

NGHIÊN CỨU CẤU TRÚC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA SULFATE POLYSACCHARIDE TỪ RONG LỤC *ENTEROMORPHA INTESTINALIS*

STRUCTURE AND BIOACTIVITY OF SULFATED POLYSACCHARIDE FROM GREEN SEAWEED *ENTEROMORPHA INTESTINALIS*

Quách Thị Minh Thu¹, Hoàng Trúc Tâm², Lê Thị Hồng Nhung³,
Đặng Vũ Lương¹, Ngô Văn Quang¹, Hồ Đức Cường², Thành Thị Thu Thủy^{1,*}

TÓM TẮT

Trong bài báo này, cấu trúc và hoạt tính gây độc tế bào của ulvan, một sulfate polysaccharide được phân lập từ rong lục *Enteromorpha intestinalis*, đã được nghiên cứu. Kết quả cho thấy polysaccharide bao gồm rhamnose, galactose, xylose, manose, glucose (tỷ lệ mol Rha: Xyl: Glc = 1: 0,04: 0,03), acid uronic (24,5%) và hàm lượng sulfate (17,6%), trọng lượng phân tử của nó là 210.000 g/mol. Ulvan có disaccharide dạng A₃S: →4)β-D-Glucuronic acid (1→4)α-L-Rhamnose-3-sulfate(1→, mạch nhánh rhamnose liên kết với mạch chính ở vị trí C-2. Ulvan thể hiện hoạt tính gây độc tế bào tốt trên 3 dòng tế bào: ung thư gan HepG2 (IC₅₀ = 31,81 ± 2,87 μg/ml), ung thư vú MCF7 (IC₅₀ = 26,45 ± 1,36 μg/ml) và ung thư cổ tử cung Hela (IC₅₀ = 34,68 ± 3,84 μg/ml).

Từ khóa: Ulvan, *Enteromorpha intestinalis*, cấu trúc, hoạt tính gây độc tế bào.

ABSTRACT

In this paper, structure and cytotoxic activity of ulvan, a sulfated polysaccharide isolated from green seaweed *Enteromorpha intestinalis*, were determined. The results showed that the polysaccharide was composed of rhamnose, galactose, xylose, manose, glucose (mole ratio of Rha : Xyl : Glc equal to 1 : 0.04 : 0.03), uronic acid (24.5%) and sulfate content (17.6%), its molecular weight is 210,000 g/mol. This ulvan mainly consists of disaccharide A₃S type: →4)β-D-Glucuronic acid (1→4)α-L-Rhamnose-3-sulfate(1→, branches were rhamnose residues linkaged to the main chain at C-2 position. The ulvan showed a significant cytotoxic activity against hepatocellular carcinoma HepG2 (IC₅₀ = 31.81 ± 2.87 μg/ml), human breast cancer MCF7 (IC₅₀ = 26.45 ± 1.36 μg/ml), and cervical cancer Hela (IC₅₀ = 34.68 ± 3.84 μg/ml).

Keywords: Ulvan, *Enteromorpha intestinalis*, structure, cytotoxic activity.

¹Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

³Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: thuyttt@ich.vast.vn

Ngày nhận bài: 01/10/2021

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 15/12/2021

Ngày chấp nhận đăng: 25/02/2022

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay polysaccharide có nguồn gốc từ rong biển đang thu hút sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học trong

nhiều lĩnh vực do các tính chất và hoạt tính sinh học phong phú của chúng. Rong lục dùng làm nguyên liệu phân lập polysaccharide nhiều nhất thuộc về bộ Ulvales gồm chi *Ulva*, *Enteromorpha*, *Monostroma*, *Codium*, *Caulerpa* và *Chaetomorpha* [1].

Ulvan là polysaccharide chiết xuất từ rong lục chi *Ulva* và *Enteromorpha*. Ở Việt Nam, polysaccharide chiết tách từ rong lục chi *Ulva* (tên Việt Nam là rong Cãi) đã được nghiên cứu và thu được kết quả tốt [2-4]. Rong lục *Enteromorpha* (tên Việt Nam là rong Bún) đã được đánh giá về trữ lượng, thành phần và điều kiện sinh thái [5] nhưng các nghiên cứu về polysaccharide từ chi rong này chưa nhiều. Ulvan có thể chiếm 8 - 29% trọng lượng rong khô, tùy thuộc vào loài rong, thời điểm thu hái, điều kiện sinh trưởng, quy trình xử lý và chiết tách [6]. Các nghiên cứu cho thấy ulvan có nhiều hoạt tính sinh học như chống oxy hóa, chống đông tụ máu, chống tăng lipid máu... phù hợp để ứng dụng vào các lĩnh vực dược phẩm và mỹ phẩm [7, 8].

Các nghiên cứu [9-11] đã chỉ ra rằng polysaccharide dạng ulvan từ rong lục chi *Enteromorpha* có cấu trúc phức tạp, thành phần đường chủ yếu là rhamnose, glucose, xylose, acid glucuronic, acid iduronic và nhóm sulfate. Trong bài báo trước [12] chúng tôi đã chiết tách và phân lập các polysaccharide từ rong lục *Enteromorpha intestinalis* thu thập ở biển Nha Trang. Bài báo này công bố kết quả nghiên cứu cấu trúc và hoạt tính sinh học của polysaccharide dạng ulvan từ loài rong này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Mẫu rong biển

Rong *Enteromorpha intestinalis* được thu ở Nha Trang tháng 3/2020 và định danh bởi TS. Võ Thành Trung (Viện Nghiên cứu và ứng dụng công nghệ Nha Trang). Tiêu bản rong kí hiệu E120 được lưu giữ ở Viện Hóa học. Mẫu rong biển sau khi thu thập được rửa sạch bằng nước rồi đem phơi khô trong bóng râm, sau đó nghiền thành bột.

2.2. Chiết tách polysaccharide từ rong

20g bột rong khô được xử lý với hỗn hợp MeOH-CHCl₃ để loại màu và chất béo, sau đó chiết với dung dịch HCl,

pH = 6 ở nhiệt độ 80°C trong 2 giờ, lọc lấy dung dịch. Bã rong được chiết lần 2 ở điều kiện như trên. Gộp dịch chiết trong 2 lần, cô quay giảm thể tích, ly tâm lấy dịch trong. Thêm cồn vào để tủa polysaccharide (Vcồn:Vdịch = 4:1). Ly tâm lấy tủa, rửa tủa nhiều lần bằng cồn thu được 1,96g polysaccharide. Polysaccharide tiếp tục được tách polysaccharide điện tích (P1) và trung hòa (P0) bằng cách tủa với cetavlon thu được 1,73g P1, dịch tủa với cồn thu được 0,23g P0, tương ứng hàm lượng là 8,65% và 1,15% theo trọng lượng rong khô [12].

2.3. Phân tích thành phần hóa học

Thành phần đường trung tính: Xác định theo phương pháp của Billan và cộng sự [13]. Dẫn xuất alditol acetate được điều chế bằng cách thủy phân fucoidan với CF₃COOH (TFA) 2M trong 8h ở 100°C, sau đó phân tích trên máy sắc ký GC-FID.

Hàm lượng sulfate: Xác định bằng phương pháp đo độ đục [14].

Hàm lượng acid uronic: Xác định bằng phương pháp carbazol [15]

2.4. Sắc kí thẩm thấu gel GPC

GPC đo trên máy HPLC Agilent 1100 với pha động là NaNO₃ 0,1N, sử dụng detector RI và pullulan làm chất chuẩn.

2.5. Phổ IR

Phổ IR được đo trên máy FT-IR Affinity-1S SHIMADZU.

2.6. Phổ NMR

Phổ NMR đo trên máy Bruker AVANCE III 500MHz với dung môi D₂O ở nhiệt độ 70°C, sử dụng DSS làm chất chuẩn nội với kỹ thuật đo khử tín hiệu của nước.

2.7. Hoạt tính gây độc tế bào

Đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 3 dòng tế bào ung thư của người bao gồm HepG2 (ung thư gan), MCF7 (ung thư vú), và Hela (ung thư cổ tử cung) được thực hiện theo phương pháp của Skekan và CS [16]. Phần trăm ức chế sự phát triển của tế bào khi có mặt chất thử sẽ được xác định thông qua công thức sau:

$$\% \text{ Ức chế} = 100\% - \frac{\text{OD (chất thử)} - \text{OD (ngày 0)}}{\text{OD (đối chứng âm)} - \text{OD (ngày 0)}}$$

Phép thử được lặp lại 3 lần để đảm bảo tính chính xác. Ellipticine được sử dụng là chất đối chứng dương và DMSO được sử dụng như đối chứng âm. Giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50% sự phát triển) sẽ được xác định nhờ vào phần mềm máy tính TableCurve.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân tích thành phần hóa học (bảng 1) cho thấy mẫu polysaccharide điện tích P1 tách từ rong lục *E.intestinalis* gồm chủ yếu là rhamnose, acid uronic, nhóm sulfate ngoài ra còn có lượng nhỏ xylose và glucose. Kết quả phân tích chứng tỏ polysaccharide điện tích P1 là polysaccharide dạng ulvan. Mẫu P1 có hàm lượng sulfate là tương đương, hàm lượng uronic acid tương đối cao so với ulvan tách từ các loài rong lục thuộc chi *Ulva* [3, 17, 18].

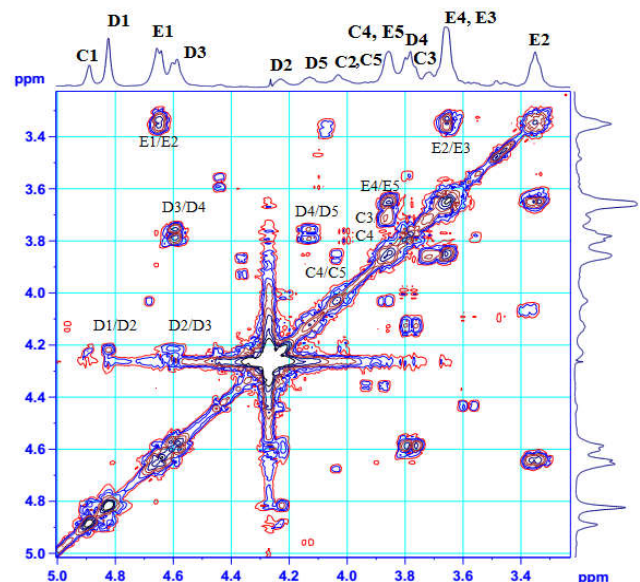
Bảng 1. Thành phần hóa học của P1

Thành phần monosaccharide (% mol)			SO ₃ Na (%w)	Uronic acid (%w)
Rhamnose	Xylose	Glucose	17,6	24,5
1	0,04	0,03		

Kết quả đo GPC cho thấy P1 có độ đa phân tán cao thể hiện qua sự phân bố trọng lượng phân tử Mw/Mn là 2,01; trọng lượng phân tử trung bình Mw là 210×10³g/mol.

Trên phổ IR của P1 có tín hiệu dao động ở 846cm⁻¹ và 788cm⁻¹ được gán cho dao động của liên kết C-O-S. Tín hiệu ở 1028cm⁻¹ với cường độ mạnh đặc trưng cho dao động của liên kết glycoside C-O-C. Dải hấp thụ ở 1622cm⁻¹ là do dao động của liên kết COO⁻ và liên kết C=O trong nhóm COOH thể hiện sự có mặt của uronic acid trong ulvan.

Phân tích phổ ¹H-NMR, chúng tôi kí hiệu C, D, E là các cụm peak tương ứng với 3 tín hiệu của proton anomer C1, D1, E1 ở 4,89; 4,82 và 4,64ppm. Trên phổ, xuất hiện tín hiệu ở vùng trường cao tại 1,3ppm được gán cho proton gắn với C-6 ứng với nhóm CH₃ của rhamnose và các tín hiệu ở vùng 3,4 - 4,3ppm là các proton của vòng pyranose. Phân tích các tín hiệu cộng hưởng trên phổ ¹³C-NMR cho thấy, các tín hiệu cộng hưởng ở vùng trường thấp ứng với độ chuyển dịch hóa học khoảng 100 - 103ppm là đặc trưng cho các carbon anomer, các carbon còn lại trong vòng ở vùng 69 - 80ppm. Tín hiệu ở vùng trường cao (17 - 20ppm) đặc trưng cho nhóm C-CH₃ và tín hiệu tại 177,24ppm chứng tỏ sự có mặt của uronic acid trong phân tử ulvan.

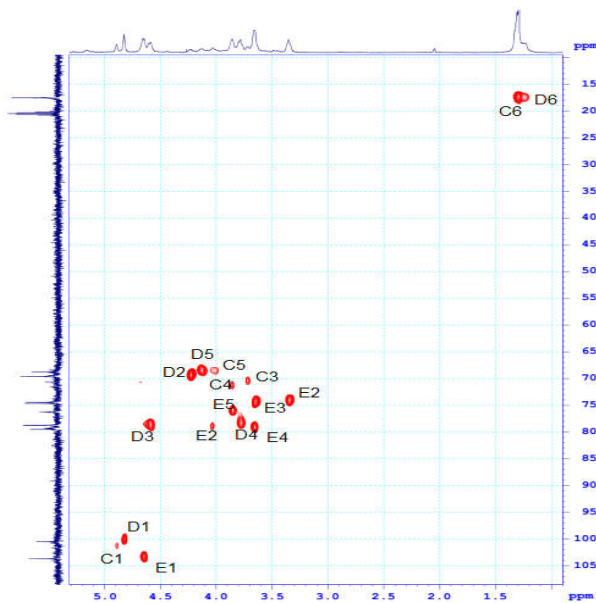


Hình 1. Phổ COSY của P1

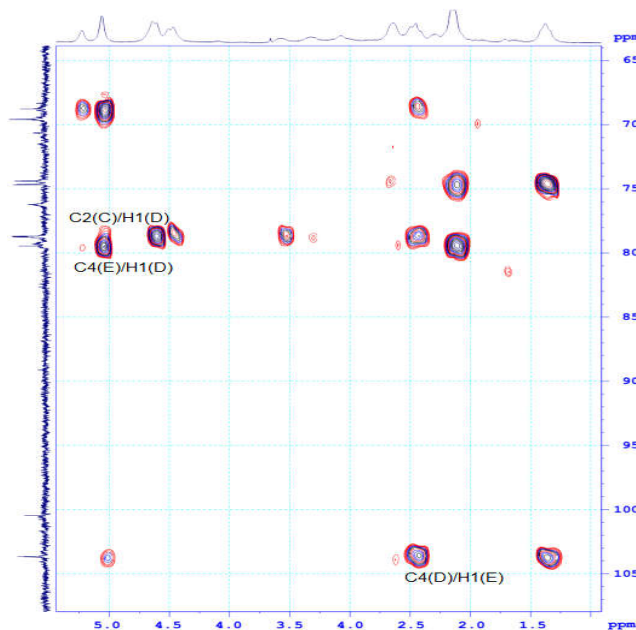
Các proton từ H-1 đến H-6 của C được xác định dựa vào các tín hiệu trên phổ COSY (hình 1), từ đây các carbon từ C-1 đến C-6 cũng lần lượt được gán dựa vào phổ HSQC (hình 2). Trên phổ HSQC, từ tín hiệu của proton anomer H-1(C) có độ dịch chuyển hóa học ở 4,89ppm sẽ xác định được carbon anomer C-1(A) tương ứng với độ chuyển dịch

hóa học ở khoảng 101,5ppm, độ dịch chuyển hóa học của H-1(C) đặc trưng cho H α anomer. Tương tự như vậy, từ vị trí tín hiệu cộng hưởng của các proton H-2 đến H-5 sẽ xác định được vị trí các tín hiệu carbon C-2 đến C-5, tương ứng. Tín hiệu của C-2 (79,31 ppm) bị đẩy về phía trường thấp chứng tỏ rằng liên kết glycoside của C có thể là (1 \rightarrow 2) và/hoặc nhóm sulfate ở vị trí C-2. Trên phổ HMBC (hình 3) thể hiện mối tương quan giữa H-1(C) và C-2(C). Vậy có thể kết luận C là \rightarrow 2) α -Rha. Đối với cụm D, tín hiệu của proton anomer H-1 trên phổ 1 H-NMR ứng với độ dịch chuyển hóa học ở 4,82ppm, đây là giá trị cộng hưởng đặc trưng cho proton anomer H α . Điều này được khẳng định một lần nữa bằng việc phân tích phổ HSQC: carbon anomer C-1(D) ở 100,45ppm có liên hệ với proton H-1(B) tại 4,82ppm. Dựa vào tín hiệu của H-1(D), từ phổ COSY các tín hiệu tại của H-2, H-3, H-4 và H-5 của D; từ phổ HSQC sẽ xác định được các tín hiệu C-2, C-3, C-4 và C-5 của D. Mặt khác, tín hiệu của C-3 (78,77ppm) và C-4 (78,71ppm) đã bị đẩy về phía trường thấp chứng tỏ rằng liên kết glycoside ở D có thể là (1 \rightarrow 3,4) và/hoặc nhóm sulfate ở vị trí C-3 và C-4. Trên phổ HMBC (hình 3) thể hiện mối tương quan giữa H-1(D) và C-4(D). Vậy có thể kết luận D là \rightarrow 4) α -Rha3S.

Cụm E có tín hiệu tại 177,26ppm chứng tỏ E là thành phần uronic acid có trong ulvan. Tín hiệu carbon C-4 của acid uronic bị đẩy về phía trường thấp, chứng tỏ C-4 là carbon tham gia liên kết glycoside. Đối với E, tín hiệu cộng hưởng của proton anomer H-1 trên phổ 1 H-NMR nằm tại 4,64ppm là điển hình cho H β . Các nghiên cứu trước [3, 19, 20] đã chứng minh rằng, ulvan có thành phần chính là α -rhamnose, β - acid glucuronic và β - acid iduronic, do đó E được đề xuất là β (1 \rightarrow 4)- acid glucuronic. Chuỗi liên kết glycoside trong mạch polymer của phân tử ulvan được suy ra từ việc phân tích phổ HMBC (hình 3), trên phổ HMBC thể hiện tương tác giữa H-1(D) và C-4(E), H-1(E) và C-4(D), H-1(D) và C-2(C).



Hình 2. Phổ HSQC của P1



Hình 3. Phổ HMBC của P1

Từ kết quả phân tích phổ NMR ở trên, có thể kết luận rằng phân tử ulvan P1 từ rong lục *Enteromorpha intestinalis* được cấu thành bởi disaccharide tạo thành chuỗi có dạng A $_3$ S \rightarrow 4) β -D-Glucuronic acid (1 \rightarrow 4) α -L-Rhamnose-3-sulfate (1 \rightarrow , phân nhánh ở C-2 của rhamnose. Kết quả phân tích phổ NMR của P1 được đưa ra trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả phân tích phổ NMR của P1

	C-1/ H-1	C-2/ H-2	C-3/ H-3	C-4/ H-4	C-5/ H-5	C-6/ H-6
C	101,50/	79,31/	70,67/	71,60/	68,78/	17,53/
\rightarrow 2 Rha	4,89	4,03	3,72	3,86	4,03	1,26
D	100,45/	69,60/	78,77/	78,71/	68,65/	20,29/
\rightarrow 4 Rha	4,82	4,23	4,61	3,78	4,13	1,30
E	103,69/	74,41/	74,67/	79,49/	76,25/	177,24
\rightarrow 4GluA	4,64	3,35	3,66	3,68	3,86	

Bảng 3. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào của P1

Mẫu	Nồng độ (μ g/ml)	% ức chế tế bào sống		
		HepG2	Hela	MCF-7
P1	100	101,95	103,15	102,98
	20	38,48	35,10	40,06
	4	21,26	21,95	32,73
	0,8	14,24	12,39	13,18
	IC $_{50}$	31,81 \pm 2,87	34,68 \pm 3,84	26,45 \pm 1,36
Ellipticine	10	98,67	96,69	94,07
	2	70,86	78,13	71,14
	0,4	50,58	51,11	51,42
	0,08	18,41	27,87	23,08
	IC $_{50}$	0,50 \pm 0,02	0,34 \pm 0,02	0,45 \pm 0,01

Mẫu ulvan P1 được đánh giá hoạt tính gây độc tế bào trên 3 dòng tế bào ung thư của người bao gồm HepG2 (ung thư gan), MCF7 (ung thư vú), và Hela (ung thư cổ tử cung). Kết quả đánh giá hoạt tính gây độc tế bào của ulvan P1 tại các nồng độ 0,8; 4; 20 và 100µg/ml với 3 dòng tế bào HepG2, MCF7 và Hela được đưa ra trên bảng 3. Kết quả nghiên cứu cho thấy ulvan P1 tách từ loài rong *Enteromorpha intestinalis* thể hiện hoạt tính gây độc tế bào rất tốt, khả năng ức chế tế bào sống sót tăng với sự tăng nồng độ của ulvan.

4. KẾT LUẬN

Polysaccharide mang điện tách chiết từ rong lục *Enteromorpha intestinalis* có dạng ulvan, cấu trúc hóa học của nó gồm mạch chính được cấu thành bởi disaccharide dạng A₃S: →4) β-D-Glucuronic acid (1→4) α-L-Rhamnose-3-sulfate (1→, rhamnose ở mạch nhánh liên kết với mạch chính tại vị trí C-2 của rhamnose. Kết quả cho thấy ulvan từ loài rong này thể hiện hoạt tính gây độc tế bào rất tốt trên 3 dòng tế bào thử nghiệm là HepG2, Hela và MCF-7.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam trong đề tài mã số NCVCC06.15/21-21. Các tác giả trân trọng cảm ơn TS. Võ Thành Trung đã giúp định danh rong.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Lingchong Wang, Xiangyu Wang, Hao Wu, Rui Liu, 2014. *Overview on Biological Activities and Molecular Characteristics of Sulfated Polysaccharides from Marine Green Algae in Recent Years*. Mar. Drugs. 12, 4984-5020.
- [2]. Quach Thi Minh Thu, Truong Hai Bang, Nguyen Thi Nu, Dang Vu Luong, Bui Minh Ly, Tran Thi Thanh Van, Thanh Thi Thu Thuy, 2015. *Structural Determination of Ulvan from Green Seaweed Ulva reticulata Collected at Central Coast of Vietnam*. Chemistry Letters. 44(6), 788-790
- [3]. Thi Thu Thuy Thanh, Thi Minh Thu Quach, Thi Nu Nguyen, Dang Vu Luong, Bui Minh Ly, Thi Thanh Van Tran, 2016. *Structure and cytotoxic activity of ulvan extracted from green seaweed Ulva lactuca*. International Journal of Biological Macromolecules. 93, 695-703.
- [4]. Thi Thanh Van Tran, Hai Bang Truong, Nguyen Ha Vy Tran, Thi Minh Thu Quach, Thi Nu Nguyen, Yoshiaki Yuguchi, Thi Thu Thuy Thanh, 2018. *Structure, conformation in aqueous solution and antimicrobial activity of ulvan extracted from green seaweed Ulva reticulata*. Natural Product Research. 32(19), 2291-2296
- [5]. Nguyen Van Tu, Luong Duc Thien, 2015. *Ecological characteristics and distribution of Ulva intestinalis in Can Gio, Ho Chi Minh City*. In 6th National conference on ecology and biological resources.
- [6]. Marc Lahaye, Audrey Robic, 2007. *Structure and functional properties of Ulvan, a polysaccharide from green seaweeds*. Biomacromolecules. 8(6), 1765-1774.
- [7]. M. Aguilera-Morales, M. Casas-Valdez, S. Carrillo-Domínguez, B. González-Acosta, F. Pérez-Gil, 2005. *Chemical composition and microbiological assays of marine algae Enteromorpha spp. as a potential food source*. Journal of Food Composition and Analysis. 18(1), 79-88.

[8]. LA. Tziveleka, E. Ioannou, V. Roussis, 2019. *Ulvan, a bioactive marine sulphated polysaccharide as a key constituent of hybrid biomaterials: A review*. Carbohydrate Polymers. 218, 355-370.

[9]. L. S. Costa, G. P. Fidelis, S. L. Cordeiro, R. M. Oliveira, D. A. Sabry, R. B. G. Camara, Nobre L.T.D.B, Costa M.S.S.P., J. Almeida-Lima, E. H. C. Farias, 2010. *Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds*. Biomed. Pharmacother. 64, 21-28.

[10]. A. Alves, R A. Sousa, R. L.Reis, 2013. *A practical perspective on ulvan extracted from green algae*. J. Appl. Phycol. 25(2), 407-424.

[11]. R. Zhong, X. Wan, D. Wang, C. Zhao, D. Liu, L. Gao, M. Wang, C. Wu, S. M. Nabavid, M. Daglia, E. Capanoglu, J. Xiao, H. Cao, 2020. *Polysaccharides from Marine Enteromorpha: Structure and function*. Trends in Food Science & Technology. 99, 11-20.

[12]. Quach Thi Minh Thu, Dang Vu Luong, Do Thi Thanh Xuan, Nguyen Quang Tam, Ngo Van Quang, Tran Thi Thanh Van, Thanh Thi Thu Thuy, 2019. *Structural characterization of polysaccharide extracted from green seaweed Enteromorpha intestinalis*. Journal of Chemistry, 57(6E1, 2), 113-116.

[13]. M. I. Bilan, E. V. Vinogradova, A. S. Shashkov, A. I. Usov, 2007. *Structure of a highly pyruvylated galactan sulfate from the pacific green alga Codium jezoense (Bryopsidales, Chlorophyta)*. Carbohydrate Research. 342, 586-596.

[14]. K. S. Dodgson, 1961. *Determination of inorganic sulphate in studies on the enzymic and non-enzymic hydrolysis of carbohydrate and other sulphate esters*. Biochem J. 78, 312-319.

[15]. T. Bitter, H. M. Muir, 1962. *A Modified Uronic Acid Carbazole Reaction*. Anal Biochem. 4, 330-334.

[16]. P. Skehan, R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, JT. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, MR. Boyd, 1990. *New colorimetric cytotoxic assay for anticancer-drug screening*. Journal of the National Cancer Institute. 82(13), 1107-1112.

[17]. M. Lahaye, J. Jegou, A. Buleon, 1994. *Chemical characteristics of insoluble glucans from the cell-wall of the marine green alga Ulva lactuca (L.) Thuret*. Carbohydr. Res. 262, 115-125.

[18]. H. Yaich, H. Garna, S. Besbes, J. P. Barthélemy, M. Paquot, C. Blecker, H. Attia, 2014. *Impact of extraction procedures on the chemical, rheological and textural properties of ulvan from Ulva lactuca of Tunisia coast*. Food Hydrocolloids. 40, 53-63.

[19]. Lahaye Marc, Brunel Magali, Bonnin Estelle, 1997. *Fine chemical structure analysis of oligosaccharides produced by an ulvan-lyase degradation of the water-soluble cell-wall polysaccharides from Ulva sp. (Ulvales, Chlorophyta)*. Carbohydrate Research. 304, 325-333.

[20]. M. Lahaye and B. Ray, 1996. *Cell-wall polysaccharides from the marine green alga Ulva rigida (Ulvales, Chlorophyta) - NMR analysis of ulvan oligosaccharides*. Carbohydrate Research. 283, 161-173.

AUTHORS INFORMATION

Quach Thi Minh Thu¹, Hoang Truc Tâm², Le Thi Hong Nhung³, Dang Vu Luong¹, Ngo Van Quang¹, Ho Duc Cuong², Thanh Thi Thu Thuy¹

¹Vietnam Academy of Science and Technology

²Hanoi University of Science and Technology

³Hanoi University of Industry