

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

VIỆN HÓA HỌC

---

TRẦN VĨNH THIÊN

**ĐIỀU CHẾ, KHẢO SÁT CẤU TRÚC VÀ TÍNH CHẤT  
CỦA ALGINAT VÀ OLIGOSACARIT TÁCH TỪ RONG MỜ  
KHU VỰC BẮC HẢI VÂN VÀ ỨNG DỤNG CỦA CHÚNG**

**Chuyên ngành: Hóa lý thuyết và Hóa lý**

**Mã số: 62.44.31.01**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ HÓA HỌC**

**Hà Nội, 2010**

Công trình được hoàn thành tại: Viện Hóa học  
(Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam)

Người hướng dẫn khoa học: PGS. TS. Chu Đình Kính  
PGS. TS. Trần Thái Hòa

Phản biện 1: GS.TSKH. Trần Văn Sung  
Viện Hóa học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 2: PGS.TS. Trần Thị Như Mai  
Trường Đại học Khoa học tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội

Phản biện 3: TS. Phạm Lê Dũng  
Viện Hóa học - Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp nhà nước họp tại:  
Viện Hóa học – Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Vào hồi 14 giờ 00 ngày 17 tháng 12 năm 2010

Có thể tìm hiểu luận án tại thư viện: Thư viện Quốc gia Việt Nam  
Thư viện Viện Hóa học

## NHỮNG CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Trần Thái Hòa, **Trần Vĩnh Thiện**, Đinh Quang Khiếu (2005), “Điều chế và đặc trưng micro-natri alginate”, *Tuyển tập các báo cáo toàn văn hội nghị toàn quốc các đề tài nghiên cứu khoa học cơ bản trong lĩnh vực Hóa lý và Hóa lý thuyết*, Nhà xuất bản Văn hóa thông tin, Hà Nội, tr. 33-36.
2. Tran Thai Hoa, **Tran Vinh Thien**, and Dinh Quang Khieu (2006), “Composition and sequential structure of alginate from brown seaweeds in TT-Hue province”, *Tạp chí Hóa học và Ứng dụng*, 57(9), tr. 34-36.
3. **Tran Vinh Thien**, Chu Đình Kinh, Tran Thai Hoa, and Dinh Quang Khieu (2007) “Preparation of alginic acid oligomer by phosphoric acid hydrolysis”, *Advances in Natural Sciences*, 8(1), pp. 35-42
4. Chu Đình Kinh, **Trần Vĩnh Thiện**, Trần Thái Hòa, Đinh Quang Khiếu (2008) “Điều chế axit alginic giàu các hợp phần axit polymannuronic và axit polyguluronic bằng phương pháp thủy phân”, *Tạp chí Hóa học*, 46(1), tr. 13-18.
5. **Tran Vinh Thien**, Chu Đình Kinh, Tran Thai Hoa, and Dinh Quang Khieu (2008), “Characterization of alginate prepared from brown seaweeds in Thua Thien-Hue province”, *Asean Journal on Science & Technology for Development*, 25(2) 2008, pp. 427-433.
6. **Trần Vĩnh Thiện**, Chu Đình Kinh, Trần Thái Hòa (2008), “Nghiên cứu động học quá trình hấp phụ Cu(II) trong dung dịch nước vào alginate bằng phương pháp đo pH và độ dẫn điện”, *Tạp chí Hóa học*, 46(5A), tr. 265-270.

# I. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

## 1.1. Tính cấp thiết của luận án

Rong mơ (*Sargassum*) là một trong những đối tượng rong biển chiếm ưu thế ở vùng ven biển miền Trung nói chung và khu vực Bắc đèo Hải Vân nói riêng bởi sự đa dạng về thành phần loài và sản lượng tự nhiên cao nhất. Với hàm lượng axit alginic cao, rong mơ là một nguồn nguyên liệu quan trọng cho công nghiệp sản xuất alginat.

Sự đa dạng về cấu trúc đã tạo nên cho alginat những tính chất đặc thù, làm cho nó được ứng dụng trong rất nhiều lĩnh vực khác nhau và được xem là một trong những polysaccarit có nhiều ứng dụng nhất. Các ứng dụng truyền thống của alginat đều liên quan đến khả năng giữ nước, tạo gel, tạo nhớt và tính chất làm ổn định của nó. Các nghiên cứu gần đây cho thấy alginat có nhiều ứng dụng đầy hứa hẹn trong công nghệ sinh học như: làm chất nền cố định cho tế bào sản xuất các hóa chất trong thực phẩm, sản xuất kháng thể đơn dòng, sản xuất giống nhân tạo hàng loạt bằng phương pháp cấy mô, sản xuất các chế phẩm điều trị các bệnh như parkinson, suy giảm chức năng gan, giảm canxi máu, tiểu đường, ung thư,...

Trong khi việc khai thác các ứng dụng truyền thống của alginat trong kỹ thuật từ lâu là dựa chủ yếu vào các kiến thức kinh nghiệm thì hiện nay, khi alginat thâm nhập vào các lĩnh vực như dược phẩm và công nghệ sinh học, việc khai thác các ứng dụng mới đòi hỏi các hiểu biết chi tiết hơn về cấu trúc và quan hệ giữa cấu trúc và chức năng để định hướng cho việc điều chế các dẫn xuất có cấu trúc thích hợp.

Trên thế giới, nhiều công trình nghiên cứu qui trình sản xuất, phương pháp nghiên cứu cấu trúc alginat cũng như các ứng dụng của alginat và các chế phẩm đã được công bố cho thấy alginat càng ngày càng đóng vai trò quan trọng trong công nghiệp và đời sống. Ở nước ta, chưa có một công trình nghiên cứu một cách có hệ thống về cấu trúc alginat trong rong mơ ở miền Trung Việt Nam và chưa có nghiên cứu nào đề cập đến việc phân lập tạo ra oligosaccarit có cấu trúc thích hợp từ alginat.

## 1.2. Mục đích nghiên cứu của luận án

Đưa ra các cơ sở khoa học góp phần giúp cho việc khai thác và ứng dụng có hiệu quả nguồn lợi alginat từ rong mơ khu vực Bắc miền Trung nói riêng và Việt Nam nói chung.

## 1.3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

- Cung cấp cơ sở khoa học cho việc áp dụng các phương pháp hóa lý, vật lý hiện đại như phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, XRD,... để phân tích và

đánh giá các đặc điểm cấu trúc của alginat và các oligosacarit.

- Cung cấp cơ sở khoa học cho việc điều chế, phân lập alginat và các oligosacarit từ rong mơ nhằm thu được sản phẩm có cấu trúc thích hợp cho các ứng dụng đặc thù.

- Cung cấp các thông tin về các đặc trưng cấu trúc quan trọng của alginat và một số ứng dụng của alginat cũng như các oligosacarit tách từ một số loài rong mơ khu vực Bắc Hải Vân.

#### **1.4. Những đóng góp mới của luận án**

- Đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố đến quá trình tách alginat từ các loài rong mơ phổ biến khu vực Bắc Hải Vân nhằm thu được sản phẩm với hiệu suất và khối lượng phân tử trung bình mong muốn bằng phương pháp qui hoạch hóa thực nghiệm

- Đặc điểm cấu trúc hóa học của alginat và các oligosaccharit tách từ rong mơ khu vực Bắc Hải Vân, lần đầu tiên đã được nghiên cứu một cách chi tiết bằng các phương pháp hóa lý hiện đại.

- Đã nghiên cứu điều chế các oligosaccharit từ alginat có cấu trúc và hình thái khác nhau bằng cách điều chỉnh môi trường thủy phân và dung môi kết tinh có độ phân cực khác nhau và đã khảo sát một cách có hệ thống một số ứng dụng của alginat và các oligosaccharit điều chế được.

- Đã đề nghị phương pháp đơn giản để có thể nghiên cứu trực tiếp động học và các đặc trưng của quá trình hấp phụ Cu (II) trong dung dịch nước bằng axit alginic. Cơ sở của phương pháp này là xác định sự biến thiên nồng độ kim loại bị hấp phụ thông qua sự thay đổi pH và độ dẫn điện của dung dịch. Bằng phương pháp này có thể xác định liên tục trực tiếp nồng độ kim loại trong khoảng thời gian rất ngắn (10s), mà phương pháp nghiên cứu động học trong điều kiện gián đoạn thông thường không thể giải quyết được. Phương pháp này có thể được mở rộng để nghiên cứu động học hấp phụ kim loại nặng của các polysaccharit khác như chitosan, carrageenan v.v...

#### **1.5. Bố cục của luận án**

Luận án dày 175 trang được kết cấu như sau:

<b>Bìa, mục lục, danh mục các chữ viết tắt, danh mục bảng, hình, phụ lục</b>	14 trang
<b>Phần mở đầu</b>	3 trang
<b>Chương I. Tổng quan tài liệu</b>	41 trang
<b>Chương II. Đối tượng nghiên cứu và kỹ thuật thực nghiệm</b>	16 trang

<b>Chương III. Kết quả và thảo luận</b>	54 trang
<b>Kết luận và kiến nghị</b>	3 trang
<b>Các công trình liên quan đến luận án</b>	1 trang
<b>Tài liệu tham khảo</b>	16 trang
<b>Phụ lục</b>	27 trang

## **I. NỘI DUNG LUẬN ÁN**

### **CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

#### **1.1. Sơ lược về nguồn lợi rong nâu và rong mơ trên thế giới và Việt Nam**

#### **1.2. Đặc điểm cấu trúc, tính chất và một số ứng dụng của alginat**

#### **1.3. Các phương pháp nghiên cứu cấu trúc alginat**

Bao gồm các phương pháp xác định hàm lượng alginat, xác định khối lượng phân tử trung bình, phổ hồng ngoại, phổ NMR, XRD, SEM.

#### **1.4. Nghiên cứu khả năng hấp phụ kim loại nặng của alginat**

Đề cập đến tình hình và xu hướng nghiên cứu khả năng hấp phụ kim loại của rong mơ và alginat trên thế giới.

#### **1.5. Mục đích và nhiệm vụ nghiên cứu của đề tài**

##### ***1.5.1. Mục đích nghiên cứu***

Mục đích của đề tài là bước đầu nghiên cứu có hệ thống về alginat từ rong mơ, đưa ra các cơ sở khoa học góp phần giúp cho việc khai thác, chế biến và ứng dụng có hiệu quả hơn nguồn lợi alginat từ rong mơ khu vực Bắc miền Trung nói riêng và Việt Nam nói chung.

##### ***1.5.2. Nhiệm vụ nghiên cứu của đề tài***

- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tách alginat từ các loài rong mơ phổ biến khu vực Bắc Hải Vân nhằm đưa ra quy trình hợp lý để thu được sản phẩm với hiệu suất cao và có chất lượng tốt.

- Áp dụng các phương pháp hóa lý, vật lý hiện đại như phổ hồng ngoại, phổ cộng hưởng từ hạt nhân, XRD,... để phân tích và đánh giá các đặc điểm cấu trúc của alginat và các oligosaccarit điều chế từ alginat tách từ một số loài rong phổ biến ở khu vực miền Trung;

- Điều chế và mô tả các đặc trưng về cấu trúc của alginat và các oligosaccarit từ alginat. Khảo sát một số ứng dụng như hấp phụ kim loại nặng trong xử lý môi trường; khả năng kích thích nảy mầm và tăng trưởng cây trồng của alginat và các oligosaccarit điều chế được.

## **CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ KỸ THUẬT THỰC NGHIỆM**

### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Là các mẫu rong mơ thuộc 4 loài phổ biến nhất: *Sargassum swartzii*; *Sargassum kuetzingii*; *Sargassum oligocystum*; *Sargassum polycystum* được thu hái dọc bờ biển khu vực dưới chân phía Bắc đèo Hải Vân, thuộc thị trấn Lăng Cô, huyện Phú Lộc tỉnh Thừa Thiên Huế vào khoảng thời gian từ 29 - 31/5/2006, là khoảng thời gian rong mơ ở đây có hàm lượng và chất lượng alginat cao nhất.

### **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

Trình bày các phương pháp được sử dụng trong luận án về mặt kỹ thuật thực nghiệm, bao gồm: xác định hàm lượng alginat; xác định khối lượng phân tử trung bình; các phương pháp khảo sát cấu trúc bằng phổ hồng ngoại, NMR; khảo sát đặc trưng tinh thể bằng XRD, SEM; phương pháp kế hoạch hóa thực nghiệm.

### **2.3. Thực nghiệm**

Trình bày kỹ thuật thực nghiệm điều chế alginat từ rong mơ, điều chế oligoalginat, điều chế axit alginic dạng hạt trong khảo sát hấp phụ kim loại nặng, thử nghiệm hấp phụ kim loại nặng và thử nghiệm khả năng kích thích nảy mầm và tăng trưởng.

### **2.4. Hóa chất sử dụng trong luận án**

## **CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **3.1. Điều chế alginat từ rong mơ**

#### **3.1.1. Quy trình điều chế**

Điều chế alginat từ rong mơ theo quy trình axit. Sản phẩm alginat thu được được phân tích định lượng và được khảo sát các đặc trưng về cấu trúc và các tính chất hoá lý.

#### **3.1.2. Phân tích định lượng alginat bằng phương pháp trắc quang**

Việc ghi phổ hấp thụ của các dung dịch alginat chuẩn có nồng độ lần lượt: 0,01; 0,025; 0,05; 0,08; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4mg alginat/ml khi cho tác dụng với phenol và axit sunfuric đặc được thực hiện trong vùng 430 – 600nm. Kết quả cho thấy các dung dịch alginat chuẩn hấp thụ cực đại ở bước sóng  $\lambda = 480\text{nm}$  và cho độ hấp thụ cực đại trong khoảng từ 0,2 – 0,8 ứng với các dung dịch alginat có nồng độ từ 0,1 – 0,25mg/ml.

Việc xác định hàm lượng alginat trong các mẫu điều chế được thực hiện bằng phương pháp thêm chuẩn. Kết quả xác định hàm lượng alginat trong các mẫu

alginat tách từ các loài rong *S.kuetzingii* Setchell (ký hiệu Alg<sub>1-4</sub>, Alg<sub>1-5</sub>, Alg<sub>1-6</sub>) và *S. swartzii* (Turn.) C.Ag (ký hiệu Alg<sub>2-5</sub>, Alg<sub>2-6</sub>) của khu vực Bắc đèo Hải Vân. Kết quả được đưa ra ở bảng 3.1.

**Bảng 3.1. Kết quả xác định hàm lượng các mẫu alginat**

Mẫu	Alg <sub>1-4</sub>	Alg <sub>1-5</sub>	Alg <sub>1-6</sub>	Alg <sub>2-5</sub>	Alg <sub>2-6</sub>
Lượng mẫu (mg)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Lượng alginat xác định (mg)	0,1887	0,1895	0,1907	0,1884	0,1892
<b>Hàm lượng alginat (%)</b>	<b>94,35</b>	<b>94,76</b>	<b>95,35</b>	<b>94,2</b>	<b>94,6</b>

Kết quả trên cho thấy hàm lượng alginat trong các mẫu alginat chúng tôi tách được từ hai loài rong phổ biến của Thừa Thiên Huế là tương đối gần nhau và dao động trong khoảng 94-95%.

Phương pháp phân tích trên được sử dụng để xác định hàm lượng alginat trong các mẫu alginat điều chế được, từ đó xác định tỉ lệ phần trăm alginat điều chế được từ rong mơ của các thí nghiệm điều chế alginat theo công thức:

$$\text{Tỉ lệ phần trăm alginat điều chế: } H\% = \frac{a}{m} \times 100\%$$

Trong đó: *a*- khối lượng alginat (g) xác định được bằng phương pháp trắc quang như trên trong mẫu sản phẩm điều chế được từ *m* g rong mơ khô.

### **3.1.3. Xác định khối lượng phân tử trung bình của alginat bằng phương pháp đo độ nhớt**

Khối lượng phân tử trung bình các sản phẩm alginat được xác định bằng phép đo độ nhớt và tính toán theo phương trình Mark-Houwink,  $[\eta] = K \cdot \bar{M}_v^\alpha$ , trong đó:  $[\eta]$  là độ nhớt đặc trưng, xác định từ giao điểm với trục tung của các biểu đồ Huggins ( $\eta_{red} - C$ ) và biểu đồ Kraemer ( $\eta_{inh} - C$ ); *K*,  $\alpha$  là các hằng số đối với mỗi loại alginat. *K* =  $6,9 \times 10^{-6}$  và  $\alpha = 1,13$  đối với alginat giàu G; *K* =  $7,3 \times 10^{-5}$  và  $\alpha = 0,92$  đối với alginat giàu M. Đối với alginat do chúng tôi điều chế từ rong mơ khu vực Bắc đèo Hải Vân, theo kết quả phân tích cấu trúc, đều giàu M hơn G. Vì vậy, chúng tôi sử dụng các giá trị *K* =  $7,3 \times 10^{-5}$  và  $\alpha = 0,92$  để tính toán khối lượng phân tử.

Kết quả xác định độ nhớt đặc trưng và khối lượng phân tử các mẫu alginat tách từ các loài rong mơ được thể hiện ở bảng 3.2. Các kết quả cho thấy khối lượng phân tử của alginat tách từ các loài rong mơ khu vực Bắc đèo Hải Vân thuộc loại trung bình, khoảng 100 kDa



**Bảng 3.2.** Kết quả xác định độ nhớt đặc trưng và khối lượng phân tử các mẫu alginat tách từ các loài rong mơ khu vực Bắc đèo Hải Vân

Ký hiệu mẫu	Độ nhớt đặc trưng (dl/g)	Khối lượng phân tử (Da)
T1	2,9746	102.562
T2	3,2657	113.516
T3	3,2533	113.048
T4	2,8143	96.568

### 3.1.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến tỉ lệ tách và khối lượng phân tử trung bình của alginat

**Bảng 3.3.** Các mức tiến hành thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến quá trình tách chiết alginat

Các mức thí nghiệm	Các yếu tố ảnh hưởng		
	Nồng độ HCHO (%), $Z_1$	Nồng độ HCl (M), $Z_2$	Nồng độ $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , (%) $Z_3$
Mức gốc ( $Z_j^0$ )	0,3	0,25	2
Khoảng biến thiên ( $\Delta Z_j$ )	0,2	0,15	1
Mức cao ( $Z_j^{\max}$ )	0,5	0,4	3
Mức thấp ( $Z_j^{\min}$ )	0,1	0,1	1

Với qui trình điều chế đã đưa ra ở trên, theo chúng tôi, các yếu tố: nồng độ HCl, nồng độ HCHO và nồng độ dung dịch  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  có thể ảnh hưởng đến tỉ lệ tách alginat và khối lượng phân tử của alginat tách được từ rong mơ. Để khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố này, đầu tiên chúng tôi tiến hành các thí nghiệm thăm dò ảnh hưởng của từng yếu tố nồng độ HCl và HCHO trong giai đoạn xử lý sơ bộ và nồng độ  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  trong giai đoạn nấu chiết đến tỉ lệ phần trăm và khối lượng phân tử trung bình alginat tách được. Dựa vào kết quả khảo sát sơ bộ, chúng tôi chọn quy hoạch bậc hai để tiến hành khảo sát ảnh hưởng đồng thời của 3 yếu tố nồng độ HCl, nồng độ HCHO và nồng độ  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  theo các khoảng nồng độ được trình bày ở bảng 3.3.

Tiến hành thực nghiệm theo ma trận thực nghiệm bậc hai lập được, sau khi kiểm tra tính lặp lại bằng các chuẩn Cochran, tính có nghĩa của các hệ số bằng chuẩn Student, tính tương hợp của phương trình hồi qui bằng chuẩn Fisher, chúng tôi thu được phương trình hồi qui mô tả sự phụ thuộc của tỉ lệ alginat tách được từ rong mơ theo các yếu tố khảo sát như sau:

$$y_1 = 15,876 + 38,51z_1 + 25,71z_2 + 7,07z_3 - 77,02z_1^2 - 51,42z_2^2 - 1,597z_3^2$$

Bằng cách tương tự, chúng tôi thiết lập được phương trình hồi qui mô tả sự phụ thuộc của  $\bar{M}_v$  alginat vào các yếu tố khảo sát như sau:

$$y_2 = 71748 + 60795z_1 + 41489z_2 + 13204z_3 - 101325z_1^2 - 82978z_2^2 - 2731z_3^2$$

Từ các phương trình hồi quy, bằng phương pháp giải tích, có thể tìm được các cực đại của các biến, ứng với các điều kiện tối ưu về nồng độ của các yếu tố HCHO, HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> để đạt tỉ lệ tách alginat được cao nhất là: Nồng độ HCHO: 0,30%, nồng độ HCl: 0,25M, nồng độ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 2,21%. Khi đó giá trị  $y_{1,max}$  tương ứng là: 31,77%. Để khối lượng phân tử trung bình của alginat cao nhất, các điều kiện tương ứng là: nồng độ HCHO: 0,30%, nồng độ HCl: 0,25M, nồng độ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 2,39%, giá trị tương ứng của  $y_{2,max}$  là 106.175 Da.

Lập lại 3 thí nghiệm tách alginat tại nồng độ HCHO 0,30%, HCl 0,25M và Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2,30% chúng tôi thu được các giá trị về tỷ lệ tách alginat và khối lượng phân tử trung bình của alginat thực tế như sau:

Thí nghiệm	1	2	3	Trung bình
Tỷ lệ tách alginat (%)	31,65	31,82	31,58	31,68±0,10
$\bar{M}_v$ alginat (Da)	105670	104945	106260	105625±538

Kết quả cho thấy, phương trình hồi qui lập được là đáng tin cậy

### 3.2. Khảo sát cấu trúc của alginat điều chế được

Nhiệm vụ của việc khảo sát cấu trúc alginat điều chế được là xác định thành phần monome của các phân tử alginat thông qua tỉ lệ M/G và quy luật về trật tự sắp xếp các monome này trong phân tử alginat cùng một số đặc trưng khác có ảnh hưởng đến tính chất của sản phẩm alginat. Nhiệm vụ này lần lượt được giải quyết bằng các phương pháp sau đây:

#### 3.2.1. Phổ hồng ngoại

Phổ hồng ngoại của mẫu alginat điều chế được từ các loài rong khu vực Bắc đèo Hải Vân được so sánh với phổ hồng ngoại của mẫu alginat của hãng OSAKA Hayashi Pure Chemical Industries Ltd, Japan cho thấy phổ của các mẫu alginat điều chế được thể hiện các pic dao động đặc trưng hoàn toàn tương tự với phổ này. Tỉ lệ hàm lượng mannuronic/guluronic (tỉ lệ M/G) đặc trưng của các mẫu alginat có thể được tính toán từ tỉ lệ cường độ tương đối của các dải hấp thụ ở khoảng 1033 cm<sup>-1</sup> và 1093 cm<sup>-1</sup>, theo đó tỉ lệ M/G của các mẫu alginat chúng tôi điều chế từ các loài rong *S.Kuetzingii* và *S.Swartzii* là 1,276 và 1,200. Kết quả này cho thấy alginat điều chế từ 2 loài rong phổ biến khu vực Bắc Hải Vân có đặc trưng tương tự nhau và đều tương

đổi giàu hàm lượng axit mannuronic hơn.

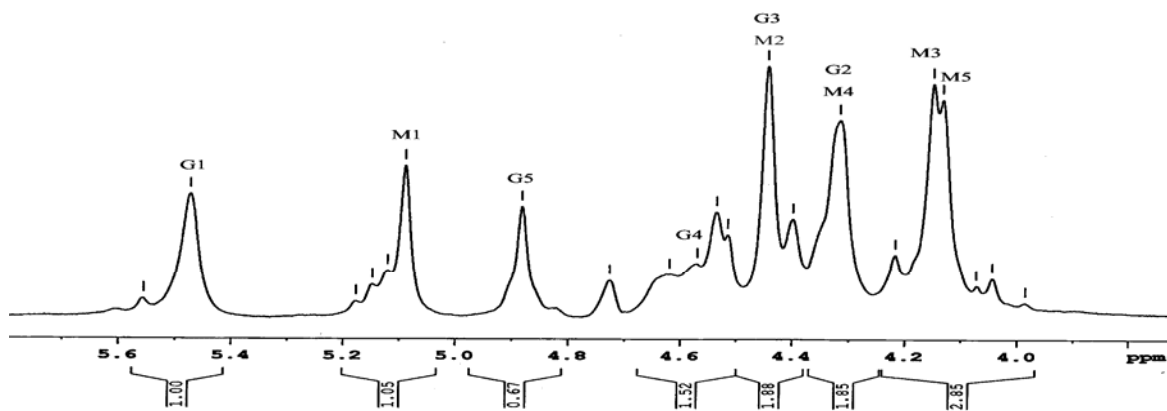
**Bảng 3.5.** Kết quả phân tích phổ hồng ngoại của alginat

Nhóm dao động	Hình dạng	Tần số hấp thụ ( $\text{cm}^{-1}$ )/cường độ tương đối so với dải hấp thụ ở $1610\text{cm}^{-1}$	
		<i>S. Swartzii</i>	<i>S. Kuetzingii</i>
-OH hoá trị (có liên kết hidro)	Rộng, rất mạnh	3422,99/1,009	3423,53/1,124
-CH hoá trị	Vai mạnh	2928,51/0,485	2927,61/0,607
COO <sup>-</sup> hoá trị (không đối xứng)	Nhọn, rất mạnh	1610,43/1,00	1611,09/1,00
COO <sup>-</sup> hoá trị (đối xứng)	Nhọn, trung bình	1415,64/0,734	1415,65/0,722
C-O-C hoá trị	Nhọn, trung bình	1093,28/0,651	1094,21/0,655
C-O-C hoá trị	Nhọn, rất mạnh	1033,01/0,831	1033,08/0,786

### 3.2.2. Phổ cộng hưởng từ hạt nhân

Bằng việc kết hợp phân tích phổ cộng hưởng từ hạt nhân hai chiều  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -TOCSY và HSQC, các tín hiệu cộng hưởng của các nguyên tử hydro hoặc các nguyên tử cacbon theo thứ tự từ M1 đến M6 đối với các gốc M và G1 đến G6 đối với các gốc G trong các phổ  $^1\text{H}$ -NMR và  $^{13}\text{C}$ -NMR của mẫu alginat đã được qui kết.

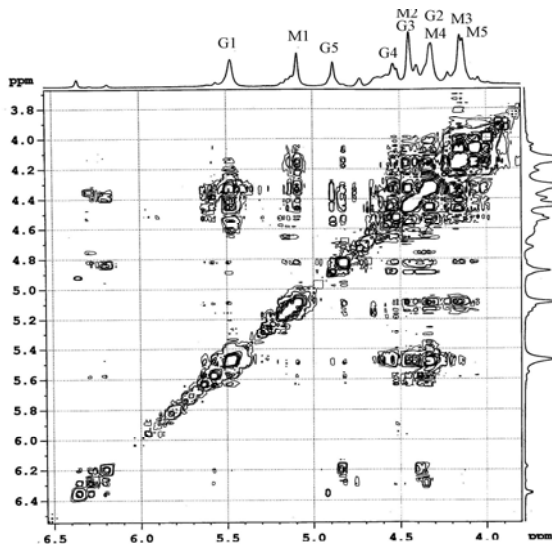
Phổ  $^1\text{H}$ -NMR (hình 3.13) gồm 10 pic ứng với 10 proton của G và M, Hai pic ở vị trí trường thấp nhất lần lượt được gán cho proton của G1 (5,473ppm) và M1 (5,090ppm) do sự phản chắn mạnh nhất của hai nguyên tử oxy kề với chúng và sự phản chắn bởi nguyên tử oxy từ liên kết axial là mạnh hơn từ liên kết equatorial.



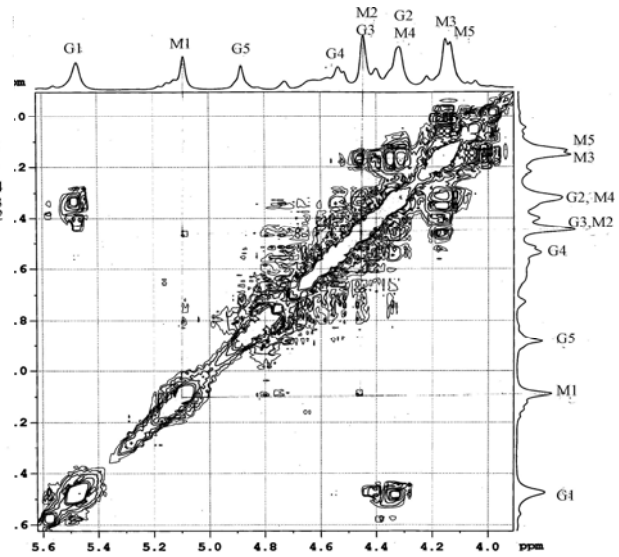
**Hình 3.13.** Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của mẫu alginat điều chế từ nguồn rong cũ

Trên phổ TOCSY (hình 3.14), từ proton của G1 ta thấy proton này có tương tác chuỗi với 4 pic với các độ dịch chuyển hóa học 4,883ppm, 4,571ppm, 4,446ppm,

4,318ppm. Các pic này chính là proton của G2, G3, G4, G5, trong đó tương tác giữa proton G1 và proton có độ dịch chuyển hóa học 4,883ppm là bé nhất nên proton này được xác định là proton của G5.



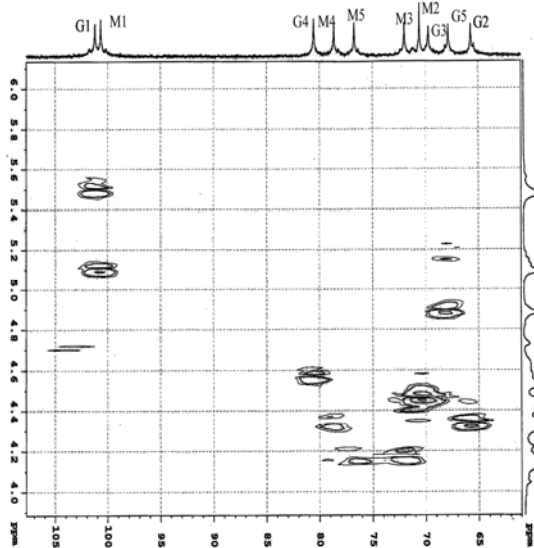
Hình 3.14. Phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY, mẫu natri alginat điều chế từ nguồn rong cũ



Hình 3.15. Phổ  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY của mẫu natri alginat điều chế từ nguồn rong cũ

Ở phổ COSY (hình 3.15), có thể thấy proton G1 tương tác với proton có độ dịch chuyển hóa học ở 4,318ppm nên proton này là của G2. Proton G2 lại có tương tác với proton có độ dịch chuyển hóa học ở 4,446 ppm nên đây chính là proton G3. Pic còn lại có độ dịch chuyển hóa học ở 4,571ppm được gán cho proton G4.

Tương tự như trường hợp của gốc G, trên phổ TOCSY ta cũng thấy proton M1 tương tác chuỗi với các pic ở 4,446ppm, 4,318ppm, 4,152ppm và 4,135ppm.



Hình 3.17. Phổ tương quan  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC của alginat điều chế từ nguồn rong cũ

Trên phổ COSY, proton của M1 tương tác với proton ở 4,446ppm nên đây chính là proton của M2. Trên phổ TOCSY, proton M2 ngoài tương tác với M1 còn thấy có hai tương tác với 2 proton ở 4,152ppm và 4,318ppm. Hai pic này là của proton M3 và M4.

Trên phổ COSY, proton của M2 lại tương tác với proton ở 4,152ppm nên đây chính là proton của M3. Pic có độ dịch chuyển hóa học 4,318ppm là proton

M4. Điều này còn thấy được qua tương tác của proton G1 với proton M4 trên cả 2 phổ COSY và TOCSY. Trên phổ COSY và TOCSY M4 đều có tương tác với pic ở trường cao nhất (4,135ppm). Đây chính là proton của M5.

Kết quả qui kết các pic cộng hưởng của các proton trong mạch alginat trên phổ  $^1\text{H-NMR}$  được trình bày trong hình 3.13.

Phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  được đưa ra ở hình 3.16, gồm 12 pic mạnh. Việc gán các pic cho các nguyên tử cacbon trong mạch alginat được thực hiện nhờ phổ dị hạt nhân HSQC được trình bày ở hình 3.17. Từ các pic cộng hưởng đã được xác nhận của các proton trong phổ  $^1\text{H-NMR}$  có thể xác định dễ dàng độ chuyển dịch hóa học của các nguyên tử cacbon tương ứng trên phổ  $^{13}\text{C-NMR}$ . Kết quả được trình bày ở hình 3.16 và bảng 3.6.

**Bảng 3.6.** Độ chuyển dịch hóa học của các proton và nguyên tử cacbon trong mạch alginat

	Thứ tự	1	2	3	4	5	6
D-Mannuronic axit (M)	proton	5,090	4,446	4,152	4,318	4,135	
	cacbon	100,66	70,59	72,01	78,62	76,72	175,38
L- Guluronic axit (G)	proton	5,473	4,318	4,446	4,571	4,883	
	cacbon	101,22	65,74	69,74	80,53	67,86	175,58

Sự xác định các pic cộng hưởng của các proton và các nguyên tử cacbon trong phổ cộng hưởng từ hạt nhân chi tiết hơn cho phép chúng tôi có thể sử dụng phổ NMR để xác định một số đặc trưng của các mẫu alginat điều chế được.

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân  $^{13}\text{C-NMR}$  của mẫu natri alginat tách từ loài rong *Sargassum Kuetzingii setchell* được trình bày ở hình 3.18.

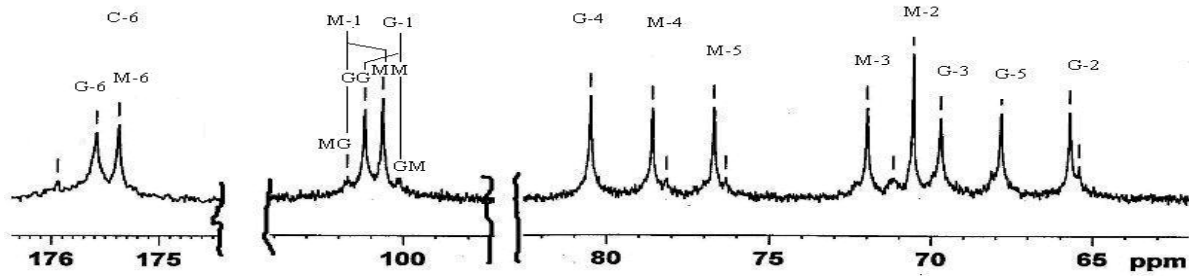
Các pic cộng hưởng được quy kết dựa theo cách phân tích đã được trình bày ở phần trên. Có thể thấy 4 đỉnh cộng hưởng ở vùng anome. Theo Grasdalen và cộng sự (1977), các gốc M ở cấu dạng  $^4\text{C}_1$  và G ở cấu dạng  $^1\text{C}_4$ , trong mạch alginat không phụ thuộc trật tự các gốc, các đỉnh cộng hưởng này chỉ có thể được giải thích bằng cách thừa nhận rằng cộng hưởng của M và G là nhạy với các gốc liền kề nhất với chúng. Bằng việc khử tương tác spin-proton chọn lọc, Grasdalen và cộng sự (1977) đã chứng minh được pic về phía trường cao nhất là do cộng hưởng của GM (G liên kết với 1 gốc M liền kề bên phải), trong khi đó pic về phía trường thấp nhất là do cộng hưởng của MG (M liên kết với 1 gốc G liền kề bên phải). Việc qui kết này cho phép chúng tôi tính được một số đặc trưng polyme quan trọng của alginat như phần mol của M và G, phần mol các bộ đôi MM, GG (được ký hiệu lần lượt là  $F_M$ ,  $F_G$ ,  $F_{MM}$ ,  $F_{GG}$ ) và tỉ lệ M/G từ cường độ tương đối của các pic cộng hưởng tương ứng (ký hiệu là  $I_M$ ,  $I_G$ ,  $I_{MM}$ ,  $I_{MG}$ ,...)

theo các phương trình liên hệ sau:

$$F_M = \frac{I_M}{I_M + I_G} = \frac{I_{MG} + I_{MM}}{I_{MG} + I_{MM} + I_{GG} + I_{GM}}; \quad F_{MM} = \frac{I_{MM}}{I_{MG} + I_{MM} + I_{GG} + I_{GM}}$$

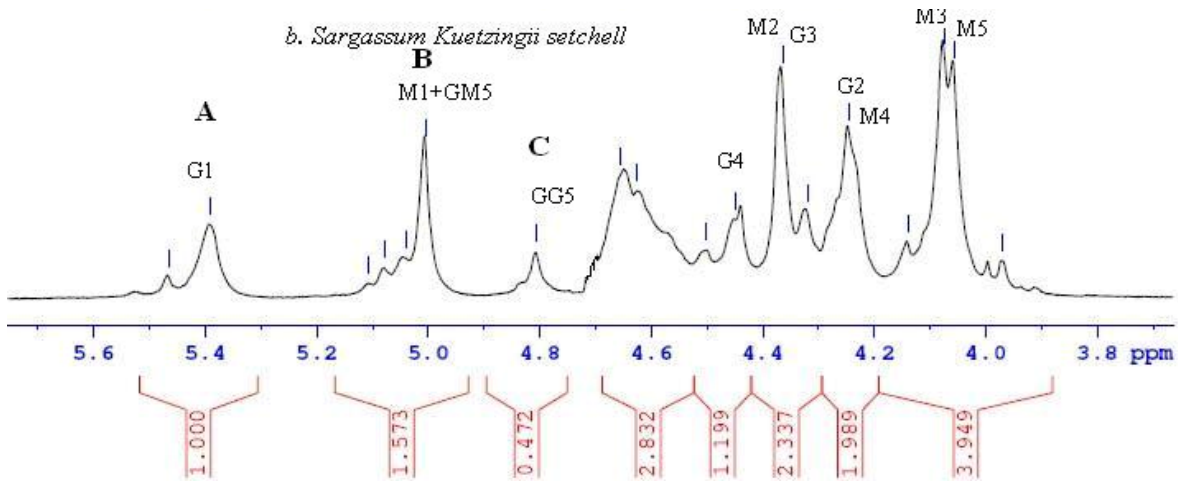
$$F_M + F_G = 1 \quad \text{và} \quad F_{MM} + F_{MG} = F_M; \quad F_{GG} + F_{GM} = F_G$$

Đối với mạch alginat tương đối dài (có độ trùng hợp phân tử lớn hơn 20) có thể chấp nhận:  $F_{MG} = F_{GM}$ . Tỷ số  $M/G = F_M/F_G$



Hình 3.18. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR của mẫu natri alginat tách từ rong *S. Kuetzingii*

Kết quả xác định các đặc trưng nói trên của mẫu alginat này bằng phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR sẽ được trình bày ở bảng 3.8.



Hình 3.20. Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của natri alginat tách từ hai loài rong *S. Kuetzingii*

Phổ  $^1\text{H}$ -NMR của mẫu natri alginat tách từ rong *S. Kuetzingii* được đưa ra ở hình 3.20. Việc qui kết các đỉnh cộng hưởng của các proton có thể được thực hiện như đã trình bày trên đây. Bằng phương pháp so sánh các phổ của phân đoạn MG tại các pD=3,5 và pD=7 khác nhau, Grasdalen và cộng sự (1979) đã chứng minh rằng cộng hưởng của proton G5 được tách thành 2 pic có độ chuyển dịch hóa học phụ thuộc pD, tương ứng với gốc liền kề bên phải là M hay G (GM5 và GG5). Tại pD=3,5, các cộng hưởng này bị dịch chuyển về phía trường thấp với mức độ như nhau so với các pic tương ứng tại pD trung hòa, và thể hiện 2 pic riêng biệt được nhận diện bằng cách so

sánh tổng cường độ của chúng với cường độ của pic G1. Tại pD trung hòa, hai pic này dịch chuyển về phía trường cao với mức độ như nhau. Pic ở phía trường cao hơn chính là của GG5 và pic còn lại trùng với pic của M1 chính là của GM5.

Cường độ tương đối của các pic A (G1), B (M1 và GM5) và C (GG5) chứa thông tin về tỉ lệ M/G và các phần mol  $F_{MM}$ ,  $F_{GG}$ ,  $F_{MG}$ ,  $F_{GM}$  của các bộ đôi kề gần nhất MM, GG, MG, GM tương ứng trong chuỗi copolyme alginat. Chú ý rằng, phần mol các khối xen kẽ là tỉ lệ với sự khác nhau về diện tích của các pic A và C và phần mol của G thì tỉ lệ với diện tích pic A.

Như vậy có thể sử dụng phổ  $^1\text{H-NMR}$  để khảo sát các đặc trưng về thành phần monome và trật tự monome trong chuỗi copolyme alginat. Về mặt định lượng, phân số mol của G và tần suất các bộ đôi  $F_{GG}$  liên hệ với cường độ (I) của các vạch tương ứng theo các biểu thức sau:

$$F_G = \frac{I_A}{I_B + I_C}; \quad F_{GG} = \frac{I_C}{I_B + I_C}$$

Phân số mol của M được suy ra từ điều kiện chuẩn:  $F_G + F_M = 1$

Các quan hệ giữa các phần mol của G và M với các phần mol của các bộ đôi được cho bởi:  $F_{GG} + F_{GM} = F_G$  và  $F_{MM} + F_{MG} = F_M$

Đối với các mạch đủ dài (có độ trùng hợp lớn hơn 20), sự đóng góp từ các nhóm đầu cuối có thể xem như không đáng kể, nên có thể xem  $F_{GM} = F_{MG}$ . Trong trường hợp các mẫu alginat đang xét, theo kết quả xác định khối lượng phân tử, có thể thấy điều kiện này được thỏa mãn.

Và tỉ lệ  $M/G = F_M/F_G$

**Bảng 3.8.** Thành phần monome và phần mol các bộ đôi trong chuỗi mạch phân tử alginat tách từ các loài rong khu vực Bắc đèo Hải Vân

Nguyên liệu		$F_G$	$F_M$	$F_{GG}$	$F_{MM}$	$F_{MG} = F_{GM}$	M/G
Toàn cây <i>S. Swartzii</i>		0,29	0,71	0,11	0,53	0,18	2,45
<i>S. Swartzii</i> (Khánh Hòa)		0,28	0,72	0,14	0,58	0,14	2,57
Toàn cây <i>S. Kuetzingii</i>	$^1\text{H-NMR}$	0,49	0,51	0,23	0,25	0,26	1,04
	$^{13}\text{C-NMR}$	0,47	0,53	0,37	0,37	0,10	1,12
<i>S. Oligocystum</i>	Thân	0,34	0,66	0,20	0,52	0,14	1,94
	Lá	0,38	0,62	0,27	0,51	0,11	1,63
<i>S. polycystum</i>	Thân	0,32	0,68	0,19	0,52	0,13	2,13
	Lá	0,32	0,68	0,16	0,53	0,16	2,13

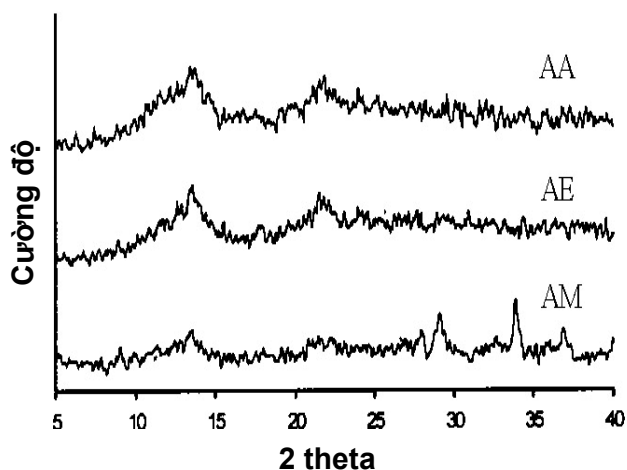
Kết quả tính toán các đặc trưng của chuỗi mạch polyme từ phổ  $^{13}\text{C-NMR}$  và  $^1\text{H-NMR}$

NMR tương ứng của các mẫu natri alginate tách từ một số loài rong thu được tại vùng biển khu vực Bắc đèo Hải Vân cùng mẫu alginate tách từ rong Khánh Hòa được đưa ra ở bảng 3.8. Từ kết quả trên có thể thấy alginate tách từ các loài rong ở khu vực Bắc đèo Hải Vân đều giàu các khối M hơn G đặc biệt là mẫu tách từ rong *S. Swartzii* (kể cả rong Khánh Hòa) có hàm lượng M gấp gần 2,5 lần G. Trừ alginate tách từ rong *S. Kuetzingii* có thành phần các khối homopolyme (MM, GG) và các khối xen kẽ (MG, GM) tương đối đồng đều nhau, các mẫu alginate khác đều giàu thành phần các khối homopolyme MM hơn các khối GG cũng như các khối xen kẽ MG, GM. Các mẫu alginate tách từ thân và lá của cùng một loại rong có các đặc trưng về cấu trúc không khác nhau nhiều.

Các kết quả tính toán được từ các số liệu của phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR và  $^1\text{H}$ -NMR đối với mẫu alginate tách từ rong *S. Kuetzingii* cho thấy hai phương pháp này cho kết quả tương đối gần nhau.

### 3.2.3. Đặc trưng tinh thể

Tách alginate từ dung dịch bằng cách kết tủa trong các dung môi khác nhau là



**Hình 3.22.** XRD của các mẫu alginate kết tủa trong các dung môi khác nhau

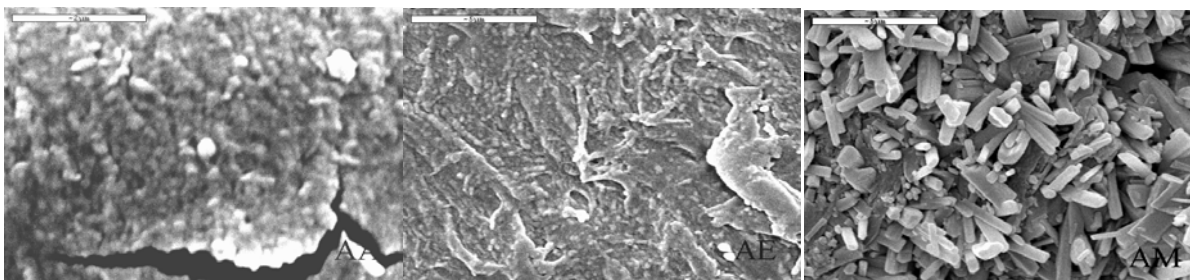
axeton, etanol và metanol, các sản phẩm tương ứng được ký hiệu lần lượt là AA, AE và AM. Cấu trúc phân tử của các sản phẩm AE và AM được quan sát bằng phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR. Phổ  $^{13}\text{C}$ -NMR nguyên tử cacbon anome của AE và AM cho thấy, tất cả các mẫu alginate AE và AM có cấu trúc phân tử tương tự nhau, đều chứa nhiều đoạn homopolyme MM, GG và rất ít các đoạn xen kẽ MG hoặc GM. Như vậy

việc kết tủa bằng dung môi khác nhau không làm thay đổi cấu trúc phân tử alginate.

Hình 3.22 trình bày XRD của các mẫu alginate. Có thể thấy các mẫu AA, AM, AE đều có góc phản xạ ở  $14, 21^\circ$ , đó là phản xạ của block MM và GG kết tinh. Tuy nhiên, các pic đặc trưng của các mẫu AE và AA từ chúng tỏ chúng có cấu trúc vô định hình. Trong khi đó mẫu AM có pic phản xạ có độ rộng bán phổ hẹp ở góc phản xạ cao chứng tỏ AM có cấu trúc tinh thể cao. Điều này được giải thích rằng khi hằng số điện môi của dung môi tăng dần sự kết tủa alginate càng có tính trật tự càng cao. Sự



quan sát này cũng phù hợp với kết quả quan sát SEM của của các mẫu AA, AE và AM. Có thể thấy AE kết tụ thành các khối lớn vài trăm micromet. SEM ở độ phân giải cao của AA cho thấy có sự đan xen tinh thể và vùng vô định hình của alginat. Hình vị như thế phù hợp với cấu trúc vô định hình như quan sát ở XRD. Khác với AE và AA, trong trường hợp AM có thể quan sát được các đơn tinh thể kích thước cỡ micromét. Việc điều chế các alginat kích thước micro có ý nghĩa khoa học vì có thể thay thế phần nào phương pháp sử dụng chất định hướng cấu trúc có qui trình phức tạp.

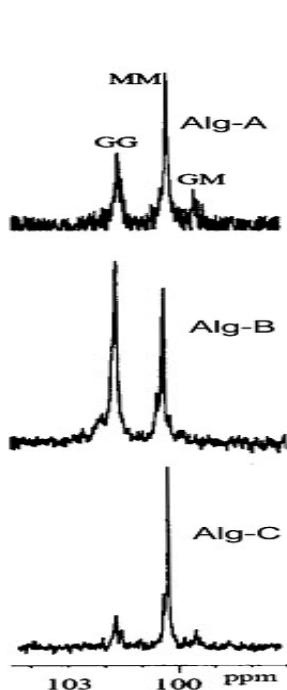


Hình 3.23. SEM của các mẫu alginat AA, AE, và AM.

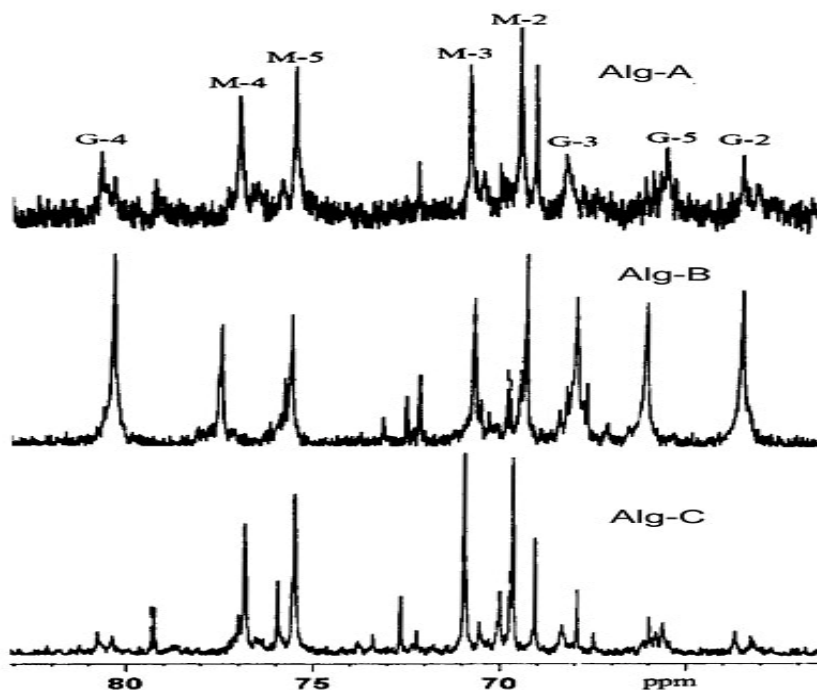
### 3.3. Điều chế oligosacarit từ alginat

#### 3.3.1. Điều chế các oligoalginat bằng phương pháp thủy phân với $H_3PO_4$

Qui trình điều chế các oligoalginat từ mẫu alginat tách từ loài rong *S.kuetzingii* được trình bày ở chương 2 bằng các sơ đồ ở hình 2.3 và 2.4.



Hình 3.24. Phổ  $^{13}C$ -NMR vùng anome



Hình 3.25. Phổ  $^{13}C$ -NMR của C-2,3,4,5 của các mẫu Alg-A, Alg-B và Alg-C

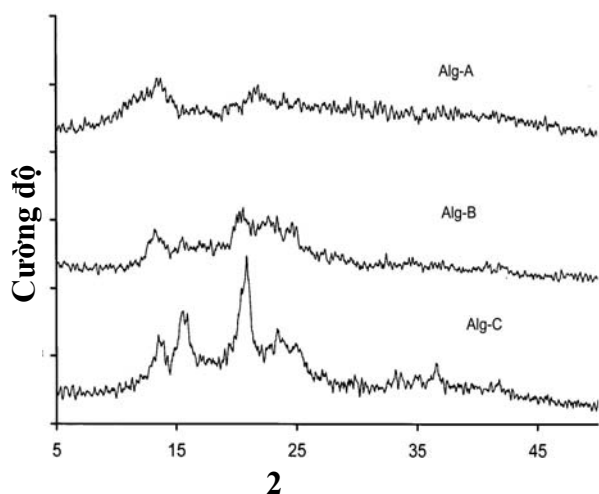
Hình 3.24 trình bày phổ  $^{13}C$ -NMR vùng anome của axit alginic và các mẫu

oligoalginat. Các pic cộng hưởng trong vùng từ 100-102 ppm mỗi pic được tách thành 2 vạch, tương ứng với các góc liên kết liền kề với C1. Có thể quan sát được 4 vạch tương ứng với các cộng hưởng của MG, GG, MM và GM theo thứ tự từ phía trường thấp. Trong phổ của Alg-A các pic tương ứng với GM và MG rất nhỏ chứng tỏ rằng mẫu axit alginic ban đầu bao gồm chủ yếu các khối homopolysacarit (MM và GG) trong đó khối MM chiếm tỉ lệ cao hơn. Tần suất của các chuỗi GG tăng lên đáng kể trong Alg-B so với Alg-A chứng tỏ bản chất không bị thủy phân của các khối GG. Alg-B giàu thành phần các khối GG hơn MM. Trong phổ của Alg-C, cường độ các pic tương ứng với chuỗi GG ở 101,8 ppm rất nhỏ trong khi cường độ của pic ứng với chuỗi MM ở 100,5 ppm tăng lên đáng kể. Vì vậy có thể nói Alg-C chứa chủ yếu các khối homopolyme của axit mannuronic MM. Khác với các khối GG, các khối MM hòa tan tốt trong H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> và kết tinh tốt trong nước. Tỉ lệ thành phần các monome trong chuỗi mạch (M/G) của các sản phẩm được tính toán theo cách tính trong mục 3.2. Kết quả được đưa ra ở bảng 3.10.

**Bảng 3.10.** Hiệu suất và khối lượng phân tử trung bình của các oligome điều chế được

Sản phẩm	Axit alginic (Alg-A)	Alg-B	Alg-C
Hiệu suất (%)	100	47	18
$\overline{M}_v$ (kDA)	101,052	17,620	15,580
Tỉ lệ M/G	1,38	0,67	3,55

Phổ của các nguyên tử cacbon C2,3,4,5 của Alg-A, Alg-B và Alg-C được trình bày ở hình 3.25. Pic đơn ở 77 ppm ứng với C4 của gốc M cho thấy các góc kề liên



**Hình 3.26.** Giảm độ nhiễu xạ tia X (XRD) của axit alginic và các oligome

các oligome được khảo sát bằng giảm độ nhiễu xạ tia X (XRD) được trình bày ở hình

kết với nguyên tử cacbon này chủ yếu là axit mannuronic, vì vậy các góc axit mannuronic chủ yếu tạo thành cấu trúc homopolyme. Tương tự như vậy, các góc axit guluronic cũng chủ yếu tạo nên cấu trúc homopolyme. Điều này phù hợp tốt với kết quả đưa ra từ sự phân tích phổ vùng anome ở trên, theo đó, cấu trúc chủ yếu là các khối homopolyme GG và MM của Alg-A, Alg-B và Alg-C.

Mức độ kết tinh của axit alginic và

3.26. Trong XRD của Alg-A, các pic từ ở  $13,5$  và  $21^{\circ}$  chứng tỏ Alg-A có cấu trúc vô định hình. Trong khi đó ở Alg-B và Alg-C thể hiện các pic có độ rộng nhỏ hơn có nghĩa là Alg-B và Alg-C chứa một phần tương đối cao cấu trúc tinh thể. Từ thực tế là các nhiễu xạ ở các góc  $2\theta$ :  $15,5$ ;  $21$ ;  $24$  và  $39^{\circ}$  tăng lên từ Alg-A đến Alg-C có thể thấy rằng các nhiễu xạ này được qui cho các khối MM. Điều này phù hợp với công bố trước đây của A. Ikeda và cộng sự. Các tác giả trên đã cho rằng các nhiễu xạ ở  $16$  và  $21^{\circ}$  của oligome giàu MM của axit alginic. Đối với Alg-B, tỉ lệ các khối GG lớn hơn MM. Vì vậy, pic nhiễu xạ mới khoảng  $13,5^{\circ}$  phải được gán cho các khối GG.

Hình 3.27 trình bày hình thái của axit alginic ban đầu và của các oligome điều chế được quan sát bằng SEM. Có thể thấy ở axit alginic ban đầu có sự kết tụ thành các khối rất lớn. Ở Alg-B nhận được các hạt có kích thước nano trong khi Alg-C chứa các hạt kích thước khoảng  $1-3 \mu\text{m}$ . Các kết quả này phù hợp với nhận xét có được từ XRD rằng cường độ các pic ở  $21^{\circ}$  tăng từ Alg-A đến Alg-C hay mức độ tinh thể hóa tăng từ Alg-A đến Alg-C theo sự tăng của tỉ lệ các khối MM trong chuỗi mạch. Như vậy bằng phương pháp xử lý axit alginic với  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , chúng tôi đã điều chế được các oligome của axit alginic có cấu trúc khác nhau.

Hiệu suất và khối lượng phân tử trung bình và tỉ lệ thành phần monome của các oligome điều chế được trình bày trong bảng 3.10.

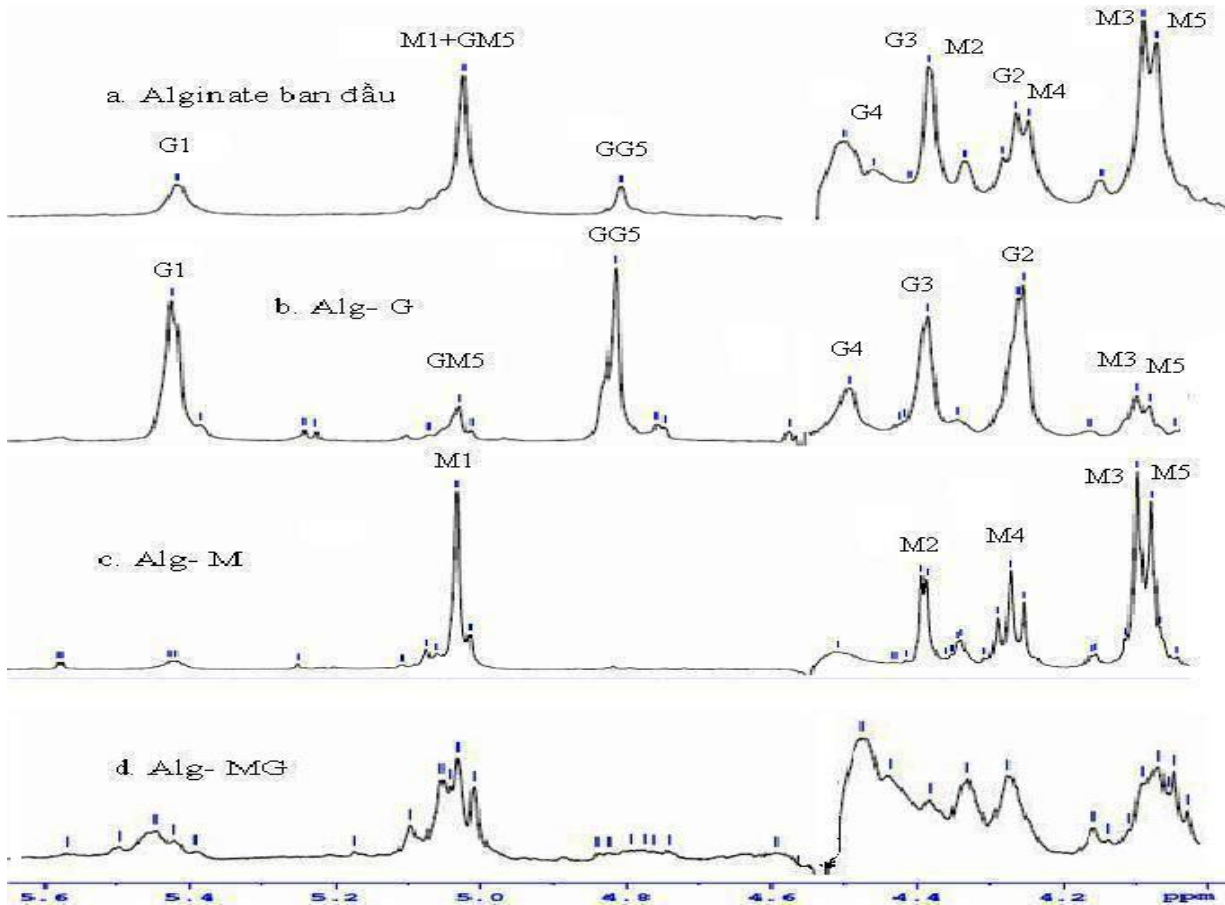
### **3.3.2. Điều chế các oligoalginat bằng phương pháp thủy phân với HCl**

Sơ đồ qui trình điều chế các phân đoạn axit alginic được đưa ra ở chương 2. Các phân đoạn điều chế được ký hiệu lần lượt là Alg-G, Alg-M, Alg-MG.

Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của alginat ban đầu và các phân đoạn điều chế được trình bày trên hình 3.28. Có thể thấy trong phổ của Alg-G, các pic cộng hưởng ứng với các proton của M1, M3 và M5 đều có cường độ giảm mạnh so với các pic tương ứng trong phổ của alginat ban đầu, ngược lại cường độ các pic ứng với các proton G1, G5 tăng lên rất nhiều. Vì vậy có thể nói mẫu Alg-G giàu các gốc của axit guluronic và giàu các khối homopolyme GG. Ngược với mẫu Alg-G, trong phổ của mẫu Alg-M, cường độ các pic ứng với cộng hưởng của các proton G1, G5, G4 là rất thấp, trong khi đó các pic ứng với M1, M3, M5 tăng lên đáng kể. Kết quả này cho thấy mẫu Alg-M giàu các gốc của axit mannuronic và các khối homopolyme MM.

Trong phổ của Alg-MG, có thể thấy pic ứng với cộng hưởng của proton H5 của gốc G liên kết trực tiếp với gốc G khác (GG5) có cường độ rất thấp, trong khi đó các pic ứng với các proton G1, M1, M3, M5 bị tách thành nhiều vạch. Điều này chỉ có thể giải thích bằng việc các gốc của axit mannuronic và axit guluronic tương ứng

kết hợp xen kẽ với nhau trong chuỗi mạch. Như vậy có thể kết luận rằng mẫu Alg-MG chứa chủ yếu các khối xen kẽ heteropolyme (MG).



**Hình 3.28.** Phổ  $^1\text{H-NMR}$  của alginat ban đầu và các phân đoạn điều chế được

Có thể tính toán tỉ lệ thành phần monome và tần suất các bộ đôi trong mạch của các mẫu tương ứng từ cường độ tương đối của các pic cộng hưởng trong phổ  $^1\text{H-NMR}$  theo phương pháp đã đưa ra trong mục 3.2. Kết quả được trình bày trong bảng 3.11 đã xác nhận các đặc trưng cấu trúc của các mẫu oligome phù hợp với các kết luận trên

**Bảng 3.11.** Thành phần monome và tần suất các bộ đôi của alginat và các mẫu oligoalginat điều chế từ mẫu alginat này.

Mẫu oligoalginat	Thành phần monome		Tần suất các bộ đôi			M/G
	$F_M$	$F_G$	$F_{MM}$	$F_{MG}=F_{GM}$	$F_{GG}$	
Alginate ban đầu	0,72	0,28	0,58	0,14	0,14	2,57
Alg-G	0,10	0,90	0,07	0,03	0,87	0,11
Alg-M	0,90	0,10	0,86	0,04	0,06	9,00
Alg-MG	0,61	0,39	0,27	0,24	0,15	1,56

Hiệu suất các oligoalginat điều chế được tính bằng phần trăm khối lượng sản phẩm thu được trên khối lượng alginat ban đầu. Khối lượng phân tử của alginat và

các mẫu alginat được xác định bằng phương pháp đo độ nhớt. Kết quả xác định được trình bày ở bảng 3.12. Kết quả trên cho thấy hiệu suất và phân tử lượng trung bình của alginat giàu G cao hơn alginat giàu M. Điều này có thể được lý giải dựa trên cơ chế của phản ứng cắt mạch alginat. Trong sự có mặt của axit, phản ứng thủy phân phân cắt liên kết glycozit xảy ra. Do liên kết C-O-C glycozit giữa các gốc guluronate GG bền vững hơn so với giữa các gốc manuronate MM và giữa gốc guluronate với gốc mannuronate GM nên khả năng bị cắt mạch của các block GG là thấp hơn so với MM và GM. Khối lượng phân tử trung bình của mẫu Alg-MG thấp nhất cho thấy liên kết GM và MG là kém bền vững nhất.

**Bảng 3.12.** Hiệu suất điều chế và khối lượng phân tử trung bình của các oligoalginat

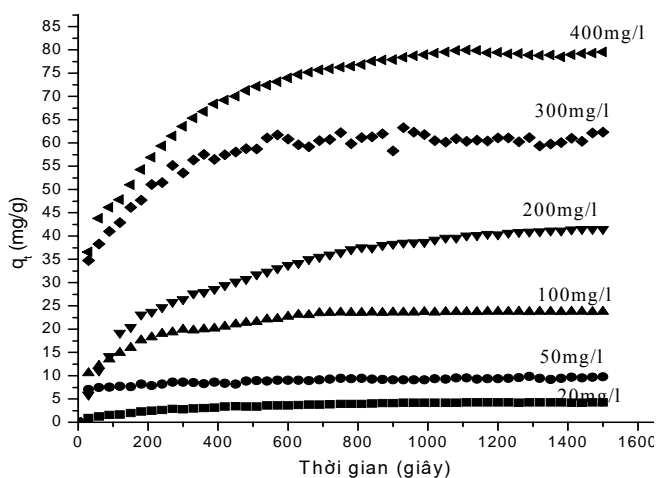
Mẫu	Alginat ban đầu	Alg-G	Alg-M	Alg-MG
Hiệu suất (%)	100	41,8	10,7	30,7
$\overline{M}_v$ (DA)	101,052	22,177	14,863	11,570

Như vậy từ nguồn alginat tách được từ rong mơ khu vực Bắc Hải Vân, bằng phương pháp điều chỉnh pH để kết tủa phân đoạn, lần đầu tiên chúng tôi điều chế được các phân đoạn oligoalginat có cấu trúc xác định giàu M, giàu G và giàu các khối xen kẽ MG.

### 3.4. Khảo sát một số ứng dụng của alginat và các oligoalginat

#### 3.4.1. Khảo sát quá trình hấp phụ kim loại nặng vào axit alginic

Axit alginic đã được biết là có ái lực mạnh với các cation kim loại hóa trị hai. Nhiều nghiên cứu cơ chế quá trình kết hợp kim loại vào axit alginic đã được thực hiện. Trong nghiên cứu của chúng tôi một phương pháp thực nghiệm mới được sử dụng để nghiên cứu động học, cân bằng đẳng nhiệt và một số đặc trưng khác của quá



**Hình 3.34.** Ảnh hưởng của dung lượng hấp phụ vào thời gian hấp phụ và nồng độ Cu<sup>2+</sup> ban đầu

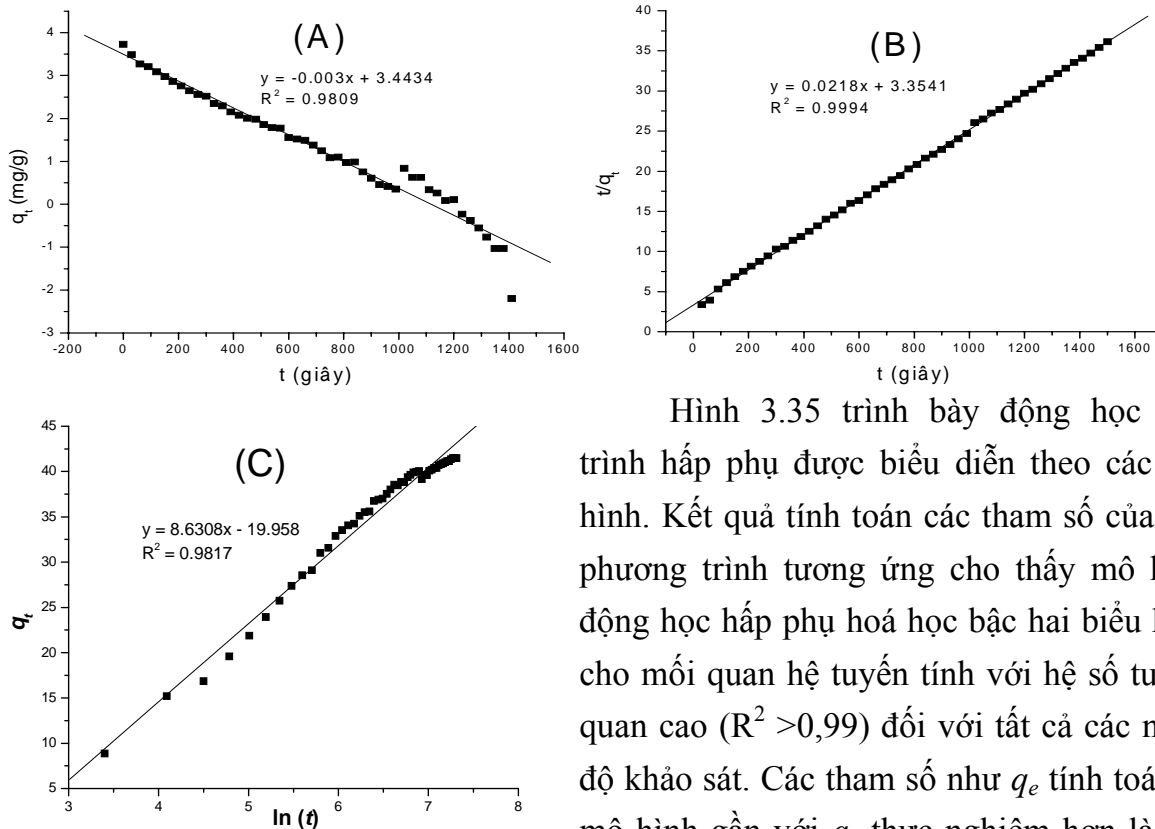
trình hấp phụ kim loại bắt đầu từ giai đoạn đầu tiên cho đến thời điểm cân bằng dựa trên việc xác lập mối quan hệ giữa pH, độ dẫn điện và nồng độ kim loại trong dung dịch hấp phụ.

#### 3.4.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ đầu của ion kim loại

Hình 3.34 đưa ra kết quả xác định sự phụ thuộc của lượng Cu<sup>2+</sup> hấp phụ vào axit alginic (q<sub>t</sub>, mg/g) vào thời gian hấp phụ trong các thí nghiệm ở

25<sup>0</sup>C, pH ban đầu 4,5 với 0,5 g axit alginic, 100 ml các dung dịch Cu<sup>2+</sup> có nồng độ khác nhau. Có thể nhận thấy rằng tất cả các đường cong có hình dạng đặc trưng cho quá trình hấp phụ bằng vật liệu polyme sinh học. Dung lượng hấp phụ Cu<sup>2+</sup> tăng rất nhanh chỉ trong vài phút đầu tiên tiếp xúc, sau đó tăng chậm lại cho đến khi đạt cân bằng. Có thể nói rằng quá trình tách loại ion đồng bằng axit alginic xảy ra hai giai đoạn phân biệt: giai đoạn đầu nhanh và giai đoạn tiếp theo chậm hơn. Thời gian cần thiết để đạt cân bằng hấp phụ khi nồng độ ion đồng (II) ban đầu từ 20 mg/l đến 400 mg/l là 20 phút. Mức độ hấp phụ tính toán được tăng dần từ nồng độ 400mg/l (7%) đến 20mg/l (99%), chứng tỏ nồng độ càng thấp mức độ hấp phụ của axit alginic càng cao. Ở nồng độ đầu 20mg/l thì sau khi hấp phụ nồng độ Cu (II) chỉ còn 50 ppb. Đây là một ưu điểm của quá trình hấp phụ bằng axit alginic cho phép có thể loại bỏ kim loại nặng trong nước thải ở nồng độ thấp.

#### 3.4.1.4. Mô hình động học hấp phụ



**Hình 3.35.** Động học hấp phụ ion đồng (II) trên axit alginic (100ml dung dịch Cu<sup>2+</sup> 200mg/l, 0,5g axit alginic) theo phương trình: A: bậc nhất biểu kiến; B: bậc hai biểu kiến; C: Elovich

Hình 3.35 trình bày động học quá trình hấp phụ được biểu diễn theo các mô hình. Kết quả tính toán các tham số của các phương trình tương ứng cho thấy mô hình động học hấp phụ hoá học bậc hai biểu kiến cho mối quan hệ tuyến tính với hệ số tương quan cao ( $R^2 > 0,99$ ) đối với tất cả các nồng độ khảo sát. Các tham số như  $q_e$  tính toán từ mô hình gần với  $q_e$  thực nghiệm hơn là các mô hình khác nên có thể kết luận rằng mô hình hấp phụ bậc hai biểu kiến là mô tả tốt nhất cho quá trình hấp phụ ion đồng (II) lên axit alginic. Đây cũng là bằng chứng chứng

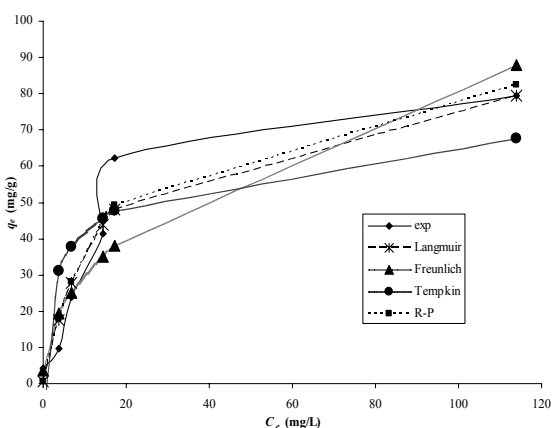
tỏ giả thiết quá trình hấp phụ Cu<sup>2+</sup> vào axit alginic là thuận túy trao đổi ion.

### 3.4.1.6. Đẳng nhiệt hấp phụ

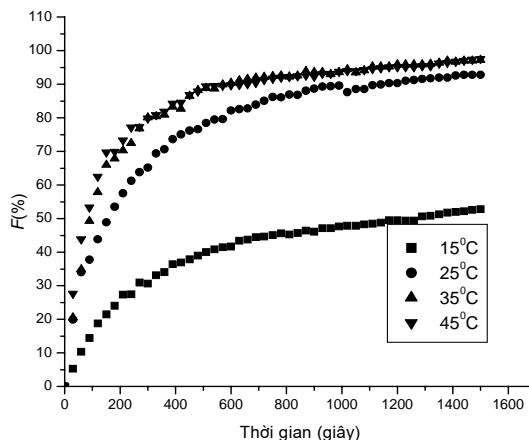
Các kết quả thực nghiệm hấp phụ thực hiện với dung dịch chứa ion đồng vào axit alginic ở 25<sup>0</sup>C, ở thời điểm cân bằng sau 25 phút với các lượng chất hấp phụ khác nhau được sử dụng để mô tả cân bằng hấp phụ. Việc đánh giá sự phù hợp của các mô hình đẳng nhiệt với các số liệu thực nghiệm được thực hiện dựa vào các hàm hồi qui phi tuyến:  $RMSE$  và  $X^2$ .  $RMSE$  và  $X^2$  càng nhỏ, mô hình nghiên cứu càng phản ánh đúng thực nghiệm. Hình 3.38 trình bày các đường đẳng nhiệt từ các số liệu tính toán theo các phương trình tương ứng cùng với đường biểu diễn số liệu thực nghiệm. Từ các đường biểu diễn này và các giá trị  $R^2$ ,  $RMSE$ ,  $X^2$  có thể thấy mức độ phù hợp với thực nghiệm của các mô hình theo thứ tự: Redlich- Peterson ~ Langmuir, Freundlich, Temkin. Như vậy mô hình đẳng nhiệt Langmuir là mô tả tốt nhất quá trình hấp phụ ion Cu (II) vào axit alginic hay nói cách khác quá trình hấp phụ gần như tạo thành đơn lớp trên bề mặt chất hấp phụ. Kết luận này một lần nữa khẳng định thêm bản chất hấp phụ là hấp phụ hóa học. Ngoài ra từ phương trình Langmuir, tính được dung lượng hấp phụ cực đại ( $q_m = 90,9$  mg/g) là tương đối lớn.

### 3.4.1.7. Ảnh hưởng của nhiệt độ và các tham số nhiệt động học

Hình 3.39 trình bày ảnh hưởng của nhiệt độ đến mức độ hấp phụ Cu<sup>2+</sup> vào axit alginic. Có thể thấy mức độ hấp phụ tăng lên khi nhiệt độ tăng, chứng tỏ quá trình hấp phụ là thu nhiệt trong khoảng nhiệt độ nghiên cứu (15 – 45<sup>0</sup>C). Tuy nhiên trong khoảng từ 35 – 45<sup>0</sup>C, mức độ hấp phụ tăng không đáng kể, chứng tỏ, mức độ hấp phụ đạt cực đại trong khoảng nhiệt độ này. Có thể nói đây là một ưu điểm của việc loại bỏ kim loại nặng bằng axit alginic vì cho phép có thể dùng axit alginic loại bỏ kim loại ở nhiệt độ thường.



**Hình 3.38.** Các đường đẳng nhiệt hấp phụ ion đồng (II) bằng axit alginic



**Hình 3.39.** Ảnh hưởng của nhiệt độ đến mức độ hấp phụ Cu (II) vào axit alginic (0,5g axit alginic/100 ml dung dịch Cu (II) 200mg/l)

Các tham số nhiệt động học dùng để khẳng định lại bản chất hấp phụ của nghiên cứu này. Các tham số này bao gồm: biến thiên năng lượng tự do Gibbs ( $\Delta G$ ),

biến thiên entanpi ( $\Delta H$ ) và biến thiên entropi ( $\Delta S$ ) được tính toán theo các phương trình (3.17), (3.18) và (3.19).

$$K_C = \frac{C_{ae}}{C_e} = \frac{C_0 - C_e}{C_e} \quad (3.17) \quad \Delta G = -RT \ln K_C \quad (3.18) \quad \ln K_C = -\frac{\Delta G}{RT} = \frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT} \quad (3.19)$$

trong đó  $K_C$  là hằng số cân bằng của quá trình hấp phụ,  $C_{ae}$  và  $C_e$  lần lượt là nồng độ ion đồng ở pha rắn và pha dung dịch (mg/l). Có thể vẽ giản đồ Van't Hoff biểu diễn quan hệ  $\ln K_C - 1/T$  theo phương trình (3.19) và tính được các tham số nhiệt động học từ độ dốc và giao điểm với trục tung của đồ thị.  $\Delta G$  tính được theo phương trình (3.18) có giá trị âm ở cả 3 nhiệt độ nghiên cứu chứng tỏ rằng quá trình hấp phụ là thuận lợi và tự xảy ra. Giá trị dương của  $\Delta H$  một lần nữa khẳng định quá trình hấp phụ ion đồng vào axit alginic là thu nhiệt. Đáng chú ý là  $\Delta S$  có giá trị dương có nghĩa là quá trình hấp phụ ion đồng làm tăng mức độ hỗn loạn trên bề mặt phân cách rắn-lỏng. Điều này có thể được giải thích rằng: các phân tử dung môi (nước) nhận được nhiều entropi khi bị thay thế bởi các chất hấp phụ hơn là bị mất do các ion đồng bị tách ra. Hơn nữa khi ở trạng thái dung dịch ion đồng bị hidrat hóa mạnh nên có độ trật tự cao hơn và trật tự này sẽ bị mất khi ion bị hấp phụ trên bề mặt axit alginic do sự tách bỏ các phân tử nước hidrat hóa.

### 3.4.2. Khảo sát khả năng kích thích nảy mầm và tăng trưởng cây lúa

#### 3.4.2.1. Khả năng kích thích nảy mầm hạt giống

Tỷ lệ nảy mầm là chỉ tiêu đánh giá khả năng nảy mầm của hạt giống sau thời gian bảo quản. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát ảnh hưởng của alginat, alginat giàu G (Alg-G), alginat giàu M (Alg-M) khi được xử lý đến tỉ lệ nảy mầm của hạt giống so với đối chứng. Các đặc trưng của mẫu alginat và các mẫu oligoalginat này đã được đưa ra ở bảng 3.15.

Sử dụng chuẩn  $T$  của Student để kiểm tra sự khác nhau của các kết quả với mức có nghĩa  $\alpha = 0,05$ . Kết quả cho thấy: so với đối chứng, các trường hợp được xử lý với alginat, oligoalginat giàu G, oligoalginat giàu M đều có  $|T_m| > t_{(0,05, n_1 + n_2 - 2)}$  có nghĩa là với mức có nghĩa  $\alpha = 0,05$ , alginat, oligoalginat giàu G, oligoalginat giàu M đều có tác dụng làm tăng tỉ lệ nảy mầm của hạt giống lúa, tuy mức độ có khác nhau. Oligoalginat giàu M và oligoalginat giàu G có tác dụng rõ ràng nhất. Điều này phù hợp với nhận định của A. Ikeda và cộng sự chỉ ra rằng alginat và oligoalginat đồng nhất về cấu trúc có khả năng kích thích tăng trưởng đặc hiệu hơn.

#### 3.4.2.2. Khả năng kích thích tăng trưởng

Sau giai đoạn nảy mầm, để khảo sát ảnh hưởng của các dung dịch nghiên cứu đến khả năng kích thích sự tăng trưởng của cây lúa, chúng tôi tiếp tục nuôi trồng các



lô thí nghiệm trong điều kiện như sau: ngoại trừ lô đối chứng chỉ được phun nước, các lô thí nghiệm khác được phun các dung dịch alginat, alginat giàu G, alginat giàu M có nồng độ 100 mg/l đều đặn mỗi ngày một lần vào buổi sáng và được chiếu sáng bằng đèn neon 12 giờ/ngày để quá trình quang hợp của cây được xảy ra. Sau 12 ngày, tiến hành chọn ngẫu nhiên mỗi mẫu 40 cây để đo chiều cao.

Sử dụng chuẩn  $T$  của Student để kiểm tra sự khác nhau của các kết quả với mức có nghĩa  $\alpha = 0,05$ . Kết quả cho thấy:

So với đối chứng, các trường hợp được xử lý với alginat, oligoalginat giàu G, oligoalginat giàu M đều có  $|T_m| > t_{(0,05, n_1+n_2-2)}$  có nghĩa là với mức có nghĩa  $\alpha = 0,05$ , alginat, oligoalginat giàu G, oligoalginat giàu M đều có tác dụng kích thích tăng trưởng cây lúa, tuy mức độ có khác nhau, trong đó alginat giàu M có tác dụng kích thích mạnh nhất. Alginat và oligoalginat giàu G đều có tác dụng kích thích nhưng sự khác nhau về hiệu quả kích thích giữa 2 chế phẩm này là không rõ ràng. Kết quả này phù hợp với công bố mới đây của Laporte và cộng sự, theo đó, khi khảo sát về khả năng kích thích tăng trưởng của các oligosacarit trên cây thuốc lá đã thấy rằng chiều cao cây thuốc lá khi được xử lý bằng oligoalginat giàu M tăng cao nhất so với oligoalginat giàu G và oligome từ galactan đã sunfat hóa sulphated (Poly-Ga)

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

1. Các yếu tố khảo sát: nồng độ axit, nồng độ andehit trong giai đoạn xử lý sơ bộ và nồng độ dung dịch natri cacbonat trong quá trình nấu chiết đều có ảnh hưởng rõ rệt đến tỉ lệ tách và khối lượng phân tử trung bình của alginat điều chế được từ rong mơ Bắc Hải Vân theo quy trình axit. Từ kết quả khảo sát, đã lập được các phương trình hồi qui mô tả ảnh hưởng đồng thời của các yếu tố này:

$$y_1 = 15,876 + 38,51z_1 + 25,71z_2 + 7,07z_3 - 77,02z_1^2 - 51,42z_2^2 - 1,597z_3^2$$

$$y_2 = 71748 + 60795z_1 + 41489z_2 + 13204z_3 - 101325z_1^2 - 82978z_2^2 - 2731z_3^2$$

với  $y_1, y_2$  lần lượt là các hàm mục tiêu chỉ tỉ lệ alginat tách được và khối lượng phân tử trung bình alginat;  $z_1, z_2, z_3$  lần lượt là nồng độ HCHO (%), HCl (M) và  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Dựa vào đó có thể xác lập các điều kiện cần thiết để thu được alginat với tỉ lệ tách và khối lượng phân tử trung bình mong muốn.

2. Việc áp dụng các phương pháp vật lý hiện đại như hồng ngoại, cộng hưởng từ hạt nhân  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  cùng với các kỹ thuật phổ hai chiều  $^1\text{H}-^1\text{H-COSY}$ ,  $^1\text{H}-^1\text{H-TOCSY}$ , HSQC để phân tích chi tiết cấu trúc của alginat cũng như các chế phẩm điều chế từ alginat tách từ các loài rong mơ phổ biến khu vực Bắc Hải Vân đã cho kết quả là alginat từ rong mơ khu vực này tạo thành chủ yếu từ các khối homopolyme MM, GG và  $M/G > 1$ . Ngoài ra, bằng phương pháp đo độ nhớt, đã xác định được các sản phẩm alginat này đều là những polyme có khối lượng phân tử ở mức trung bình khoảng 100 kDa.

3. Bằng phương pháp thủy phân alginat với  $\text{H}_3\text{PO}_4$  đậm đặc trong 6 ngày, chúng tôi đã điều chế và tách được các oligosaccarit giàu các hợp phần GG (không tan trong  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) và MM (dễ tan trong  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Trong khi đó, khi thủy phân với HCl, bằng cách điều chỉnh pH, chúng tôi đã điều chế và phân lập được các oligosaccarit có cấu trúc chủ yếu là các khối homopolyme giàu các hợp phần MM hoặc GG và heteropolyme giàu các hợp phần MG dựa trên cơ sở sự khác nhau về khả năng hòa tan của các hợp phần này trong các môi trường có pH khác nhau. Cấu trúc các sản phẩm đã được khảo sát và xác định bằng các phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân.

4. Đã đề nghị phương pháp đơn giản để có thể nghiên cứu trực tiếp động học và các đặc trưng của quá trình hấp phụ Cu (II) trong dung dịch nước bằng axit alginic dựa trên việc xác định sự biến thiên nồng độ kim loại bị hấp phụ thông qua sự thay đổi pH và độ dẫn điện của dung dịch. Bằng phương pháp này có thể xác định liên tục trực tiếp nồng độ kim loại trong khoảng thời gian rất ngắn (10 giây), mà phương pháp nghiên cứu động học gián đoạn thông thường không thể giải quyết được. Áp dụng phương pháp này vào nghiên cứu quá trình hấp phụ ion Cu (II) lên axit alginic, kết quả cho thấy sự hấp phụ các ion này tuân theo mô hình tốc độ bậc hai biểu kiến và cơ chế chủ yếu của quá trình hấp phụ là trao đổi ion. Hằng nhiệt cân bằng hấp phụ ion Cu (II) vào axit alginic tuân theo mô hình Langmuir với dung lượng hấp phụ cực đại  $q_m = 90,9 \text{ mg/g}$ . Kết quả cũng đã chỉ ra rằng mức độ hấp phụ ion Cu (II) đạt cực đại trong khoảng nhiệt độ từ  $30-35^\circ\text{C}$ . Đây là quá trình hấp phụ hóa học tự xảy ra với  $\Delta G = -0,063, -1,508, -2,178 \text{ kcal/mol}$  ứng với các nhiệt độ 15, 25 và  $35^\circ\text{C}$ ;  $\Delta H = 30,52 \text{ kcal/mol}$  và  $\Delta S = 106,62 \text{ cal/mol/K}$  trong khoảng nhiệt độ từ  $15-35^\circ\text{C}$ .

5. Alginat, oligoalginat giàu G, oligoalginat giàu M khi dùng ở nồng độ 100 mg/l để ngâm hạt giống lúa trong 24 giờ đều có tác dụng làm tăng tỉ lệ nảy mầm của hạt giống lúa, tuy mức độ có khác nhau, trong đó oligoalginat giàu M và oligoalginat giàu G có tác dụng rõ ràng nhất. Khi được phun ở nồng độ 100 mg/l thì alginat, oligoalginat giàu G, oligoalginat giàu M đều có tác dụng kích thích tăng trưởng cây lúa, trong đó alginat giàu M có tác dụng kích thích mạnh nhất, alginat và oligoalginat giàu G đều có tác dụng kích thích nhưng sự khác nhau về hiệu quả kích thích giữa 2 chế phẩm này là không rõ ràng.

## **KIẾN NGHỊ**

Trong quá trình nghiên cứu chúng tôi nhận thấy một số vấn đề cần phải được tiếp tục làm rõ, đó là:

1. Vì tính chất của các oligosaccarit điều chế từ alginat và do đó các ứng dụng của nó ngoài việc phụ thuộc vào cấu trúc tuần tự của mạch polyme, còn phụ thuộc vào độ dài mạch tức là phụ thuộc vào khối lượng phân tử trung bình của chúng, vì vậy cần nghiên cứu thêm về ảnh hưởng của các điều kiện thực nghiệm trong quá trình điều chế từ alginat để điều chế các oligosaccarit có các đặc trưng cấu trúc thích hợp cho các ứng dụng đa dạng của các sản phẩm này.

2. Các đặc trưng của quá trình hấp phụ ion Cu (II) từ dung dịch nước vào axit alginic đã được nghiên cứu chi tiết. Tuy nhiên một số vấn đề về hấp phụ cần được khảo sát chi tiết hơn như: khả năng và cơ chế hấp phụ các ion kim loại khác như chì, niken, asen, ..., đặc biệt là nghiên cứu các quy luật của quá trình hấp phụ trong trường hợp hấp phụ từ dung dịch hỗn hợp các ion kim loại khác nhau để tạo cơ sở vững chắc cho việc sử dụng axit alginic trong việc loại bỏ các ion kim loại trong nước thải công nghiệp.

3. Việc khảo sát khả năng kích thích nảy mầm cũng như kích thích tăng trưởng của các oligosaccarit điều chế từ alginat có khối lượng phân tử trung bình khác nhau cũng cần được thực hiện để có hiểu biết đầy đủ hơn về bản chất của sự kích thích này và trên cơ sở đó mở rộng khả năng ứng dụng các sản phẩm này.