NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC CỦA TINH DẦU CHIẾT XUẤT TỪ CÂY SẢ TRẮNG *CYMBOPOGON SP. (POACEAE)* TRỒNG TẠI CẦN THƠ

Hoàng Thị Biển, Lê Đoàn Minh Hân, Phan Văn Nhàn*, Nguyễn Ngọc Thể Trân, Thạch Trần Minh Uyên
Trường Đại học Y Dược Cần Thơ
**Email: phnvnhan97@gmail.com*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Sả là loại cây có nhiều tiềm năng. Nghiên cứu về Sả trắng trồng tại Cần Thơ sẽ góp phần nâng cao giá trị cây trồng.* ***Mục tiêu nghiên cứu:*** *Xác định tên khoa học; khảo sát điều kiện cất tinh dầu tối ưu; xác định thành phần của tinh dầu.* ***Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:*** *Trên cây Sả trắng trồng ở Cần Thơ, tên khoa học được xác định bằng cách giải trình tự DNA; tối ưu hóa điều kiện cất bằng phần mềm thông minh; phân tích thành phần tinh dầu bằng GC/MS.* ***Kết quả:*** *Tên khoa học: Cymbopogon citratus; điều kiện cất tinh dầu tối ưu của lá Sả:lá cắt đôi, sau thu hái 3 ngày, trong 1 giờ, tỉ lệ nước/dược liệu là 6:1 (ml/g), tốc độ 3mL/phút; với củ là xay dược liệu, ngay khi thu hái, trong 3 giờ, tỉ lệ nước/dược liệu là 5:1(mL /g), tốc độ 3 mL /phút; trong tinh dầu củ Sả có khoảng 21 chất, lá là 10 chất.* ***Kết luận:*** *Geranial và neral là thành phần chính trong tinh dầu củ và lá Sả.*

Từ khóa: *Cymbopogon citratus, tinh dầu, thành phần hóa học, chiết xuất, tối ưu hóa.*

ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITIONS OF *CYMBOPOGON CITRATUS* (POACEAE) ESSENTIAL OIL AT CAN THO

Hoang Thi Bien, Le Doan Minh Han, Phan Van Nhan*, Nguyen Ngoc The Tran, Thach Tran Minh Uyen
Can Tho University of Medicine and Pharmacy

Background: *Lemongrass has many potentials to exploit. The study of the white Lemongrass tree growing in Can Tho will contribute to improving the value of crops.* ***Objectives:*** *To determine the binomial nomenclature; To investigate the optimal essential oil distillation conditions; To determine the composition of the essential oil.* ***Materials and methods:*** *The binomial nomenclature was determined by DNA sequencing method. Intelligent softwares were applied for the optimization of extraction procedure. The chemical compositions of essential oil were analyzed by GC/MS.* ***Results:*** *The binomial nomenclature was Cymbopogon citratus; the optimal conditions for distillation of lemongrass were achieved; GC-MS analysis showed twenty-one compounds from sheaths and ten compounds from blades.* ***Conclusion:*** *Geranial and neral were two main constituents in essential oils from the leaves and stalks of Cymbopogon citratus.*

Keywords: *Cymbopogon citratus, essential oils, chemical compositions, extraction, optimization.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sả là một loại gia vị đồng thời còn được dùng như một vị thuốc quen thuộc trong cuộc sống người Việt Nam. Trong tinh dầu Sả có các thành phần dùng trong công nghiệp chất thơm, làm nước hoa và xà phòng như citronelal, geraniol hoặc như citral được dùng làm nguyên liệu tổng hợp vitamin A [1], [2]. Hiện nay có khá nhiều các nghiên cứu về hoạt tính sinh học của tinh dầu được chiết xuất từ các loài sả. Các nghiên cứu cho thấy những hoạt tính sinh học đáng chú ý như diệt ký sinh trùng, kháng viêm, chống ung thư

[5], [6], [8], [9]. Từ đó có thể thấy rằng cây sả có nhiều công dụng và tiềm năng để khai thác. Vì thế, nghiên cứu này đã được thực hiện với các mục tiêu:

(1). Xác định được tên khoa học của cây Sả trắng mọc tại Cần Thơ.

(2). Chọn được điều kiện chiết xuất phù hợp để thu tinh dầu từ cây Sả trắng.

(3). Xác định được thành phần và hàm lượng của một số thành phần có trong mẫu tinh dầu từ cây Sả trắng thu được.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu: Là bộ phận trên mặt đất bao gồm lá và củ của cây Sả trắng. Mẫu được thu hái tại khu dân cư Ngân Thuận, quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định tên khoa học của cây Sả trắng.

DNA của mẫu lá được ly trích theo phương pháp Cetryl Ammonium Bromide (CTAB) [4]. Độ tinh sạch của DNA được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%. Thực hiện phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) và điện di sản phẩm, rồi tinh chế bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Clean-up System (Promega), sau đó được gửi đi giải trình tự bằng phương pháp Sanger [7]. Trọng lượng phân tử được tính toán bằng phần mềm GelAnalyzer. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm BioEdit phiên bản cập nhật mới nhất 7.0.5 [10]. Sau đó, nhận diện loài bằng phương pháp Basic Local Alignment Search Tool trên hệ thống ngân hàng gene National Center for Biotechnology Information (NCBI).

2.2.2. Phương pháp khảo sát điều kiện chiết xuất tinh dầu Sả chanh

Hóa chất: Natribicacbonat, ethanol, nước cất.

Trang thiết bị: Bộ chưng cất tinh dầu nhẹ hơn nước Clevenger, cân phân tích KERN ABT, cân kỹ thuật, bếp đun.

Phần mềm chuyên dụng: Design-Expert v6.06 (Stat-Ease, Inc): thiết kế mô hình thực nghiệm; BCPharsoft (ĐHYD TP. HCM): phân tích mối quan hệ nhân-quả, tối ưu hóa quy trình.

Thiết kế mô hình chưng cất tinh dầu

Sử dụng phương pháp chưng cất lôi cuốn hơi nước để chiết xuất tinh dầu. Quy trình chiết xuất tinh dầu Sả chanh sẽ được khảo sát các thông số: x_1 (độ héo của dược liệu), x_2 (tỉ lệ nước/dược liệu (ml/g)), x_3(kích thước dược liệu), x_4(thời gian cất (giờ)), x_5(tốc độ cất(ml/phút)). Biến phụ thuộc: y (%) là phần trăm thể tích tinh dầu toàn phần (v/m).Ứng dụng phần mềm Design-Expert v6.06 với mô hình thực nghiệm Taguchi OA để thiết kế mô hình thí nghiệm gồm 16 công thức với bốn mức khảo sát được trình bày trong bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1. Các mức khảo sát của các thông số đối với củ Sả chanh

Mức	a	b	c	d
x_1	Tươi	Để 2 ngày	Để 4 ngày	Để 6 ngày
x_2	3:1	4:1	5:1	6:01
x_3	Xay	Cắt 0,2-0,3 cm	Cắt 3-4 cm, đập dập	Cắt 3-4 cm
x_4	1	2	3	4
x_5	3	5	7	9

Bảng 2. Các mức khảo sát của các thông số đối với lá Sả chanh

Mức	a	b	c	d
x_1	Tươi	Để 1 ngày	Để 2 ngày	Để 3 ngày
x_2	3:1	4:1	5:1	6:1
x_3	Xay	Cắt 4-5 cm	Cắt 8-10 cm	Cắt đôi
x_4	1	2	3	4
x_5	3	5	7	9

Phân tích mối quan hệ nhân-quả và tối ưu hoá các điều kiện chiết xuất

Phần mềm BCPharsoft được sử dụng để khảo sát mối liên quan nhân-quả và tìm điều kiện tối ưu. Sau đó tiến hành chưng cất ba mẫu dược liệu ứng với từng bộ phận theo điều kiện có được từ kết quả tối ưu và kết quả này sẽ được so sánh với kết quả dự đoán của phần mềm thông minh BCPharsoft.

2.2.3. Phương pháp xác định thành phần tinh dầu lá và củ Sả chanh

Phương pháp được sử dụng để xác định thành phần tinh dầu lá và củ Sả chanh là sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS).

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Định danh mẫu bằng phương pháp giải trình tự DNA được thực hiện tại Bộ môn Sinh di truyền – Đại học Cần Thơ. Chiết xuất được thực hiện tại phòng Sinh viên thuộc bộ môn Dược liệu – Thực vật dược – Dược cổ truyền. Phân tích GC-MS được thực hiện tại phòng Phân tích Trung tâm, Đại học Khoa học Tự nhiên, thành phố Hồ Chí Minh.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tên khoa học của cây Sả trắng mọc tại Cần Thơ

Kết quả BLAST với cơ sở dữ liệu trong NCBI cho thấy mẫu thử tương đồng 99% so với loài *Cymbopogon citratus* [3]. Như vậy tên khoa học của cây Sả trắng mọc tại Cần Thơ được xác định là *Cymbopogon citratus.*

3.2. Khảo sát điều kiện chiết tinh dầu Sả

Quy trình chiết xuất tinh dầu được thiết kế bởi phần mềm Design-Expert gồm 16 thí nghiệm, dữ liệu về kiểm nghiệm theo mô hình được thể hiện trong bảng 3 và 4. Dữ liệu này được dùng làm dữ liệu đầu vào cho phần mềm BCPharsoft để phân tích mối liên quan nhân-quả của các thông số đến lượng tinh dầu thu được từ củ và lá Sả.

Bảng 3. Dữ liệu thực nghiệm quy trình chiết xuất tinh dầu từ củ Sả

STT	x1	x2	x3	x4	x5	%y
1	củ để 4 ngày	4:1	xay	3	3	0,3309
2	củ tươi	6:1	xay	4	9	0,3146
3	củ để 6 ngày	3:1	xay	2	7	0,3108
4	củ để 6 ngày	6:1	cắt 0.2-0.3cm	3	5	0,2953
5	củ để 2 ngày	5:1	xay	1	5	0,2694
6	củ để 6 ngày	4:1	cắt 3-4cm, đập dập	1	9	0,2606
7	củ để 6 ngày	5:1	cắt 3-4cm	4	3	0,2839
8	củ để 4 ngày	6:1	cắt 3-4cm	1	7	0,2192

STT	x1	x2	x3	x4	x5	%y
9	củ tươi	5:1	cắt 3-4cm, đập dập	3	7	0,2919
10	củ tươi	4:1	cắt 3-4cm	2	5	0,2612
11	củ để 2 ngày	3:1	cắt 3-4cm	3	9	0,2675
12	củ để 2 ngày	6:1	cắt 3-4cm, đập dập	2	3	0,2562
13	củ tươi	3:1	cắt 0.2-0.3cm	1	3	0,2308
14	củ để 2 ngày	4:1	cắt 0.2-0.3cm	4	7	0,3129
15	củ để 4 ngày	3:1	cắt 3-4cm, đập dập	4	5	0,3196
16	củ để 4 ngày	5:1	cắt 0.2-0.3cm	2	9	0,2722

Nhận xét: Ở củ Sả, tỉ lệ phần trăm thể tích tinh dầu (y (%)) bị ảnh hưởng bởi các yếu tố: tỉ lệ giữa nước và dược liệu (x_2), độ chia nhỏ dược liệu (x_3), thời gian chưng cất (x_4).

Bảng 4. Dữ liệu thực nghiệm quy trình chiết xuất tinh dầu từ lá Sả

STT	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	%y
1	lá để 2 ngày	4:1	xay	3	3	0,3338
2	lá tươi	6:1	xay	4	9	0,3265
3	lá để 3 ngày	3:1	xay	2	7	0,3226
4	lá để 3 ngày	6:1	cắt đôi	3	5	0,3417
5	lá để 1 ngày	5:1	xay	1	5	0,2970
6	lá để 3 ngày	4:1	cắt 8-10 cm	1	9	0,3287
7	lá để 3 ngày	5:1	cắt 4-5 cm	4	3	0,3172
8	lá để 2 ngày	6:1	cắt 4-5 cm	1	7	0,3428
9	lá tươi	5:1	cắt 8-10 cm	3	7	0,3123
10	lá tươi	4:1	cắt 4-5 cm	2	5	0,3138
11	lá để 1 ngày	3:1	cắt 4-5 cm	3	9	0,3302
12	lá để 1 ngày	6:1	cắt 8-10 cm	2	3	0,3334
13	lá tươi	3:1	cắt đôi	1	3	0,2724
14	lá để 1 ngày	4:1	cắt đôi	4	7	0,3183
15	lá để 2 ngày	3:1	cắt 8-10 cm	4	5	0,3509
16	lá để 2 ngày	5:1	cắt đôi	2	9	0,3379

Với x_1: độ héo của dược liệu, x_2: tỉ lệ giữa nước và dược liệu, x_3: độ chia nhỏ dược liệu, x_4: thời gian chưng cất, x_5: tốc độ chưng cất, y (%): tỉ lệ phần trăm thể tích tinh dầu

Nhận xét: Ở lá Sả, tỉ lệ phần trăm thể tích tinh dầu (y (%)) bị ảnh hưởng bởi: độ héo của dược liệu (x_1), tỉ lệ giữa nước và dược liệu (x_2), thời gian chiết (x_4) và tốc độ chưng cất (x_5). Còn độ chia nhỏ dược liệu(x_3) theo kết quả khảo sát thì hầu như không ảnh hưởng đến lượng tinh dầu thu được.

Phần mềm BCPharsoft cho ra các điều kiện chưng cất tối ưu dự đoán:

Củ Sả:

- Độ héo: chưng cất ngay sau khi thu hái
- Tỉ lệ nước/dược liệu (v/m): 5:1
- Độ chia nhỏ dược liệu: xay

- Thời gian chưng cất: 3 giờ
- Tốc độ chưng cất: 3ml/phút.

Lá sả:

- Độ héo: sau khi thu hái 3 ngày
- Tỉ lệ nước/dược liệu (v/m): 6:1
- Độ chia nhỏ dược liệu: cắt đôi
- Thời gian chưng cất: 1 giờ
- Tốc độ chưng cất: 3ml/phút.

Điều kiện dự đoán sau khi được kiểm chứng bằng thực nghiệm đã cho kết quả: quy trình có tính lặp lại ($p > 0,05$) và các giá trị dự đoán bởi phần mềm BCPharsoft không khác nhau có ý nghĩa ($p > 0,05$).

3.3. Xác định thành phần hóa học của tinh dầu Sả chanh

Phân tích thành phần hóa học của tinh dầu Sả chanh bằng GC-MS, kết quả cho thấy tinh dầu củ Sả bao gồm 21 thành phần với 2 chất chính là geranial chiếm 49,16% và neral chiếm 26,00%; tinh dầu lá Sả bao gồm 10 thành phần, trong đó geranial chiếm 49,37% và neral chiếm 35,39% được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Thành phần hóa học của tinh dầu Sả Chanh chiết xuất ở điều kiện tối ưu

STT	Thành phần hóa học chính	Phần trăm khối lượng (%)	
		Củ Sả	Lá Sả
1	β-Myrcen	1,92	7,14
2	*trans*-β-Ocimen	0,81	-
3	1,3,6-Octatrien, 3,7-dimethyl	0,34	-
4	Linalool	0,42	0,36
5	6-Octenal, 7-methyl-3-methylen	1,01	1,02
6	Citronellal	0,26	-
7	Isoneral	1,19	1,69
8	Isogeranial	1,73	2,44
9	Neral	26,00	35,39
10	Geranial	49,16	49,37
11	2-Isopropenyl-5-methylhex-4-enal	0,47	0,75
12	X_1	-	0,84
13	2,6,10-Dodecatrienal, 3,7,11-trimethyl-, (E,E)	0,41	-
14	Geranyl acetat	0,36	0,99
15	Caryophyllen	0,50	-
16	X_2	0,19	-
17	Naphthalene,1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl	0,62	-
18	Selin-6-en-4*α*-ol	7,61	-
19	Selina-3,7(11)-dien	1,58	-
20	*α-Cadinol*	2,21	-
21	X_3	2,09	-
22	X_4	1,13	-

Ghi chú: X_1, X_2 ,X_3, X_4 là các cấu tử chưa định danh được.

Nhận xét: Geranial và neral đều là thành phần chính trong tinh dầu củ và lá Sả; với

hàm lượng trong củ lần lượt là 49,16% và 26,00%; lá Sả là 49,37% và 35,39%.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Tên khoa học của cây Sả trắng mọc tại Cần Thơ

Từ kết quả giải trình tự gen xác định được tên khoa học của Sả trắng là *Cymbopogon citratus*. Sả trắng có một số đặc điểm hình thái nổi bật như củ Sả (bẹ lá) màu trắng hoặc hơi xanh nhạt, các bẹ lá ôm lấy nhau từ dưới lên trên, dài từ 12 đến 25 cm, thường mọc thành bụi dày; lá rất dài có thể đến một mét, hơi rộng khoảng 15 mm, ráp ở cả hai mặt. Đặc điểm hình thái và kết quả xác định tên khoa học phù hợp với mô tả về loài này trong các tài liệu chuyên ngành [1], [2]. Xác định được tên khoa học của Sả trắng giúp cho việc khai thác, sử dụng nguồn nguyên liệu quen thuộc này được hiệu quả hơn.

4.2. Khảo sát điều kiện chiết tinh dầu Sả

Đối với củ Sả, kết quả khảo sát cho thấy khi độ chia nhỏ dược liệu (x_3) càng cao thì thể tích tinh dầu thu được sẽ càng cao. Độ héo của dược liệu (x_1) và tốc độ chưng cất (x_5) ảnh hưởng không đáng kể đến tỉ lệ phần trăm thể tích tinh dầu. Độ chia nhỏ dược liệu là yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến lượng tinh dầu thu được. Khi nguyên liệu càng được chia nhỏ thì thể tích tinh dầu thu được sẽ càng cao. Củ Sả (thực ra là các bẹ lá ốp lại với nhau) là bộ phận khá dày và cứng, được tạo thành bởi nhiều lớp tế bào, đặc biệt các tế bào bên ngoài có vách khá dày nên khi kích thước nguyên liệu nhỏ sẽ làm tăng khả năng tiếp xúc giữa tiểu phân dược liệu và nước giúp nước thẩm thấu vào trong tế bào dễ dàng hơn. Mặt khác, các tế bào chứa tinh dầu ở củ Sả nằm sâu bên trong nên khi xay nhỏ sẽ bị phá vỡ giúp phóng thích các thành phần tinh dầu ra bên ngoài một cách dễ dàng.

Khác với củ Sả, đối với lá Sả thì độ héo của dược liệu (x_1) có ảnh hưởng đến lượng tinh dầu thu được. Cụ thể, khi độ héo của lá Sả càng cao thì thể tích tinh dầu thu được sẽ càng cao. Khi lá Sả càng héo thì việc thẩm thấu của nước vào trong các tế bào sẽ nhanh và tốt hơn đồng thời vách tế bào dễ bị phá hủy giúp việc chiết xuất dễ dàng hơn. Tuy nhiên, nếu để càng lâu thì sự thất thoát tinh dầu do bay hơi sẽ càng nhiều nên việc lựa chọn thời gian để héo phù hợp là điều phải lưu ý khi chiết xuất tinh dầu lá Sả.

Thông số tỉ lệ giữa nước và dược liệu (x_2) và thời gian chưng cất (x_4) ảnh hưởng đến lượng tinh dầu thu được ở lá Sả cũng tương tự như ở củ Sả. Cụ thể, tỉ lệ giữa nước và dược liệu càng cao thì lượng tinh dầu thu được cũng tăng. Còn với thời gian chưng cất,ban đầu khi thời gian chưng cất tăng thì lượng tinh dầu thu được cũng sẽ tăng, nhưng sau đó thời gian càng dài thì lượng tinh dầu thu được sẽ càng thấp.

Điều kiện chiết xuất tối ưu tinh dầu từ lá Sả xác định thời gian chiết xuất là 01 giờ. Kết quả này khác với thời gian chiết xuất được lựa chọn trong các bài nghiên cứu về tinh dầu từ lá Sả (03 giờ) [5]. Điều này cho thấy ứng dụng tích cực của việc ứng dụng phần mềm tối ưu hóa giúp việc chiết xuất được hiệu quả hơn.

4.3. Xác định thành phần hóa học của tinh dầu Sả chanh

Các hợp chất xác định được trong mẫu tinh dầu Sả chanh ở Cần Thơ nhìn chung khá tương đồng với kết quả của các nghiên cứu thực hiện trên thế giới [5]. Tuy nhiên, hàm lượng của các chất giữa các nghiên cứu có sự chênh lệch, nguyên nhân có thể là do sự khác biệt về điều kiện khí hậu, đất đai, lượng nước mưa giữa các vùng địa lý, ngoài ra còn có sự khác biệt về thời điểm thu hái, phương pháp chiết xuất tinh dầu,…. Việc có được thông tin

về thành phần của tinh dầu Sả giúp người sản xuất có thể chuẩn hóa sản phẩm của cơ sở còn người sử dụng có thể lựa chọn nguồn tinh dầu Sả phù hợp với nhu cầu của mình.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được tên khoa học của cây Sả trắng mọc tại Cần Thơ là *Cymbopogon citratus* – họ Poaceae. Nghiên cứu đã tìm được điều kiện tối ưu để chiết tinh dầu củ và lá Sả trong điều kiện thí nghiệm. Tại điều kiện chiết tối ưu, tỉ lệ phần trăm thể tích tinh dầu ở củ là 0,323% và ở lá là 0,350%. Thành phần hóa học của tinh dầu củ Sả bao gồm 21 thành phần với 2 chất chính là geranial chiếm 49,16% và neral chiếm 26,00%; tinh dầu lá Sả bao gồm 10 thành phần, trong đó geranial chiếm 49,37% và neral chiếm 35,39%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2007), *Cây có vị thuốc ở Việt Nam*, NXBTrẻ, Tp. HCM, tr.647.
2. Đỗ Tất Lợi (2000), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Y học, Hà Nội, tr.850-854.
3. Bhatt, P.P. and Thaker, V.S. Barcode sequences of *Cymbopogon citratus*. Submitted (19OCT2018):https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MK074716.1?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=2&RID=7B1JZ61X01R (Thời gian truy cập: 10 giờ 40, ngày 21 tháng 3 năm 2020).
4. Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990), *Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus*, 12, pp.13-15.
5. Kpoviessi S. *et al*. (2014), Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin, *J. Ethnopharmacol*, 151, pp.653-659.
6. Puatanachokchaia R *et al.* (2002), Inhibitory effects of lemon grass (*Cymbopogon citratus*, Stapf) extract on the early phase of hepatocarcinogenesis after initiation with diethylnitrosamine in male Fischer 344 rats, *Cancer Lett*, 183, pp.9-15.
7. Sanger *et al.* (1977), DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proc. Natl Acad Sci USA*, 74 (12), pp.5463–5467.
8. Sharma PR *et al*. (2009), Anticancer activity of an essential oil from *Cymbopogon flexuosus*, *Chem BiolInteract*, 179(1), pp.60-68.
9. Singh B *et al.* (2011), Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*Stapf. (Lemongrass), *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 2 (1), pp.3-4.
10. Thomas A. Hall, T.A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, pp.95-98.

(Ngày nhận bài: 12/7/2020 - Ngày duyệt đăng: 29/09/2020)