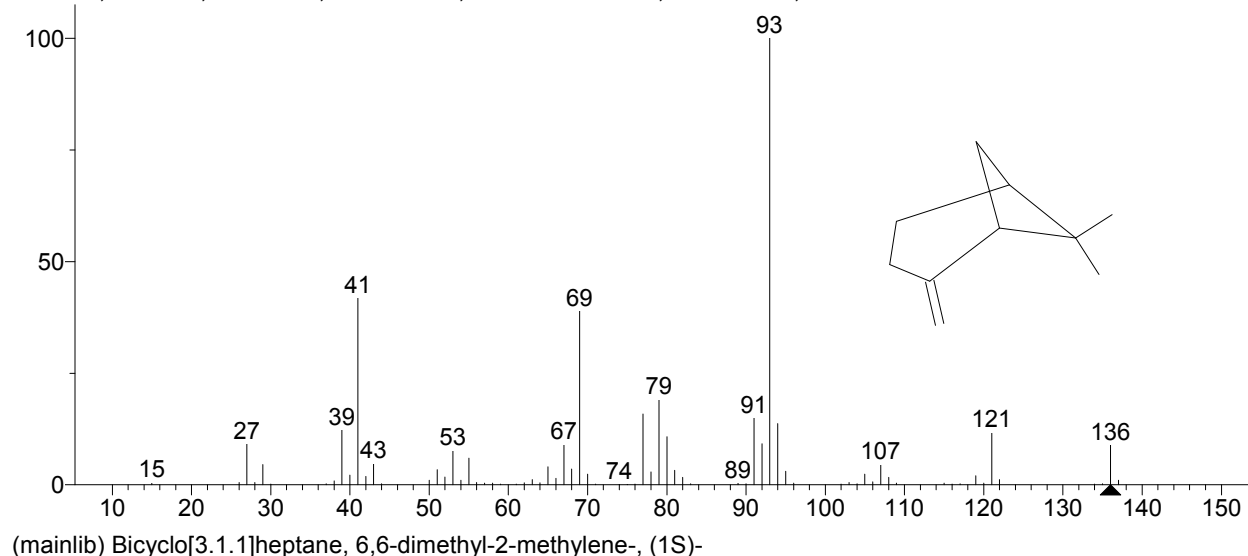


Name: Butanoic acid, 3-methyl-, 1-ethenyl-1,5-dimethyl-4-hexenyl ester
Formula: C₁₅H₂₆O₂
MW: 238 Exact Mass: 238.19328 CAS#: 1118-27-0 NIST#: 249342 ID#: 34429 DB: mainlib
Other DBs: TSCA, RTECS, EINECS
Contributor: TNO Volatile Compounds in Food - Chemical Concepts
Related CAS#: 50649-12-2
InChIKey: WCDGWAIZRYMVOW-UHFFFAOYSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.Linalyl 3-methylbutanoate
2.Linalyl iso-valerate
3.1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenyl 3-methylbutanoate #
4.Isovaleric acid, linalyl ester
5.Butanoic acid, 3-methyl-, 1-ethenyl-1,5-dimethyl-4-hexen-1-yl ester
6.1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, isovalerate

Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar: 1473±N/A (1)
Standard non-polar: 1484±N/A (1)
Polar: 1853±N/A (1)

Hit 16 : Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-
C₁₀H₁₆; MF: 810; RMF: 834; Prob 1.04%; CAS: 18172-67-3; Lib: mainlib; ID: 65778.



Name: Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 Exact Mass: 136.1252 CAS#: 18172-67-3 NIST#: 232339 ID#: 65778 DB: mainlib

Other DBs: Fine, TSCA, EPA, EINECS, IRDB

Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-3680

InChIKey: WTARULDDTDQWMU-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1.2(10)-Pinene, (1S,5S)-(-)-

2.(-)-β-Pinene

3.(-)-2(10)-Pinene

4.L-β-Pinene

5.(1S)-(-)-β-Pinene

6.laevo-β-Pinene

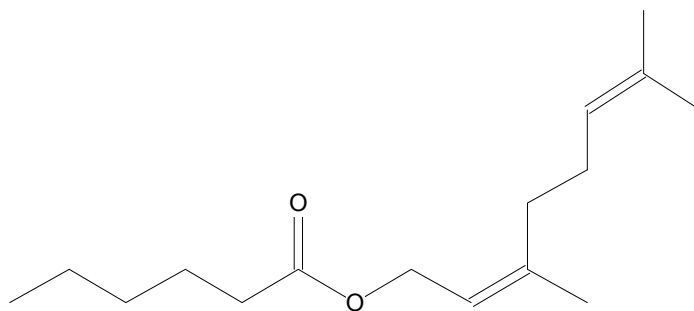
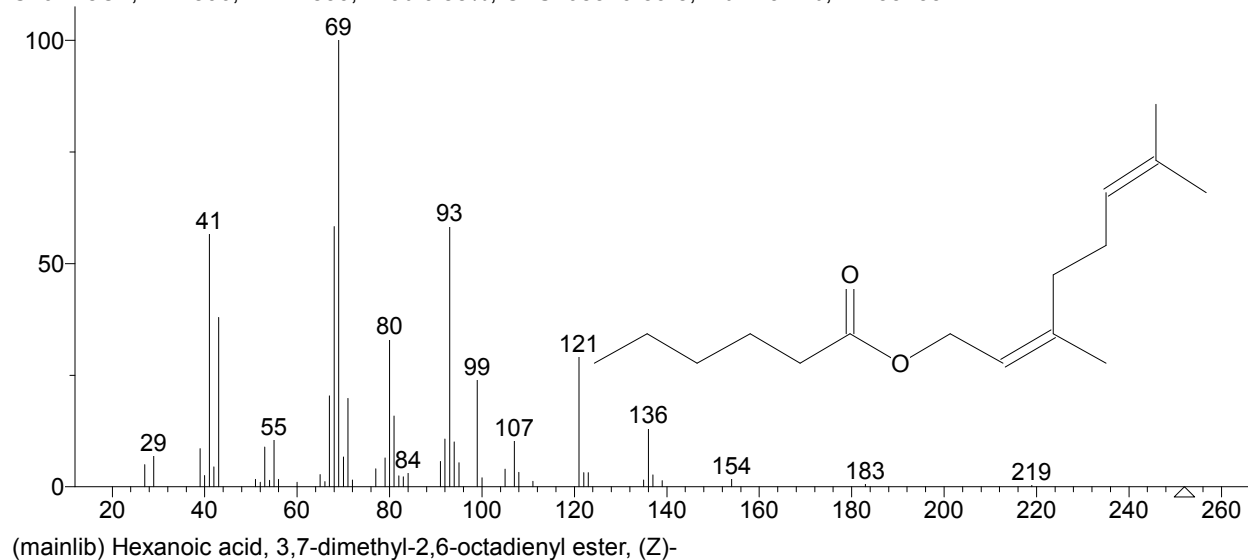
7.6,6-Dimethyl-2-methylenebicyclo[3.1.1]heptane-, (S)-

8.(-)-beta-Pinene

9.Bicyclo(3.1.1)heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S,5S)-

10.(-)-Pin-2(10)-ene
11.β-Pinene-(1S)-(-)

Hit 17 : Hexanoic acid, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (Z)-
C₁₆H₂₈O₂; MF: 806; RMF: 839; Prob 0.88%; CAS: 68310-59-8; Lib: mainlib; ID: 35255.

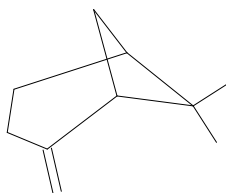
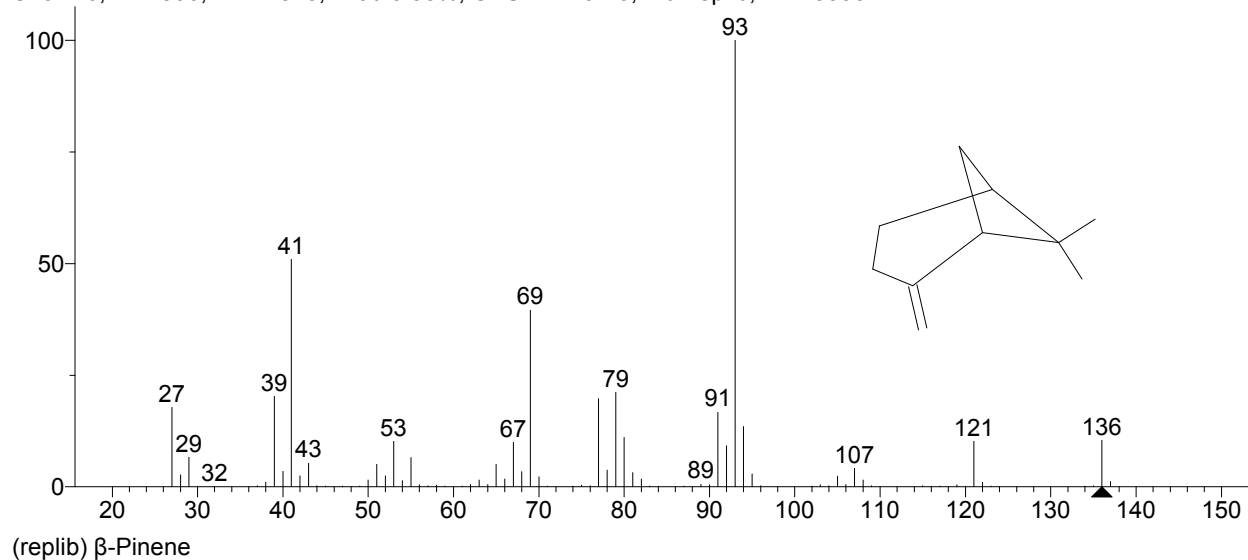


Name: Hexanoic acid, 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl ester, (Z)-
Formula: C₁₆H₂₈O₂
MW: 252 Exact Mass: 252.20893 CAS#: 68310-59-8 NIST#: 412656 ID#: 35255 DB: mainlib
Other DBs: TSCA, EINECS
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center
InChIKey: ARVSCQUZFFSNKF-QINSGFPZSA-N Non-stereo
Synonyms:
no synonyms.

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar: 1732±N/A (1)
Standard non-polar: 1709±N/A (1)
Polar: 2033±2 (5)

Hit 18 : β -Pinene

C₁₀H₁₆; MF: 806; RMF: 828; Prob 0.88%; CAS: 127-91-3; Lib: replib; ID: 13995.



Name: β -Pinene

Formula: C₁₀H₁₆

MW: 136 Exact Mass: 136.1252 CAS#: 127-91-3 NIST#: 149871 ID#: 13995 DB: replib

Other DBs: TSCA, RTECS, NIH, EINECS, IRDB

Contributor: Chemical Concepts

Related CAS#: 23089-32-9

InChIKey: WTARULDDTDQWMU-UHFFFAOYSA-N Non-stereo

Synonyms:

1. Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-

2.2(10)-Pinene

3. Nopinene

4. Nopinene

5. Pseudopinene

6. Pseudopinene

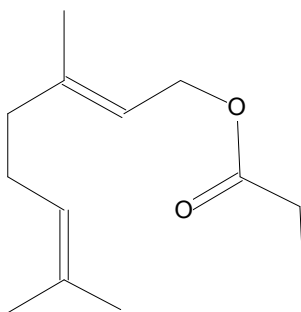
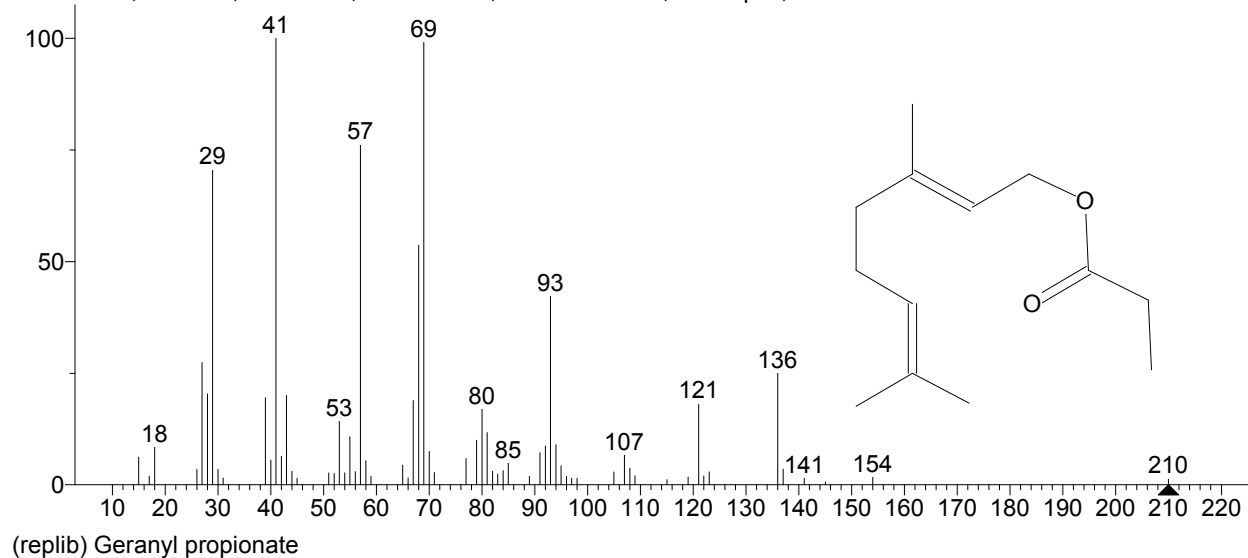
7. Terebenthene

8. 6,6-Dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.1]heptane

9.Pinene, β
10.2,2,6-Trimethylbicyclo(3.1.1)hept-2-ene
11.Bicyclo[3.1.1]heptane-6,6-trimethyl, 2-methylene
12.(\pm)- β -Pinene
13.NSC 21447
14.beta-Pinene

Experimental RI median \pm deviation (#data)
Semi-standard non-polar:979 \pm 2 (849)
Standard non-polar: 973 \pm 5 (587)
Polar: 1112 \pm 7 (520)

Hit 19 : Geranyl propionate
C₁₃H₂₂O₂; MF: 806; RMF: 824; Prob 0.88%; CAS: 105-90-8; Lib: replib; ID: 1215.



Name: Geranyl propionate
Formula: C₁₃H₂₂O₂
MW: 210 Exact Mass: 210.16198 CAS#: 105-90-8 NIST#: 9677 ID#: 1215 DB: replib
Other DBs: TSCA, RTECS, EINECS
InChIKey: BYCHQEILESTMQU-FMIVXFBMSA-N Non-stereo
Synonyms:
1.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, propanoate, (E)-
2.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate, (E)-
3.trans-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl propionate
4.Geranyl n-propionate
5.Geranyl n-propanoate
6.Geranyl propanoate
7.(2E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadienyl propionate
8.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, 1-propanoate, (2E)-
9.Propionic acid, geranyl ester
10.(E)-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol propanoate

11.2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, propanoate, (2E)-

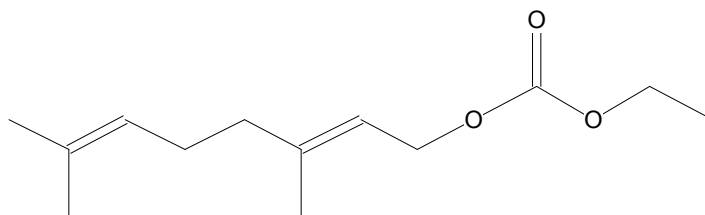
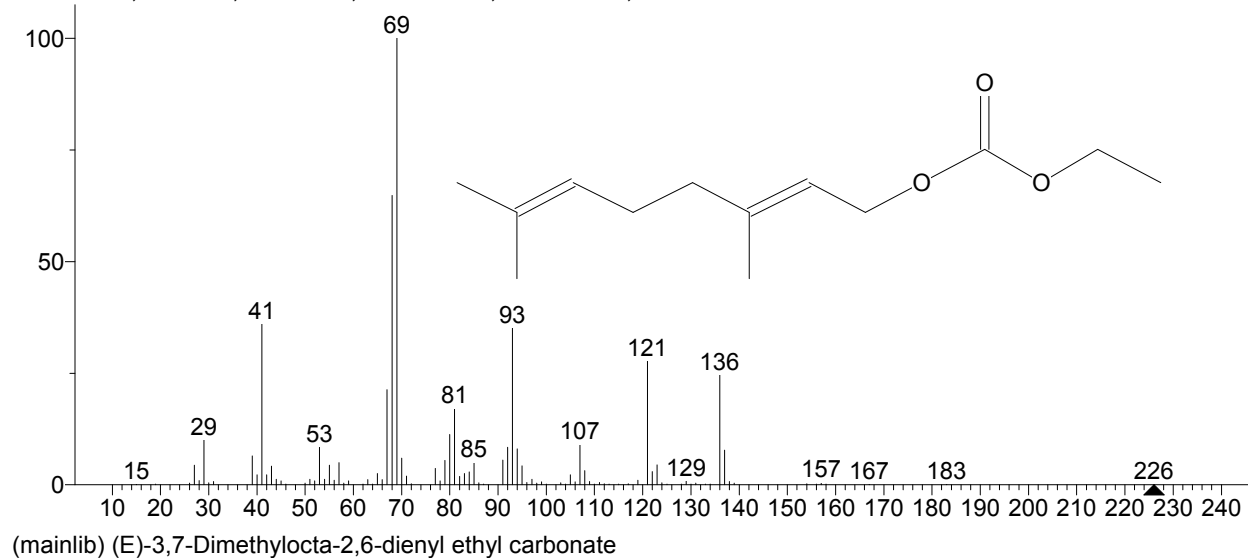
Experimental RI median±deviation (#data)

Semi-standard non-polar: 1475±3 (17)

Standard non-polar: 1448±2 (21)

Polar: 1816±12 (18)

Hit 20 : (E)-3,7-Dimethylocta-2,6-dienyl ethyl carbonate
C₁₃H₂₂O₃; MF: 800; RMF: 806; Prob 0.69%; Lib: mainlib; ID: 35211.



Name: (E)-3,7-Dimethylocta-2,6-dienyl ethyl carbonate
Formula: C₁₃H₂₂O₃
MW: 226 Exact Mass: 226.156895 NIST#: 373767 ID#: 35211 DB: mainlib
Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 2010
InChIKey: VHCQYGMNMOULRZ-FMIVXFBMSA-N Non-stereo
Synonyms:
no synonyms.

Experimental RI median±deviation (#data)
Semi-standard non-polar:1553±N/A (1)

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

BÁO CÁO TỔNG KẾT

ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CỦA SINH VIÊN

**BUỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN
HÓA HỌC CỦA LÁ PHÚC BỒN TỬ
TRỒNG TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG**

Thuộc lĩnh vực khoa học và công nghệ: Khoa học Tự nhiên (Hóa học)

Lâm Đồng, tháng 5/2021

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

**BÁO CÁO TỔNG KẾT
ĐỀ TÀI KHOA HỌC SINH VIÊN NĂM 2021**

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN
HÓA HỌC CỦA LÁ PHÚC BỒN TỬ
TRỒNG TẠI TỈNH LÂM ĐỒNG**

Thuộc nhóm ngành khoa học: Khoa học Tự nhiên

Sinh viên thực hiện:

Lê Thị Diễm Trinh (chủ nhiệm đề tài)

Nguyễn Lê Huệ Anh

Nguyễn Phi Hồ

Nguyễn Thành Long

Nguyễn Thị Hoàng Yến

Người hướng dẫn: PGS. TS. Trịnh Thị Điệp

Lâm Đồng, tháng 5/2021

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1 – TỔNG QUAN	3
1.1. Tổng quan về chi <i>Rubus</i>	3
1.2. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của chi <i>Rubus</i>	11
1.2.1. Nghiên cứu thành phần hóa học của quả chi <i>Rubus</i>	11
1.2.2. Nghiên cứu thành phần hóa học của lá chi <i>Rubus</i>	13
1.2.3. Nghiên cứu thành phần hóa học của hạt chi <i>Rubus</i>	14
1.3. Hoạt tính sinh học của chi <i>Rubus</i>	15
1.4. Các phương pháp chiết xuất	16
1.5. Các phương pháp tách bằng sắc ký	18
1.5.1. Sắc ký lớp mỏng (SKLM)	19
1.5.1.1. Nguyên lý	19
1.5.1.2. Chất hấp thụ	19
1.5.1.3. Lựa chọn dung môi	20
1.5.2. Sắc ký trao đổi ion	20
CHƯƠNG 2 - ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP, NỘI DUNG NGHIÊN CỨU	21
2.1. Đối tượng nghiên cứu	21
2.2. Thời gian thực hiện đề tài	24
2.3. Phương pháp nghiên cứu	24
2.3.1. Phương pháp xác định độ ẩm	24
2.3.2. Phương pháp định tính bằng phản ứng hoá học	24
2.3.3. Phương pháp phân tích bằng sắc kí lớp mỏng	24
2.3.4. Phương pháp định lượng polyphenol	24
CHƯƠNG 3 – THỰC NGHIỆM	25
3.1. Hoá chất và thiết bị	25
3.1.1. Hoá chất	25

3.1.2. Dụng cụ và thiết bị	25
3.2. Tiến hành thí nghiệm	26
3.2.1. Nguyên liệu	26
3.2.2. Xác định độ ẩm trên mẫu khô	26
3.2.3. Định tính một số nhóm chất trong lá phúc bồn tử	26
3.2.3.1. Định tính các thành phần trong dịch chiết n - hexan	26
3.2.3.2. Định tính các thành phần trong dịch chiết cồn	27
3.2.3.3. Định tính các nhóm chất khác	28
3.2.4. Phân tích sơ bộ thành phần hoá học lá phúc bồn tử bằng SKLM	29
3.2.4.1. Khảo sát hệ dung môi	29
3.2.4.2. So sánh thành phần hoá học các mẫu lá phúc bồn tử	30
3.2.5. Định lượng hàm lượng polyphenol trong các mẫu lá phúc bồn tử	30
3.2.5.1. Xây dựng đường chuẩn acid gallic	30
3.2.5.2. Khảo sát phương pháp và thời gian chiết polyphenol từ mẫu lá phúc bồn tử	31
3.2.5.3. Định lượng polyphenol tổng số trong các mẫu thử	31
CHƯƠNG 4 – KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	33
4.1. Kết quả định tính các nhóm chất có trong lá phúc bồn tử	33
4.2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá học trong lá phúc bồn tử bằng SKLM	40
4.2.1. Kết quả khảo sát hệ dung môi	40
4.2.2. Kết quả so sánh thành phần hoá học các mẫu lá phúc bồn tử	40
4.3. Kết quả định lượng hàm lượng polyphenol các mẫu lá phúc bồn tử	43
4.3.1. Xây dựng đường chuẩn acid gallic	43
4.3.2. Kết quả khảo sát phương pháp và thời gian chiết polyphenol từ lá phúc bồn tử	44
4.3.3. Kết quả khảo sát chiết polyphenol bằng phương pháp chiết hồi lưu	45
4.3.4. Kết quả định lượng polyphenol trong các mẫu lá phúc bồn tử	48

KẾT LUẬN	50
TÀI LIỆU THAM KHẢO	51

DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1.1. Cấu tạo của Delphinidin-3-pentoside	12
Hình 1.2. Cấu tạo của Cyanidin – 3 – sophoroside	12
Hình 2.1. Mẫu lá BL1 mọc dại tại Bảo Lộc	23
Hình 2.2. Mẫu lá NB1 mọc dại tại Nam Ban	23
Hình 2.3. Quả NB1 mọc dại tại Nam Ban	23
Hình 2.4. Mẫu lá HXH mọc dại tại Đà Lạt	23
Hình 2.5. Mẫu lá BB đen hái tại vườn ở Lạc Dương	23
Hình 2.6. Quả BB đen hái tại vườn ở Lạc Dương	23
Hình 2.7. Hoa BB đen hái tại vườn ở Lạc Dương	24
Hình 2.8. Mẫu lá LD mọc dại tại Lạc Dương	24
Hình 4.1. Sắc ký đồ SKLM của 9 mẫu nghiên cứu	41
Hình 4.2. Sắc ký đồ SKLM 2 mẫu lá và thân NB1	42
Hình 4.3. Đồ thị phương trình đường chuẩn acid gallic	43
Hình 4.4. Kết quả khảo sát thời gian chiết siêu âm	45
Hình 4.5. Kết quả khảo sát thời gian chiết hồi lưu	46
Hình 4.6. Kết quả khảo sát nồng độ methanol dùng để chiết hồi lưu	47

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Bảng thống kê một số loài <i>Rubus</i> phổ biến tìm thấy tại Việt Nam	3
Bảng 2.1. Thông tin mẫu nghiên cứu	21
Bảng 3.1. Các hệ dung môi khảo sát chạy SKLM	29
Bảng 4.1. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài <i>R. annamensis</i>	33
Bảng 4.2. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài <i>R. alcaefolius</i>	34
Bảng 4.3. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài <i>R. idaeus</i>	35
Bảng 4.4. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài <i>R. allegheniensis</i>	36
Bảng 4.5. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài <i>R. sorbifolius</i>	37
Bảng 4.6. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu thân loài <i>R. annamensis</i>	38
Bảng 4.7. Tổng hợp kết quả định tính các nhóm chất trong lá các loài <i>Rubus</i>	39
Bảng 4.8. Kết quả phân tích SKLM dịch chiết các mẫu lá phức bồn tử với hệ dung môi chloroform – methanol (9:1)	40
Bảng 4.9. Kết quả đo quang dãy dung dịch chuẩn acid gallic	43
Bảng 4.10. Hàm lượng polyphenol của của mẫu chiết hồi lưu và mẫu chiết siêu âm	47
Bảng 4.11. Hàm lượng polyphenol của các mẫu nghiên cứu	48

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ABTS:	Phương pháp bắt gốc tự do
DPPH:	Phương pháp thử hoạt tính chống oxy hoá với 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EtOAc:	Etyl acetat
FW:	Lượng tươi
HPLC:	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HPLC-DAD:	Sắc ký lỏng hiệu năng cao với đầu dò diode array
HPLC-UV-ESI-MS:	Sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò tử ngoại kết nối khối phổ phun mù điện tử
IR:	Phổ hồng ngoại
LC-MS:	Phương pháp sắc ký lỏng - khối phổ
MS:	Phương pháp khối phổ
MeOH:	Methanol
NMR:	Phổ cộng hưởng từ hạt nhân
SD:	Sai số chuẩn
SKLM:	Sắc ký lớp mỏng
UV:	Phổ tử ngoại

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: Bước đầu nghiên cứu thành phần hoá học của lá phúc bồn tử trồng tại tỉnh Lâm Đồng
- Sinh viên thực hiện: Lê Thị Diễm Trinh (chủ nhiệm đề tài)
Nguyễn Lê Huệ Anh
Nguyễn Phi Hồ
Nguyễn Thành Long
Nguyễn Thị Hoàng Yến
- Lớp: HHK42SP Khoa: Sư phạm Năm thứ: 3 Số năm đào tạo: 4
- Người hướng dẫn: PGS.TS Trịnh Thị Điệp

2. Mục tiêu đề tài:

Định tính, định lượng các nhóm chất chính có trong lá phúc bồn tử trồng tại tỉnh Lâm Đồng

3. Tính mới và sáng tạo:

Nghiên cứu về phúc bồn tử ở Việt Nam là một trong những nghiên cứu mới. Đã xác định được thành phần các nhóm hợp chất tự nhiên và hàm lượng polyphenol của lá 5 loài thuộc chi *Rubus* mọc hoang dại và được trồng tại Lâm Đồng.

4. Kết quả nghiên cứu:

Mẫu lá 5 loài *Rubus* thu thập được ở Lâm Đồng đều được định tính có chứa chất béo, saponin, tanin, acid amin, đường tự do, acid hữu cơ, phytosterol, flavonoid và không chứa coumarin, anthranoid và polysaccharid. Trong đó, lá của 3/5 loài có chứa carotenoid, 4/5 loài có alcaloid. Thân loài *R. annamensis* cũng có chứa các nhóm chất béo, saponin, tanin, acid amin, đường tự do, phytosterol, flavonoid và polysaccharid, không chứa coumarin, anthranoid, acid hữu cơ, carotenoid.

Sắc ký đồ SKLM dịch chiết methanol của các mẫu lá cho thấy chúng có chứa nhiều thành phần khá giống nhau. Các mẫu lá cùng loài có sự tương đồng rõ rệt về thành phần hóa học nhưng mẫu thu ở các địa điểm khác nhau có sự khác biệt về độ đậm nhạt của vết, thể hiện hàm lượng của các chất khác nhau rõ.

Hàm lượng polyphenol trong các mẫu lá dao động trong khoảng 3,84 đến 10,71% tính theo khối lượng khô tuyệt đối, cao nhất ở mẫu lá loài *R. annamensis* mọc hoang dại ở Nam Ban (NB1), thấp nhất ở loài *R. sorbifolius* thu ở Lạc Dương.

Trong cùng một loài *R. annamensis*, polyphenol tích lũy trong lá nhiều hơn trong thân (10,71% so với 3,86%).

Các mẫu lá của cùng một loài *R. annamensis* thu tại 2 thời điểm khác nhau trong năm có hàm lượng polyphenol khác nhau rõ rệt, mẫu tháng 10/2020 chứa 10,71% trong khi lá thu vào tháng 3/2021 chỉ chứa 5,83% polyphenol.

5. Đóng góp về mặt kinh tế - xã hội, giáo dục và đào tạo, an ninh, quốc phòng và khả năng áp dụng của đề tài:

Nghiên cứu này góp phần cung cấp thêm thông tin khoa học tạo cơ sở cho hướng tận dụng những bộ phận khác nhau của cây phúc bồn tử trồng và mọc hoang dại vốn được coi là không có giá trị để ứng dụng trong việc làm thuốc, làm trà.....

Đề tài góp phần đào tạo nhóm sinh viên thực hiện đề tài, nâng cao kiến thức và kỹ năng nghiên cứu khoa học. Các kết quả của đề tài là tài liệu tham khảo tốt cho những ai quan tâm đến lĩnh vực nghiên cứu và ứng dụng hợp chất tự nhiên.

6. Công bố khoa học của sinh viên từ kết quả nghiên cứu của đề tài hoặc nhận xét, đánh giá của cơ sở đã áp dụng các kết quả nghiên cứu: chưa có.

Ngày 24 tháng 5 năm 2021

**Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài**

Lê Thị Diễm Trinh

Nhận xét của người hướng dẫn về những đóng góp khoa học của sinh viên thực hiện đề tài (phần này do người hướng dẫn ghi):

Sinh viên Lê Thị Diễm Trinh cùng nhóm nghiên cứu đã hoàn thành mục tiêu của đề tài. Các kết quả nghiên cứu về thành phần các nhóm hợp chất trong lá 5 loài thuộc chi *Rubus* mọc hoang dại và được trồng ở Lâm Đồng là những kết quả mới, có ý nghĩa khoa học.

Ngày 24 tháng 5 năm 2021

Xác nhận của trường đại học

Người hướng dẫn

Trịnh Thị Diệp

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT

THÔNG TIN VỀ SINH VIÊN CHỊU TRÁCH NHIỆM CHÍNH THỰC HIỆN ĐỀ TÀI

I. SƠ LƯỢC VỀ SINH VIÊN:

Họ và tên: Lê Thị Diễm Trinh

Sinh ngày: 13 tháng 10 năm 2000

Nơi sinh: Vĩnh Long

Lớp: HHK42SP

Khóa: 42

Khoa: Sư phạm

Địa chỉ liên hệ: 208b, Nguyễn Tử Lực, phường 8, Đà Lạt, Lâm Đồng.

Điện thoại: 0379125381

Email: 1810091@dlu.edu.vn



II. QUÁ TRÌNH HỌC TẬP (kê khai thành tích của sinh viên từ năm thứ 1 đến năm đang học):

* Năm thứ 1:

Ngành học: Sư phạm Hoá học

Khoa: Sư phạm

Kết quả xếp loại học tập: Giỏi

Sơ lược thành tích:

* Năm thứ 2:

Ngành học: Sư phạm Hoá học

Khoa: Sư phạm

Kết quả xếp loại học tập: Giỏi

Sơ lược thành tích:

* HKI năm 3:

Ngành học: Sư phạm Hoá học

Khoa: Sư phạm

Kết quả xếp loại học tập: Giỏi

Sơ lược thành tích:

Xác nhận của trường đại học

Ngày 24 tháng 5 năm 2021
Sinh viên chịu trách nhiệm chính
thực hiện đề tài

Lê Thị Diễm Trinh

MỞ ĐẦU

Hiện nay, tỷ lệ mắc các bệnh về lối sống ngày càng gia tăng do chế độ dinh dưỡng không phù hợp và ô nhiễm môi trường. Để ngăn ngừa các bệnh này, cần có nhiều nhóm hợp chất hoạt tính sinh học khác nhau với phạm vi hoạt động rộng và không có tác dụng phụ bất lợi. Các hợp chất polyphenol là nhóm được nghiên cứu rộng rãi nhất của loại hợp chất này. Chúng xuất hiện rộng rãi trên thực vật, nhưng hàm lượng của chúng phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm loại cây, điều kiện khí hậu và thời gian thu hoạch. Lá của một số loài cây được xem như là một trong những gia vị không thể thiếu trong ẩm thực truyền thống. Ngoài ra, lá của một số loài thực vật hay một số loài cây ăn quả cũng được sử dụng trong y học dân gian như là một loại thuốc chữa bệnh trong dân gian nhưng hiện đã bị lãng quên.

Polyphenol là những hợp chất thực vật được tìm thấy nhiều trong các nguồn thực phẩm thực vật có sẵn trong tự nhiên và có đặc tính chống oxy hóa. Các chất chống oxy hóa có tác dụng bảo vệ tế bào khỏi tổn thương do gốc tự do. Không có những chất này, các tế bào của cơ thể có thể bị tổn thương do sự thoái hóa mô. Nhóm polyphenol được biết đến với nhiều công dụng như: Chống gốc tự do, duy trì lượng đường, thúc đẩy sức khỏe não bộ, hỗ trợ điều trị các bệnh về tim mạch, v.v... Có thể nói polyphenol là những hợp chất hỗ trợ con người rất nhiều trong đời sống ngày nay.

Phúc bồn tử là tên gọi của một số loài cây thuộc chi Mâm xôi (*Rubus*). Trong những năm gần đây, nhiều thông tin mới về hoạt tính sinh học của các hợp chất phenolic từ phúc bồn tử đã được công bố. Thành phần của lá phúc bồn tử có chứa polyphenol như tannin và flavonoid, hoạt động như các chất chống oxy hóa, giúp hạn chế nguy cơ tổn thương các tế bào lành mạnh trong cơ thể. Bên cạnh đó, lá phúc bồn tử còn chứa một lượng nhỏ acid ellagic, được chứng minh là có tác dụng ức chế các chất gây ung thư và thậm chí là góp phần làm các tế bào ung thư tự hủy. Như vậy, có thể thấy dường như lá phúc bồn tử là một nguồn “chất quý” đầy hứa hẹn có thể được dùng để thay thế các chất tổng hợp trong điều trị và phòng ngừa một số loại bệnh.

Hiện nay, phúc bồn tử là loài cây ăn trái ngày càng được ưa chuộng và được sản xuất với quy mô lớn ở các nước phương Tây vì những công dụng của nó như:

ngừa ung thư, chống oxy hoá và tác dụng làm đẹp.... trong đó Liên bang Nga là nước có sản lượng phúc bồn tử đứng đầu thế giới với 164602 tấn hàng năm. Ngoài ra, phúc bồn tử là loài cây phát triển trong khí hậu mát mẻ quanh năm với độ ẩm thích hợp, nhiệt độ lý tưởng để cây phát triển là khoảng 20 đến 32⁰C. Chính vì những điều kiện tương thích này mà phúc bồn tử đã sớm được du nhập về Việt Nam, được trồng ở một số địa phương tại Lâm Đồng với mục đích thu quả.

Từ những kết quả nghiên cứu ở nước ngoài, có thể thấy lá cây phúc bồn tử có chứa nhiều hợp chất polyphenol với những tác dụng có lợi cho sức khỏe con người. Tuy nhiên, liệu thành phần các hợp chất hóa học có ở trong lá phúc bồn tử trồng tại tỉnh Lâm Đồng (nằm trên cao nguyên Lâm Viên, Việt Nam – nơi có khí hậu ôn hòa, tương đối mát mẻ và trồng được cây phúc bồn tử) và hàm lượng của các hợp chất hóa học đó có nhiều như ở nước ngoài hay không? Để tìm câu trả lời cho vấn đề này, chúng em thực hiện đề tài ***“Bước đầu nghiên cứu thành phần hóa học của lá phúc bồn tử trồng tại tỉnh Lâm Đồng”***.

Mục tiêu của đề tài: Định tính và định lượng các nhóm chất có trong lá phúc bồn tử trồng tại tỉnh Lâm Đồng.

CHƯƠNG 1 – TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan về chi *Rubus*

Chi Mâm xôi (danh pháp khoa học: *Rubus*) là một chi lớn trong giới Thực vật có hoa, thuộc họ Hoa hồng (Rosaceae), phân họ Rosoideae. Trong chi này, tên gọi phổ biến của các loài bao gồm: mâm xôi, ngậy, mắc hứ, đùm đũm, đũm hương, phúc bồn tử, dâu rừng, v.v...(Sytsma, et.al, 2017). Các loài thuộc chi *Rubus* sinh trưởng và phát triển tốt tại nơi có khí hậu ôn đới. Chính vì vậy, ở nước ta chúng thường được trồng nhiều tại các tỉnh miền núi phía Bắc và Lâm Đồng.

Tại Việt Nam, chi *Rubus* tồn tại đa dạng, phong phú về số lượng loài. Các loài này có phạm vi sinh trưởng khá rộng, có thể thích ứng với nhiều hoàn cảnh sinh thái khác nhau, từ rừng ẩm nguyên sinh đến trồng cây bụi hay mọc hoang bên đường, hầu như ta không phát hiện thấy sâu bệnh hại trên các loài *Rubus* (Hoài T.T.T., et.al, 2018).

Một số loài *Rubus* đã được tìm thấy tại Việt Nam được thống kê trong bảng 1.1. (Hộ P.H., 1999).

Bảng 1.1. Bảng thống kê một số loài *Rubus* phổ biến tìm thấy tại Việt Nam

TT	Tên khoa học	Tên thường gọi	Đặc điểm sinh thái			
			Thân	Lá	Hoa	Trái
1	<i>Rubus alcaefolius</i> Poir.	Mâm xôi, dum ngậy, đùm đũm	Thân bụi leo, nhánh có cạnh, đầy lông, gai cong.	Phiến lá dày, mặt trên nhám, mặt dưới đầy lông hoe, lá bẹ chẻ thành sợi mịn.	Hoa rộng đến 2 cm, đài có lông vàng, cánh hoa trắng.	Trái đỏ, ăn được, chua chua.
2	<i>Rubus allegheniensis</i> var.	Mâm xôi thường, mâm xôi Allegheny	Thân cây ban đầu có màu xanh lá,	Lá mọc xen kẽ, hình trứng và có răng cưa ở	Hoa có 5 cánh màu trắng muốt, gòn	Quả đỏ hoặc đen

	<i>allegheniensis</i> Porter.		có khi là màu nâu đỏ với những cái gai nhọn, thẳng hoặc hơi cong.	mép lá, cuống lá dài, dài hơn 10 cm và rộng gần 8 cm, có lông thưa thớt ở mặt trên, trong khi mặt dưới của lá có màu xanh nhạt hơn nhưng dày lông hơn mặt trên.	như tròn, thường nhẵn, không phẳng, lưỡng tính, có 5 lá dài màu xanh tươi ngắn hơn cánh hoa, mỗi cánh dài khoảng 2 – 3 cm; cuống hoa có những sợi lông màu trắng; mỗi hoa có rất nhiều nhị với các bao phấn màu vàng.	tuyền, vị ngọt.
3	<i>Rubus alpestris</i> B1.	Dum núi cao	Cây bụi, nhánh tròn, không lông, có gai cong, có tuyến có cọng hay	Lá phụ thon, hai đầu nhọn, dài đến 9 cm, mặt trên màu xám nâu, mặt dưới dợt hơn, lá hẹp thon.	Cọng hoa 2 – 3 cm, dài có lông, cánh hoa trắng ngắn hơn lá dài.	Trái tròn, đỏ.

			không cọng.			
4	<i>Rubus annamensis</i> Card.	Dum Trung bộ, Sa-mo- pen	Bụi trườn, nhánh đầy lông, gai cong.	Lá bẹ tròn, xẻ. Mặt dưới đầy lông xám.	Cánh hoa trắng.	Trái ăn được.
5	<i>Rubus Chaetophorus</i> Card.	Dum mang tơ	Cây bụi, thân nhẵn, có gai thưa, cành non có lông sét mịn phủ.	Lá đơn, phiến lá hình bầu dục, chót lá nhọn dài, đáy lá hình tim, gân phụ 7-8 cặp. Phiến lá mỏng, mặt trên có lông mịn chạy dọc gân chính, mặt dưới nhẵn, có gai cong chạy dọc thân chính.	Hoa mọc từ nách lá hoặc đầu nhánh, khoảng 1- 2 hoa. Cuống hoa và lá đài phủ lông mịn, cánh hoa màu trắng.	Quả chín màu vàng cam.
6	<i>Rubus cochinchine nsis var. glabrescens</i> Card	Dum ngậy, ngậy trắng	Cây bụi, cao 2m, thân nhẵn, đầy gai cong.	Lá kép lông chim, chét 3- 5, cuống lá dài 3- 4.5cm, đầy gai cong. Phiến lá nhẵn, có gai	Hoa mọc ở nách lá hoặc đỉnh chồi, 5-7 hoa/chùm.	Quả chín màu đỏ.

				cong mặt dưới dọc theo gân lá. Lá kèm nguyên, dài, mảnh mọc đối diện trên gốc lá sát thân.		
7	<i>Rubus ellipticus</i> var. <i>obcordatus</i> Franch	Dum tim	Cây bụi, cao khoảng 1,7-2m, thân màu xanh, đầy lông tuyến dài màu đỏ hoặc xám, có gai cong thưa.	Lá kép lông chim, chét 3, phiến lá hình trứng ngược, mặt dưới có gai cong thưa dọc theo gân chính lá. Cuống lá có đầy lông và gai cong.	Hoa mọc thành chùm ở đỉnh chồi, cụm hoa gồm 10-15 hoa. chiều dài cụm hoa 12- 14cm. cuống hoa 0,4cm, cánh hoa trắng.	Quả chín màu vàng.
8	<i>Rubus etropicus</i> Hance	Dum không đối	Cây bụi, thân nhẵn, có gai cong nhỏ và thưa.	Lá kép lông chim 3,5,7, lá chét ở đỉnh lớn hơn hẳn các lá chét bên dưới. Lá phụ dạng sợi dài, nguyên, mọc đối	Hoa mọc đơn độc ở đầu cành. Cuống hoa dài 2-3cm, có gai thưa dọc cuống, cánh tràng	Quả chín màu đỏ.

				trên cuống lá.	màu trắng.	
9	<i>Rubus idaeifolius</i> Thuan	Dum	Cây bụi, thân đầy lông mịn màu xám, có gai nhỏ rải rác.	Lá kép lông chim 3, cuống lá 5-8cm, phủ đầy lông mịn. Phiến lá dai, mặt dưới phủ đầy lông mịn màu xám trắng, mặt trên có lông xám màu hơi sẫm. Hai lá kèm dạng lá dài, nguyên mọc đối xứng trên cuống lá.	Cụm hoa mọc đầu cành hay nách lá, cuống hoa và lá đài phủ đầy lông mịn màu sáng. Cánh tràng màu trắng.	
10	<i>Rubus idaeus</i>	Mâm xôi đỏ, mâm xôi châu Âu	Thân cao 1,5 – 2,5 cm. Chồi bên phát triển.	Lá kép, hình kim lớn với năm hoặc bảy lá chét.	Chùm hoa ngắn, mỗi bông có đường kính khoảng 1 cm. Hoa năm cánh, màu trắng.	Quả màu đỏ, vị ngọt, thơm.

11	<i>Rubus inopertus</i> (Diels) Focke	Dum trần	Cây bụi cao 2m, thân màu xanh, nhẵn, gai cong thưa.	Lá kép lông chim lẻ, 7-11 chét, phiến lá mỏng, mặt trên xanh đậm, có lông mảnh dọc theo gân lá, mặt dưới đầy lông sao màu trắng, có gai thưa dọc theo mặt dưới cuống lá.	Hoa mọc ở nách lá hoặc đỉnh cành, 4-10 hoa/ 1 cụm, cuống cụm hoa ngắn 0.5-1cm.	Quả chín tím đen.
12	<i>Rubus involucratus</i> Focke	Dum tổng bao	Cây bụi, nhánh non có lông tơ nhỏ bao phủ, gai thưa.	Lá đơn, phiến lá elip, chót lá nhọn đáy tim nông hoặc đáy bằng, cuống lá và gân chính 2 mắt lá có gai nhỏ thưa. Lá kèm dạng búp ở gốc cành.	Hoa đơn độc ở đầu cành, cuống hoa và lá đài có lông tơ trắng thưa, cánh tràng trắng.	Quả chín màu đỏ.
13	<i>Rubus leucanthus</i> Hance	Dum hoa trắng, ngáy trắng	Cây bụi, thân nhẵn màu xanh, có	Lá kép lông chim, chét 3, phiến lá mỏng, mặt	Chùm hoa mọc ở nách lá hoặc đầu	Quả chín

			gai cong thưa.	trên phiến lá có lông thưa rải rác và dọc theo gân chính, có gai cong rải rác dọc cuống lá và gân chính mặt dưới lá.	nhánh, số hoa 1-2/ một chùm.	màu đỏ.
14	<i>Rubus lineatus</i> Reinw	Dum sọc	Cây bụi, cành non phủ đầy lông tơ màu trắng.	Lá kép chân vịt, chét 3, hai đầu nhọn, mép có răng cưa dài, gân phụ nổi rõ, mặt trên màu xanh đậm, mặt dưới lá đầy lông trắng, mịn.	Hoa mọc ở đỉnh cành hoặc nách lá, 3- 5 hoa/1 cụm, cuống hoa phủ đầy lông trắng, dài từ 0,5-0,7 cm.	Quả chín đỏ.
15	<i>Rubus moluccanus</i> L. var. <i>moluccanus</i>	Dum đảo Moluc	Cây bụi cao 1,5m. thân phủ đầy lông nhám vàng, có gai nhỏ.	Lá kèm xẻ nhiều thùy màu đỏ, 2 lá đối diện nhau ôm sát cuống lá. Lá đơn, có 5 thùy không rõ, đáy lá hình tim, chót hơi nhọn, 2 mặt đầy	Hoa mọc từ nách lá hoặc đỉnh cành, chùm hoa có 2-15 hoa/chùm, lá dài nhiều lông, cánh tràng màu trắng.	Quả chín màu đỏ.

				<p>lông nhám màu vàng, mặt trên xanh đậm, mặt dưới màu trắng xám, lá non giáp ngon có màu đỏ, cuống lá dài từ 4-6cm, phủ đầy lông nhám và có gai rải rác.</p>		
16	<i>Rubus ovatus</i> Thuan	Dum trúng	<p>Cây bụi, cao khoảng 3 m, cành không lông, có gai cong nhỏ rải rác.</p>	<p>Lá đơn, mép lá xẻ răng cưa, hơi lượn sóng, phiến lá hình xoan tam giác, phiến lá mỏng, mặt trên màu xanh đậm, mặt dưới màu xám, có gai nhỏ rải rác trên cuống lá và mặt dưới dọc theo gân chính,</p>	<p>Hoa mọc ở nách lá hoặc đầu cành, cụm hoa gần như không cuống, cuống hoa dài 1cm, 2-6 hoa/cụm hoa. Cuống hoa và lá dài phủ đầy lông xám, cánh tràng màu trắng.</p>	<p>Quả chín đỏ hình cầu.</p>

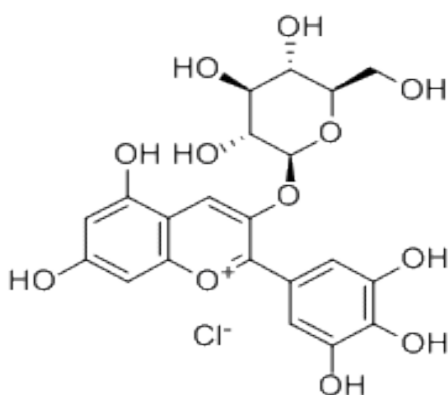
				cuống lá 3,5 – 4,5cm.		
17	<i>Rubus pentagonus</i> Wall ex Focke	Dum ngũ giác	Cây bụi, cao 50-70cm. Thân nhẵn, màu nâu đỏ, cành non có lông thưa, có gai nhỏ rải rác.	Lá kép lông chim 3, mép lá răng cưa, hai mặt có lông rải rác, mặt dưới có gai nhỏ rải rác dọc theo gân chính. Lá kèm dạng lá nhỏ, nguyên.	Hoa mọc đơn độc từ đỉnh cành hoặc nách lá, cuống hoa và lá đài đầy lông màu sáng, cánh tràng màu trắng.	Quả chín màu đỏ.
18	<i>Rubus sorbifolius</i> Maxim	Dum nhọn, tum khôn, lông ôn	Bụi trườn, thân có lông dài đỏ đỏ và tiết, gai hơi to, cong.	Lá có lông ở gân, có gai ở gân chính.	Tụ tán 3 hoa, đài có lông ở mặt ngoài, cánh hoa trắng. Đế hoa lồi cao, dài 1,5 cm.	Quả nhân cứng, đỏ, ngon.

1.2. Tình hình nghiên cứu thành phần hóa học của chi *Rubus*

1.2.1. Nghiên cứu thành phần hóa học của quả chi *Rubus*

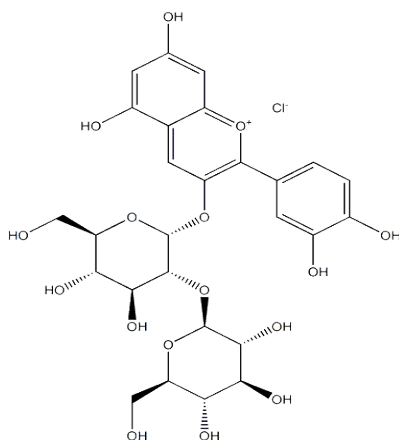
Yu Fu và cộng sự đã nghiên cứu thành phần hóa học của quả mâm xôi *Rubus hirsutus* Thunb. có nguồn gốc từ Trung Quốc. Kết quả phân tích các chất dinh dưỡng bao gồm đường; tổng lượng acid và protein; các hợp chất có nguồn gốc thực vật như acid ascorbic và polyphenol (tổng phenolic, tổng flavonoid và anthocyanin) cũng như các chất chống oxy hóa. Hàm lượng đường khử, đường tổng, tổng chất rắn, pH, tổng lượng acid và protein trong quả thuộc loài *R. hirsutus* Thunb. lần lượt là 6,23 – 9,79 g/100g FW; 6,82 – 10,15 g/100 g FW; 11,75 – 13,25%; 3,67 - 3,86; 0,30 – 0,60

g/100g FW và 0,016 – 0,030 g/100 g FW. Hàm lượng của acid ascorbic, tổng lượng flavonoid, tổng lượng phenol, tổng lượng anthocyanin tương ứng là 16,33 – 23,28 mg/100g; 68,23 – 192,11 mg/100g; 108,23 – 269,90 mg/100g và 12,43 – 16,71 mg/100g. Ngoài ra, thành phần anthocyanin được xác định bằng HPLC-DAD và HPLC-UV-ESI-MS kết hợp với thuốc thử tạo màu (5% AlCl₃ trong ethanol). Thành phần anthocyanin của loại quả này được xác định là **delphinidin-3-pentoside**. Đóng góp của phenol tổng và tổng lượng flavonoid vào hoạt tính chống oxy hóa lớn hơn nhiều so với vitamin C và anthocyanin. Kết quả này cho thấy loại quả này có hoạt tính chống oxy hóa cao (Yu Fu, et.al, 2015).



Hình 1.1. Cấu tạo của Delphinidin-3-pentoside

Sebastian Piotr Mazur và cộng sự đã nghiên cứu thành phần hóa học của quả mâm xôi đỏ *Rubus idaeus* L. Kết quả nghiên cứu cho thấy các hợp chất phenolic chính trong quả phúc bồn tử được trồng tại Bắc Âu là **ellagitannin** và **anthocyanin**, với tỷ lệ lần lượt là 57% và 42%. **Cyanidin-3-sophoroside** là hợp chất anthocyanin dồi dào nhất (61%). Ngoài ra, sự khác nhau về màu sắc của các quả phúc bồn tử cũng đã được giải thích (Sebastian Piotr Mazur, et.al, 2014).



Hình 1.2. Cấu tạo của Cyanidin – 3 – sophoroside

Lidija Jakobek và cộng sự đã phân lập được **flavonol, flavan-3-ol, acid phenolic và anthocyanin** từ quả phúc bồn tử thuộc chi *Rubus* (phúc bồn tử và phúc bồn tử đen) để nghiên cứu hàm lượng phenol của chúng bằng HPLC và chất chống oxy hóa hoạt động bằng cách thử mô hình DPPH. Qua nghiên cứu, cho thấy quả phúc bồn tử và phúc bồn tử đen được đặc trưng bởi **catechin** và các **dẫn xuất của acid ellagic**. Ngoài ra, hàm lượng anthocyanin tương đối cao, đóng góp nhiều hơn vào hoạt tính chống oxy hóa. Hàm lượng tổng phenol trong quả chi *Rubus* cao nhất đạt 1040 mg/kg và hoạt tính chống oxy hóa mạnh với $EC_{50} = 672$ g trên mỗi gam DPPH (Lidija Jakobek, et.al, 2009).

Ji Won Yang, Il Sook Choi đã nghiên cứu và xác định thành phần hóa học, so sánh hàm lượng polyphenol của Bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) với các loại quả thuộc họ dâu. Nghiên cứu cho thấy rằng tổng hàm lượng **polyphenol, tổng flavonoid** và tổng hàm lượng **anthocyanin** của Bokbunja cao hơn so với các loại quả mọng như dâu rừng, dâu tây, dâu đen, việt quất. Hàm lượng **kaempferol, quercetin và acid ellagic** trong Bokbunja cao đáng kể, trong đó hàm lượng acid ellagic là cao nhất (408,57 mg/kg khối lượng tươi). Tổng hàm lượng polyphenol, flavonoid, anthocyanin, acid ellagic trong Bokbunja có ảnh hưởng đến hoạt tính chống oxy hóa (Ji Won Yang, et.al, 2017).

1.2.2. Nghiên cứu thành phần hóa học của lá chi *Rubus*

Gudej J., Tomczyk M. cùng cộng sự đã xác định được các thành phần chính có trong lá *Rubus saxatilis* L. nhờ vào phương pháp phân tích sắc ký. Qua phân tích, cho thấy sự hiện diện của các acid phenolic: **ellagic, gallic, protocatechuic, gentisic, vanillic, caffeic, p-coumaric, ferulic, p-hydroxybenzoic, p-hydroxyphenylacetic, syringic và synapic**. Bốn hợp chất tinh khiết về mặt sắc ký đã được phân lập đó là **kaempferol, quercetin** và các hợp chất A, B. Bằng phương pháp hóa học và quang phổ (UV, IR, NMR, MS), hợp chất A được xác định là **brevifolin-carboxylic methyl ester** và hợp chất B là **kaempferol 3-OBD- (6'' – (E)-p-coumaroyl) – glucopyranoside (tiliroside)** (Gudej J., et.al, 1999).

Gudej J., Tomczyk M. đã nghiên cứu việc định lượng **flavonoid, tannin và acid ellagic** trong lá các loài thuộc chi *Rubus* L. (phúc bồn tử và phúc bồn tử đen) mọc hoang dã và được trồng. Hàm lượng flavonoid được xác định bằng phương pháp quang phổ và phương pháp phân tích HPLC sau khi thủy phân mẫu bằng acid. Hàm lượng tannin được xác định bằng phương pháp phân tích khối lượng. Hàm lượng acid ellagic được kiểm tra bằng phương pháp HPLC sau khi thủy phân bằng acid. Kết quả

cho thấy: Hàm lượng flavonoid trong lá phúc bồn tử đen cao hơn đối với lá phúc bồn tử, dao động khoảng 0,46 – 1,05%. Quercetin và kaempferol chiếm ưu thế trong các mẫu được phân tích bằng phương pháp HPLC. Hàm lượng flavonoid được tìm thấy cao nhất trong lá *Rubus nessensis* (1,06%). Hàm lượng acid ellagic ở tất cả các mẫu lá được xác định nằm trong khoảng 2,06 - 6,89%. Lá của cây phúc bồn tử được đặc trưng bởi lượng tanin lớn hơn (từ 2,62 – 6,87%) so với lá của các loài khác (Gudej J., et.al, 2004).

J.Yang, Jingyan Cui, Y.Liu và cộng sự đã xác định các hoạt chất trong dịch chiết lá phúc bồn tử và tác dụng của dịch chiết trên chuột. Theo đó, có 12 loại polyphenol điển hình xuất hiện trong bột lá phúc bồn tử (RLP); cao chiết lá phúc bồn tử 1 (RLE) và cao chiết lá phúc bồn tử 2 (RLE – H) đã được phân tích bằng HPLC – MS. Kết quả thu được cho thấy, tổng hàm lượng của chúng trong ba mẫu theo thứ tự sau: RLP (8,6 mg/g) < RLE (35,0 mg/g) < RLE – H (44,1 mg/g). **Acid ellagic** và **quercetin-3-O-glucuronide** là các hợp chất chính trong các mẫu và chiếm hơn 75% tổng hàm lượng. Hỗn hợp dạng gel của RLE, pectin và natri alginat được sử dụng trên chuột đã dẫn đến tỷ lệ tăng cân và tỷ lệ mỡ giảm. Sự có mặt của RLE hay RLE – H còn giảm sự đầy hơi đường ruột. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy có thể ứng dụng các cao chiết polyphenol từ lá cây phúc bồn tử trong lĩnh vực dược học (J.Yang, et.al, 2020).

1.2.3. Nghiên cứu thành phần hóa học của hạt chi *Rubus*

Lunar Maslov Bandic và cộng sự đã nghiên cứu các hợp chất có hoạt tính sinh học trong quả, lá và hạt của loài phúc bồn tử *Rubus idaeus* L. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng các hợp chất polyphenol đã được xác định; đồng thời, hàm lượng flavonoid, anthocyanin và phenol tổng đã được định lượng. Hạt mâm xôi có phần khối lượng polyphenol cao nhất, trong đó hàm lượng **flavonoid** nhiều nhất (2853,03 mg/100 g mẫu tươi) và tổng phenol (2369,44 mg / 100 gam FW). Ngoài ra, khả năng chống oxy hóa đã được xác định bằng phương pháp DPPH, ABTS và không có sự khác biệt đáng kể về khả năng chống oxy hóa giữa quả, hạt và lá. Bằng phương pháp LC-MS, anthocyanin và flavonoid trong loài phúc bồn tử này cũng đã được xác định (Lunar Maslov Bandic, et.al, 2020).

B. Shaun Bushman cùng cộng sự đã nghiên cứu thành phần hóa học của hạt loài *Rubus spp.*L. Kết quả nghiên cứu cho thấy **ellagitannin** và **acid ellagic tự do** là những phenol chính được phát hiện trong loài *Rubus spp* L. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu cho thấy trong hạt có chứa 6 – 7% protein và 11 – 18% dầu. Dầu chứa 53 – 63%

acid linoleic, 15 – 31% **acid linolenic** và 3-8% **acid béo bão hòa** (B. Shaun Bushman, et.al, 2004).

Thông qua hàng loạt nghiên cứu về lá, hạt và quả của *Rubus* ta có thể thấy rằng trong các bộ phận của loài *Rubus* đều chứa những hợp chất thực vật, đặc biệt là polyphenol và một số dạng hợp chất acid carboxylic, acid béo khác. Sự đa dạng, phong phú về loài cũng như hầu hết các bộ phận đều chứa các hợp chất thực vật như là nguồn nguyên liệu phong phú có thể thay thế những thực phẩm chức năng đắt tiền, đóng góp vào khẩu phần và chế độ dinh dưỡng của con người.

1.3. Hoạt tính sinh học của chi *Rubus*

Hoạt tính sinh học và dược động học của quả chưa chín loài *Rubus mysidentalis* đã được đánh giá. Thành phần hóa học của loài này chứa nhiều hợp chất phenol: **acid gallic, acid cafeic, acid p-coumaric, acid ferulic, rutin, myricetin, luteolin, kaempferol** liên quan đến khả năng chống oxy hóa (thử trên mô hình DPPH và ABTS). Đồng thời, kết quả nghiên cứu dược động học: T_{Max} và C_{Max} tương ứng là 0,6 giờ và 0,264 $\mu\text{g/mL}$. Kết quả cho thấy loại quả chưa chín thuộc chi *Rubus* trên đủ tiêu chuẩn làm thực phẩm hoặc nguyên liệu làm thuốc khô (D. Shin, et.al., 2018).

Rubus idaeus L., *Rubus ellipticus* Smith, *Rubus niveus* Thunb., *Rubus coreanus* Miquel, *Rubus occidentalis* L., *Rubus ulmifolius* Schott, *Rubus fruticosus* L., *Rubus adenotrichus* Schltdl., *Rubus glaucus* Benth chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học, có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm, kháng khuẩn, tác động tích cực đến lipid máu và chứng xơ vữa động mạch (Mayara Schulz, et.al., 2019).

Nghiên cứu về quả loài *Rubus ulmifolius* Schott đã tìm thấy sự có mặt của các hợp chất phenol chính như: **Cyanidin-3-O-glucoside, acid ellagic, pentoside, ellagic acid glucuronid** và **sanguin H-10** liên quan đến hoạt tính kháng khuẩn (giá trị MIC dao động từ 5- 20 mg/mL) (Liliana Primo da Silva, et.al., 2019).

Dịch chiết lá phức bồn tử *Rubus idaeus* có khả năng chống oxy hóa. Sự hiện diện của các nhóm phenolic trong lá có khả năng ngăn ngừa và chữa trị các bệnh lối sống (Monika Staszowska-Karkut, et.al., 2020).

Các **flavonoid** từ *Rubus corchorifolius* đã được chiết xuất và làm giàu. Các hợp chất này có tác dụng hạ đường huyết đáng kể ở những con chuột được sử dụng liều lượng cao glucose. Cũng trong nghiên cứu này, lần đầu tiên người ta tìm thấy nhiều loại flavonoid có hoạt tính hạ đường huyết. Đây là một nguồn nguyên liệu tiềm năng, có thể bổ sung vào chế độ ăn uống (Jin-Long Tian, et.al., 2021).

Như vậy, có thể thấy rằng các hợp chất có mặt trong thành phần hóa học của các loài thuộc *Rubus* có những tính chất đa dạng, phong phú. Đặc biệt, có thể được ứng dụng trong đời sống con người.

Thông qua các nghiên cứu trên có thể thấy rằng, các hợp chất polyphenol là những hợp chất chính, có hoạt tính sinh học. Điều này đã và đang được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu để áp dụng chúng vào thực tiễn.

1.4. Các phương pháp chiết xuất

a. Kỹ thuật chiết ngâm dầm

Kỹ thuật chiết ngâm dầm có thể dễ dàng thao tác với một lượng lớn nguyên liệu. Ngâm nguyên liệu trong một bình thủy tinh hoặc bằng thép không rỉ, bình có nắp đậy. Tránh sử dụng bình bằng nhựa vì dung môi hữu cơ có thể hòa tan một ít nhựa, gây nhầm lẫn là hợp chất đó có chứa trong cây.

Rót dung môi tinh khiết vào bình cho đến ngập bề mặt của nguyên liệu. Giữ yên ở nhiệt độ phòng trong một đêm hoặc một ngày, để cho dung môi xuyên thấm vào cấu trúc tế bào thực vật và hòa tan các hợp chất tự nhiên. Sau đó, dung dịch chiết được lọc ngang qua tờ giấy lọc, thu hồi dung môi sẽ có được cao chiết. Tiếp theo, rót dung môi mới vào bình chứa nguyên liệu và tiếp tục quá trình chiết thêm một số lần nữa cho đến khi chiết kiệt mẫu cây. Có thể gia tăng hiệu quả chiết bằng cách đảo trộn, xúc đều lớp nguyên liệu.

Mỗi lần ngâm dung môi, chỉ cần 24 giờ là đủ, vì với một lượng dung môi cố định trong bình, mẫu chất chỉ hòa tan vào dung môi đến đạt mức bão hòa, không thể hòa tan thêm được nhiều hơn.

Dung môi sau khi được thu hồi, được làm khan nước bằng các chất làm khan và tiếp tục sử dụng để chiết các lần sau.

b. Chiết nhờ hỗ trợ siêu âm

Siêu âm là sóng cơ học hình thành do sự lan truyền dao động của các phân tử trong không gian có tần số lớn hơn giới hạn trên ngưỡng nghe của con người (16 – 20 kHz). Ngoài ra, sóng siêu âm có bản chất là sóng dọc hay sóng nén, nghĩa là trong trường siêu âm các phân tử dao động theo phương cùng với các phương truyền của sóng.

Nguyên lý tác động của sóng siêu âm:

✚ Hiệu ứng xâm nhập:

Khi sóng siêu âm được truyền vào môi trường chất lỏng, các chu trình kéo và nén liên tục được tạo thành. Trong điều kiện bình thường, các phân tử chất lỏng ở rất gần nhau nhờ sự liên kết hóa học. Khi có sóng siêu âm, trong chu trình nén các phân tử ở gần nhau hơn và trong chu trình kéo chúng bị tách ra xa. Áp lực âm trong chu trình kéo đủ mạnh để thắng các lực liên kết giữa các phân tử và tạo thành những bọt khí nhỏ. Bọt khí tạo thành hạt nhân của hiện tượng xâm thực khí, bao gồm bọt khí ổn định và bọt khí tạm thời.

Bọt khí ổn định là nguồn gốc của những bong bóng nhỏ, kích thước của chúng dao động nhẹ trong chu trình kéo và nén. Sau hàng ngàn chu trình, chúng tăng thêm về kích thước. Trong suốt quá trình dao động, bọt khí ổn định có thể chuyển thành bọt khí tạm thời. Sóng siêu âm làm rung động những bọt khí này, tạo nên hiện tượng “sốc sóng” và hình thành dòng nhiệt bên trong lòng chất lỏng. Bọt khí ổn định có thể lôi kéo những bọt khí khác vào trong trường sóng, kết hợp lại với nhau và tạo thành dòng nhiệt nhỏ.

Các bọt khí tạm thời có kích cỡ thay đổi rất nhanh chóng, chỉ qua vài chu trình chúng bị vỡ ra. Trong suốt chu trình kéo nén, bọt khí kéo giãn và kết hợp lại cho đến khi đạt được cân bằng hơi nước bên trong và bên ngoài bọt khí. Diện tích bề mặt bọt khí trong chu trình kéo lớn hơn trong chu trình nén, vì vậy sự khuếch tán trong chu trình kéo lớn hơn và kích cỡ bọt khí cũng tăng lên trong mỗi chu trình. Các bọt khí lớn dần tới một kích cỡ nhất định mà tại đó năng lượng sóng siêu âm không đủ duy trì pha khí khiến các bọt khí nổ tung dữ dội. Khi đó các phân tử va chạm với nhau mạnh liệt tạo nên hiện tượng “sốc sóng” trong lòng chất lỏng, kết quả là hình thành những điểm có nhiệt độ và áp suất rất cao (5000°C và $5 \times 10^4 \text{ kPa}$) với vận tốc rất nhanh 106^0 C/s .

Hiện tượng xâm thực khí mở đầu cho rất nhiều phản ứng do có sự hình thành các ion tự do trong dung dịch; thúc đẩy các phản ứng hóa học nhờ có sự trộn lẫn các chất phản ứng với nhau; tăng cường phản ứng polymer hóa và depolymer hóa bằng cách phân tán tạm thời các phân tử hay bẻ gãy hoàn toàn các liên kết hóa học trong chuỗi polymer, tăng hiệu suất đồng hóa; hỗ trợ trích ly các chất tan như enzym từ tế bào động vật, thực vật, nấm men và vi khuẩn; tách virus ra khỏi tế bào bị nhiễm; loại bỏ các phân tử nhạy cảm bao gồm cả vi sinh vật.

✚ Hiện tượng vi xoáy:

Sóng siêu âm cường độ cao truyền vào lòng chất lỏng sẽ gây nên sự kích thích mãnh liệt. Tại bề mặt tiếp xúc giữa hai pha lỏng – rắn, sóng siêu âm gây nên sự hỗn loạn cực độ do tạo thành các vi xoáy. Hiện tượng này làm giảm ranh giới giữa các pha, tăng cường sự truyền khối đối lưu và thúc đẩy gây ra sự khuếch tán ở một vài trường hợp mà khuấy trộn thông thường không đạt được.

Các yếu tố ảnh hưởng tới kết quả siêu âm:

✚ Kích thước vật liệu: Quá trình chiết xảy ra chủ yếu do thẩm thấu và khuếch tán nên kích thước vật liệu càng nhỏ, diện tích tiếp xúc càng lớn thì hiệu quả chiết càng cao.

✚ Dung môi: Dung môi chiết là dung môi hòa tan được các hợp chất cần thiết. Khả năng đó của dung môi phụ thuộc một vài tính chất của dung môi như độ phân cực, độ nhớt, sức căng bề mặt, v.v...

✚ Nhiệt độ và thời gian: Tùy thuộc vào mẫu nguyên liệu mà chọn nhiệt độ và thời gian siêu âm thích hợp. Tuy nhiên, phương pháp siêu âm cho phép giảm đáng kể thời gian chiết, tăng tốc độ chiết. Quá trình chiết thông thường có thể kéo dài từ vài tiếng đến vài ngày, nhưng quá trình chiết siêu âm chỉ kéo dài khoảng 20 – 30 phút để đạt hiệu quả tương đương.

c. Kỹ thuật chiết soxhlet

Chiết soxhlet là phương pháp chiết các chất ra khỏi nguyên liệu ban đầu bằng một dung môi hoặc hỗn hợp dung môi với một dụng cụ chuyên dùng đặc biệt gọi là bình chiết soxhlet. Dung môi được đun nóng, cho bay hơi liên tục để dung môi ngưng tụ, chảy vào bình chứa hỗn hợp cần chiết tách (thường gói trong giấy lọc hoặc tấm vải mỏng) nó sẽ hòa tan chất cần chiết. Dịch chiết chảy xuống bình cầu bên dưới, dung môi nguyên chất lại tiếp tục được cất lên. Bằng cách lặp đi lặp lại việc chiết một số lần ta có thể tách hoàn toàn một số chất vào dung môi đã chọn, sau đó cất loại dung môi và cất lấy chất ở nhiệt độ và áp suất thích hợp. Phương pháp này tiết kiệm được dung môi và hiệu quả tương đối cao.

1.5. Các phương pháp tách bằng sắc ký

Phương pháp cách bằng sắc ký được xem là phương pháp tách riêng từng chất có hiệu quả hiện nay. Đặc biệt, được ứng dụng trong hợp chất thiên nhiên.

Định nghĩa: Sắc ký là quá trình tách các cấu tử của một hỗn hợp dựa vào việc cấu tử này sẽ phân bố khác nhau giữa pha tĩnh và pha động.

1.5.1. Sắc ký lớp mỏng (SKLM)

SKLM có nhiều ưu điểm về khả năng tách hỗn hợp phức tạp nhiều cấu tử, các loại hợp chất vô cơ và hữu cơ khác nhau, độ nhạy cao, lượng mẫu phân tích nhỏ, tốc độ phân tích nhanh, có thể biết kết quả sau vài phút, có thể phân tích hàng loạt, kỹ thuật tiến hành đơn giản, ít tốn thiết bị, dung môi và đem lại hiệu quả cao. Vì vậy, hiện nay SKLM được tiến hành rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khoa học và công nghiệp khác nhau như: hóa hữu cơ, hóa sinh, hóa dược, v.v...

1.5.1.1. Nguyên lý

SKLM là phương pháp phân tích trong đó dung dịch phân tích di chuyển trên một lớp chất hấp phụ mịn vô cơ hay hữu cơ theo một chiều nhất định. Tốc độ di chuyển của các cấu tử phụ thuộc vào khả năng hòa tan của nó trong hệ dung môi khai triển. Khi quá trình tách sắc ký dừng lại thu được các vùng chất tách rời nhau.

Để đánh giá khả năng phân giải của các vùng sắc ký người ta dùng hệ số R_f và R_f được xác định như sau:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó : a là khoảng cách chất tan dịch chuyển

b là khoảng cách dung môi dịch chuyển

1.5.1.2. Chất hấp thụ

Chất hấp thụ dùng trong SKLM hầu hết là các oxid không tan, các oxid hydrat hóa và các muối.

Các chất hấp thụ thường dùng:

✚ Silicagel:

+ Silicagel pha thường: là polymer ba chiều của những đơn vị tứ diện oxid silicon SiO_2 , H_2O và trên bề mặt hạt gel có những lỗ rỗng. Bản chất hóa học của bề mặt hạt silicagel là những nhóm silanol-OH đây là những tâm rất hoạt động có thể tạo nên hydrogen mạnh với những chất được sắc ký. Hiện nay các tấm bản mỏng silicagel có cỡ hạt $10 \mu\text{m}$, chiều dày lớp tráng là $250 \mu\text{m}$, phù hợp để tách các hợp chất có trọng lượng phân tử từ 500 – 1000 Dalton. Các tấm bản mỏng silicagel tráng thường trộn thêm chất phát huỳnh quang, được ghi trên hộp silicagel 60 F_{254} .

+ Silicagel pha đảo: Chất hấp thụ SKLM cho silicagel pha đảo thường là C-2, C-1, C-12, C-18. Khi qua pha tĩnh tráng silicagel C-18, pha tĩnh này thường có tính

chất không phân cực, hấp thụ mạng các hợp chất không phân cực. Pha động thường là nước. Bên cạnh dung môi nước, người ta thêm vào các dung môi hữu cơ như methanol, acetonitril, v.v... với nồng độ tăng dần theo nồng độ sắc ký. Khi giải ly bản mỏng bởi các dung môi phân cực, các chất phân cực của mẫu chất, do không bị pha tĩnh níu giữ mạnh, sẽ được giải ly đi lên cao, còn hợp chất không phân cực của mẫu chất sẽ ở vị trí thấp; nghĩa là thứ tự các loại hợp chất phân cực và không phân cực hiện diện trên bản mỏng có trật tự ngược lại với bản mỏng silicagel thông thường.

✚ Alumina Al_2O_3 : được dung dưới dạng dehydrat hóa Al_2O_3 có nhiệt độ nóng chảy $370 - 400^\circ C$ và diện tích bề mặt từ $90 - 180 m^2/g$, cỡ hạt lớn hơn $10\mu m$.

✚ Kieselgur: là một loại khoáng đất có cỡ hạt từ $0,02 - 2nm$. Trung bình là khoảng $0,2nm$.

✚ Celite, cellulose, v.v...

1.5.1.3. Lựa chọn dung môi

Chọn dung môi triển khai tùy thuộc vào mẫu cần chiết. Với mẫu chưa biết thành phần, chưa có tài liệu tham khảo cần thử nghiệm với nhiều loại dung môi khác nhau từ không phân cực đến phân cực. Dung môi nào tách tốt trên sắc ký bản mỏng sẽ thích hợp cho sắc ký cột.

1.5.2. Sắc ký trao đổi ion

Pha tĩnh là chất rắn, là những hạt hình cầu, rất nhỏ, không tan trong nước, có cấu tạo hóa học là polymer, nên được gọi là các hạt nhựa. Bề mặt của hạt mang các nhóm chức năng hóa học ở dạng ion. Có hai loại nhựa là nhựa trao đổi anion và nhựa trao đổi cation. Nhựa trao đổi anion mang nhóm chức điện tích dương nên bắt giữ các ion của pha động ngược lại, nhựa trao đổi cation mang nhóm chức điện tích âm nên nhựa bắt giữ các ion dương của pha động. Sự bắt giữ xảy ra nhờ lực hút tĩnh điện giữa 2 điện tích ngược dấu. Các loại nhựa trao đổi ion được sử dụng để tách các ion vô cơ hoặc hữu cơ.

Sự tách riêng các chất của một hỗn hợp dựa vào việc hợp chất nào của hỗn hợp có mang điện tích ngược dấu với điện tích của hạt nhựa, bị hạt nhựa bắt giữ lại trong cột. Hợp chất mang nhiều điện tích gắn mạnh vào pha tĩnh, hợp chất nào mang ít điện tích gắn yếu và không mang điện tích không gắn và ra khỏi cột trước.

CHƯƠNG 2 - ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP, NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là lá các loài thuộc chi *Rubus* được trồng và mọc hoang dại ở Lâm Đồng. Thông tin về mẫu nghiên cứu được trình bày trong bảng 2.1.

Chuyên gia xác định tên khoa học của mẫu: TS. Lương Văn Dũng, Khoa Sinh học, Trường Đại học Đà Lạt.

Bảng 2.1. Thông tin mẫu nghiên cứu

Stt	Ký hiệu mẫu	Tên khoa học	Tên thông thường	Mô tả mẫu	Nơi lấy mẫu	Ngày lấy mẫu	Khối lượng mẫu (gam)
1	BL1	<i>Rubus alcaef olius</i>	Mâm xôi, dum ngấy, chùm đũm	Phiến lá dày, mặt trên nhám, mặt dưới đầy lông hoe, lá bẹ chẻ thành sợi mịn.	Bảo Lộc	6/10/2020	420g
2	BL2	<i>Rubus alcaef olius</i>	Mâm xôi, dum ngấy, chùm đũm	Phiến lá dày, mặt trên nhám, mặt dưới đầy lông hoe, lá bẹ chẻ thành sợi mịn.	Bảo Lộc	6/3/2021	1220g
3	HXH	<i>Rubus alcaef olius</i>	Mâm xôi, dum ngấy, chùm đũm	Phiến lá dày, mặt trên nhám, mặt dưới đầy lông hoe, lá bẹ chẻ thành sợi mịn.	Bờ Hồ Xuân Hương, Đà Lạt	13/10/2020	4760g
4	NB1	<i>Rubus annamensis</i>	Dum Trung bộ, Sa-mo-pen	Lá bẹ tròn, xẻ. Mặt dưới đầy lông xám.	Nam Ban	16/10/2020	4050g
5	NB2	<i>Rubus annamensis</i>	Dum Trung bộ, Sa-mo-pen	Lá bẹ tròn, xẻ. Mặt dưới đầy lông xám.	Nam Ban	26/3/2021	745g

6	RB	<i>Rubus idaeus</i>	Mâm xôi đỏ, mâm xôi châu Âu	Lá kép, hình kim lớn với năm hoặc bảy lá chét.	Lạc Dương	16/3/2021	240g
7	BB	<i>Rubus allegheniensis</i>	Mâm xôi thường, mâm xôi Alleghe ny	Lá mọc xen kẽ, hình trứng và có răng cưa ở mép lá, cuống lá dài, dài hơn 10 cm và rộng gần 8 cm, có lông thưa thớt ở mặt trên, trong khi mặt dưới của lá có màu xanh nhạt hơn nhưng dày lông hơn mặt trên.	Lạc Dương	16/3/2021	530g
8	LD	<i>Rubus sorbifolius</i>	Dum nhọn, tum khôn, lông ôn	Lá có lông ở gân, có gai ở gân chánh.	Lạc Dương	16/3/2021	110g
9	Thân	<i>Rubus annamensis</i>	Mâm xôi, dum ngậy, đùm đũm	Bụi trườn, nhánh đầy lông, gai cong.	Nam Ban	16/10/2020	1200g



Hình 2.1. Mẫu lá BL1 mọc dại tại Bảo Lộc



Hình 2.2. Mẫu lá NB1 mọc dại tại Nam Ban



Hình 2.3. Quả NB1 mọc dại tại Nam Ban



Hình 2.4. Mẫu lá HXH mọc dại tại Đà Lạt



Hình 2.5. Mẫu lá BB đen hái tại vườn ở Lạc Dương



Hình 2.6. Quả BB đen hái tại vườn ở Lạc Dương



Hình 2.7. Hoa BB đen hái tại vườn ở Lạc Dương



Hình 2.8. Mẫu lá LD mọc dại tại Lạc Dương

2.2. Thời gian thực hiện đề tài

Đề tài được nghiên cứu từ tháng 12/2020 đến tháng 05/2021 tại phòng thí nghiệm Hóa hữu cơ, Khoa Hóa học và Môi trường.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp xác định độ ẩm

Xác định độ ẩm nguyên liệu bằng phương pháp tính phần trăm mất khối lượng do sấy khô ở 105°C trên cân sấy ẩm.

2.3.2. Phương pháp định tính bằng phản ứng hoá học

Căn cứ vào phản ứng cho dấu hiệu đặc trưng của các họ hợp chất hoặc các chất cần xác định mà chọn phản ứng cũng như thuốc thử phù hợp, để nhận biết được họ hợp chất hoặc các chất cần tìm.

2.3.3. Phương pháp phân tích bằng sắc kí lớp mỏng

Dùng SKLM để xác định sơ bộ về các cấu tử trong dịch chiết methanol, xác định hệ số R_f , từ đó dự đoán sự có mặt của một số hợp chất. Dùng bản mỏng tráng sẵn silicagel GF₂₅₄, hiện vết bằng cách soi dưới đèn tử ngoại ở 254 nm và 365 nm hoặc phun thuốc thử H₂SO₄ 10%.

2.3.4. Phương pháp định lượng polyphenol

Dựa theo Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9745-1:2013 ISO 14502-1:2005 về Chè – Xác định các chất đặc trưng của chè xanh và chè đen phần 1: Hàm lượng polyphenol tổng số trong chè – phương pháp đo màu dùng thuốc thử Folin-Ciocalteu và các máy móc, hóa chất hiện có tại điều kiện phòng thí nghiệm, xây dựng quy trình định lượng polyphenol trong lá phức bồn tử.

CHƯƠNG 3 – THỰC NGHIỆM

3.1. Hoá chất và thiết bị

3.1.1. Hoá chất

- HCHO 37-40%, KI rắn, HgCl₃, FeCl₃.6H₂O, C₄H₄KNaO₆.4H₂O, CuSO₄.5H₂O, C₂H₅OC₂H₅, I₂ rắn, Acid picric, Bi(NO₃)₃.5H₂O, Mg rắn, NaOH, NaNO₂, NH₃, HCl 36-38%, H₂SO₄ 95-98%, Na₂CO₃, CH₃COONa, Gelatin bột, KOH, CH₃COOH 99.5%, Pb (CH₃COO)₂, Pb(OH)₂, (CH₃CO)₂O, CHCl₃, C₆H₇NO₃S, MeOH, C₆H₁₄, CH₂Cl₂.

- Cồn đốt, Nước cất.

- Thuốc thử Folin – Ciocalteu.

- Chất chuẩn: acid gallic (dạng monohydrate, độ tinh khiết 98,0%, HiMedia Labs, India).

3.1.2. Dụng cụ và thiết bị

Dụng cụ

- Bình cầu đáy tròn cổ nhám 500ml, phễu chiết 250ml - 500ml.

- Sinh hàn hồi lưu, bộ chiết Soxhlet.

- Bình định mức 10, 25, 50, 100, 250, 500ml.

- Pipette 1,2,5,10, 25ml.

- Cốc 50, 100, 250, 500ml.

- Ống nghiệm, bình tia, màng bọc thực phẩm, muỗng, giấy lọc, bếp điện, nồi inox, túi vải đựng mẫu.

- Cuvet.

Thiết bị

- Máy trắc quang so màu PRIM

- Máy chiết siêu âm UCL 75- RAYPA 2019

- Lò nung - Mutitherm N7

- Tủ sấy Memmert Model UM 400

- Cân phân tích Ohaus AR2401

- Máy cất nước 1 lần WCS/4-Harniton

- Máy xay sinh tố Kagaroo KG304
- Cân phân tích độ ẩm điện tử CHAUS MB 120
- Máy cô quay chân không Recirculaty chiller F 305
- Hệ thống chiết siêu âm EXU 50/ENV

3.2. Tiến hành thí nghiệm

3.2.1. Nguyên liệu

Mẫu cây tươi sau khi hái gồm lá và thân được rửa sạch bằng nước để khô, cắt nhỏ sau đó đem sấy ở 60⁰ cho đến khi nguyên liệu khô hoàn toàn. Bảo quản mẫu trong túi nilon kín.

3.2.2. Xác định độ ẩm trên mẫu khô

Tiến hành xác định độ ẩm trước khi phân tích.

Cách tiến hành: Cân khoảng 3 g mẫu đã được đem sấy ở 60⁰ nghiền nhỏ, xác định độ ẩm trên cân phân tích độ ẩm điện tử CHAUS MB 120.

3.2.3. Định tính một số nhóm chất trong lá phúc bồn tử

Thực hiện phản ứng định tính với các dịch chiết từ kém phân cực đến phân cực để định tính từng phân đoạn.

3.2.3.1. Định tính các thành phần trong dịch chiết n - hexan

Cân 10g bột dược liệu vào bình chiết Soxhlet. Chiết bằng n-hexan đến khi dung môi trong bình chiết không màu. Dịch chiết n-hexan được cất thu hồi bớt dung môi. Dịch chiết đậm đặc thu được dùng để làm các phản ứng định tính chất béo, phytosterol, carotenoid.

a. Định tính chất béo

Chấm 3 giọt dịch chiết n-hexan lên giấy lọc. Sấy nhẹ đến khô. Nếu thấy có vết mờ trên giấy lọc nghĩa là có chất béo.

b. Định tính phytosterol

Phản ứng Liberman: Cho vào ống nghiệm 1ml dịch chiết, để bốc hơi dung môi đến khô. Hoà tan cần trong 1ml anhydrid acetic. Nghiêng ống nghiệm và thêm 1ml H₂SO₄ đặc theo thành ống nghiệm. Nếu ở mặt phân cách giữa 2 lớp chất lỏng xuất hiện vòng màu tím đỏ, lắc nhẹ, lớp chất lỏng phía trên có màu xanh là phản ứng dương tính.

c. Định tính carotenoid

Cho vào ống nghiệm 1ml dịch chiết, để bốc hơi dung môi đến khô. Thêm vài giọt H_2SO_4 đậm đặc. Nếu thấy xuất hiện màu xanh dương là phản ứng dương tính: có carotenoid.

3.2.3.2. Định tính các thành phần trong dịch chiết còn

Bã dược liệu sau khi chiết bằng n-hexan hoặc ether dầu dễ bay hơi dung môi đến khô. Chiết hồi lưu với 50ml cồn 90% trong 30 phút (hoặc chiết siêu âm ở $60^\circ C$ trong 15 phút). Dịch chiết được lọc và cô đến còn 10ml để làm các phản ứng định tính **flavonoid, coumarin, saponin, acid hữu cơ, acid amin, đường tự do**.

a. Định tính flavonoid

- *Phản ứng Cyanidin*: Cho 1ml dịch chiết còn vào ống nghiệm, thêm một ít bột Mg kim loại và vài giọt HCl đặc, đun nóng trên nồi cách thủy. Nếu thấy xuất hiện màu hồng đỏ là phản ứng dương tính.

- *Phản ứng với kiềm*:

Phản ứng với hơi amoniac: Nhỏ 3 giọt dịch chiết còn lên tờ giấy lọc, hơi nóng nhẹ cho khô hết dung môi. Hơi tờ giấy lên miệng lọ amoniac đã được mở nút, nếu thấy màu vàng của vết tăng lên là phản ứng dương tính.

Phản ứng với dung dịch NaOH 10%: Cho 1ml dịch chiết còn vào ống nghiệm, thêm vài giọt dung dịch NaOH 10%, nếu thấy xuất hiện tủa đục và màu của dịch chiết vàng đậm lên là phản ứng dương tính.

- *Phản ứng với dung dịch $FeCl_3$ 5%*: cho 1ml dịch chiết còn vào ống nghiệm, thêm vài giọt dung dịch $FeCl_3$ 5%, nếu thấy xuất hiện tủa màu xanh đen là phản ứng dương tính.

b. Định tính coumarin

Phản ứng mở và đóng vòng lacton: Cho vào 2 ống nghiệm mỗi ống 1 ml dịch chiết còn. ống 1 thêm 0,5ml NaOH 10% còn ống 2 để nguyên. Đun cách thủy cả 2 ống nghiệm đến sôi rồi để nguội. Thêm vào mỗi ống 2ml nước cất và lắc đều. Nếu có coumarin thì ống thứ nhất trong hơn ống thứ hai.

c. Định tính saponin

Phản ứng tạo bọt: Cho vào ống nghiệm 3ml dịch chiết còn, thêm 5 ml nước cất, lắc mạnh trong 5 phút rồi để yên. Nếu thấy cột bọt cao $> 1cm$ và bền vững là phản ứng dương tính.

d. Định tính acid hữu cơ

- Cho vào ống nghiệm 1ml dịch chiết còn và cô đến cạn. Hoà cồn trong 1ml nước và thêm vài tinh thể Na_2CO_3 . Nếu thấy có bọt khí nổi lên là phản ứng dương tính.

- Nhỏ 1 giọt dịch chiết còn lên giấy quỳ. Nếu giấy quỳ chuyển màu đỏ là có acid hữu cơ.

e. Định tính acid amin

Cho vào ống nghiệm 3 ml dịch chiết còn. Thêm vài mảnh ninhydrin, đun sôi. Nếu thấy dung dịch chuyển màu tím là phản ứng dương tính.

f. Định tính đường tự do

Cho vào ống nghiệm 1 ml dịch chiết còn và cô đến cạn. Hòa cồn trong 2ml nước, thêm 1ml thuốc thử Fehling A và 1ml thuốc thử Fehling B, đun cách thủy trong vài phút. Nếu thấy có tủa màu đỏ gạch là phản ứng dương tính.

3.2.3.3. Định tính các nhóm chất khác

a. Định tính polysacharid:

Bã dược liệu sau khi chiết còn để bay hơi hết dung môi đến khô. Thêm 50ml nước, chiết nóng ở khoảng 90°C trong 30 phút. Lấy 3ml dịch chiết nước cho vào ống nghiệm rồi nhỏ vài giọt thuốc thử Lugol nếu xuất hiện màu xanh lam thì phản ứng dương tính.

b. Định tính alcaloid:

Lấy 1g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 50ml, thêm 15ml dung dịch H_2SO_4 2%, đun sôi trong vài phút. Để nguội, lọc dịch chiết vào bình gạn, kiềm hoá dịch lọc bằng dung dịch NH_4OH 6N đến pH kiềm. Chiết alcaloid bằng CHCl_3 3 lần, mỗi lần 5ml. Dịch chiết CHCl_3 được gộp lại và lắc với dung dịch H_2SO_4 2%. Gạn lấy lớp nước acid, cho vào 3 ống nghiệm, mỗi ống 1ml để làm các phản ứng sau:

- Thêm 2-3 giọt thuốc thử Mayer: nếu có alcaloid sẽ thấy xuất hiện tủa trắng hay vàng nhạt.

- Thêm 2-3 giọt thuốc thử Bouchardat, nếu có alcaloid sẽ thấy xuất hiện tủa nâu.

- Thêm 2-3 giọt thuốc thử Dragendorff, nếu có alcaloid sẽ thấy xuất hiện tủa vàng cam hay đỏ.

c. Định tính anthranoid:

Phản ứng Borntraeger: Cho vào ống nghiệm to 1g bột dược liệu, thêm dung dịch H₂SO₄ 25% tới ngập dược liệu rồi đun sôi trong vài phút. Lọc dịch chiết vào bình gạn, để nguội rồi lắc với 5ml ether. Lấy 1ml dịch chiết ether cho vào ống nghiệm, thêm 1ml KOH 10%. Nếu có anthranoid sẽ thấy xuất hiện màu đỏ ở lớp kiềm.

d. Định tính tanin:

Lấy 1g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 50ml. Thêm nước ngập dược liệu và đun sôi trong vài phút. Lọc nóng, lấy dịch lọc để làm các phản ứng sau:

- *Phản ứng với dung dịch gelatin 1%:* Cho 1ml dịch chiết nước vào ống nghiệm, thêm vài giọt dung dịch gelatin 1%. Nếu thấy xuất hiện tủa bông trắng là phản ứng dương tính.

- *Phản ứng Stiasny:* Lấy 5ml dịch chiết nước cho vào ống nghiệm, thêm 1ml formol và 0,5ml HCl đặc. Đun sôi trong vài phút. Nếu có tanin thì sẽ thấy xuất hiện tủa đỏ đục. Thêm một lượng natri acetat dư và vài giọt dung dịch FeCl₃ 5%, sẽ thấy xuất hiện tủa xanh đen.

3.2.4. Phân tích sơ bộ thành phần hoá học lá phức bồn tử bằng SKLM

3.2.4.1. Khảo sát hệ dung môi

Cân 1 g mẫu BL1 vào cốc thủy tinh, thêm 10ml MeOH, chiết siêu âm ở 40⁰C trong 30 phút. Bốc hơi dung môi đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml MeOH thu được dung dịch để dùng chấm sắc ký trên bản mỏng bản mỏng silicagel. Khai triển sắc ký với các hệ dung môi khác nhau, hiện vết bằng cách soi dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm và phun thuốc thử H₂SO₄ 10%.

Bảng 3.1. Các hệ dung môi khảo sát chạy SKLM

STT	Hệ dung môi	Tỉ lệ
1	n-Hexan : aceton	9:1
2	Chloroform : methanol	9:1
3	Toluen : EtOAc : aceton : acid fomic	5:2:2:1
4	Chloroform : methanol	1:1
5	Chloroform : methanol : nước	7:3:0,4

3.2.4.2. So sánh thành phần hoá học các mẫu lá phức bồn tử

Tiến hành chiết 1 g mỗi mẫu lá phức bồn tử thu được tại những nơi khác nhau trong 10ml MeOH. Bốc hơi dung môi đến cạn. Hòa tan cặn trong 1 ml MeOH thu được dung dịch để dùng chấm sắc ký trên bản mỏng silicagel với hệ dung môi Chloroform : methanol (9:1).

3.2.5. Định lượng hàm lượng polyphenol trong các mẫu lá phức bồn tử

Hàm lượng polyphenol tổng số được xác định bằng phương pháp đo màu dùng thuốc thử Folin – Ciocalteu.

Nguyên tắc: Polyphenol từ mẫu thử đã nghiền mịn được chiết bằng methanol 70% ở 70°C. Các polyphenol trong dịch chiết được xác định bằng đo màu, dùng thuốc thử Folin – Ciocalteu. Thuốc thử này chứa chất oxy hóa là acid phospho – vonframic, trong quá trình khử, các nhóm hydroxy phenol dễ bị oxy hóa, chất oxy hóa này sinh ra màu xanh có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 765 nm. Phản ứng này là do sự hình thành màu xanh của vonfarm và molybden. Các thuốc thử Folin – Ciocalteu phản ứng với nhiều hợp chất polyphenol và mặc dù có thể có đáp ứng khác nhau với các hợp chất đơn lẻ, thì việc lựa chọn acid gallic làm chất chuẩn hiệu chỉnh cũng giúp ích cho việc thu được dữ liệu polyphenol tổng số.

Chuẩn bị dung môi và thuốc thử

- Dung môi chiết (methanol / nước): cho 700 ml methanol vào bình định mức 1 lít, pha loãng bằng nước đến vạch.

- Thuốc thử: pha loãng dung dịch thuốc thử Folin- Ciocalteu 10 lần ngay trước khi tiến hành phản ứng.

- Dung dịch Na₂CO₃ 7,5%: Cân 37,5 ± 0,01 gam natri carbonat (Na₂CO₃) cho vào bình định mức 1 vạch 500 ml. Thêm nước ấm đến nửa bình, lắc để hòa tan, để nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng bằng nước cho đủ thể tích.

3.2.5.1. Xây dựng đường chuẩn acid gallic

Chuẩn bị dung dịch mẹ (acid gallic) bằng cách cân 0,110 ± 0,001 g acid gallic ngâm một phen tử nước cho vào bình định mức 50 ml, hòa tan trong nước cất đến vạch và trộn đều thu được dung dịch mẹ.

Từ dung dịch mẹ này tiếp tục pha loãng trong nước cất để thu được dãy dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µg/ml.

Tiến hành phản ứng tạo màu: Lấy 1,0 ml dung dịch chuẩn cho vào ống nghiệm, bổ sung vào 5,0 ml thuốc thử Folin-Ciocalteu 10% và trộn. Sau khi cho Folin-Ciocalteu vào từ 3 – 8 phút, bổ sung 4 ml dung dịch Na_2CO_3 7,5%. Để yên bình ở nhiệt độ phòng trong 45 phút, sau đó đo độ hấp thụ trong cuvet có chiều dài đường quang 10 mm so với nước trên máy đo quang phổ đặt ở bước sóng 765 nm. Song song thực hiện một mẫu trắng với 1,0 ml nước cất.

3.2.5.2. Khảo sát phương pháp và thời gian chiết polyphenol từ mẫu lá phúc bồn tử

a. Khảo sát thời gian chiết siêu âm

Lấy chính xác 1,000 gam nguyên liệu đã được cắt nhỏ cho vào cốc thủy tinh 250 ml. Thêm chính xác 100 ml dung môi (methanol 70%), đậy kín cốc bằng màng bọc PE. Tiến hành chiết nhờ hỗ trợ siêu âm ở 40°C trong 30 phút, 45 phút, 60 phút, 75 phút và 90 phút. Sau khi chiết xong, để nguội, lọc lấy phần dịch chiết. Lấy 1,0 ml dịch chiết cho vào bình định mức 25 ml, định mức tới vạch bằng nước cất, trộn đều và thực hiện phản ứng tạo màu, đo quang ở bước sóng 765 nm.

b. Khảo sát thời gian chiết hồi lưu

Lấy chính xác 1,000 gam nguyên liệu đã được cắt nhỏ cho vào bình cầu 250 ml. Thêm chính xác 100 ml dung môi (methanol 70%), chiết hồi lưu trong 30 phút, 45 phút, 60 phút, 75 phút và 90 phút. Sau khi chiết xong, để nguội, lọc lấy phần dịch chiết. Lấy 1,0 ml dịch chiết cho vào bình định mức 25 ml, định mức tới vạch bằng nước cất, trộn đều và thực hiện phản ứng tạo màu, đo quang ở bước sóng 765 nm.

c. Khảo sát nồng độ dung môi chiết

Lấy chính xác 1,000 gam nguyên liệu đã được cắt nhỏ cho vào bình cầu 250 ml. Thêm chính xác 100 ml dung môi (methanol 60%, 70% và 80%), chiết hồi lưu trong 75 phút. Sau khi chiết xong, để nguội, lọc lấy phần dịch chiết. Lấy 1,0 ml dịch chiết cho vào bình định mức 25 ml, định mức tới vạch bằng nước cất, trộn đều và thực hiện phản ứng tạo màu, đo quang ở bước sóng 765 nm.

3.2.5.3. Định lượng polyphenol tổng số trong các mẫu thử

a. Chuẩn bị mẫu thử định lượng polyphenol

Lấy chính xác 1,000 gam nguyên liệu đã được cắt nhỏ cho vào bình cầu. Thêm chính xác 100 ml dung môi (methanol 70%), chiết siêu âm (hoặc chiết hồi lưu) trong 75 phút. Sau khi chiết xong, để nguội, lọc lấy phần dịch chiết. Lấy 1,0 ml dịch chiết cho vào bình định mức 25 ml, định mức tới vạch bằng nước cất, trộn đều và thực

hiện phản ứng tạo màu, đo quang ở bước sóng 765 nm. Lặp lại 3 lần để đảm bảo chính xác.

b. Tính toán kết quả

Dựng đường chuẩn tuyến tính acid gallic, tính hệ số tương quan r^2 .

Xác định độ dốc đường chuẩn và giá trị giao điểm với trục tung của đồ thị. Hàm lượng polyphenol toàn phần w_T được tính bằng công thức sau:

$$w_T = \frac{(A_{mẫu} - A_{giao\ điểm}) \cdot V_{mẫu} \cdot d \cdot 100 \cdot 100}{S_{chuẩn} \cdot m_{mẫu} \cdot 1000000 \cdot w_{DM}}$$

Trong đó:

$A_{mẫu}$ là độ hấp thụ thu được đối với dung dịch mẫu thử.

$A_{giao\ điểm}$ là độ hấp thụ tại điểm đường chuẩn tuyến tính cắt với trục y.

$S_{chuẩn}$ là độ dốc thu được từ hiệu chuẩn tuyến tính.

$m_{mẫu}$ là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

$V_{mẫu}$ là thể tích của dịch chiết mẫu.

d là hệ số pha loãng được dùng trước khi xác định phép đo màu (bằng 25).

w_{DM} là hàm lượng chất khô của mẫu thử, tính bằng phần trăm khối lượng (%).

CHƯƠNG 4 – KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

4.1. Kết quả định tính các nhóm chất có trong lá phức bồn tử

Bảng 4.1. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài *R. annamensis*

Stt	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận sơ bộ
1	Chất béo	Đề vệt mờ trên giấy lọc	+	Có chất béo
2	Phytosterol	Phản ứng Liberman	++	Có phytosterol
3	Carotenoid	+ H ₂ SO ₄ đặc	+	Có carotenoid
4	Flavonoid	phản ứng Cyanidin	+	Có flavonoid
		phản ứng với kiềm	++	
		+ FeCl ₃ 5%	+	
5	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không có coumarin
		Soi huỳnh quang dưới đèn tử ngoại	-	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	Có saponin
7	Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	+	Có acid hữu cơ
		Đổi màu giấy quỳ	+	
8	Acid amin	TT Ninhydrin	++	Có acid amin
9	Đường tự do	TT Fehling	++	Có đường khử
10	Polysaccharid	TT Lugol	-	Không có polysaccharid
11	Alcaloid	TT Mayer	++	Có alcaloid
		TT Bouchardat	+	
		TT Dragendorff	+	
12	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có anthranoid
13	Tanin	Gelatin 1%	+	Có tanin
		Phản ứng Styasni	+	

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính

+ : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Bảng 4.2. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài *R. alcaefolius*

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận sơ bộ
1	Chất béo	Đề vết mờ trên giấy lọc	+	Có chất béo
2	Phytosterol	Phản ứng Liberman	++	Có phytosterol
3	Carotenoid	+ H ₂ SO ₄ đặc	+	Có carotenoid
4	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	+	Có flavonoid
		Phản ứng với kiềm	+++	
		+ FeCl ₃ 5%	+	
5	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không có coumarin
		Soi huỳnh quang dưới đèn tử ngoại	-	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	Có saponin
7	Acid hữu cơ	+ Na ₂ CO ₃	+	Có acid hữu cơ
		Đổi màu giấy quỳ	+	
8	Acid amin	TT Ninhydrin	+++	Có acid amin
9	Đường tự do	TT Fehling	++	Có đường khử
10	Polysaccharid	TT Lugol	-	Không có polysaccharid
11	Alcaloid	TT Mayer	++	Có alcaloid
		TT Bouchardat	+	
		TT Dragendorff	+	
12	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có anthranoid
13	Tanin	Gelatin 1%	+	Có tanin
		Phản ứng Styasni	+++	

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính + : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Bảng 4.3. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài *R. idaeus*

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận sơ bộ
1	Chất béo	Đề vết mờ trên giấy lọc	+	Có chất béo
2	Phytosterol	Phản ứng Liberman	+	Có phytosterol
3	Carotenoid	+ H ₂ SO ₄ đặc	-	Không có carotenoid
4	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	++	Có flavonoid
		Phản ứng với kiềm	+++	
		+ FeCl ₃ 5%	+++	
5	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không có coumarin
		Soi huỳnh quang dưới đèn tử ngoại	-	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	Có saponin
7	Acid hữu cơ	+ Na ₂ CO ₃	+	Có acid hữu cơ
		Đổi màu giấy quỳ	++	
8	Acid amin	TT Ninhydrin	+++	Có acid amin
9	Đường tự do	TT Fehling	++	Có đường khử
10	Polysaccharid	TT Lugol	-	Không có polysaccharid
11	Alcaloid	TT Mayer	+	Có alcaloid
		TT Bouchardat	+++	
		TT Dragendorff	++	
12	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có anthranoid
13	Tanin	Gelatin 1%	+	Có tanin
		Phản ứng Styasni	+++	

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính + : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Bảng 4.4. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài *R. allegheniensis*

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận sơ bộ
1	Chất béo	Đề vết mờ trên giấy lọc	+	Có chất béo
2	Phytosterol	Phản ứng Liberman	++	Có phytosterol
3	Carotenoid	+ H ₂ SO ₄ đặc	+	Có carotenoid
4	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	+	Có flavonoid
		Phản ứng với kiềm	+++	
		+ FeCl ₃ 5%	+++	
5	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không có coumarin
		Soi huỳnh quang dưới đèn tử ngoại	-	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	Có saponin
7	Acid hữu cơ	+ Na ₂ CO ₃	+	Có acid hữu cơ
		Đổi màu giấy quỳ	+	
8	Acid amin	TT Ninhydrin	+++	Có acid amin
9	Đường tự do	TT Fehling	+	Có đường khử
10	Polysaccharid	TT Lugol	-	Không có polysaccharid
11	Alcaloid	TT Mayer	+++	Có alcaloid
		TT Bouchardat	+++	
		TT Dragendorff	+++	
12	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có anthranoid
13	Tanin	Gelatin 1%	++	Có tanin
		Phản ứng Styasni	+++	

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính + : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Bảng 4.5. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu lá loài *R. sorbifolius*

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận sơ bộ
1	Chất béo	Đề vết mờ trên giấy lọc	+	Có chất béo
2	Phytosterol	Phản ứng Liberman	+	Có phytosterol
3	Carotenoid	+ H ₂ SO ₄ đặc	-	Không có carotenoid
4	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	+	Có flavonoid
		Phản ứng với kiềm	+++	
		+ FeCl ₃ 5%	+++	
5	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không có coumarin
		Soi huỳnh quang dưới đèn tử ngoại	-	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	Có saponin
7	Acid hữu cơ	+ Na ₂ CO ₃	+	Có acid hữu cơ
		Đổi màu giấy quỳ	+	
8	Acid amin	TT Ninhydrin	+++	Có acid amin
9	Đường tự do	TT Fehling	+	Có đường khử
10	Polysaccharid	TT Lugol	-	Không có polysaccharid
11	Alcaloid	TT Mayer	+	Không có alcaloid
		TT Bouchardat	-	
		TT Dragendorff	-	
12	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có anthranoid
13	Tanin	Gelatin 1%	++	Có tanin
		Phản ứng Styasni	+++	

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính + : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Bảng 4.6. Kết quả định tính các nhóm chất trong mẫu thân loài *R. annamensis*

STT	Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả	Kết luận sơ bộ
1	Chất béo	Đề vết mờ trên giấy lọc	+	Có chất béo
2	Phytosterol	Phản ứng Liberman	+	Có phytosterol
3	Carotenoid	+ H ₂ SO ₄ đặc	-	Không có carotenoid
4	Flavonoid	Phản ứng Cyanidin	+++	Có flavonoid
		Phản ứng với kiềm	+++	
		+ FeCl ₃ 5%	+++	
5	Coumarin	Phản ứng mở và đóng vòng lacton	-	Không có coumarin
		Soi huỳnh quang dưới đèn tử ngoại	-	
6	Saponin	Hiện tượng tạo bọt	++	Có saponin
7	Acid hữu cơ	+ Na ₂ CO ₃	-	Không có acid hữu cơ
		Đổi màu giấy quỳ	-	
8	Acid amin	TT Ninhydrin	+++	Có acid amin
9	Đường tự do	TT Fehling	+	Có đường khử
10	Polysaccharid	TT Lugol	+	Có polysaccharid
11	Alcaloid	TT Mayer	-	Không có alcaloid
		TT Bouchardat	-	
		TT Dragendorff	-	
12	Anthranoid	Phản ứng Borntraeger	-	Không có anthranoid
13	Tanin	Gelatin 1%	++	Có tanin
		Phản ứng Styasni	+++	

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính + : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Bảng 4.7. Tổng hợp kết quả định tính các nhóm chất trong lá các loài *Rubus*

Stt	Nhóm chất	Lá					Thân
		<i>R. annamensis</i>	<i>R. alcaefolius</i>	<i>R. idaeus</i>	<i>R. allegheniensis</i>	<i>R. sorbifolius</i>	<i>R. annamensis</i>
1	Chất béo	+	+	+	+	+	+
2	Phytosterol	++	++	+	++	+	+
3	Carotenoid	+	+	-	+	-	-
4	Flavonoid	+	+	+++	++	+	+++
5	Coumarin	-	-	-	-	-	-
6	Saponin	+++	+++	+++	+++	+++	++
7	Acid hữu cơ	+	+	+	+	+	-
8	Acid amin	++	+++	+++	+++	+++	+++
9	Đường khử	++	++	++	+	+	+
10	Polysaccharid	-	-	-	-	-	+
11	Alcaloid	+	+	++	+++	-	-
12	Anthranoid	-	-	-	-	-	-
13	Tanin	+	+	+	++	++	++

Ghi chú: - : Phản ứng âm tính + : Phản ứng dương tính

++ : Phản ứng dương tính rõ +++ : Phản ứng dương tính rất rõ

Nhận xét:

Kết quả thu được cho thấy:

- Trong mẫu lá các loài *Rubus* thu thập được ở Lâm Đồng đều có chứa chất béo, saponin, tanin, acid amin, đường tự do, acid hữu cơ, phytosterol, flavonoid và không chứa coumarin, anthranoid và polysaccharid. Trong đó, lá của 3/5 loài có chứa carotenoid, 4/5 loài có alcaloid.

- Thân loài *R. annamensis* cũng có chứa các nhóm chất béo, saponin, tanin, acid amin, đường tự do, phytosterol, flavonoid, không chứa carotenoid, acid hữu cơ, alcaloid, anthranoid nhưng có chứa polysaccharid.

4.2. Kết quả phân tích sơ bộ thành phần hoá học trong lá phúc bồn tử bằng SKLM

4.2.1. Kết quả khảo sát hệ dung môi

Từ kết quả sắc ký đồ thu được cho thấy hệ dung môi chloroform : methanol (9:1) thu được các vệt màu rõ ràng nhất.

Hệ dung môi tách chất tốt nhất là hệ chloroform – methanol (9 : 1).

Hệ dung môi n-hexan – acetone (9 : 1) không hiện được vệt chất.

Các hệ dung môi còn lại cho các vệt chất kéo dài, không tách rõ được chất.

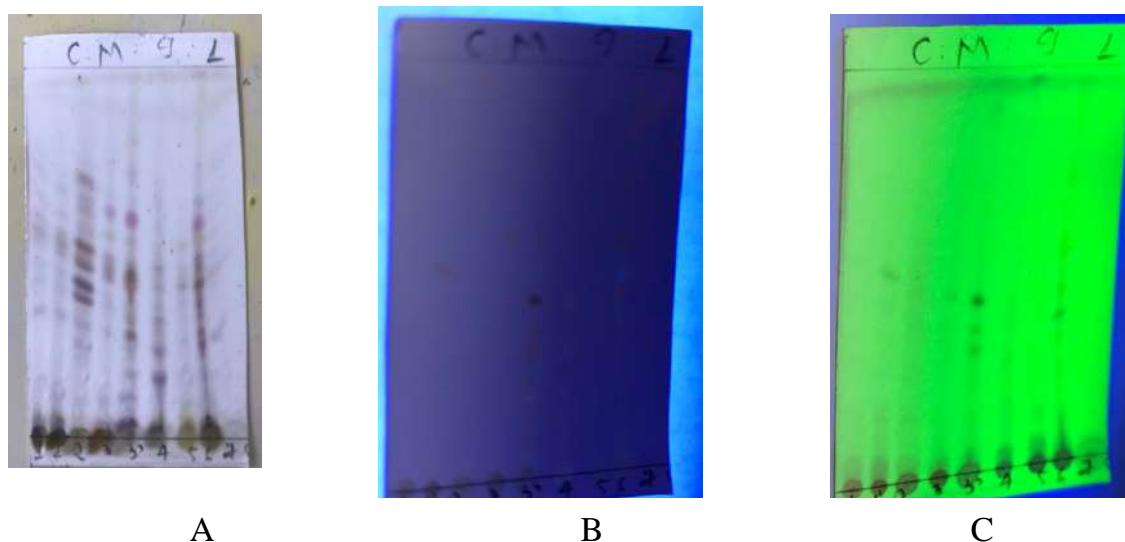
4.2.2. Kết quả so sánh thành phần hoá học các mẫu lá phúc bồn tử

Bảng 4.8. Kết quả phân tích SKLM dịch chiết các mẫu lá phúc bồn tử với hệ dung môi chloroform – methanol (9:1)

R _f	Màu vệt	BL1	BL2	HXH	NB1	NB2	RB	BB	LD	Thân NB1
0,82	Vàng	-	-	-	-	+	-	-	-	-
0,74	Tím nhạt	-	-	+	+	++	-	-	+	+
0,67	Chàm	-	-	+++	+	+	+	+	++	+
0,62	Hồng	+	+	++	++	+++	+	+	+++	+
0,56	Vàng nâu	+	+	++	++	++	+	+	++	+
0,49	Nâu	+	+	+++	++	++	++	+	+++	+
0,46	Xanh	+	++	-	+	+++	+	+	+	+
0,43	Chàm	+	+	+++	+	++	+	+	+++	+
0,39	Xám xanh	+	+	+++	+	+	+	+	++	+
0,35	Chàm	+	+	+++	+	++	++	+	+++	+

0,28	Nâu	+	+	+	+	+++	+	+	+++	+
0,25	Xanh tím	-	-	++	-	-	++	-	+++	+
0,20	Tím	-	-	+	+	++	+++	-	+	-
0,11	Tím xanh	+	+	+	+	++	-	-	-	-
0,06	Tím	++	++	-	+	+++	-	-	-	+

Chú thích: - : không có màu + : có màu mờ
 ++ : có màu rõ +++ : có màu rất rõ



Hình 4.1. Sắc ký đồ SKLM của 9 mẫu nghiên cứu

Ghi chú:

- Mẫu 1 là BL1, 1' là BL2, 2 là HXH, 3 là NB1, 3' là NB2, 4 là RB, 5 là BB, 6 là LD, 7 là thân BL1.
- A: Hiện vết bằng TT H₂SO₄ 10%
- B: Soi dưới đèn UV ở 365 nm
- C: Soi dưới đèn UV ở 254 nm



Ghi chú:

- Mẫu 1 là lá NB1
- Mẫu 2 là thân NB1
- Hiện vết bằng TT
H₂SO₄ 10%

Hình 4.2. Sắc ký đồ SKLM 2 mẫu lá và thân NB1

Nhận xét: Kết quả phân tích bằng SKLM dịch chiết methanol các mẫu lá phức bồn tử với hệ dung môi chloroform – methanol (9:1) cho thấy:

- Sắc ký đồ SKLM của các mẫu lá của các loài khác nhau cùng chi *Rubus* có nhiều vết cùng R_f và màu sắc ở phân đoạn chất kém phân cực chứng tỏ chúng có chứa nhiều thành phần khá giống nhau. Tuy nhiên, độ đậm nhạt của vết khác nhau ở các loài khác nhau, chứng tỏ hàm lượng của chúng biến đổi tùy theo loài. Sự khác nhau giữa các loài thể hiện rõ ở phân đoạn các chất phân cực hơn, có những vết chất có ở loài này mà loài kia không có.

- Các mẫu lá cùng cho thấy sự tương đồng về sắc ký đồ khá rõ. Tuy nhiên các mẫu cùng loài thu ở các địa điểm khác nhau có sự khác biệt về độ đậm nhạt của vết, thể hiện hàm lượng của các chất khác nhau rõ. Cụ thể mẫu lá loài *R. alcaefolius* thu ở bờ Hồ Xuân Hương có nhiều vết đậm rõ hơn hẳn so với mẫu cùng loài thu ở Bảo Lộc.

- Các mẫu cùng loài cùng địa điểm thu mẫu nhưng thu vào 2 thời điểm khác nhau trong năm (mẫu BL1 và BL2, NB1 và NB2) có thành phần các chất giống nhau nhưng cũng có sự khác biệt về mức độ nhiều ít, thể hiện rõ ở mẫu thu tại Nam Ban.

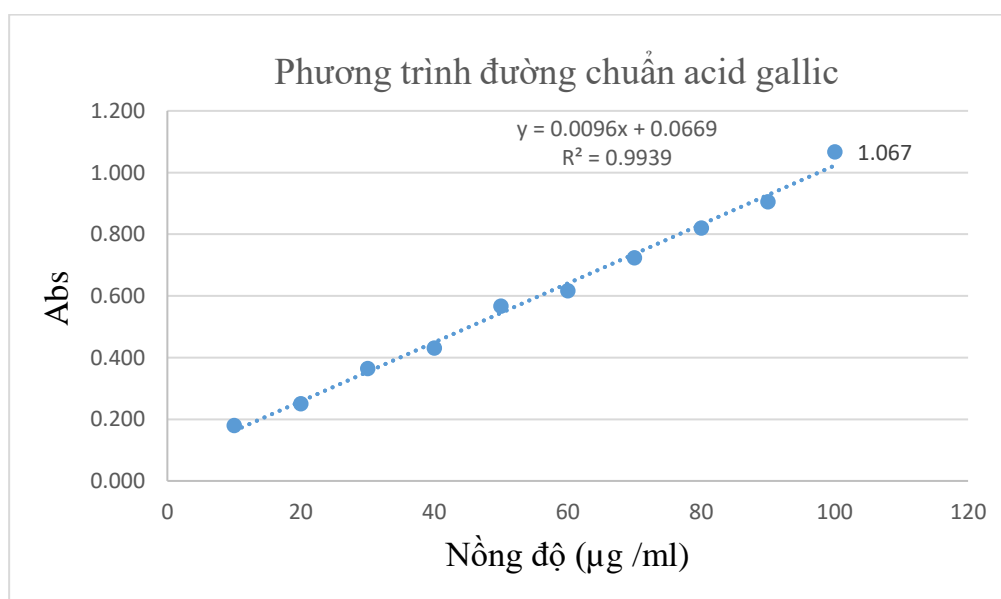
- So sánh sắc ký đồ mẫu lá với thân cùng loài có thể thấy chúng có thành phần các chất khá giống nhau, khác biệt chủ yếu ở mức độ có mặt nhiều hay ít.

4.3. Kết quả định lượng hàm lượng polyphenol các mẫu lá phúc bồn tử

4.3.1. Xây dựng đường chuẩn acid gallic

Bảng 4.9. Kết quả đo quang dãy dung dịch chuẩn acid gallic

C(µg /ml)	Abs
10	0,18
20	0,25
30	0,365
40	0,431
50	0,567
60	0,617
70	0,724
80	0,820
90	0,905
100	1,067



Hình 4.3. Đồ thị phương trình đường chuẩn acid gallic

Từ kết quả đo quang đã xây dựng được phương trình đường chuẩn acid gallic với $R^2 = 0,9939$:

$$Y = 0,0096X + 0,0669$$

Trong đó:

X là nồng độ dung dịch chuẩn acid gallic ($\mu\text{g/ml}$).

Y là độ hấp thụ quang ở bước sóng 765 nm của dung dịch acid gallic.

Từ đó suy ra nồng độ của dung dịch thử chứa acid gallic ($\mu\text{g/ml}$) được tính theo độ hấp thụ quang của mẫu thử như sau:

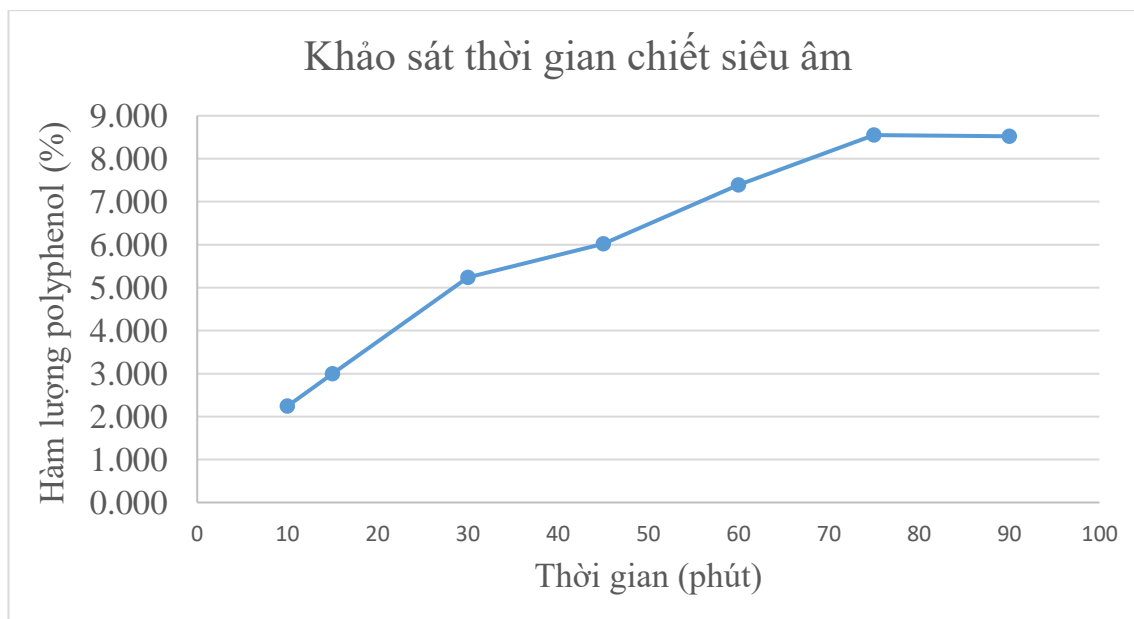
$$X = \frac{Y - 0.0669}{0.0096}$$

4.3.2. Kết quả khảo sát phương pháp và thời gian chiết polyphenol từ lá phúc bồn tử

Nghiên cứu này thực hiện việc định lượng hàm lượng polyphenol trong các mẫu lá phúc bồn tử dựa trên phương pháp định lượng polyphenol tổng số đã áp dụng cho phân tích trà theo TCVN 9745-1-2013. Phương pháp này dựa trên phản ứng tạo màu giữa polyphenol với thuốc thử Folin-Ciocalteu. Để có thể xây dựng quy trình định lượng phù hợp cho lá phúc bồn tử, việc xác định các điều kiện chiết xuất để chiết kiệt polyphenol từ nguyên liệu đã được thực hiện dựa trên khảo sát 2 phương pháp chiết là chiết hồi lưu và chiết có hỗ trợ siêu âm, khảo sát thời gian đủ để chiết được tối đa polyphenol trong nguyên liệu và khảo sát lựa chọn dung môi chiết phù hợp.

a. Kết quả khảo sát thời gian chiết siêu âm

Tiến hành chiết siêu âm mẫu lá BL1 theo quy trình mô tả ở phần thực nghiệm với các thời gian khác nhau, tạo dẫn xuất màu với TT Folin-Ciocalteu, đo quang. Kết quả được trình bày trong hình 4.5.



Hình 4.4. Kết quả khảo sát thời gian chiết siêu âm

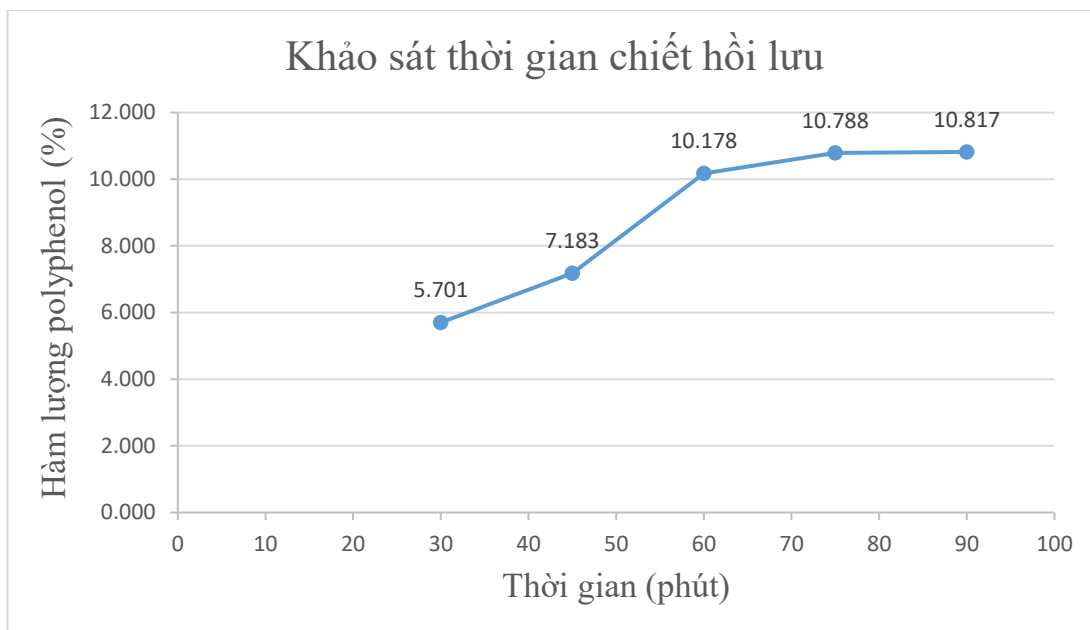
Nhận xét:

Kết quả theo dõi sự thay đổi độ hấp thụ quang ở bước sóng 765 nm theo thời gian chiết mẫu lá phúc bồn tử bằng phương pháp chiết siêu âm cho thấy lượng polyphenol chiết được tăng dần theo thời gian chiết, đạt mức cao nhất ở thời điểm 75 phút và không tăng thêm nữa khi chiết tiếp đến 90 phút. Như vậy, thời gian chiết phù hợp khi chiết siêu âm là 75 phút.

4.3.3. Kết quả khảo sát chiết polyphenol bằng phương pháp chiết hồi lưu

a. Kết quả khảo sát thời gian chiết hồi lưu

Tiến hành chiết mẫu lá NB1 theo quy trình mô tả ở phần thực nghiệm bằng phương pháp chiết hồi lưu với methanol 70% với các thời gian khác nhau, tạo dẫn xuất màu với TT Folin-Ciocalteu, đo quang. Kết quả được trình bày trong hình 4.6.



Hình 4.5. Kết quả khảo sát thời gian chiết hồi lưu

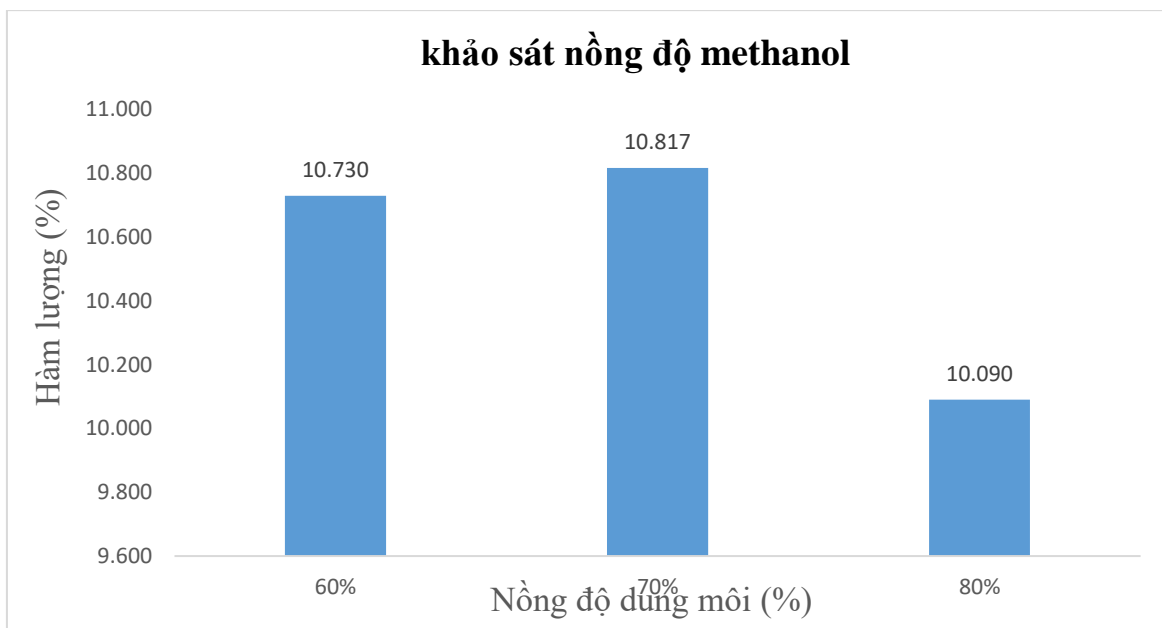
Nhận xét:

Kết quả theo dõi sự thay đổi độ hấp thụ quang ở bước sóng 765 nm theo thời gian chiết mẫu lá phúc bồn tử bằng phương pháp chiết hồi lưu với methanol 70% cho thấy lượng polyphenol chiết được tăng dần theo thời gian chiết, đạt mức cao nhất ở thời điểm 75 phút và không tăng thêm nữa khi chiết tiếp đến 90 phút. Như vậy, thời gian chiết phù hợp khi chiết hồi lưu cũng tương tự như với phương pháp chiết siêu âm là 75 phút.

Với các khảo sát nói trên ở điều kiện thực tế tại phòng thí nghiệm, chiết polyphenol từ lá phúc bồn tử bằng phương pháp chiết hồi lưu với methanol - nước cũng là một phương án phù hợp.

b. Kết quả khảo sát nồng độ methanol dùng để chiết

Tiến hành chiết mẫu lá NB1 theo quy trình mô tả ở phần thực nghiệm bằng phương pháp chiết hồi lưu với methanol nồng độ khác nhau 60, 70 và 80% trong thời gian 75 phút, tạo dẫn xuất màu với TT Folin-Ciocalteu, đo quang. Kết quả được trình bày trong hình 4.7.



Hình 4.6. Kết quả khảo sát nồng độ methanol dùng để chiết hồi lưu

Nhận xét:

Kết quả cho thấy trong 3 nồng độ methanol khảo sát, với methanol 70% độ hấp thụ quang là cao nhất tương ứng với lượng polyphenol chiết được là cao nhất. Như vậy, methanol 70% là nồng độ dung môi phù hợp để chiết các polyphenol có trong lá phúc bồn tử, tương tự như với các thành phần polyphenol có trong lá trà.

c. Khảo sát định lượng polyphenol trong mẫu lá NB1 bằng 2 phương pháp chiết

Tiến hành chiết các mẫu lá NB1 theo quy trình mô tả ở phần thực nghiệm với methanol 70% trong 75 phút, tạo dẫn xuất màu với TT Folin-Ciocalteu, đo quang và tính toán hàm lượng polyphenol tổng số trong các mẫu. Kết quả được trình bày trong bảng 4.10.

Bảng 4.10. Hàm lượng polyphenol của mẫu chiết hồi lưu và mẫu chiết siêu âm

Phương pháp chiết	Độ ẩm (%)	m (g)	A	C	Hàm lượng polyphenol (%)	Hàm lượng polyphenol TB (%)	SD
Siêu âm	10,87	1,000	0,427	37,51	10,521	10,71	0,59
			0,456	40,53	11,369		
			0,460	40,95	10,237		
Chiết hồi lưu	10,87	1,000	0,439	38,760	10,872	10,72	0,22
			0,437	38,552	10,813		
			0,425	37,302	10,463		

Nhận xét:

Hai phương pháp chiết cho kết quả định lượng tương tự nhau. Như vậy, tùy điều kiện phòng thí nghiệm, có thể áp dụng hoặc chiết siêu âm hoặc chiết hồi lưu dung môi.

4.3.4. Kết quả định lượng polyphenol trong các mẫu lá phúc bồn tử

Tiến hành chiết siêu âm các mẫu lá và thân phúc bồn tử theo quy trình mô tả ở phần thực nghiệm trong 75 phút, tạo dẫn xuất màu với TT Folin-Ciocalteu, đo quang và tính toán hàm lượng polyphenol tổng số trong các mẫu. Kết quả được trình bày trong bảng 4.11.

Bảng 4.11. Hàm lượng polyphenol của các mẫu nghiên cứu

STT	Mẫu	Độ ẩm (%)	m (g)	A	C	Hàm lượng polyphenol (%)	Hàm lượng polyphenol TB (%)	SD
1	BL1	10,42	1,000	0,361	30,64	8,550	8,52	0,03
				0,360	30,53	8,521		
				0,359	30,43	8,492		
2	BL2	6,86	1,000	0,361	30,64	8,223	8,07	0,15
				0,356	30,11	8,083		
				0,350	29,49	7,915		
3	HXH	10,41	1,000	0,218	15,74	4,392	4,03	0,35
				0,194	13,24	3,694		
				0,205	14,39	4,014		
4	NB1	10,87	1,000	0,427	37,51	10,521	10,71	0,59
				0,456	40,53	11,369		
				0,460	40,95	10,237		
5	NB2	9,13	1,000	0,273	21,47	5,906	5,83	0,09
				0,271	21,26	5,849		
				0,267	20,84	5,734		
6	RB	12,03	1,000	0,288	23,03	6,545	5,90	0,56
				0,256	19,70	5,598		
				0,280	22,20	5,549		

7	BB	10,99	1,000	0,209	14,80	4,157	3,92	0,41
				0,209	14,80	4,157		
				0,199	13,76	3,440		
8	LD	9,76	1,000	0,203	14,18	3,928	3,84	0,12
				0,195	13,34	3,697		
				0,216	15,53	3,883		
9	Thân	11,53	1,000	0,206	14,49	4,094	3,86	0,27
				0,200	13,86	3,918		
				0,204	14,28	3,570		

Nhận xét:

Kết quả thu được cho thấy:

- Hàm lượng polyphenol trong các mẫu lá dao động trong khoảng 3,84 đến 10,71% tính theo khối lượng khô tuyệt đối, cao nhất ở mẫu lá loài *R. annamensis* mọc hoang dại ở Nam Ban (NB1), thấp nhất ở loài *R. sorbifolius* thu ở Lạc Dương. Kết quả này tương đối thấp so với kết quả được Vagiri, M. và cs. (2012) công bố về hàm lượng polyphenol tổng số chiết xuất từ lá của một số loài *Rubus*, được tính bằng tổng các hợp chất thu được từ phân tích UPLC-PDA nằm trong khoảng từ 83,02 mg/g chất khô đối với *R. austroslovacus* đến 334,24 mg/g chất khô cho *R. perrobustus*.

- Trong cùng một loài, polyphenol tích lũy trong lá nhiều hơn trong thân. Cụ thể với loài *R. annamensis* lá có hàm lượng polyphenol cao hơn 2,5 lần thân (mẫu NB1, 10,71% so với 3,86%).

- Các mẫu lá của cùng một loài thu tại 2 thời điểm khác nhau trong năm có hàm lượng polyphenol khác nhau rõ rệt, mẫu thu vào tháng 10/2020 cao hơn tháng 3/2021, thể hiện rõ ở mẫu thu tại Nam Ban lá thu tháng 10/2020 chứa 10,71% trong khi lá thu vào tháng 3/2021 chỉ chứa 5,83% polyphenol.

KẾT LUẬN

Kết luận

Mẫu lá 5 loài *Rubus* thu thập được ở Lâm Đồng đều được định tính có chứa chất béo, saponin, tanin, acid amin, đường tự do, acid hữu cơ, phytosterol, flavonoid và không chứa coumarin, anthranoid và polysaccharid. Trong đó, lá của 3/5 loài có chứa carotenoid, 4/5 loài có alcaloid. Thân loài *R. annamensis* cũng có chứa các nhóm chất béo, saponin, tanin, acid amin, đường tự do, phytosterol, flavonoid và polysaccharid, không chứa coumarin, anthranoid, acid hữu cơ, carotenoid.

Sắc ký đồ SKLM dịch chiết methanol của các mẫu lá cho thấy chúng có chứa nhiều thành phần khá giống nhau. Các mẫu lá cùng loài có sự tương đồng rõ rệt về thành phần hóa học nhưng mẫu thu ở các địa điểm khác nhau có sự khác biệt về độ đậm nhạt của vết, thể hiện hàm lượng của các chất khác nhau rõ.

Hàm lượng polyphenol trong các mẫu lá dao động trong khoảng 3,84 đến 10,71% tính theo khối lượng khô tuyệt đối, cao nhất ở mẫu lá loài *R. annamensis* mọc hoang dại ở Nam Ban (NB1), thấp nhất ở loài *R. sorbifolius* thu ở Lạc Dương.

Trong cùng một loài *R. annamensis*, polyphenol tích lũy trong lá nhiều hơn trong thân (10,71% so với 3,86%).

Các mẫu lá của cùng một loài *R. annamensis* thu tại 2 thời điểm khác nhau trong năm có hàm lượng polyphenol khác nhau rõ rệt, mẫu tháng 10/2020 chứa 10,71% trong khi lá thu vào tháng 3/2021 chỉ chứa 5,83% polyphenol.

Đề xuất

Trong quá trình thực nghiệm, do thời gian có hạn và điều kiện của phòng thí nghiệm cũng như do mới bước đầu làm quen với nghiên cứu và kinh nghiệm của bản thân còn hạn chế nên những kết quả của chúng em thu được là ở bước đầu. Vì vậy, chúng em xin đề xuất một số vấn đề như sau:

- Tiếp tục nghiên cứu thành phần hoá học và tác dụng sinh học của lá phúc bồn tử.
- Phân lập, định lượng các hợp chất tinh khiết từ lá phúc bồn tử và đánh giá được tác dụng sinh học của chúng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Hộ P.H. (1999), Cây cỏ Việt Nam, Nhà xuất bản Trẻ, tr. 783 – 797.
2. Hoài T.T.T, Yên Đ.B, et.al (2018), Đặc điểm nhận biết và đa dạng hình thái chi *Rubus* (Rosaceae) ở vườn quốc gia Hoàng Liên, tr.1 – 11.

Tài liệu tiếng Anh

3. B. Shaun Bushman, Bliss Phillips, et.al (2004), Chemical Composition of Caneberry (*Rubus spp.*) Seeds and Oils and Their Antioxidant Potential, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(26), pp. 7982 – 7987.
4. Gudej J., Tomczyk M. (2004), Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from *Rubus* L. species, Archives of Pharmacal Research, 27(11), pp. 1114 – 1119.
5. Gudej J., Tomczyk M., et.al (1999), Analysis of chemical composition of *Rubus saxatilis* L. leaves, Herba Polonica (Poland)(4), pp. 340 – 344
6. J.Yang, Jingyan Cui, Y.Liu, et. al (2020), Determination of active compounds in raspberry leaf extracts and the effects of extract intake on mice, Food Science and Technology, 40.
7. Ji Won Yang, Il Sook Choi (2017), Comparison of the phenolic composition and antioxidant activity of Korean black raspberry, Bokbunja, (*Rubus coreanus* Miquel) with those of six other berries, CyTA-Journal of Food, 15(1), pp. 110 – 117.
8. Lidija Jakobek, et.al (2009), Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia, International journal of food science & technology, 44(4), pp. 860 – 868.
9. Luna Maslov Bandic, et.al (2020), Bioactive compounds in the fruit, leaves and seeds of raspberry (*Rubus idaeus* L.), Glasnik Zastite Bilja, 43(5), pp.50 – 55.
10. Sebastian Piotr Mazur, et.al (2014), Quality and chemical composition of ten red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes during three harvest seasons, Food Chemistry, 160, pp. 233 – 240.
11. Sytsma, Kenneth J., Robertson, Kenneth R. (2017), Rosales, Encyclopedia Britannica.
12. Vagiri, M.; Ekholm, A.; Andersson, S.C.; Johansson, E.; Rumpunen, K. (2012), An optimized method for analysis of phenolic compounds in buds, leaves, and fruits of black currant (*Ribes nigrum* L.). J. Agric. Food Chem. 2012, 60, pp. 10501–1051.

13. Yu Fu, Xiaozhou Zhou, et.at (2015), Chemical composition and antioxidant activity of Chinese wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.), LWT-Food Science and Technology, 60(2), pp. 1262–1268.