

**ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC CÔNG NGHỆ**

HUỲNH THỊ THUY LINH

**NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN THIẾT BỊ CHẨN ĐOÁN
TẠI CHỖ BỆNH ĐÓM TRẮNG DO VI-RÚT
TRÊN TÔM NUÔI NƯỚC LỢ**

**Chuyên ngành: Kỹ thuật điện tử
Mã số: 9520203**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ CÔNG NGHỆ KỸ THUẬT
ĐIỆN TỬ - VIỄN THÔNG**

Hà Nội – 2026

Công trình được hoàn thành tại: Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học: 1. GS.TS. Chử Đức Trình
2. PGS.TS. Cao Việt Hùng

Phản biện: GS. TS. Nguyễn Thanh Tùng, Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện: PGS. TS. Hoàng Thị Mỹ Nhung, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN

Phản biện: TS. Nguyễn Thái Hà, ĐH Bách Khoa Hà Nội

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng cấp Đại học Quốc gia chấm luận án tiến sĩ họp tại
vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam.
- Trung tâm Thông tin - Thư viện, Đại học Quốc gia Hà Nội.

MỞ ĐẦU

1. Sự cần thiết của đề tài

Với giá trị thương mại cao và vai trò trọng yếu trong xuất khẩu thủy sản, nghề nuôi tôm đã trở thành ngành công nghiệp chiến lược đóng góp đáng kể cho an ninh lương thực, việc làm và tăng trưởng kinh tế của nhiều quốc gia ven biển. Tuy nhiên, bệnh đốm trắng do vi-rút WSSV (White Spot Syndrome Virus) vẫn là mối đe dọa lớn nhất đối với sự phát triển bền vững của ngành này. Vi-rút có khả năng lây lan cực nhanh, gây tỷ lệ chết 100% chỉ sau vài ngày, làm thiệt hại đáng kể cho nền kinh tế toàn cầu. Đáng lo ngại hơn, vi-rút không chỉ tồn tại trong môi trường nuôi mà còn lưu hành trong quần thể tự nhiên, luôn tiềm ẩn nguy cơ tái xâm nhập và bùng phát dịch diện rộng.

Tại Việt Nam, WSSV xuất hiện từ đầu thập niên 1990 và đã nhiều lần diễn ra trên diện rộng, gây thiệt hại nghiêm trọng cho ngành nuôi tôm. Tại thành phố Huế, nơi có hệ thống đầm phá Tam Giang – Cầu Hai lớn, bệnh đốm trắng thường xuyên tái phát ở các vùng nuôi trọng điểm như Phú Vang, Quảng Điền và Phong Điền, đe dọa nghiêm trọng đến sinh kế người dân.

Tình hình trên cho thấy bệnh đốm trắng do WSSV vẫn là mối đe dọa thường trực, đặc biệt trong bối cảnh biến đổi khí hậu và mật độ nuôi ngày càng tăng. Nguy cơ này không chỉ mang tính quốc gia mà còn có phạm vi khu vực, đòi hỏi các giải pháp phát hiện, giám sát chủ động và kiểm soát hiệu quả ngay tại hiện trường, nhằm bảo đảm sự phát triển bền vững của ngành nuôi tôm.

Các phương pháp phát hiện chủ yếu hiện nay của người nông dân thường quan sát lâm sàng hay xét nghiệm PCR tại các trung tâm xét nghiệm. Các phương pháp này vẫn chưa đáp ứng được yêu cầu thực

tiền của người nuôi. Các kỹ thuật này thường phát hiện muộn, hoặc phụ thuộc vào thiết bị hiện đại và kỹ thuật viên, nên không thể triển khai trực tiếp tại ao nuôi. Hậu quả là người nuôi thường không kịp thời phát hiện trong giai đoạn sớm của bệnh để tiến hành cách ly và xử lý kịp thời, khiến bệnh lan nhanh theo chuỗi cung ứng giống, thức ăn, nguồn nước, làm chi phí kiểm soát tăng cao, gia tăng rủi ro gián đoạn sản xuất và ảnh hưởng nghiêm trọng đến hiệu quả kinh tế của toàn chuỗi nuôi trồng.

Trong bối cảnh đó, thiết bị chẩn đoán tại chỗ dựa trên cảm biến điện hoá được xem là hướng phát triển tất yếu cho giám sát và kiểm soát dịch bệnh trong nuôi tôm. Công nghệ này cho phép phát hiện nhanh, chính xác, chi phí thấp và có thể vận hành trực tiếp tại hiện trường, giúp cung cấp tín hiệu cảnh báo cho người nuôi, qua đó giảm nguy cơ lây lan, hạn chế thiệt hại và duy trì ổn định sản xuất.

Xuất phát từ yêu cầu thực tiễn đó, luận án **“Nghiên cứu phát triển thiết bị chẩn đoán tại chỗ bệnh đốm trắng do vi-rút trên tôm nuôi nước lợ”** đặt mục tiêu làm chủ quy trình chức năng hoá điện cực, phát triển cảm biến điện hoá đặc hiệu với protein VP28 – chỉ dấu đặc trưng của vi-rút WSSV, đồng thời tích hợp hệ đo điện hoá di động nhằm hướng tới giám sát ngay tại ao nuôi.

2. Mục tiêu nghiên cứu

2.1. Mục tiêu chung

Phát triển cảm biến điện hoá có khả năng phát hiện nhanh, chính xác và đáng tin cậy bệnh đốm trắng do vi-rút WSSV trên tôm nuôi, đồng thời xây dựng hệ thống thiết bị chẩn đoán tại chỗ tích hợp đo, xử lý và hiển thị dữ liệu.

2.2. Mục tiêu cụ thể

- Nghiên cứu công nghệ cảm biến điện hoá Electrochemical Sensor ứng dụng trong thiết bị chẩn đoán tại chỗ.

- Xác định đầu thu sinh học đặc hiệu với WSSV và cơ chế nhận biết phù hợp.

- Xây dựng quy trình chức năng hóa bề mặt điện cực để cố định đầu thu sinh học.

- Phát triển hệ thống đo điện hóa, tích hợp phần mềm xử lý tín hiệu.

- Khảo sát độ nhạy, độ đặc hiệu, độ ổn định và giới hạn phát hiện của cảm biến điện hóa phát hiện WSSV.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

3.1. Đối tượng nghiên cứu

Cảm biến điện hóa phát hiện vi-rút gây bệnh đốm trắng WSSV trên tôm nuôi.

3.2. Phạm vi nghiên cứu

Thực nghiệm phát triển và đánh giá hiệu quả thiết bị cảm biến điện hóa phát hiện vi-rút gây bệnh đốm trắng WSSV trên mẫu chuẩn trong phòng thí nghiệm.

4. Phương pháp nghiên cứu

Luận án sử dụng phương pháp nghiên cứu liên ngành, kết hợp điện hoá, sinh học phân tử và kỹ thuật điện – điện tử để phát triển thiết bị phát hiện nhanh tại chỗ bệnh đốm trắng do vi-rút WSSV trên tôm nuôi, bao gồm Phương pháp lý thuyết dựa trên các cơ sở lý thuyết về điện hoá học và sinh học phân tử xây dựng quy trình chức năng hoá điện cực; Phương pháp thiết kế kỹ thuật, thiết lập hệ thống đo điện hoá di động không dây WPEMS (Wireless Portable Electrochemical Measurement System), cho phép đo, xử lý, truyền

và hiển thị tín hiệu điện hoá theo thời gian thực, lập trình Python phần mềm điều khiển; Phương pháp thực nghiệm tiến hành thí nghiệm chức năng hoá điện cực, đo đặc tín hiệu, xử lý, hiển thị dữ liệu, xây dựng mạch đo, lập trình điều khiển.

5. Các kết quả nghiên cứu thu được

Luận án đã phát triển thành công quy trình chức năng hoá điện cực và phát triển hệ thống đo điện hoá di động không dây phát hiện protein VP28 – chỉ dấu sinh học đặc trưng của vi-rút gây hội chứng đốm trắng WSSV trên tôm.

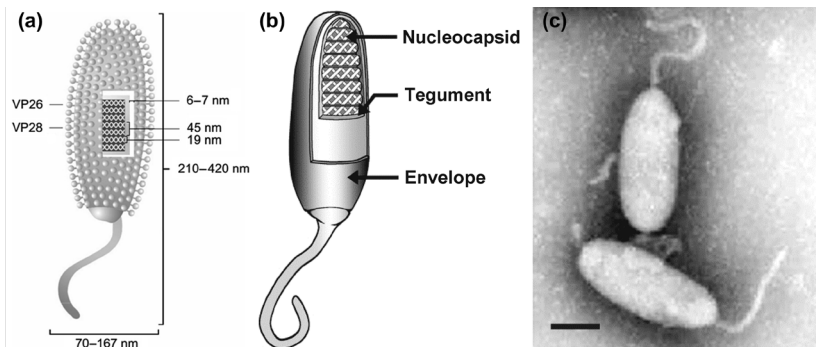
Các thí nghiệm đối chứng đã làm rõ vai trò trung gian quan trọng của đơn lớp tự lắp ráp SAM trong việc cố định kháng thể và tăng cường tính ổn định của bề mặt điện cực. Bên cạnh đó, quá trình phủ các hạt nano vàng AuNPs trên điện cực đã cải thiện đáng kể độ dẫn điện và diện tích bề mặt hoạt hoá, tạo điều kiện thuận lợi cho việc hình thành lớp SAM và gắn kháng thể anti-VP28. Cảm biến sau khi chức năng hoá cố định kháng thể cho thấy mối quan hệ tuyến tính giữa ΔR_{CT} và nồng độ VP28 với độ lặp lại và tính chọn lọc cao.

Hệ thống đo điện hoá di động được thiết kế và thiết lập hoàn chỉnh, ổn định, với cấu trúc nhỏ gọn, tích hợp các khối chức năng gồm mạch điều khiển tích hợp mạch đo điện hoá. Phần mềm điều khiển cho phép xử lý, hiển thị và lưu trữ dữ liệu, đồng thời trích xuất tự động các giá trị dòng đỉnh, điện thế đỉnh và nồng độ. Khi kết nối với cảm biến anti-VP28, hệ thống đo CV cho thấy mối tương quan tuyến tính mạnh giữa phần trăm biến thiên dòng điện đỉnh $\% \Delta I_{max}$ và nồng độ VP28 trong khoảng 5–25 ng/mL, với hệ số tương quan $R^2 = 0,994$ và giới hạn phát hiện $LOD = 2,38$ ng/mL.

6. Bố cục của luận án

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH TÔM ĐỐM TRẮNG DO VI-RÚT WSSV VÀ CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN

1.1. Bệnh tôm đốm trắng do vi-rút WSSV



Hình 1.1. Hình thái và cấu trúc vi-rút WSSV: (a) Hình thái tổng thể của vi-rút; (b) Cấu trúc cắt dọc minh họa các lớp của vi-rút; (c) Ảnh hiển vi điện tử TEM của vi-rút, thanh tỉ lệ = 100 nm.

Hình 1.1a và Hình 1.1c cho thấy cấu trúc của vi-rút WSSV có dạng elip, với một phần đuôi nhỏ kéo dài ở một đầu. Kích thước tổng thể của virion dao động trong khoảng 210–420 nm chiều dài và 70–167 nm đường kính. Về mặt cấu trúc, một virion hoàn chỉnh (Hình 1.1b) gồm ba thành phần chính: Lớp màng ngoài Envelope; Lớp trung gian Tegument; Lõi Nucleocapsid.

VP28 được xem là một trong những chỉ dấu đặc hiệu và đáng tin cậy nhất cho sự hiện diện của WSSV, đồng thời là protein chủ đạo trong việc phát hiện vi-rút. Các nghiên cứu cho thấy VP28 nằm ở bề mặt ngoài của màng bao, giúp dễ dàng tiếp cận trong các xét nghiệm phát hiện. Mức độ biểu hiện cao của VP28 ở các cá thể bị nhiễm bệnh đã tạo điều kiện thuận lợi cho việc phát triển các phương pháp phát hiện có độ nhạy cao, bao gồm các phản ứng miễn dịch và cảm biến sinh học. Do đó, kháng thể anti-VP28 đã được sử dụng làm đầu thu sinh học trong cảm biến miễn dịch điện hóa, cho phép phát hiện

WSSV ngay cả ở nồng độ rất thấp, góp phần chẩn đoán và kiểm soát sớm dịch bệnh trong môi trường nuôi trồng thủy sản.

1.2. Các phương pháp phát hiện WSSV hiện nay

Hiện nay, các phương pháp phát hiện WSSV được chia thành hai nhóm chính: chẩn đoán lâm sàng và chẩn đoán phòng thí nghiệm. Chẩn đoán lâm sàng dựa trên triệu chứng và bệnh tích quan sát được ở tôm bệnh, có ưu điểm là nhanh và chi phí thấp nhưng chỉ mang tính định hướng, không xác định chính xác tác nhân gây bệnh. Chẩn đoán phòng thí nghiệm cho phép phát hiện WSSV với độ chính xác cao thông qua các kỹ thuật hình thái học, mô bệnh học, cũng như các phương pháp sinh học phân tử và miễn dịch học.

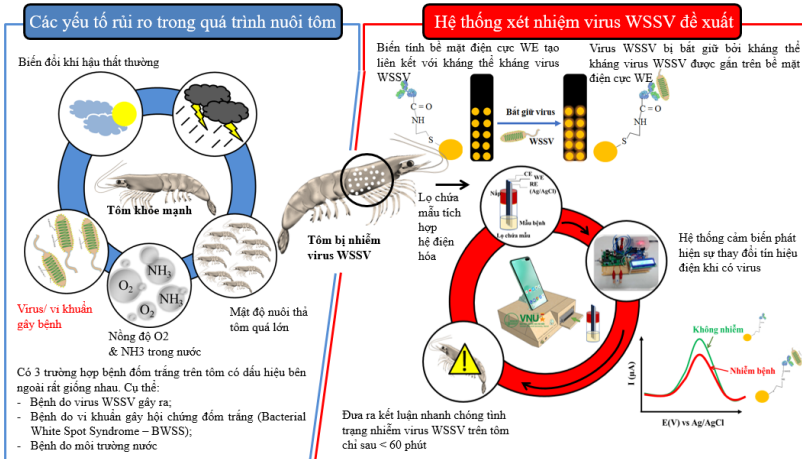
Tại Việt Nam, phương pháp PCR hiện được sử dụng làm tiêu chuẩn trong phát hiện WSSV. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi thiết bị hiện đại, nhân lực chuyên môn cao và khó triển khai tại hiện trường, gây khó khăn cho người nuôi tôm trong việc phát hiện và xử lý kịp thời khi dịch bệnh bùng phát.

1.3. Các nghiên cứu trong và ngoài nước về phát hiện WSSV

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về cảm biến phát hiện WSSV, các hướng tiếp cận hiện nay vẫn còn nhiều hạn chế. Các nghiên cứu quốc tế chủ yếu tập trung vào tối ưu hóa cấu trúc và quy trình chức năng hóa điện cực nhằm nâng cao độ nhạy, thường sử dụng các cơ chế miễn dịch nhiều bước và hệ đo thương mại đặt trong phòng thí nghiệm, thiếu tính di động và khó triển khai tại hiện trường.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu chủ yếu dừng ở mức phát hiện định tính bằng que thử nhanh, chưa hướng tới các giải pháp định lượng và hệ thống đo điện hóa tự động. Nhìn chung, vẫn thiếu các giải pháp chẩn đoán tại chỗ có khả năng phát hiện nhanh, nhạy và phù hợp với điều kiện thực tế của các trang trại nuôi tôm.

1.4. Đề xuất hệ thống thiết bị chẩn đoán tại chỗ bệnh đốm trắng do vi-rút WSSV

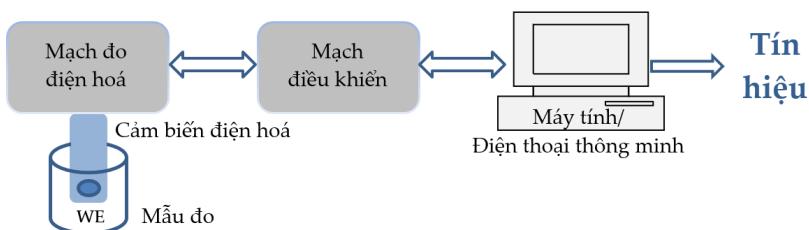


Hình 1.2. Minh họa Các yếu tố rủi ro trong quá trình nuôi tôm và Hệ thống chẩn đoán tại chỗ được đề xuất để phát hiện bệnh đốm trắng trên tôm nuôi.

Hình 1.2 trình bày tổng quan các yếu tố rủi ro trong quá trình nuôi tôm và hệ thống xét nghiệm chẩn đoán WSSV đề xuất. Phần bên trái thể hiện các yếu tố môi trường và sinh học có thể dẫn đến bùng phát dịch, như biến đổi khí hậu, mật độ nuôi cao, nồng độ O₂ và NH₃ bất thường, hay sự xâm nhập của vi khuẩn, vi-rút gây bệnh. Phần bên phải mô tả nguyên lý phát hiện virus WSSV bằng cảm biến điện hóa: kháng thể đặc hiệu anti-VP28 được gắn trên bề mặt điện cực, khi bắt giữ vi-rút sẽ tạo ra sự thay đổi đặc trưng trong tín hiệu điện hóa, cho phép xác định nhanh trạng thái nhiễm bệnh. Hệ thống thiết bị phát hiện sinh hóa tích hợp điện cực cảm biến này có khả năng định lượng nồng độ WSSV, rút ngắn thời gian xét nghiệm, đồng thời tối ưu độ nhạy và độ đặc hiệu nhờ bề mặt điện cực được chức năng hóa bằng kháng thể. Kết quả được hiển thị trực tiếp qua phần mềm điều khiển

và phần mềm di động kết nối không dây, giúp người dùng dễ dàng theo dõi và lưu trữ dữ liệu.

Hệ thống cảm biến sinh học điện hóa chẩn đoán WSSV được thiết kế dưới dạng thiết bị cầm tay di động, gồm ba khối chức năng chính được mô tả trong Hình 1.3. Thứ nhất là cảm biến điện hóa, trong đó bề mặt điện cực được chức năng hóa bằng kháng thể đặc hiệu anti-VP28, cho phép bắt cặp chọn lọc với protein VP28 – chỉ dấu sinh học đặc trưng của vi-rút WSSV. Thứ hai là mạch đo điện hóa, có nhiệm vụ chuyển đổi tương tác sinh học thành tín hiệu điện đo được (dòng, điện áp). Mạch điều khiển đảm nhận việc điều khiển quá trình đo, thu nhận và truyền tín hiệu đến hệ thống xử lý. Thứ ba là phần mềm điều khiển và hiển thị dữ liệu, được cài đặt trên máy tính hoặc thiết bị di động, cho phép giám sát và theo dõi kết quả theo thời gian thực thông qua ứng dụng (app) chuyên dụng.



Hình 1.3. Sơ đồ khối của hệ thống cảm biến sinh học điện hóa đề xuất.

Hệ thống hoạt động dựa trên nguyên lý sự thay đổi dòng điện, do trở kháng bề mặt thay đổi khi có tương tác vi-rút trong mẫu đo với kháng thể anti-VP28 trên bề mặt điện cực. Cường độ thay đổi tín hiệu điện hóa tương quan thuận với nồng độ WSSV trong mẫu, cho phép xác định định lượng nồng độ vi-rút. Công nghệ này có thể phát hiện WSSV ở nồng độ rất thấp, chỉ vài chục ng/mL, đáp ứng yêu cầu giám sát và phát hiện tại hiện trường.

Hệ thống chẩn đoán tại chỗ được đề xuất đơn giản hóa quy trình xét nghiệm, giảm chi phí vận hành, rút ngắn thời gian phân tích, và không yêu cầu thiết bị phòng thí nghiệm chuyên dụng. Thiết bị có thể được sử dụng trực tiếp tại trại nuôi, giúp người dân tự kiểm tra mẫu bệnh, theo dõi nguồn nước, và chủ động xử lý kịp thời.

Công nghệ lõi được phát triển thành công trong nghiên cứu này, cảm biến điện hóa tích hợp IoT, có thể tiếp tục được triển khai áp dụng nhằm hỗ trợ chẩn đoán các bệnh vi-rút khác trên thủy hải sản hoặc đối với các bệnh nguy hiểm khác, hướng tới xây dựng mạng lưới giám sát dịch bệnh tự động và thông minh trong nông nghiệp công nghệ cao.

CHƯƠNG 2. CƠ SỞ LÝ THUYẾT VÀ NGUYÊN LÝ PHÁT TRIỂN THIẾT BỊ ĐIỆN HOÁ PHÁT HIỆN WSSV

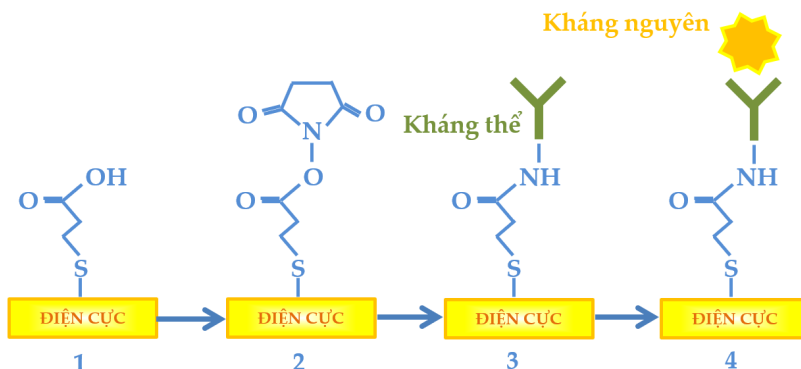
2.1. Chức năng hoá điện cực

Từ góc độ cấu trúc, một điện cực cảm biến sinh học điện hoá được chức năng hóa hoàn chỉnh gồm ba lớp chính, hình thành tuần tự từ nền dẫn điện ra ngoài:

- Lớp hạt nano (AuNPs): tăng diện tích bề mặt hoạt động, cải thiện khả năng dẫn truyền điện tích và cung cấp nhiều vị trí neo cho các phân tử liên kết.

- Lớp đơn tự lắp ráp SAM (Self-Assembled Monolayer): tạo cầu nối hóa học bền vững giữa bề mặt điện cực và đầu thu sinh học, đồng thời kiểm soát hướng cố định đầu thu sinh học và ngăn hấp phụ không đặc hiệu.

- Đầu thu sinh học: là lớp phân tử sinh học được cố định trên bề mặt điện cực (enzyme, aptamer, DNA hoặc kháng thể) để bắt giữ đặc hiệu các phân tử mục tiêu.



Hình 2.1. Chức năng hóa điện cực dựa trên cơ chế kháng thể - kháng nguyên.

Các lớp này phối hợp hài hòa, tạo nên nền tảng điện cực ổn định, nhạy và có tính chọn lọc cao, là tiền đề cho các phương pháp đo lường điện hóa. Hình 2.1 minh họa quy trình chức năng hóa điện cực vàng dựa trên cơ chế kháng thể - kháng nguyên, trong đó đầu thu sinh học là kháng thể được cố định trên bề mặt điện cực vàng thông qua lớp SAM. Quy trình gồm các bước: (1) hình thành đơn lớp tự lắp ráp SAM, (2) kích hoạt SAM, (3) cố định kháng thể, (4) bắt giữ kháng nguyên.

2.2. Bộ phận chuyển đổi tín hiệu

Bộ phận chuyển đổi trong cảm biến sinh học có nhiệm vụ biến đổi tương tác hóa sinh giữa chất phân tích và đầu thu sinh học thành tín hiệu đo được. Dựa trên cơ chế chuyển đổi, cảm biến sinh học được phân thành bốn nhóm chính: điện hóa, quang học, áp điện và nhiệt. Trong nghiên cứu này, cảm biến điện hóa được lựa chọn nhờ độ nhạy cao, kích thước nhỏ gọn và khả năng tích hợp di động.

2.3. Phương pháp điện hóa

Phương pháp điện hóa là kỹ thuật phân tích dựa trên mối quan hệ giữa dòng điện, điện thế và trở kháng tại bề mặt phân cách điện cực –

dung dịch điện ly, cho phép chuyển đổi trực tiếp các quá trình hóa-sinh thành tín hiệu điện. Trong cảm biến sinh học, tín hiệu điện hóa phản ánh sự thay đổi đặc tính bề mặt điện cực do quá trình chức năng hóa và các tương tác sinh học đặc hiệu. Trong luận án, các phương pháp EIS, CV và SWV được sử dụng nhằm khảo sát bề mặt điện cực, đánh giá động học truyền điện tích và thực hiện các phép đo định lượng.

2.4. Nguyên lý hệ thống đo lường điện hoá và ứng dụng xử lý, truyền/thu tín hiệu

Việc tích hợp cảm biến điện hóa với các nền tảng IoT và thiết bị di động đã mở ra hướng phát triển mới cho các hệ thống giám sát và chẩn đoán bệnh di động, thân thiện với người dùng. Ứng dụng công nghệ điện thoại thông minh kết hợp cảm biến điện hóa cho phép phân tích dữ liệu theo thời gian thực, giám sát từ xa và chia sẻ dữ liệu nhanh chóng, hỗ trợ chẩn đoán bệnh hoặc giám sát môi trường trong nuôi trồng thủy sản. Một hệ thống đo điện hóa hoàn chỉnh bao gồm ba khối chức năng chính: **(1) Phần tử nhận dạng sinh học: phát hiện đặc hiệu mục tiêu sinh học.** Phần tử nhận dạng sinh học là các cảm biến có bề mặt điện cực được chức năng hóa bằng đầu thu sinh học đặc hiệu, cho phép nhận biết và liên kết chọn lọc với mục tiêu. **(2) Mạch xử lý tín hiệu: chuyển đổi tín hiệu sinh học thành tín hiệu điện có thể đo được.** Mạch xử lý tín hiệu sử dụng các mô-đun đo điện hóa cho phép điều khiển các phép đo điện hóa. **(3) Hệ thống thu nhận và xử lý dữ liệu: chuyển đổi tín hiệu đo được thành tín hiệu đọc được, hiển thị kết quả và truyền dữ liệu.** Hệ thống thu nhận và xử lý dữ liệu bao gồm mạch điều khiển, phần mềm xử lý, và ứng dụng người dùng. Mạch điều khiển tích hợp thêm khả năng kết nối Wi-Fi để truyền và thu dữ liệu di động. Phần mềm xử lý

phục vụ việc thu nhận, xử lý và trực quan hóa tín hiệu điện hóa. Ứng dụng người dùng cho phép người dùng tương tác, giám sát và hiển thị dữ liệu trên thiết bị di động thông minh.

CHƯƠNG 3. THIẾT LẬP THỰC NGHIỆM HỆ THỐNG CẢM BIẾN ĐIỆN HOÁ PHÁT HIỆN BỆNH TÔM ĐÓM TRẮNG DO VI-RÚT WSSV

3.1. Khảo sát tốc độ quét và bước thế (E step) trong quét CV của điện cực vàng

Khảo sát quét 5 vòng CV điện cực SPAuE trần ở tốc độ quét 40 mV/s và 50 mV/s trong dải bước thế E-step từ 2 đến 15 mV. Kết quả cho thấy tốc độ quét 50 mV/s và bước thế 10 mV cho tín hiệu ổn định, tái lập tốt nhất và dòng đỉnh cao nhất do đó được chọn cho các phép đo điện hóa tiếp theo.

3.2. Xây dựng quy trình chức năng hoá điện cực

Quy trình biến tính bề mặt điện cực để phát hiện VP28 và kết nối điện cực cacbon SPCE (Screen-Printed Carbon Electrode) với hệ thống đo điện hóa được mô tả trong Hình 3.1. Quy trình gồm 5 bước như sau:

- Bước 1: Phủ các hạt nano vàng (AuNPs).

Bước đầu tiên của quy trình là phủ các hạt nano vàng (AuNPs) lên bề mặt điện cực bằng phương pháp quét CV. Dung dịch HAuCl₄ được pha trong đệm PBS 100 mM để đạt nồng độ 165 μ M, sau đó nhỏ 35 μ L dung dịch này phủ kín bề mặt hệ ba điện cực của SPCE. Quá trình điện phân được thực hiện bằng cách quét 20 vòng CV trong dải thế từ -0,6 V đến +0,5 V với tốc độ 50 mV/s.

Sau khi phủ, điện cực được rửa sạch. Quá trình mạ AuNPs được hoàn thiện bằng cách quét 7 vòng CV trong dải thế từ -0,2 V đến

+1,4 V với cùng tốc độ quét, trong 35 μL dung dịch H_2SO_4 1 M. Sau đó, điện cực được rửa sạch và ký hiệu là CE/AuNPs.

- Bước 2: Hình thành và hoạt hoá SAM MUA.

Ở bước thứ hai, điện cực CE/AuNPs được ủ qua đêm trong dung dịch MUA 5 mM pha trong ethanol để hình thành lớp đơn tự sắp xếp (SAM) trên bề mặt vàng thông qua liên kết Au-S giữa nhóm thiol (-SH) của MUA và các hạt nano vàng (AuNPs). Sau khi làm sạch, 2,7 μL hỗn hợp EDC/NHS (0,4 M/0,2 M) pha trong dung dịch PBS 1X được nhỏ lên bề mặt điện cực làm việc và giữ trong 30 phút để hoạt hóa các nhóm carboxyl (-COOH) trên SAM, tạo điều kiện cho liên kết cộng hoá trị với kháng thể ở bước tiếp theo. Điện cực sau bước này được làm sạch và ký hiệu là CE/AuNPs/activeSAM.

- Bước 3: Cố định kháng thể anti-VP28.

Ở bước thứ ba, 2,7 μL dung dịch kháng thể anti-VP28 có nồng độ 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$, pha trong dung dịch PBS 1X, được nhỏ lên bề mặt điện cực làm việc của CE/AuNPs/activeSAM và ủ trong 2 giờ ở 4 °C. Sau đó, điện cực được rửa sạch và ký hiệu là CE/AuNPs/activeSAM/anti-VP28. Tiếp theo, 2,7 μL dung dịch BSA 1% (pha trong PBS 1X) được nhỏ lên bề mặt điện cực làm việc và ủ trong 1 giờ ở 4 °C nhằm chặn các vị trí liên kết không đặc hiệu. Sau khi rửa sạch, điện cực được ký hiệu là CE/AuNPs/activeSAM/BSA/anti-VP28 và được bảo quản ở 4 °C cho bước phát hiện protein VP28. Trong điều kiện bảo quản ở 4 °C, các điện cực sau khi biến tính có thể được lưu giữ trong khoảng 2 tuần mà vẫn duy trì hoạt tính sinh học của lớp kháng thể.

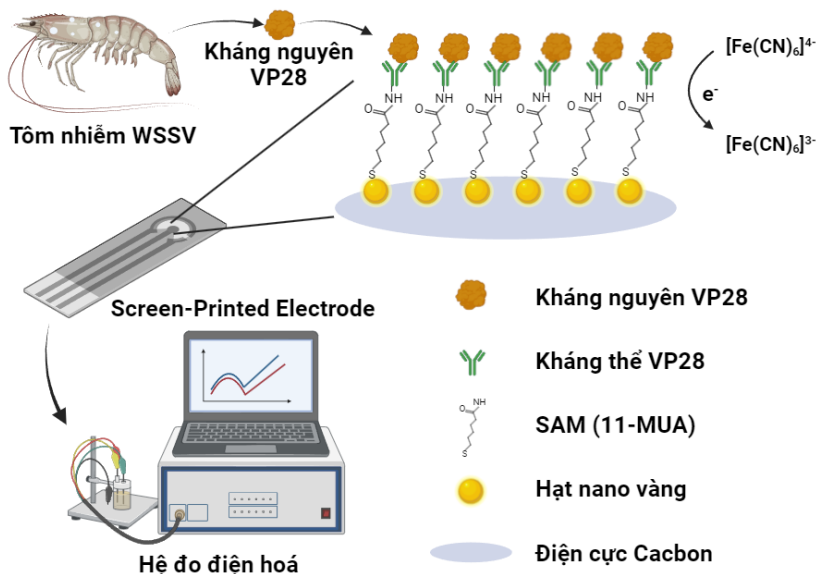
- Bước 4: Bắt giữ protein VP28.

Protein VP28 được pha loãng ở các nồng độ khác nhau trong PBS 1X, độ pH 7,4. Tiếp đến, 2,7 μL dung dịch protein VP28 được nhỏ lên bề mặt điện cực làm việc của CE/AuNPs/activeSAM/BSA/anti-

VP28 và ủ trong trong 1 giờ. Sau đó, điện cực được làm sạch để khảo sát đặc tính điện hoá.

- Bước 5: Khảo sát đặc tính điện hoá.

Đặc tính điện hóa của điện cực SPCE sau mỗi bước biến tính được khảo sát. Nhỏ 35 μL dung dịch điện ly bao phủ bề mặt của hệ 3 điện cực. Phép đo CV được thực hiện ở tốc độ quét 50 mV/s trong khoảng thế $-0,2$ đến $0,6$ V. Cường độ dòng đỉnh và thế đỉnh được trích xuất tự động bằng phần mềm CS Studio 6. Phổ tổng trở điện hóa EIS được đo trong khoảng 0,01 Hz đến 10^5 Hz với biên độ AC là 10 mV. Đồ thị Nyquist của phổ EIS được khớp với mạch tương đương Randles bằng phần mềm CS Studio 6 để tính điện trở truyền điện tích R_{CT} .



Hình 3.1. Sơ đồ quy trình đề xuất chức năng hoá cảm biến phát hiện VP28 và kết nối cảm biến với hệ đo điện hóa.

3.3. Thiết kế hệ thống đo điện hoá di động không dây WPEMS phát hiện bệnh tôm đốm trắng do vi-rút WSSV

Hệ thống cảm biến sinh học điện hóa tích hợp cảm biến sinh học và bộ chuyển đổi tín hiệu điện hóa thiết lập trong luận án này gồm 3 phần chính:

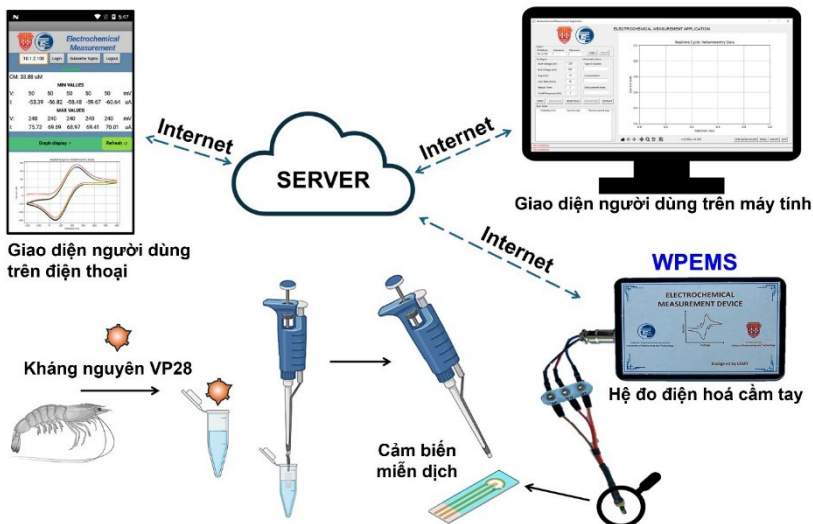
- (i) Phần tử nhận dạng sinh học phát hiện mục tiêu cần nhận dạng cụ thể: điện cực được chức năng hoá kháng thể anti-VP28, cho phép bắt giữ protein VP28.

- (ii) Hệ đo chuyển đổi tín hiệu sinh học thành tín hiệu điện có thể đo được: mạch đo điện hóa Potentiostat sử dụng module LMP91000.

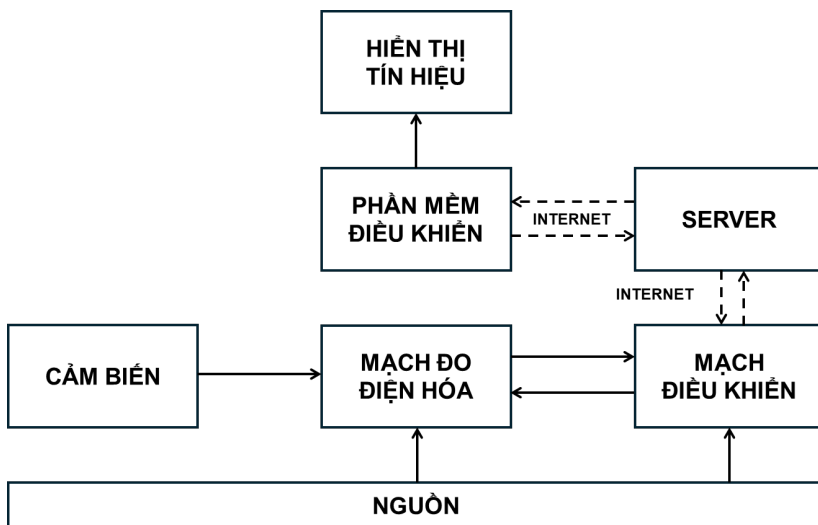
- (iii) Hệ thống xử lý tín hiệu chuyển đổi tín hiệu đo được thành tín hiệu có thể đọc được và hiển thị dữ liệu, tính toán các thông tin cần: Mạch điều khiển sử dụng ESP32 và phần mềm điều khiển được viết bằng ngôn ngữ Python được sử dụng cho mục đích xử lý tín hiệu và ứng dụng hiển thị.

Để cho phép giao tiếp không dây, hệ thống sử dụng giao thức truyền thông MQTT, tích hợp một máy chủ (Broker) để truyền, nhận các chủ đề (topics) và thông điệp (messages). Các topics và messages được xuất bản (published) và đăng ký (subscribed) bởi các Clients, bao gồm Phần mềm Điều khiển, Mạch điều khiển và Ứng dụng hiển thị. Ứng dụng hiển thị cài đặt trên điện thoại giúp người dùng giám sát và theo dõi từ xa được xây dựng trên MIT App Inventor.

Hệ thống đo lường điện hóa di động không dây WPEMS (Wireless Portable Electrochemical Measurement System) tích hợp cảm biến phát hiện VP28 được thể hiện tổng quát trên Hình 3.2.



Hình 3.2. Hệ thống đo lường điện hóa di động không dây WPEMS tích hợp cảm biến phát hiện VP28.



Hình 3.3. Sơ đồ khối hệ thống đo lường điện hóa di động không dây WPEMS tích hợp cảm biến phát hiện VP28.

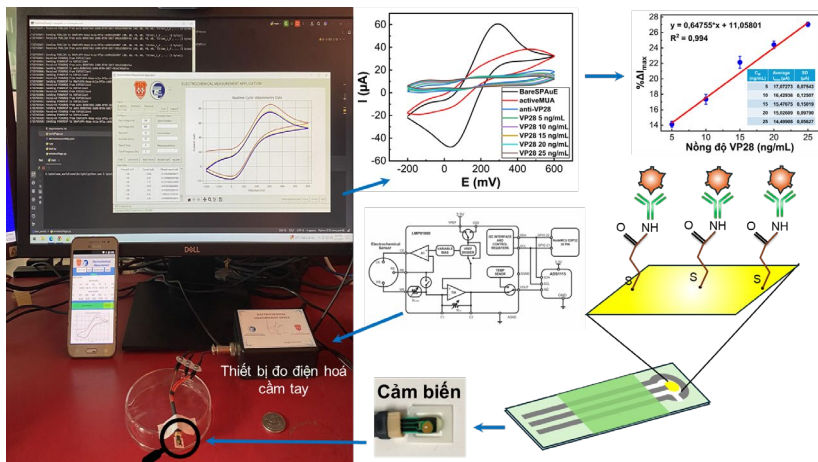
Sơ đồ khối của hệ thống đo lường điện hóa được thể hiện trên Hình 3.3. Hệ thống thu thập dữ liệu để chuyển đổi các tín hiệu đo được thành tín hiệu có thể đọc được và xuất ra thông tin cần thiết. Hệ thống bao gồm Mạch điều khiển và Phần mềm điều khiển được lập trình bằng ngôn ngữ lập trình Python cho xử lý và hiển thị tín hiệu trên máy tính chạy hệ điều hành Windows, điện thoại thông minh chạy hệ điều hành Android.

3.4. Đánh giá hệ thống

Hiệu suất quy trình và thiết bị đề xuất được đánh giá qua dải đo, độ nhạy, giới hạn phát hiện, độ lặp lại, độ ổn định và độ đặc hiệu.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

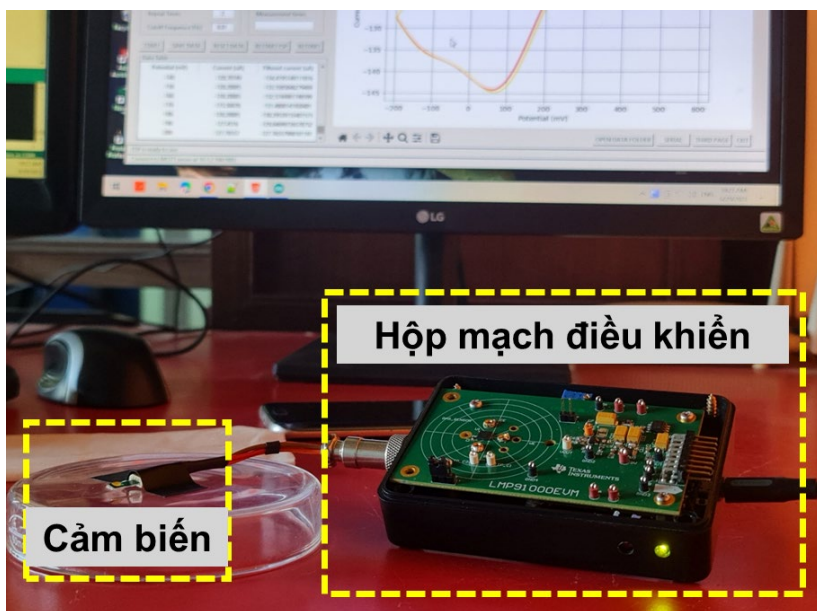
4.1. Kết quả thiết lập hệ thống



Hình 4.1. Kết quả thiết kế hệ thống.

Hệ thống đo tín hiệu sinh học điện hóa ứng dụng công nghệ IoT với 3 thành phần chính gồm một mạch điều khiển, phần mềm điều khiển và ứng dụng hiển thị. Mạch điều khiển được cấp nguồn 5 V, gồm mạch điều khiển ESP32 thu thập dữ liệu từ LMP91000 và

ADS1115 và gửi tín hiệu đến phần mềm điều khiển. Phần mềm điều khiển được lập trình bằng ngôn ngữ lập trình Python với giao diện người dùng thân thiện và dễ sử dụng để nhận tín hiệu, vẽ đồ thị trực quan hóa theo thời gian thực. Sau đó, phần mềm điều khiển sẽ xử lý và lọc nhiễu và vẽ lại đồ thị sau khi lọc, trích xuất các giá trị cần thiết bao gồm giá trị nhỏ nhất và lớn nhất của dòng điện, tính toán nồng độ và gửi đến ứng dụng hiển thị. Ứng dụng hiển thị trên điện thoại thông minh hệ điều hành Android với cách thức sử dụng đơn giản và tối giản hóa việc trực quan hóa dữ liệu như mô tả trên Hình 4.1. Các thành phần chính được cải tiến kết nối không dây bằng giao thức truyền thông MQTT.



Hình 4.2. Thiết bị đo điện hoá di động không dây WPEMS.

Thiết bị đo điện hoá di động không dây WPEMS trên thực tế chính là hệ mạch điều khiển hoàn thiện được mô tả trên Hình 4.2,

gồm ba khối chính: khối giao tiếp điện cực, mạch đo điện hoá, và vi điều khiển ESP32. Điện cực SPAuE sử dụng trong nghiên cứu này là hệ ba điện cực gồm điện cực làm việc (WE), điện cực so sánh (RE) và điện cực đối (CE). Trong mạch đo, LMP91000 đóng vai trò giao tiếp điện hoá, thiết lập và duy trì điện thế giữa WE và RE bằng cách điều khiển CE, đồng thời chuyển đổi dòng phản ứng tại WE thành điện áp đầu ra V_{out} thông qua bộ khuếch đại chuyển dòng–điện áp TIA. Tín hiệu V_{out} được số hoá bởi bộ chuyển đổi ADC 16-bit ADS1115 và truyền đến ESP32 qua giao tiếp I²C để xử lý và hiển thị. Hệ thống có thể thực hiện quét thế tuần hoàn (CV) qua kết nối không dây, với tốc độ truyền và độ chính xác tín hiệu tương đương với phép đo CV có dây. Thiết bị có kích thước tổng thể 100 mm × 70 mm × 38 mm (dài × rộng × cao), khối lượng 128 gram.

4.2. Kết quả khảo sát, đánh giá hệ thống

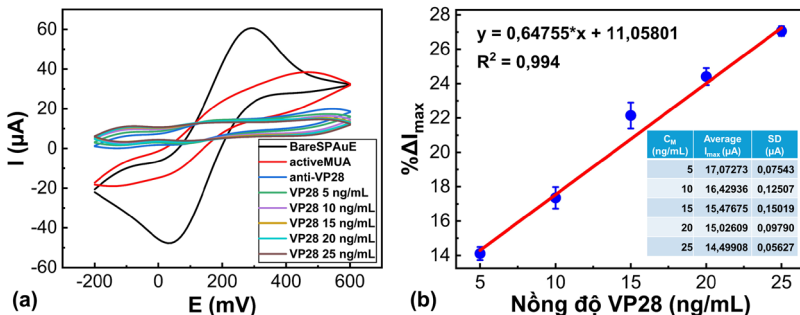
Điện cực vàng SPAuE (Screen-Printed Gold Electrode) được sử dụng để chức năng hoá cố định đầu thu sinh học kháng thể anti-VP28. Điện cực được chuẩn bị theo các bước từ bước 2 đến bước 5 đã trình bày ở mục 3.2.

Hình 4.3a cho thấy sự biến đổi của các đỉnh dòng trong các đồ thị CV, bao gồm sự thay đổi về hình dạng, vị trí và cường độ sau mỗi bước của quá trình sửa đổi bề mặt điện cực: hình thành đơn lớp tự lắp ráp và hoạt hoá SAM MUA (activeMUA), cố định kháng thể (anti-VP28) và bắt giữ protein mục tiêu (VP28) ở các nồng độ khác nhau. Điều này cho thấy sự hình thành các lớp vật liệu mới trên bề mặt điện cực. Đỉnh dòng điện giảm dần và trở nên rộng hơn tương quan với sự tăng của nồng độ VP28 từ 5 đến 25 ng/mL. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các kết quả của các nghiên cứu khi triển khai sử dụng các hệ thống đo thương mại.

Hình 4.3b thể hiện đường đặc trưng sử dụng phần trăm biến đổi trong dòng đỉnh $\% \Delta I_{max}$ làm hàm số của nồng độ protein VP28, được biểu diễn bởi phương trình sau:

$$\% \Delta I_{max} = 0,64755 \times C_M(\text{ng/mL}) + 11,05801$$

với hệ số R^2 là 0,994 và giới hạn phát hiện (LOD) là 2,38 ng/mL.



Hình 4.3. (a) Tín hiệu đo CV của quy trình chức năng hóa và phát hiện VP28 ở các nồng độ khác nhau; (b) Đường đặc tính sử dụng $\% \Delta I_{max}$ làm hàm của nồng độ protein VP28 (bảng chèn: mỗi thí nghiệm phát hiện VP28 được thực hiện bốn lần và lặp lại trên ba cảm biến khác nhau).

Mỗi thí nghiệm phát hiện VP28 được thực hiện bốn lần và lặp lại trên ba cảm biến khác nhau. Bảng chèn trên Hình 4.3b trình bày dữ liệu dưới dạng giá trị dòng điện cực đại trung bình \pm SD cho ba cảm biến này. Kết quả cho thấy giá trị dòng điện cực đại trung bình (I_{max}) giảm dần khi nồng độ kháng nguyên VP28 tăng từ 5 đến 25 ng/mL, thể hiện xu hướng đặc trưng của cơ chế cảm biến miễn dịch dựa trên cản trở truyền điện tích. Khi lượng protein VP28 tăng, các phức hợp kháng thể–kháng nguyên hình thành nhiều hơn, che phủ bề mặt điện cực, làm giảm diện tích hoạt động điện hoá và do đó dòng đỉnh giảm. Độ lệch chuẩn (SD) của các phép đo trong khoảng 0,056–0,151 μA , tương ứng hệ số biến thiên nhỏ (<1%), chứng tỏ độ lặp lại và độ tin cậy cao của cảm biến.

Để kiểm tra độ đặc hiệu, điện cực anti-VP28 được ủ trong dung dịch VP28 15 ng/mL có bổ sung protein NSE thu được tín hiệu $\% \Delta I_{\max}$ với sai số 1,92% so với dung dịch VP28 tinh khiết ở nồng độ 15 ng/mL. Kết quả cho thấy khả năng của thiết bị WPEMS đề xuất trong việc phát hiện WSSV nhanh chóng, đơn giản và hiệu quả. Điều này đáp ứng nhu cầu cấp thiết trong việc phát triển các thiết bị điện tử nhỏ gọn, thân thiện với người dùng cho kiểm tra tại chỗ, giảm thiểu các rủi ro liên quan đến thiệt hại do dịch bệnh.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Qua quá trình thực hiện, luận án đã hoàn thành các mục tiêu đề ra, bao gồm nghiên cứu công nghệ cảm biến điện hóa, xác định đầu thu sinh học phù hợp, phát triển quy trình chức năng hóa điện cực, và đánh giá hiệu năng của hệ thống phát hiện vi-rút gây bệnh đốm trắng WSSV trên tôm nuôi. Trên cơ sở lý thuyết về điện hóa, cấu trúc vi-rút WSSV và cơ chế bắt cặp kháng thể–kháng nguyên, nghiên cứu đã xác định được kháng thể anti-VP28 là đầu thu sinh học đặc hiệu để cố định trên điện cực cảm biến. Kháng thể này cho phép nhận biết protein vỏ VP28, chỉ dấu sinh học đặc trưng của WSSV, tạo nền tảng cho quá trình phát hiện vi-rút bằng phương pháp điện hóa.

Quy trình chức năng hóa điện cực được xây dựng và kiểm chứng qua ba giai đoạn chính. Đầu tiên, các hạt nano vàng (AuNPs) được phủ lên bề mặt điện cực bằng phương pháp quét thế tuần hoàn (CV), giúp tăng cường khả năng dẫn điện và mở rộng diện tích bề mặt hoạt hóa đối với điện cực cacbon (các điện cực vàng được sử dụng bắt đầu từ bước tiếp theo). Tiếp theo, đơn lớp tự lắp ráp SAM được hình thành từ hợp chất MUA trong dung dịch ethanol, đóng vai trò là lớp trung gian ổn định cho việc gắn kết sinh học. Cuối cùng, kháng thể

anti-VP28 được cố định lên bề mặt điện cực thông qua liên kết cộng hóa trị, tạo nên cảm biến điện hóa có tính đặc hiệu cao đối với vi-rút WSSV.

Trong quy trình chức năng hoá điện cực, các phép đo điện hóa EIS cho thấy sự thay đổi rõ rệt của điện trở truyền điện tích (ΔR_{CT}) theo nồng độ protein VP28, quan hệ tuyến tính được biểu theo phương trình $\Delta R_{CT}(k\Omega) = 0,03922 \times C_M(\text{ng/mL}) - 0,00764$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,98945$, giới hạn phát hiện đạt mức 2,38 ng/mL, thể hiện độ nhạy cao của cảm biến. Các thí nghiệm đối chứng với protein Ovalbumin và NSE khẳng định cảm biến có độ chọn lọc tốt, chỉ phản ứng đặc hiệu với protein mục tiêu VP28.

Bên cạnh đó, luận án cũng đã phát triển thành công hệ thống đo điện hóa di động với mạch điều khiển tích hợp và phần mềm thân thiện, cho phép thực hiện phép đo CV, xử lý và hiển thị dữ liệu theo thời gian thực. Sự thay đổi của đỉnh dòng điện trong phép đo CV thể hiện mối tương quan rõ ràng với nồng độ protein VP28, cung cấp tín hiệu định lượng phục vụ phát hiện nhanh vi-rút WSSV. Phép đo CV trên điện cực vàng cố định anti-VP28 cho thấy quan hệ tuyến tính mạnh giữa $\% \Delta I_{\max}$ và nồng độ VP28 trong dải 5–25 ng/mL theo phương trình $\% \Delta I_{\max} = 0,64755 \times C_M + 11,05801$ với $R^2 = 0,994$ và $\text{LOD} = 2,38$ ng/mL. Kết quả này chứng minh tính khả thi của việc phát triển thiết bị cảm biến điện hóa di động phục vụ chẩn đoán bệnh đốm trắng tại hiện trường, góp phần giảm thiểu thiệt hại và hỗ trợ kiểm soát dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản.

Để hoàn thiện và mở rộng kết quả nghiên cứu, cần tiếp tục thực hiện các thí nghiệm trên mẫu thực trong điều kiện nuôi ngoài phòng thí nghiệm nhằm đánh giá độ tin cậy và khả năng ứng dụng của cảm biến trong môi trường tự nhiên. Thiết bị đo điện hóa di động cần

được tối ưu về kích thước, năng lượng tiêu thụ và khả năng kết nối không dây để phục vụ giám sát từ xa và cảnh báo dịch bệnh. Bên cạnh đó, hướng nghiên cứu tiếp theo sẽ tập trung mở rộng nền tảng công nghệ cảm biến điện hóa này cho việc phát hiện nhiều tác nhân gây bệnh khác trong thủy sản, hướng tới phát triển hệ thống cảm biến đa mục tiêu phục vụ giám sát sức khỏe vật nuôi một cách toàn diện. Hơn hết, cần có sự hợp tác giữa các cơ sở nghiên cứu, trung tâm kiểm nghiệm và doanh nghiệp trong lĩnh vực thủy sản nhằm phát triển hoàn thiện thiết bị chẩn đoán tại chỗ, góp phần vào chiến lược phát triển nông nghiệp công nghệ cao và bền vững tại Việt Nam.

DANH MỤC CÔNG BỐ KHOA HỌC CỦA LUẬN ÁN

Nghiên cứu sinh là tác giả chính của các công trình khoa học sau:

A. Tạp chí

- [1] **Linh Huỳnh Thi Thủy**, Phu Nguyen Dang, Hung Cao, Anh H. Nguyen, Jung-Chih Chiao, Chun-Ping Jen, Loc Do Quang, Trinh Chu Duc, and Tung Thanh Bui, “*Electrodeposition of Gold Nanoparticles for a Highly Sensitive Immunosensor for White Spot Syndrome Virus (WSSV) Envelope Protein VP28 Detection Based on Electrochemical Impedance Spectroscopy Technique*”, (2024), IEEE Sensors Journal (ISSN: 1530-437X/1558-1748), Vol. 24, No. 22, p36350-36357, <https://doi.org/10.1109/JSEN.2024.3468318>. Impact Factor: 4.32, WoS Q1.
- [2] **Linh Huỳnh Thi Thủy**, Minh Le Quang Nhat, Phu Nguyen Dang, Hung Cao, Hung Anh Nguyen, Jung-Chih Chiao, Chun-Ping Jen, Loc Do Quang, Trinh Chu Duc, and Tung Thanh Bui, “*Wireless and Portable Electrochemical Measurement System Integrated with Screen-Printed Immunosensor for VP28 Protein Detection*”, (2024), IEEE Sensors Letters (ISSN: 24751472), Vol. 8, No. 10, p4503204, <https://doi.org/10.1109/LSENS.2024.3432588>. Impact Factor: 2.78, WoS Q2.
- [3] **Linh Huỳnh Thi Thủy**, Chun-Ping Jen, Guan-Da Syu, Nha Vo Quang, Cuong Ngo Xuan, Loc Do Quang, Phu Nguyen Dang, Tung Bui Thanh, Trinh Chu Duc, “*Enhancing the Self-Assembled Monolayer Formation for Protein Detection Platform through L-Cysteine Utilization*”, (2024), Hue University Journal of Science: Techniques and Technology (pISSN: 2588-1175, eISSN: 2615-9732), Vol. 133, No. 2B, p5-15, <https://doi.org/10.26459/hueunijtt.v133i2B.7366>.

- [4] **Linh Huynh Thi Thuy**, Phu Nguyen Dang, Loc Do Quang, Tung Thanh Bui, Hanh Hong Mai, Chun-Ping Jen, Hung Cao, Trinh Chu Duc, “*Critical Role of 11-Mercaptoundecanoic Acid and L-Cysteine Self-Assembled Monolayers in Electrochemical Immunosensor Development*”, (2026), Journal of Applied Electrochemistry (Electronic ISSN: 1572-8838, Print ISSN: 0021-891X), Vol. 56, No. 115, <https://doi.org/10.1007/s10800-026-02496-1>, Impact Factor: 3.0, WoS Q2.

B. Kỹ yếu Hội nghị

- [5] **Linh Huynh Thi Thuy**, Phu Nguyen Dang, Hung Cao, Hung Anh Nguyen, Jung-Chih Chiao, Chun-Ping Jen, Loc Do Quang, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, “*A Highly Sensitive Immunosensor for White Spot Syndrome Virus (WSSV) Envelope Protein VP28 Detection Based on Electrochemical Impedance Spectroscopy Technique*”, (2023), IEEE SENSORS Conference, IEEE Xplore (ISBN:979-8-3503-0387-2, ISSN: 2168-9229), p1-4, <https://doi.org/10.1109/SENSORS56945.2023.10325273>.
- [6] **Linh Huynh Thi Thuy**, Phu Nguyen Dang, Chi Tran Nhu, Thuy Nguyen Tran, Trung Le Thanh, Huu Nguyen Cong, Chun-Ping Jen, Loc Do Quang, Trinh Chu Duc, Tung Thanh Bui, “*Novel Electrochemical Immunosensing Structure Based on a Functionalized Carbon Electrode with 11-MUA for NSE Protein Detection*”, (2023), International Conference on Health Science and Technology – ICHST Conference, IEEE Xplore (ISBN: 979-8-3503-1571-4), p1-4, <https://doi.org/10.1109/ICHST59286.2023.10565337>.
- [7] **Huynh Thi Thuy Linh**, Nguyen Dang Phu, Tran Nhu Chi, Do Quang Loc, Bui Thanh Tung, Tran Thi Thuy Ha and Chu Duc Trinh, “*An Effective Carbon Electrode Modification Process for Protein Detection Based on Gold Nanoparticles and Immunosensing Approach*”, (2023), International Workshop on Advanced Materials and Devices – IWAMD Conference, Thai Nguyen University Publishing House (ISBN: 978-604-350-270-1), p34-37.
- [8] **Linh Huynh Thi-Thuy**, Nha Vo Quang, Cuong Ngo Xuan, Thuan Nguyen Duy, Loc Do Quang, Tung Bui Thanh, Phu Nguyen Dang, Trinh Chu Duc, “*Application of Electrochemical Sensor System in Detecting White Spot Syndrome Virus: A Review*”, (2022), Asian Pacific Federation for Information Technology in Agriculture – APFITA Conference, Vietnam National University press, Hanoi, (ISBN: 978-604-9990-32-8), p230-238.

Danh mục này gồm 08 công trình.