

P-ISSN 1859-4794 * E-ISSN 2615-9929

TẬP 66, SỐ 6, THÁNG 6 NĂM 2024
VOLUME 66, NUMBER 6, JUNE 2024

TẠP CHÍ & KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST VIỆT NAM



HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Chủ tịch

Châu Văn Minh - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Thành viên

Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng, Việt Nam

Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Việt Nam

Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam, Việt Nam

Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân, Việt Nam

Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trương Nam Hải - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Trần Thanh Hải - Trường Đại học Mở - Địa chất, Việt Nam

Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải, Việt Nam

Phạm Gia Khánh - Hội Ghép tạng Việt Nam, Việt Nam

Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Bành Tiến Long - Đại học Bách khoa Hà Nội, Việt Nam

Lê Quan Nghiêm - Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trần Hữu Phúc - Hội đồng Giáo sư Nhà nước, Việt Nam

Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Tổng biên tập

Nguyễn Thị Hương Giang - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Phó Tổng biên tập

Phạm Thị Minh Nguyệt - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ban biên tập

Phí Công Thường - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Vũ Văn Hưng - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ninh Văn Diện - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thị Bắc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Tăng Xuân Bình - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thị Tuyết Hạnh - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Trương Thị Thảo Dương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

EDITORIAL BOARD

Chairman

Chau Van Minh - Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Members

Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering, Vietnam

Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam, Vietnam

Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology, Vietnam

Tran Tho Dat - National Economics University, Vietnam

Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Vu Minh Giang - VNU, Hanoi, Vietnam

Truong Nam Hai - Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam

Pham Huy Khang - University of Transport and Communications, Vietnam

Pham Gia Khanh - Vietnam Society of Organ Transplantation, Vietnam

Ho Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam

Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, Hanoi, Vietnam

Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology, Vietnam

Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

Mai Trong Nuan - VNU, Hanoi, Vietnam

Tran Huu Phuc - The State Council for Professorship, Vietnam

Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University, Vietnam

Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi, Vietnam

Editor-in-Chief

Nguyen Thi Huong Giang - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Deputy Editor-in-Chief

Pham Thi Minh Nguyệt - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Managing Editors

Phi Cong Thuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Vu Van Hung - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Ninh Van Dien - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thi Bac - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Tang Xuan Binh - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thi Tuyen Hanh - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Truong Thi Thao Duong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội - Việt Nam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn

Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021

Số 50/GP-BTTTT ngày 01/02/2023

Giá: 18000^d

EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi - Vietnam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn

E-journal: b.vjst.vn

PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20th July 2021

No. 50/GP-BTTTT 1st February 2023

Sử dụng mô hình học sâu dự đoán hàm lượng vi chất của thực phẩm sau chế biến

Nguyễn Hoàng Vũ¹, Đào Ngọc Bích², Trần Thanh Hương², Phạm Minh Triền^{2*}

¹Trường THCS và THPT Nguyễn Tất Thành, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/1/2024; ngày chuyển phản biện 18/1/2024; ngày nhận phản biện 7/2/2024; ngày chấp nhận đăng 12/2/2024

Tóm tắt:

Hiểu rõ hàm lượng dinh dưỡng trong thực phẩm sau khi chế biến có ý nghĩa quan trọng đối với ngành công nghiệp chế biến thực phẩm. Việc lựa chọn phương pháp chế biến phù hợp cho phép người dùng giữ lại được những vi chất bổ dưỡng tốt cho sức khỏe. Thực tế, việc thu thập thông tin vi lượng của thực phẩm trước và sau chế biến đặt ra nhiều thách thức do sự biến đổi sinh học, sự tương tác của các thành phần trong món ăn. Cách tiếp cận hiện nay là thu thập dữ liệu từng thành phần dinh dưỡng trước và sau khi chế biến. Sau đó, các mô hình học máy thông thường sẽ sử dụng dữ liệu này để đưa ra kết quả dự báo tốt nhưng độ ổn định còn hạn chế. Do đó, nghiên cứu này đề xuất sử dụng mô hình học sâu để huấn luyện trên bộ dữ liệu với 27 thành phần dinh dưỡng thay đổi qua hai quá trình chế biến nhiệt ẩm (luộc) và nhiệt khô (chiên) trích xuất từ bộ dữ liệu tham chiếu tiêu chuẩn của Hoa Kỳ. Kết quả cho thấy mô hình dự báo chính xác và cải thiện độ ổn định dự báo thêm 8,6%. Nghiên cứu cũng cho thấy tiềm năng trong việc nghiên cứu, cải tiến các mô hình học sâu trong dự báo thành phần dinh dưỡng sau chế biến trong các quy trình chế biến thực phẩm.

Từ khóa: chế biến thực phẩm, hàm lượng vi chất dinh dưỡng, học sâu, mô hình dự đoán.

Chỉ số phân loại: 1.2, 2.10

1. Đặt vấn đề

Trong thế giới mà con người ngày càng nhận thức và đề cao các giá trị về sức khỏe, một chế độ dinh dưỡng chính xác, hợp lý trở thành yếu tố không thể thiếu trong việc định hình một lối sống lành mạnh. Tuy nhiên, quá trình tính toán hàm lượng dinh dưỡng đầy đủ và phù hợp vẫn gặp nhiều khó khăn cho những người nội trợ vì giá trị dinh dưỡng của thực phẩm không chỉ phụ thuộc vào thành phần nguyên liệu thô và khối lượng tiêu thụ mà còn phụ thuộc vào cách chế biến. Đặc biệt, trong quá trình chế biến, thực phẩm có thể biến đổi về mặt kết cấu lẫn hàm lượng dinh dưỡng một cách đáng kể. Điều này là do một số thành phần hoá học trong thực phẩm chưa được xử lý hoàn toàn, cộng với các cơ chế biến đổi hoá lý của thực phẩm diễn ra trong quá trình chế biến [1].

Các mô hình hiện tại được sử dụng để tính toán thành phần dinh dưỡng sau quá trình chế biến bao gồm mô hình động học phản ứng và hệ số lưu giữ (RF). Tuy nhiên, các phương pháp này đều có những hạn chế nhất định. Các mô hình động học phản ứng thường dùng để tìm hiểu về mối liên hệ giữa lượng dinh dưỡng, thời gian và nhiệt độ thường đòi hỏi phải thu thập lượng dữ liệu lớn và tốn kém. Việc này không chỉ mất nhiều thời gian mà còn đối mặt với khó khăn khi hóa chất trong thực nghiệm có thể bị phân hủy một cách

nhANH chóng [2]. Trong khi đó, các phương pháp tính hàm lượng dinh dưỡng dựa trên hệ số lưu giữ thường đánh giá thấp hoặc cao hơn hàm lượng dinh dưỡng thực tế do mỗi hệ số lưu giữ đơn lẻ đại diện cho nhiều loại thực phẩm và cách thức chế biến khác nhau [3]. Để khắc phục những hạn chế trên, nhóm nghiên cứu đề xuất sử dụng phương pháp học máy để ước lượng giá trị dinh dưỡng sau chế biến. Do phương pháp này có khả năng tự học cách thức mà thực phẩm biến đổi từ trạng thái sống đến khi được nấu chín dựa trên dữ liệu thu được từ nhiều loại thực phẩm khác nhau và qua các cách chế biến đa dạng.

Các phương pháp học máy tuy mới bắt đầu được sử dụng trong lĩnh vực khoa học thực phẩm nhưng đã cho thấy kết quả đầy tiềm năng. Các nghiên cứu sử dụng hướng tiếp cận bằng các mô hình học máy đã và đang cho thấy khả năng dự đoán chính xác hơn trong nhiều tình huống khác nhau sau khi được huấn luyện với các bộ dữ liệu chuyên biệt. Tổng hợp các kết quả nghiên cứu gần đây về dự đoán thuộc tính và đặc tính của thực phẩm sử dụng các mô hình phân loại minh họa rõ nét sự đa dạng trong các ứng dụng của hướng nghiên cứu này. Cụ thể, các mô hình học máy được áp dụng để dự đoán các đặc tính cảm quan của thực phẩm về mặt vị giác như: vị đắng [4, 5]; vị ngọt [6, 7] và mùi thơm [8] dựa trên cấu trúc phân tử. Đối với nhóm bài toán xác định hàm lượng dinh dưỡng, nhiều mô hình học máy khác nhau cũng

*Tác giả liên hệ: Email: trienpm@vnu.edu.vn

Using deep learning model to predict micronutrients in food after processing

Hoang Vu Nguyen¹, Ngoc Bich Dao²,
Thanh Huong Tran², Minh Trien Pham^{2*}

¹Nguyen Tat Thanh Secondary and High School, Hanoi National University of Education,
136 Xuan Thuy Street, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²University of Engineering and Technology, Vietnam National University - Hanoi,
144 Xuan Thuy Street, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 15 January 2024; revised 7 February 2024; accepted 12 February 2024

Abstract:

Understanding the nutritional content of food after processing is important for the food processing industry. Choosing the appropriate processing method allows users to retain healthy micronutrients. In fact, collecting nutrient information of food before and after processing poses many challenges due to biological changes and interactions of nutritional components. Currently, the approach is to collect data on each nutritional component before and after processing. Conventional machine learning models will then use this data to produce good prediction results but with limited stability. Therefore, we proposed to use a deep learning model to conduct training on a data set with 27 nutritional components that change through two processing processes, boil and fry, extracted from a standard reference data set of the United States. The results show accurate prediction and improve the stability by 8.6%. The study shows the potential of improving deep learning models in predicting post-processing nutritional composition in food processing.

Keywords: deep learning, food nutrients profile, food processing, prediction model.

Classification numbers: 1.2, 2.10

đã được nghiên cứu và phát triển để giải quyết các đặc tính khác nhau. Mô hình P_NUT sử dụng phương pháp xử lý ngôn ngữ tự nhiên (NLP) để dự đoán hàm lượng các chất đa lượng, bao gồm chất béo, chất đạm và tinh bột của thực phẩm dựa trên văn bản mô tả về thực phẩm đó [9]. Một phiên bản mới hơn của mô hình này thậm chí còn có thể dự đoán hàm lượng chất béo, chất đạm và tinh bột từ một công thức nấu ăn [10]. Trong khi đó, các nhà nghiên cứu thuộc Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ đã dự đoán hàm lượng của 3 thành phần dinh dưỡng được gán nhãn (tinh bột, đạm và natri) trong thực phẩm đã chế biến từ danh sách các nguyên liệu [11].

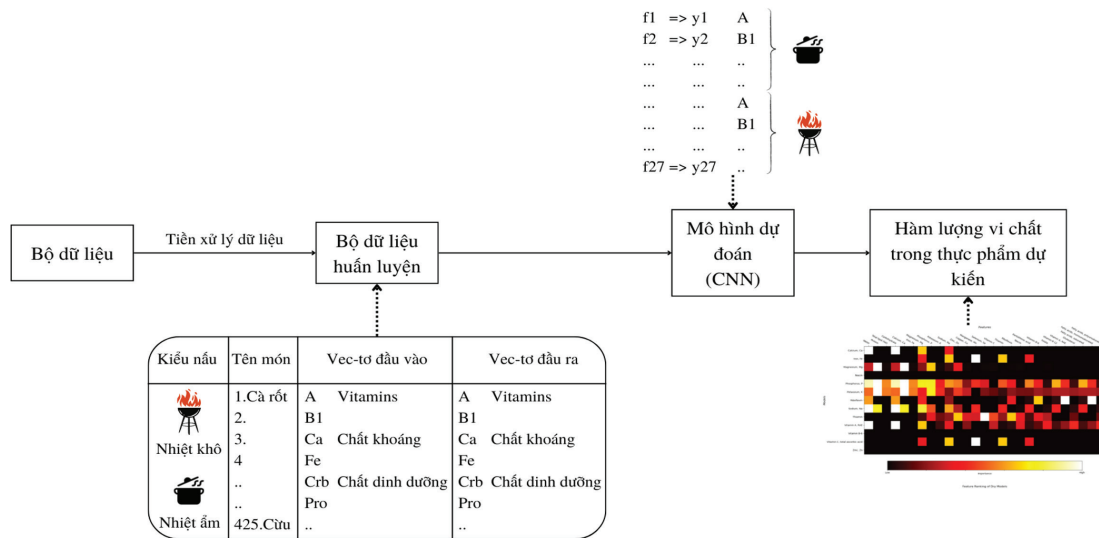
Trong chế biến thực phẩm, việc phân loại thực phẩm theo mức độ chế biến dựa trên thông tin thành phần là một lĩnh vực nghiên cứu quan trọng [12]. Các nghiên cứu đã sử dụng hệ thống phân loại NOVA [13] để nhận diện một số thành phần từ thực phẩm tươi sống đến thực phẩm chế biến công nghiệp, từ những loại ít qua chế biến đến những loại có quy trình chế biến phức tạp. Sự ra đời của các bộ dữ liệu chất lượng cao cho quá trình huấn luyện và kiểm thử mô hình đóng vai trò không nhỏ đối với sự tiến bộ của các nghiên cứu hiện nay.

Một điểm chung của phần lớn các nghiên cứu trong thời gian gần đây chính là sự phức tạp trong tương tác giữa các thành phần hóa học của thực phẩm. Điều này đã thúc đẩy nhóm nghiên cứu đề xuất sử dụng mô hình học sâu để có thể hiểu rõ hơn về các thay đổi trong thành phần thực phẩm qua các phương pháp chế biến khác nhau. Từ đó, nhóm nghiên cứu đã phát triển mô hình học sâu để dự đoán 27 thành phần và hàm lượng 13 loại vi lượng của thực phẩm sau khi chế biến. Bằng cách chế biến từng loại thực phẩm đơn lẻ với 2 phương pháp chế biến thực phẩm chính là luộc và chiên từ kho dữ liệu thực phẩm (FDC), nhóm nghiên cứu đã tiến hành huấn luyện mô hình cho từng chất dinh dưỡng với mỗi quá trình.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu đã sử dụng 820 loại thực phẩm từ bộ dữ liệu Tham chiếu tiêu chuẩn (SR) [14]. Bộ dữ liệu SR chứa dữ liệu thành phần cho cả mẫu thực phẩm sống và nấu chín của các thành phần đơn lẻ thường được dùng cho các nghiên cứu về sức khỏe cộng đồng, như đánh giá lượng chất dinh dưỡng tiêu thụ với mục đích giám sát dinh dưỡng quốc gia, trong việc tạo thực đơn bữa ăn tại các trường học và nhà trẻ, phát triển sản phẩm của các nhà sản xuất. Bộ dữ liệu có tới 232 hợp chất, bao gồm các chất (vitamin, axit amin, axit béo,...) và các chất tổng hợp hoặc nhóm chất (chất béo tổng hợp, đạm...) cho mỗi loại thực phẩm. Tuy nhiên, trong bài báo này, chỉ những chất dinh dưỡng đặc trưng có trong hơn 80% các loại thực phẩm được lựa chọn để nghiên cứu. Như vậy, đầu vào của mô hình dự đoán là 27 thành phần cho mỗi loại thực phẩm gồm: 9 loại vitamin; 10 loại khoáng chất; nước; 7 loại đạm, tinh bột và các loại chất béo khác nhau.

Dữ liệu này được sử dụng để huấn luyện các mô hình dự đoán với tập hợp các đặc trưng đầu vào cho mỗi mô hình là hàm lượng của 27 thành phần trong thực phẩm sống và đầu ra là hàm lượng của 13 vi chất dinh dưỡng trong thực phẩm đã nấu. Phương pháp tiền xử lý StandardScaler được áp dụng cho cả hai phần dữ liệu này để đảm bảo rằng bộ dữ liệu có trung bình bằng 0 và độ lệch chuẩn bằng 1 được tính theo công thức (1). Điều này góp phần giúp các mô hình học hiệu quả hơn đối với các nhóm đặc trưng có cùng tỷ lệ.



Hình 1. Mô hình hệ thống tổng quát.

$$z = \frac{x - u}{s} \quad (1)$$

trong đó: z là giá trị chuẩn hoá; x là giá trị gốc ban đầu; u là giá trị trung bình; s là độ lệch chuẩn.

Mỗi phần tử trong tập dữ liệu sau khi chuẩn hoá theo công thức trên sẽ được ánh xạ sang một mảng ba chiều với chiều dài, chiều rộng và chiều sâu lần lượt là 9, 3 và 1. Ma trận này biểu diễn 27 thành phần dinh dưỡng trong dữ liệu đầu vào. Cuối cùng, mỗi ma trận trên được bổ sung thêm một chiều dữ liệu mang thông tin về số lượng thực phẩm trong danh sách nguyên liệu ban đầu. Từ đó xác định được mối tương quan giữa các chất dinh dưỡng trong tập dữ liệu, tạo cơ sở cho áp dụng mô hình học máy trong việc dự đoán sự biến đổi của hàm lượng vi chất qua các quá trình chế biến thực phẩm. Trong tập dữ liệu này, 15% dữ liệu được phân tách làm tập dữ liệu kiểm thử. Điều này giúp cho mô hình có khả năng đánh giá cả các dữ liệu chưa được huấn luyện và làm giảm nguy cơ quá khớp dữ liệu (overfitting).

Hình 1 mô tả lược đồ bài toán tổng quát cũng như phương pháp thực hiện của nhóm. Các thực phẩm thu thập từ bộ dữ liệu SR của kho dữ liệu FDC được phân loại theo cặp (sống, chín) và theo phương thức chế biến món ăn. Các phương pháp nấu ăn như đun sôi và hấp được xem là quy trình nhiệt ẩm, trong khi nướng và quay được xem là quy trình nhiệt khô. Mỗi thực phẩm sau đó được liên kết với 27 thành phần dinh dưỡng khác nhau. Mô hình học được huấn luyện dựa trên dữ liệu thành phần dinh dưỡng với đặc trưng đầu vào là thành phần của thực phẩm sống. Mỗi chất dinh dưỡng trong thực phẩm đã chế biến đều được huấn luyện riêng. Việc huấn luyện mô hình được thực hiện riêng lẻ cho mỗi cách thức nấu ăn, tức là 13 mô hình cho phương pháp nhiệt ẩm và 12 mô hình cho phương pháp nhiệt khô (mô

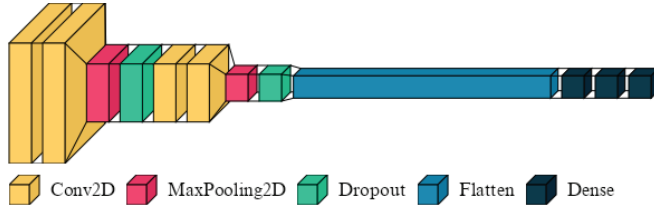
hình dự đoán vitamin C không được tính vì vitamin C không có trong thịt cũng như hầu hết tất cả thực phẩm dùng cho mô hình nhiệt khô). Mô hình tốt nhất là mô hình có sai số nhỏ nhất, tức là sai số toàn phương trung bình (RMSE) thấp nhất. Cuối cùng, hàm lượng thành phần dinh dưỡng dự đoán của mô hình sẽ được đối chiếu với hàm lượng thành phần dinh dưỡng thực tế để đánh giá hiệu suất, độ chính xác và tính ổn định của mô hình.

3. Mô hình đề xuất

Mô hình mạng nơron tích chập (CNN) được thiết kế nhằm tự động học các đặc trưng quan trọng từ hình ảnh và ánh xạ chúng vào các tham số quan trọng như trọng số và độ lệch. Cách tiếp cận này cho phép mô hình tự động trích xuất thông tin về hàm lượng chất dinh dưỡng thức ăn trước và sau quy trình chế biến từ đó đưa ra các dự đoán. Mô hình này không chỉ cho thấy tiềm năng cho việc tự động hóa quy trình tính toán hàm lượng chất dinh dưỡng mà còn cung cấp cơ sở cho việc nghiên cứu về ảnh hưởng của quy trình chế biến đến giá trị dinh dưỡng của thực phẩm [15].

Mô hình bao gồm hai lớp tích chập liên tiếp sử dụng bộ lọc kích thước 5×5 với padding 'Same' để giữ kích thước đầu ra ổn định, tiếp theo là hai lớp tích chập khác sử dụng bộ lọc kích thước 3×3 cũng với padding 'Same'. Mỗi lớp tích chập này theo sau bởi một hàm kích hoạt phi tuyến tính ReLU. Để giảm thiểu vấn đề overfitting, mô hình sử dụng hai lớp Dropout với tỷ lệ 0,25 sau các khối tích chập đầu tiên và tăng lên 0,5 cho các lớp phía sau. Tích hợp cùng với các lớp tích chập là hai lớp MaxPooling với bộ lọc 2×2 , giúp giảm kích thước không gian mà vẫn giữ được thông tin quan trọng. Kết thúc phần tích chập, mô hình sử dụng lớp Flatten để chuyển đổi dữ liệu từ dạng tensor nhiều chiều sang dạng

vector một chiều. Điều này chuẩn bị cho quá trình phân loại hoặc hồi quy ở các lớp Dense tiếp theo, với lớp đầu tiên có 128 nút và lớp thứ hai có 64 nút, cả hai đều sử dụng hàm kích hoạt ReLU và lớp Dropout để tránh overfitting. Mô hình kết thúc với một lớp Dense đơn lẻ có hàm kích hoạt Softmax (hình 2).



Hình 2. Cấu trúc mô hình mạng nơron tích chập đề xuất sử dụng trong nghiên cứu này.

Nhóm nghiên cứu đã huấn luyện các mô hình để dự đoán hàm lượng của 13 vi chất dinh dưỡng trong tập dữ liệu đã được chuẩn hóa. Trong số đó, có 7 loại vitamin, cụ thể là vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niacin), vitamin B-6 (pyridoxine), vitamin C (acid ascorbic), vitamin A và 7 loại khoáng chất, cụ thể là canxi, sắt, kali, photpho, magiê, natri và kẽm. Nhóm nghiên cứu đã triển khai các mô hình độc lập dựa trên hai nhóm phương pháp chế biến (nhiệt ẩm hoặc nhiệt khô) vì đó là những phương pháp chế biến cơ bản và thường được sử dụng trong thực tế. Tất cả mô hình đều nhận đầu vào giống nhau là thành phần của thực phẩm sống. Các bộ mô hình sau đó được huấn luyện và kiểm tra trên các dữ liệu đã được chuẩn hóa như trình bày ở phần trên.

4. Kết quả

4.1. Thiết lập thực nghiệm

Để tiến hành đánh giá hiệu suất của mô hình CNN đề xuất, nhóm đã triển khai thuật toán theo lược đồ ở trên bằng ngôn ngữ lập trình Python. Bộ mô hình đã được khởi chạy 25 lần để đánh giá hiệu suất, mỗi lần chạy được đánh giá thông qua giá trị RMSE so với dữ liệu gốc như trong công thức (2). Mô hình với RMSE thấp nhất trong mỗi bộ mô hình đánh dấu khả năng dự báo chính xác nhất được lựa chọn để so sánh với giá trị cơ sở (USDA RF - Phương pháp xác định hàm lượng dinh dưỡng sử dụng hệ số lưu giữ xây dựng bởi Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ). Để so sánh khả năng dự báo, nhóm sử dụng hệ số xác định R^2 giữa các bộ mô hình như trong công thức (3). Công thức của các độ đo đánh giá được mô tả sau đây:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}} \quad (2)$$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (3)$$

trong đó: n là số lượng mẫu trong tập dữ liệu; y_i là giá trị thực tế của mẫu thứ i ; $\hat{y}_i$ là giá trị dự đoán tương ứng của mẫu thứ i ; $\bar{y}$ là giá trị trung bình của các giá trị thực tế y_i .

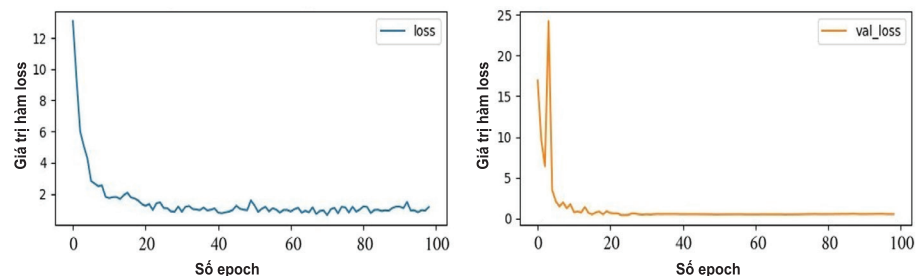
Quá trình học của các mô hình được đánh giá thông qua đồ thị kết quả của hàm mất mát trên tập huấn luyện và trên tập dữ liệu kiểm thử theo epoch. Hàm mất mát giúp đánh giá mức độ sai lệch giữa dự đoán của mô hình và dữ liệu gốc. Mô hình học hiệu quả sẽ cho giá trị hàm mất mát giảm khi epoch tăng.

4.2. Đánh giá hiệu suất của mô hình mạng nơron tích chập cho 2 quá trình chế biến sử dụng phương pháp nhiệt khô và nhiệt ẩm

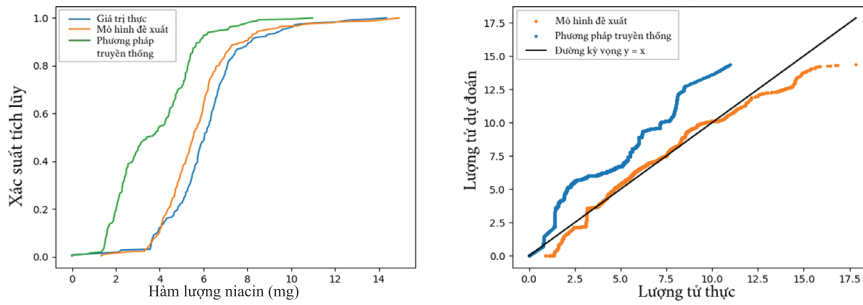
Trong phần này, nhóm nghiên cứu tập trung vào khám phá sâu hơn về quá trình học của các mô hình đối với mỗi phương pháp chế biến, đánh giá sự phân bố của dữ liệu đầu ra, từ đó đưa ra những nhận xét và kết luận chính xác, toàn diện về hiệu suất của chúng.

4.2.1. Mô hình nhiệt khô

Hình 3 cung cấp tổng quan về sự biến động hàm mất mát của quá trình huấn luyện và hàm mất mát của quá trình kiểm thử theo các epoch của bộ mô hình dự đoán điển hình khi dự đoán hàm lượng niacin. Phân tích chi tiết của các đường thể hiện hàm mất mát giúp hiểu rõ hơn về quá trình học của từng mô hình và sự thay đổi trong dữ liệu đầu ra. Về tổng quan, mô hình cho thấy khả năng học tương đối hiệu quả thể hiện qua việc hàm mất mát ở epoch cuối cùng của cả quá trình huấn luyện và quá trình kiểm thử đều giảm so với epoch đầu tiên. Ở cả 2 quá trình huấn luyện và kiểm thử khi dự đoán niacin, hàm mất mát đều dao động tương đối mạnh ở những epoch đầu tiên và giảm dần ở quá trình huấn luyện về sau. Điều này cho thấy rằng hàm mất mát đã được tối thiểu hóa sau quá trình huấn luyện.



Hình 3. Hàm mất mát của quá trình huấn luyện (hình trái) và quá trình kiểm thử (hình phải) trong mô hình dự đoán niacin với phương pháp chế biến nhiệt khô.

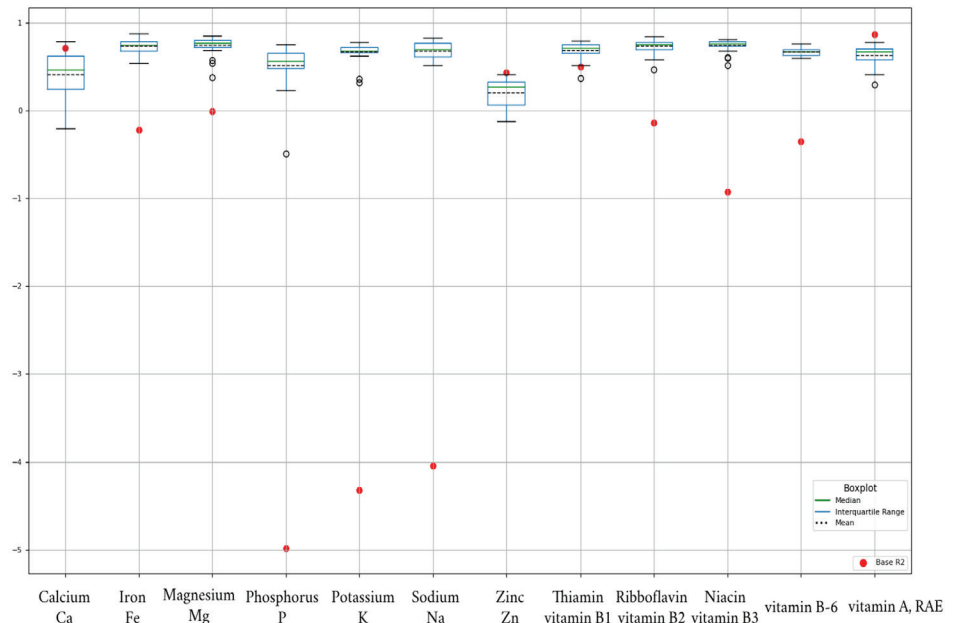


Hình 4. Biểu đồ hàm ECDF (hình trái) và Q-Q (hình phải) của mô hình dự đoán niacin đại diện cho quá trình nhiệt khô.

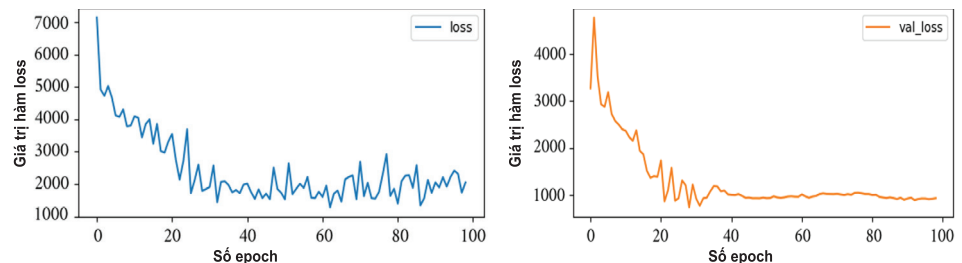
Hình 4 trình bày biểu đồ hàm ECDF và Q-Q (biểu đồ lượng tử - phân vị) của niacin. Những đồ thị này được thiết kế để so sánh sự phân bố của giá trị dự đoán và giá trị thực. Chênh lệch tuyệt đối giữa hai ECDF (thông số Kolmogorov-Smirnov) của giá trị thực và giá trị dự đoán là 0,16, trong khi của giá trị thực và phương pháp truyền thống là 0,54. Trên biểu đồ Q-Q, bộ số phân vị của giá trị dự đoán được phân bố gần đường thẳng kỳ vọng, trong khi bộ số phân vị của phương pháp truyền thống thường nằm cách xa đường thẳng. Từ những phân tích trên, có thể kết luận rằng, sự phân bố của giá trị dự đoán bởi mô hình học sâu cho hàm lượng niacin gần với sự phân bố của giá trị thực hơn so với phương pháp truyền thống.

Hình 5 trình bày R^2 của các mô hình dự đoán ở dạng biểu đồ hộp cùng với các giá trị R^2 tương ứng của phương pháp truyền thống. Nhìn chung, các mô hình dự đoán thể hiện R^2 trung bình cao hơn so với R^2 của phương pháp truyền thống với đa số các chất dinh dưỡng. Trong tổng số mô hình dự đoán hàm lượng 12 vi chất của mô hình nhiệt ẩm, đa số các hệ số xác định R^2 đều nằm trong khoảng (0, 1) và có độ ổn định về hiệu suất cao.

R^2 của phương pháp truyền thống có 8 giá trị âm và giá trị thấp nhất là của photpho với R^2 là -4,98. Điều này chỉ ra rằng, các phương pháp truyền thống không thể cung cấp dự đoán chính xác cho nhiều chất dinh dưỡng, đặc biệt là trong trường hợp của photpho. Sự chênh lệch lớn giữa R^2 của các mô hình học sâu và phương pháp học máy truyền thống là chỉ số khả quan về độ hiệu quả của mô hình học sâu trong việc dự đoán giá trị của các chất dinh dưỡng trong thực phẩm.



Hình 5. So sánh tổng thể R^2 của các mô hình dự đoán quá trình nhiệt khô và mô hình truyền thống của các chất dinh dưỡng.

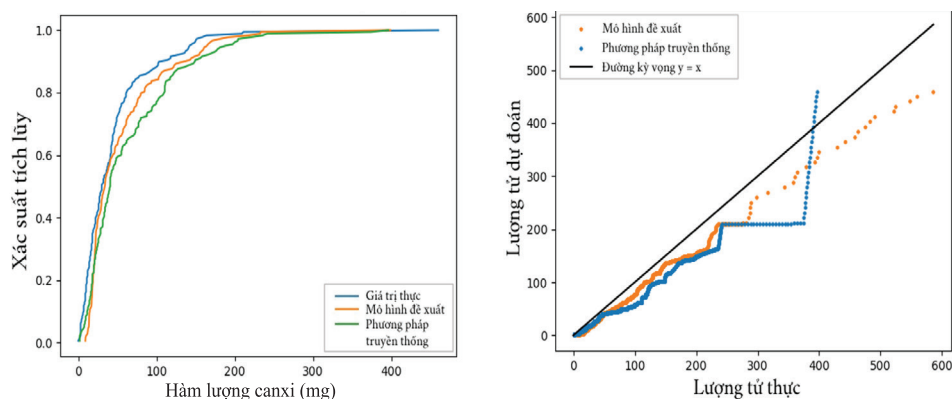


Hình 6. Hàm mất mát của quá trình huấn luyện (hình trái) và quá trình kiểm thử (hình phải) trong mô hình dự đoán canxi với phương pháp chế biến bằng nhiệt ẩm.

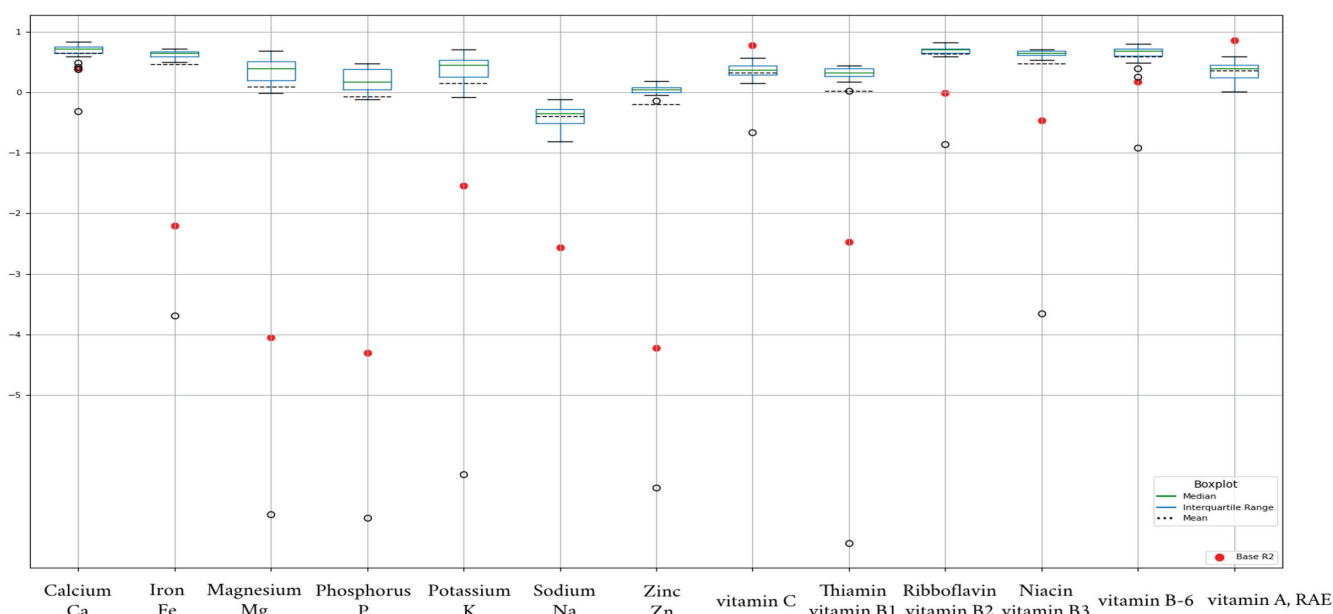
4.2.2. Mô hình nhiệt ẩm

Hình 6 trình bày đồ thị hàm mất mát theo epoch của mô hình dự đoán hàm lượng canxi. Hàm mất mát của mô hình dự đoán hàm lượng canxi giảm dần theo epoch, đặc biệt là trong 20 epoch đầu tiên hàm mất mát của quá trình huấn luyện và kiểm thử đều giảm mạnh trước khi ổn định ở các epoch sau. Từ đó cho thấy mô hình dự đoán hàm lượng canxi đạt hiệu suất huấn luyện cao và ổn định.

Thông số Kolmogorov-Smirnov so sánh hai ECDF của mô hình đề xuất và thực tế là 0,17, của phương pháp truyền thống và thực tế là 0,25. Biểu đồ Q-Q cho thấy, trong những số phân vị đầu tiên cả phương pháp truyền thống và dự đoán đều tuân theo đường thẳng kỳ vọng (hình 7). Tuy nhiên, ở các số phân vị sau, phương pháp truyền thống tiến xa đường thẳng kỳ vọng hơn so với dự đoán. Từ đó cho thấy sự phân bố các giá trị dự đoán bởi mô hình dự đoán canxi gần với thực tế hơn là phương pháp truyền thống.



Hình 7. Biểu đồ phân phối chuẩn, biểu đồ hàm ECDF (hình trái) và Q-Q (hình phải) của hai mô hình dự đoán canxi đại diện cho quá trình nhiệt ẩm.



Hình 8. So sánh tổng thể R^2 của các mô hình dự đoán quá trình nhiệt ẩm và mô hình truyền thống.

Hình 8 biểu diễn R^2 các mô hình dự đoán và các R^2 của phương pháp truyền thống tương ứng. Phương pháp truyền thống dự đoán tốt hơn mô hình CNN ở vitamin C và vitamin A. Tuy nhiên, phương pháp truyền thống có R^2 khá thấp, ví dụ như ở photpho với giá trị là -4,3.

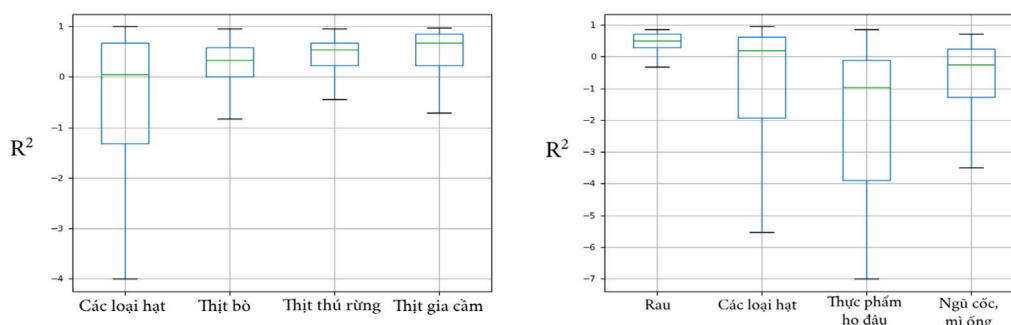
5. Bàn luận

Khi xét theo nhóm thực phẩm, trong các quá trình nhiệt khô các bộ mô hình đoán chính xác nhất với các loại thực phẩm gia cầm và đoán kém chính xác hơn với các loại hạt. Trong các quá trình nhiệt ẩm, các bộ mô hình đoán chính xác nhất cho rau và dự đoán kém chính xác hơn cho các thực phẩm họ đậu.

Trong quá trình nhiệt khô, các mô hình có hiệu suất dự đoán tốt nhất thuộc về nhóm gia cầm với giá trị R^2 tốt nhất là 0,98 và trung vị là 0,68. Đối với các quy trình nhiệt ẩm, mô hình có hiệu suất dự đoán tốt nhất thuộc về nhóm rau với giá trị R^2 tốt nhất là 0,86 và trung vị là 0,51. Theo hình 9 có thể

nhận thấy rằng, mô hình dự đoán học sâu hiệu quả hơn đối với nhóm thực phẩm có nguồn gốc từ động vật so với nhóm thực phẩm có nguồn gốc từ thực vật.

Để đánh giá tổng quát hơn về hiệu suất của mô hình thực nghiệm, nhóm nghiên cứu đã thực hiện so sánh hiệu suất của mô hình CNN đề xuất và mô hình USDA RF. Kết quả cho thấy, mô hình CNN dự đoán tốt hơn USDA RF cho các quá trình nhiệt khô và đặc biệt chỉ số RMSE tốt hơn khoảng 8,6% cho các quá trình nhiệt ẩm. Trong số các mô hình CNN đề xuất, mô hình của quá trình nhiệt khô dự đoán tốt hơn mô hình của quá trình nhiệt ẩm. Để đảm bảo tính khách quan và độ tin cậy, nhóm nghiên cứu đã thực hiện thí nghiệm trên cùng một bộ dữ liệu và số lần thực nghiệm như nhau. Kết quả của mỗi mô hình dự đoán của từng chất dinh dưỡng sau khi thực nghiệm được thống kê, tính toán giá trị trung bình cộng và độ lệch chuẩn, cũng như xác định giá trị tốt nhất, giá trị trung vị, để cung cấp cái nhìn toàn diện về hiệu quả của kiến trúc CNN đề xuất.



Hình 9. Biểu đồ hộp R^2 nhóm theo các nhóm thực phẩm khác nhau: nhiệt khô (trái) và nhiệt ẩm (phải).

Kết quả dự đoán của mô hình CNN về hàm lượng chất dinh dưỡng trong thực phẩm đã được so sánh với giá trị cơ sở của USDA, chi tiết các kết quả được thể hiện ở bảng 1. Qua phân tích, mô hình CNN thể hiện hiệu suất tốt hơn so với giá trị cơ sở đối với 11/13 chất dinh dưỡng. Các chất dinh

Một độ đo nữa cũng được sử dụng để đối chiếu khả năng dự đoán của mô hình CNN đề xuất và mô hình cơ sở của USDA là R^2 . Các kết quả thực nghiệm và so sánh đối chiếu được thể hiện ở bảng 2.

dưỡng mà mô hình CNN dự đoán tốt hơn bao gồm canxi, sắt, magiê, kali, photpho, natri, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B-6 với mô hình nhiệt khô. Đối với quá trình nhiệt ẩm, mô hình CNN dự đoán tốt hơn với các vi chất: canxi, sắt, magiê, kali, photpho, natri, kẽm, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B-6.

Bảng 1. Sai số toàn phương trung bình của mô hình Mạng nơ-ron tích chập đề xuất và mô hình truyền thống (Base).

Chất dinh dưỡng	RMSE nhiệt khô				RMSE nhiệt ẩm			
	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Giá trị tốt nhất	Trung vị	Giá trị thực	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Giá trị tốt nhất	Trung vị	Giá trị thực
Calcium (Ca)	6,54 $\pm$ 1,56	4,06	6,37	4,67	29,96 $\pm$ 7,76	21,1	27,82	40,87
Iron (Fe)	0,62 $\pm$ 0,09	0,42	0,61	1,34	0,71 $\pm$ 0,33	0,57	0,63	1,9
Magnesium (Mg)	5,97 $\pm$ 1,08	4,62	5,77	11,99	19,87 $\pm$ 9,61	13,03	18,02	51,78
Phosphorus (P)	22,64 $\pm$ 4,68	16,6	21,94	81,39	49,82 $\pm$ 20,57	37,74	47,33	119,59
Potassium (K)	40,61 $\pm$ 5,55	33,33	40,14	163,62	142,81 $\pm$ 68,17	92,04	126,9	271,99
Sodium (Na)	9,28 $\pm$ 1,54	6,96	9,25	37,41	39,78 $\pm$ 2,72	35,73	39,23	63,74
Zinc (Zn)	1,92 $\pm$ 0,2	1,66	1,85	1,63	0,47 $\pm$ 0,16	0,41	0,44	1,03
Vitamin C	-	-	-	-	18,91 $\pm$ 2,67	15,35	18,39	10,88
Thiamin	0,04 $\pm$ 0,01	0,03	0,04	0,05	0,07 $\pm$ 0,03	0,06	0,06	0,15
Riboflavin	0,08 $\pm$ 0,01	0,06	0,08	0,17	0,04 $\pm$ 0,01	0,03	0,04	0,08
Niacin	0,98 $\pm$ 0,12	0,85	0,95	2,7	0,46 $\pm$ 0,22	0,38	0,42	0,86
Vitamin B-6	0,12 $\pm$ 0,01	0,1	0,12	0,24	0,07 $\pm$ 0,02	0,05	0,06	0,1
Vitamin A (RAE)	5,88 $\pm$ 0,83	4,55	5,59	3,53	116,39 $\pm$ 14,17	93,01	113,69	54,25

Bảng 2. R^2 của mô hình mạng nơ-ron tích chập đề xuất và mô hình truyền thống (Base).

Chất dinh dưỡng	R^2 nhiệt khô				R^2 nhiệt ẩm			
	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Giá trị tốt nhất	Trung vị	Giá trị thực	Giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	Giá trị tốt nhất	Trung vị	Giá trị thực
Calcium (Ca)	0,41 $\pm$ 0,28	0,78	0,47	0,71	0,65 $\pm$ 0,23	0,84	0,71	0,38
Iron (Fe)	0,73 $\pm$ 0,08	0,88	0,74	-0,22	0,46 $\pm$ 0,85	0,71	0,64	-2,2
Magnesium (Mg)	0,74 $\pm$ 0,1	0,85	0,77	-0,01	0,09 $\pm$ 1,45	0,68	0,39	-4,05
Phosphorus (P)	0,52 $\pm$ 0,24	0,75	0,57	-4,98	-0,07 $\pm$ 1,43	0,47	0,17	-4,3
Potassium (K)	0,67 $\pm$ 0,1	0,78	0,68	-4,33	0,15 $\pm$ 1,33	0,71	0,45	-1,54
Sodium (Na)	0,68 $\pm$ 0,1	0,83	0,69	-4,05	-0,4 $\pm$ 0,19	-0,12	-0,35	-2,57
Zinc (Zn)	0,2 $\pm$ 0,17	0,41	0,27	0,43	-0,2 $\pm$ 1,29	0,19	0,05	-4,22
Vitamin C	-	-	-	-	0,33 $\pm$ 0,22	0,56	0,37	0,78
Thiamin	0,68 $\pm$ 0,09	0,8	0,71	0,5	0,02 $\pm$ 1,52	0,44	0,33	-2,47
Riboflavin	0,73 $\pm$ 0,08	0,85	0,75	-0,14	0,63 $\pm$ 0,31	0,82	0,7	-0,02
Niacin	0,74 $\pm$ 0,07	0,81	0,76	-0,93	0,48 $\pm$ 0,84	0,71	0,64	-0,46
Vitamin B-6	0,67 $\pm$ 0,05	0,76	0,67	0,36	0,59 $\pm$ 0,33	0,8	0,69	0,17
Vitamin A (RAE)	0,63 $\pm$ 0,11	0,78	0,67	0,87	0,36 $\pm$ 0,16	0,6	0,4	0,86

Trong quá trình nhiệt khô, mô hình CNN đề xuất đã thể hiện khả năng dự đoán chính xác nhất đối cho niacin với giá trị R^2 trung bình là 0,74 và trung vị là 0,76. Cho thấy độ chính xác tương đối cao và đáng tin cậy của mô hình trong việc ước lượng hàm lượng niacin trong thực phẩm chín qua quá trình nhiệt khô.

Đối với các quá trình nhiệt ẩm, mô hình cho thấy khả năng dự đoán chính xác nhất dành cho canxi với giá trị R^2 trung bình là 0,65 và trung vị là 0,71. Điều này thể hiện độ chính xác ổn định trong việc dự đoán hàm lượng canxi qua các quá trình nhiệt ẩm. Tuy nhiên, mô hình dự đoán hàm lượng Natri biểu thị mức độ sai số khá lớn và khả năng dự đoán không tốt trong điều kiện nhiệt ẩm với giá trị R^2 trung bình là -0,4 và trung vị là -0,35.

Như vậy, đối với cả hai độ đo đánh giá là RMSE và R^2 , mô hình CNN nhóm đề xuất đã mang lại những kết quả dự đoán khả quan và chính xác về hàm lượng dinh dưỡng có trong thực phẩm so với mô hình cơ sở của USDA - USDA RF.

6. Kết luận

Nghiên cứu này đã đề xuất một mô hình học sâu dự đoán hàm lượng vi chất dinh dưỡng trong thực phẩm nấu chín sử dụng mạng nơ-ron tích chập CNN. Kết quả của nghiên cứu đã cho thấy mô hình có độ chính xác tương đương nhưng có độ ổn định tốt hơn so với phương pháp truyền thống trên cùng một bộ dữ liệu thành phần thực phẩm SR. Cụ thể, giá trị sai số bình phương tối thiểu của mô hình mà nhóm nghiên cứu đề xuất đã giảm 8,6% so với kết quả của phương pháp truyền thống. Để có được kết quả này, ngoài việc thiết lập một bộ tham số cụ thể cho mô hình CNN, nhóm nghiên cứu cũng thực hiện chuẩn hoá bộ dữ liệu đầu vào từ bộ dữ liệu tham chiếu nhằm tăng cường khả năng học của mô hình.

Như vậy, thông qua các kết quả của nhóm nghiên cứu đã trình bày ở trên, có thể thấy được tiềm năng của việc ứng dụng các giải pháp học sâu trong việc cải thiện độ ổn định dự báo trong nghiên cứu về chế biến nông sản. Trong tương lai, nhóm nghiên cứu sẽ tiếp tục đi sâu nghiên cứu về những đặc trưng chuyên biệt của từng nhóm thực phẩm để tiếp tục nâng cao độ chính xác dự đoán của mô hình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] E. Capuano, T. Oliviero, M.A.J.S.V. Boekel (2023), "Modeling food matrix effects on chemical reactivity: Challenges and perspectives", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **58**(16), pp.2814-2828, DOI: 10.1080/10408398.2017.1342595.

[2] Nutrient Data Lab (2007), *USDA Table of Nutrient Retention Factors, Release 6*, USDA Agricultural Research Service, DOI: 10.15482/USDA.ADC/1409034.

[3] B. Ling, J. Tang, F. Kong, et al. (2015), "Kinetics of food quality changes during thermal processing: A review", *Food Bioprocess Technol.*, **8**, pp.343-358, DOI: 10.1007/s11947-014-1398-3.

[4] A.D. Wiener, I. Nissim, N.B. Abu, et al. (2017), "Bitter or not? BitterPredict, a tool for predicting taste from chemical structure", *Sci. Rep.*, **7**(1), DOI: 10.1038/s41598-017-12359-7.

[5] P. Charoenkwan, C. Nantasenamat, M.M. Hasan, et al. (2021), "BERT4Bitter: A bidirectional encoder representations from transformers (BERT)-based model for improving the prediction of bitter peptides", *Bioinformatics*, **37**(17), pp.2556-2562, DOI: 10.1093/bioinformatics/ctab133.

[6] M. Zhong, Y. Chong, X. Nie, et al. (2013), "Prediction of sweetness by multilinear regression analysis and support vector machine", *Journal of Food Science*, **78**(9), pp.S1445-S1450, DOI: 10.1111/1750-3841.12199.

[7] R. Tuwani, S. Wadhwa, G. Bagler (2019), "BitterSweet: Building machine learning models for predicting the bitter and sweet taste of small molecules", *Sci. Rep.*, **9**(1), DOI: 10.1038/s41598-019-43664-y.

[8] B.S. Lengeling, J.N. Wei, B.K. Lee, et al. (2019), "Machine learning for scent: Learning generalizable perceptual representations of small molecules", *arXiv*, DOI: 10.48550/arXiv.1910.10685.

[9] G. Ispirova, T. Eftimov, B.K. Seljak (2020), "P-NUT: Predicting NUTrient content from short text descriptions", *Mathematics*, **8**(10), DOI: 10.3390/math8101811.

[10] G. Ispirova, T. Eftimov, B.K. Seljak (2021), "Domain heuristic fusion of multi-word embeddings for nutrient value prediction", *Mathematics*, **9**(16), DOI: 10.3390/math9161941.

[11] P. Ma, A. Li, N. Yu, et al. (2021), "Application of machine learning for estimating label nutrients using USDA Global Branded Food Products Database (BFPD)", *Journal of Food Composition and Analysis*, **100**, DOI: 10.1016/j.jfca.2021.103857.

[12] G. Menichetti, B. Ravandi, D. Mozaffarian, et al. (2022), "Machine learning prediction of food processing", *medRxiv*, DOI: 10.1101/2021.05.22.21257615.

[13] J.C. Moubarac, D.C. Parra, G. Cannon, et al. (2014), "Food classification systems based on food processing: Significance and implications for policies and actions: A systematic literature review and assessment", *Curr. Obes. Rep.*, **3**(2), pp.256-272, DOI: 10.1007/s13679-014-0092-0.

[14] D.B. Haytowitz, J.K.C. Ahuja, X. Wu, et al. (2019), "USDA national nutrient database for standard reference, legacy release", *Nutrient Data Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, ARS, USDA*, DOI: 10.15482/USDA.ADC/1529216.

[15] P. Ma, Z. Zhang, Y. Li, et al. (2022), "Deep learning accurately predicts food categories and nutrients based on ingredient statements", *Food Chemistry*, **391**, DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.133243.

Ảnh hưởng của sodium humate và sodium lignosulfonate tới tính dẻo của phối liệu in 3D sản xuất sứ dân dụng

Nguyễn Thị Luyện*, Mai Văn Dương, Nguyễn Thu Hà

Viện Nghiên cứu Sành sứ Thủy tinh Công nghiệp, 132 Nguyễn Tuấn, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/10/2023; ngày chuyển phản biện 13/10/2023; ngày nhận phản biện 29/10/2023; ngày chấp nhận đăng 3/11/2023

Tóm tắt:

Tính dẻo là một tính chất vật lý quan trọng của vật liệu gốm, thể hiện khả năng tạo hình trong sản xuất gốm sứ truyền thống - được làm từ hỗn hợp chứa đất sét, cao lanh - trường thạch - thạch anh. Bài báo trình bày ảnh hưởng của phụ gia sodium humate và sodium lignosulfonate tới tính dẻo - đặc trưng bởi chỉ số dẻo và cường độ uốn mội của phối liệu in 3D sản xuất sứ dân dụng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi sử dụng sodium humate hàm lượng 0,1-0,5% khối lượng thì cường độ uốn mội của phối liệu tăng trong khi chỉ số dẻo không có sự thay đổi đáng kể so với mẫu không có phụ gia; hàm lượng sodium lignosulfonate 0,2-0,9% khối lượng thì cường độ uốn mội của phối liệu cũng có xu hướng tăng dần và bắt đầu có dấu hiệu giảm khi tăng hàm lượng phụ gia đến 1,0%, chỉ số dẻo của phối liệu tăng lên sau khi thêm 0,2% phụ gia sodium lignosulfonate nhưng sau đó có xu hướng giảm khi tăng hàm lượng. Trong khoảng hàm lượng khảo sát, cả 2 loại phụ gia đều làm tăng cường độ uốn mội và không làm thay đổi nhiều chỉ số dẻo nhưng cường độ uốn mội của phối liệu khi sử dụng sodium humate tăng cao hơn sodium lignosulfonate.

Từ khóa: cường độ uốn mội, sodium humate, sodium lignosulfonate, tính dẻo.

Chỉ số phân loại: 1.3, 2.5

1. Đặt vấn đề

Tính dẻo của phối liệu là khả năng tiếp nhận nước để hình thành một “trạng thái dẻo”, mà dưới tác dụng của lực cơ học trạng thái này bị biến dạng và hình dạng mới hình thành được giữ nguyên khi lực cơ học ngừng tác động. Tính dẻo trong quá trình xử lý vật liệu làm từ đất sét là một tính chất cơ bản vì nó xác định các thông số kỹ thuật để chuyển đổi phối liệu sứ thành một hình dạng nhất định bằng áp lực [1]. Nhờ tính dẻo mà phối liệu sứ có thể tạo hình bằng các phương pháp khác nhau như ép bán khô, tạo hình dẻo (ép dẻo, vuốt gắn ráp trong khuôn thạch cao) hay đổ rót hồ trong khuôn thạch cao. Tính dẻo của phối liệu sứ được đánh giá thông qua chỉ số dẻo, lượng nước tạo hình, cường độ uốn mội. Cường độ uốn mội của phối liệu là chỉ tiêu kỹ thuật rất quan trọng và biểu thị gián tiếp đặc tính dẻo của phối liệu sứ dân dụng. Thông thường, khi phối liệu có độ dẻo cao thì cường độ uốn mội cũng sẽ cao.

Ngày nay, nguồn nguyên liệu đang cạn kiệt dần, chất lượng nguyên liệu sử dụng cho sản xuất sứ dân dụng cũng theo đó giảm xuống, tính dẻo của phối liệu sứ dân dụng cũng vì thế giảm dần. Việc nghiên cứu các biện pháp nâng cao độ dẻo cho phối liệu sứ dân dụng đặc biệt là việc sử dụng phụ gia hóa dẻo hiện nay ngày càng được quan tâm. Với phối liệu sứ dân dụng tạo hình bằng công nghệ in 3D theo phương pháp đùn đòi hỏi phối liệu phải có độ dẻo tốt

để không làm đứt dòng liệu khi đùn, phối liệu cần có sự kết dính tốt, cường độ mội cao. Điều này đòi hỏi sự cần thiết việc sử dụng phụ gia tăng độ dẻo cho phối liệu để có thể tạo mẫu theo yêu cầu thiết kế sản phẩm. Những yếu tố tác động chủ yếu là chủng loại và hàm lượng phụ gia. Phụ gia hóa dẻo trong sản xuất sứ dân dụng có thể kể tới như bentonite, sodium humate, methyl cellulose và các dẫn xuất của cellulose, lignosulfonate. Do có khả năng hấp thụ nước và trương nở thể tích, bentonite có khả năng sử dụng như phụ gia hóa dẻo cho phối liệu [2]. Tuy nhiên, do khả năng hấp thụ nước và trương nở thể tích lớn dẫn tới làm tăng độ co sấy. Phụ gia có nguồn gốc từ cellulose làm tăng chỉ số dẻo của phối liệu sứ đồng thời làm tăng độ nhớt dẫn tới khó đùn dẻo [3]. Nghiên cứu này đã chứng minh sự cải thiện khả năng đùn của phối liệu thông qua chỉ số dẻo tăng và giúp quá trình đùn diễn ra dễ dàng. Việc bổ sung sodium lignosulfonate vào phối liệu sứ có thể làm giảm độ nhớt, giảm độ co ngót, giảm thời gian sấy và tăng độ bền cơ học của phối liệu [4]. Phụ gia sodium humate khi thêm vào phối liệu sứ có ảnh hưởng tích cực đến các đặc tính lưu biến, mang lại những cải thiện rõ rệt về cường độ uốn mội [5].

Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của sodium humate và sodium lignosulfonate tới độ dẻo và cường độ uốn mội của phối liệu in 3D sản xuất sứ dân dụng được nghiên cứu và thảo luận.

*Tác giả liên hệ: Email: luyen205@gmail.com

Effects of sodium humate and sodium lignosulfonate additives on the plasticity of 3D printing materials for ceramic tableware production

Thi Luyen Nguyen*, Van Duong Mai, Thu Ha Nguyen

Vietnam National Research Institute for Industrial Ceramic and Glass,
132 Nguyen Tuan Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

Received 10 October 2023; revised 29 October 2023; accepted 3 November 2023

Abstract:

Plasticity is an important physical property of ceramic materials. It demonstrates the ability to shape in traditional ceramic production - made from a mixture containing clay, kaolin-gypsum-quartz. In this article, the effects of sodium humate and sodium lignosulfonate additives on plasticity - characterised by the plasticity index and green flexural strength of 3D printing materials for ceramic tableware production are examined. The results show that when adding sodium humate content from 0.1-0.5 wt.%, the green flexural strength of the mixture increases while the plasticity index does not change significantly compared to the sample without additives. When adding sodium lignosulfonate additive from 0.2-0.9 wt.%, the green flexural strength of the mixture also tends to gradually increase and begins to decrease when increasing the additive content to 1.0 wt.%, the plasticity of the mixture increases after adding 0.2 wt.% sodium lignosulfonate but then tends to decrease with increasing content. Within the testing content range, both additives increase the green flexural strength and do not change the plasticity index much, but the green flexural strength of the mixture when using sodium humate increased higher than sodium lignosulfonate.

Keywords: green flexural strength, plasticity, sodium humate, sodium lignosulfonate.

Classification numbers: 1.3, 2.5

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu, hóa chất

Các hóa chất, nguyên liệu được sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: Sodium humate dạng bột đen hàm lượng 45%, độ hòa tan trong nước $\geq 80\%$; sodium lignosulfonate dạng bột màu vàng nâu, hàm lượng $\geq 95\%$, độ hòa tan trong nước $\geq 98\%$; phối liệu sứ trắng dân dụng có thông số như ở bảng 1.

Bảng 1. Thông số kỹ thuật của phối liệu sứ trắng dân dụng.

Độ mịn d_{95} (μm)	Chỉ số dẻo P. Fefferkorn (%)	Cường độ uốn mội (N/mm^2)
18,01	21,48	1,82

2.2. Quy trình thí nghiệm

Phối liệu sứ sau khi ép lọc khung bản được sấy khô, tán nhỏ và cho qua sàng 1 mm. Hòa tan phụ gia hóa dẻo sodium humate, sodium lignosulfonate theo tỷ lệ ở bảng 2 và 3 vào lượng nước cần thiết để đạt độ ẩm đo độ dẻo. 20 mẫu với hàm lượng sodium humate 0,1-0,5% khối lượng được trộn với phối liệu khô đạt độ ẩm 19,5, 20, 20,5 và 21%. 32 mẫu với hàm lượng sodium lignosulfonate 0,2-1,0% khối lượng được trộn với phối liệu khô để đạt độ ẩm 19, 20, 21 và 22%. 4 mẫu phối liệu không có phụ gia được trộn với lượng nước cần thiết để đạt độ ẩm 20, 21, 22 và 23%.

Bảng 2. Chỉ số dẻo, độ ẩm tạo hình và cường độ uốn mội của phối liệu sử dụng sodium humate.

Mẫu	Hàm lượng sodium humate (% khối lượng)	Độ ẩm tạo hình (%)	Chỉ số dẻo P. Fefferkorn (%)	Cường độ uốn mội (N/mm^2)
S00	-	20,96	21,48	1,82
SH01	0,1	20,55	21,10	3,18
SH02	0,2	20,22	21,35	3,19
SH03	0,3	19,98	21,38	3,63
SH04	0,4	20,31	21,04	4,13
SH05	0,5	20,26	21,11	4,20

Bảng 3. Chỉ số dẻo, độ ẩm tạo hình và cường độ uốn mội của phối liệu sử dụng sodium lignosulfonate.

Mẫu	Hàm lượng phụ gia (% khối lượng)	Độ ẩm tạo hình (%)	Chỉ số dẻo P. Fefferkorn (%)	Cường độ uốn mội (N/mm^2)
S00	-	20,96	21,48	1,82
SL02	0,2	21,05	22,56	1,83
SL04	0,4	20,98	21,69	1,89
SL05	0,5	20,96	21,66	2,57
SL06	0,6	20,76	21,53	2,65
SL07	0,7	20,67	21,47	2,76
SL08	0,8	20,43	21,43	2,97
SL09	0,9	20,31	21,34	3,10
SL10	1,0	20,17	21,25	2,80

Các mẫu phối liệu sau khi trộn được luyện, bọc kín khí và ủ trong điều kiện thiếu sáng 24 h. Sau khi ủ, các mẫu được luyện lại, tạo mẫu và đo độ dẻo, cường độ uốn dọc.

2.3. Thực nghiệm xác định độ dẻo

Độ dẻo của phối liệu được xác định bằng phương pháp P. Fefferkorn. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc biến dạng mẫu do va chạm. Mẫu thử được tạo hình bằng khuôn kim loại có đường kính 33 mm và chiều cao ban đầu là 40 mm, bị biến dạng bởi một tấm rơi tự do có khối lượng 1,192 kg từ độ cao 186 mm. Các tỷ lệ biến dạng (γ) giữa h_0 (chiều cao ban đầu) với h_f (chiều cao sau biến dạng, $f=1÷n$) được gọi là hệ số biến dạng tương ứng là:

$$\gamma_1 = \frac{h_0}{h_1}, \gamma_2 = \frac{h_0}{h_2}, \gamma_3 = \frac{h_0}{h_3}, \gamma_4 = \frac{h_0}{h_4}, \dots \gamma_n = \frac{h_0}{h_n} \quad (1)$$

Từ các hệ số biến dạng của γ_i đối với từng độ ẩm W_i tương ứng ta xác định được các điểm: $[\gamma_1, W_1]$; $[\gamma_2, W_2]$; $[\gamma_3, W_3]$... $[\gamma_n, W_n]$. Qua các điểm đó ta vẽ được 1 đường cong trên đồ thị tương quan giữa độ ẩm tương đối (của các mẫu xác định được sau lúc tạo mẫu hình trụ, %) và trị số γ_{th} (ứng với các độ ẩm khác nhau của nguyên liệu). Đường cong càng dốc, chiều dài (đường cong) càng ngắn, tức là nguyên liệu sẽ phản ứng mạnh hơn với sự thay đổi của độ ẩm. Kết quả về hạn dẻo và độ ẩm tạo hình được xác định bằng phương pháp nội suy chỉ số dẻo (tương ứng với trị số $\gamma=3,3$) và độ ẩm tạo hình (tương ứng với trị số $\gamma=2,5$).

2.4. Thực nghiệm xác định cường độ uốn dọc

Cường độ uốn dọc được kiểm tra trên máy kéo nén gồm một dầm thép cứng nằm ngang, trên dầm có hai gối đỡ, có thể điều chỉnh khoảng cách giữa hai gối đỡ. Mẫu thử uốn được đặt trên các gối này. Lực uốn được truyền từ máy nén xuống mẫu nhờ một dầm thép phụ và gối truyền tải. Cường độ uốn dọc của mẫu được tính theo công thức sau:

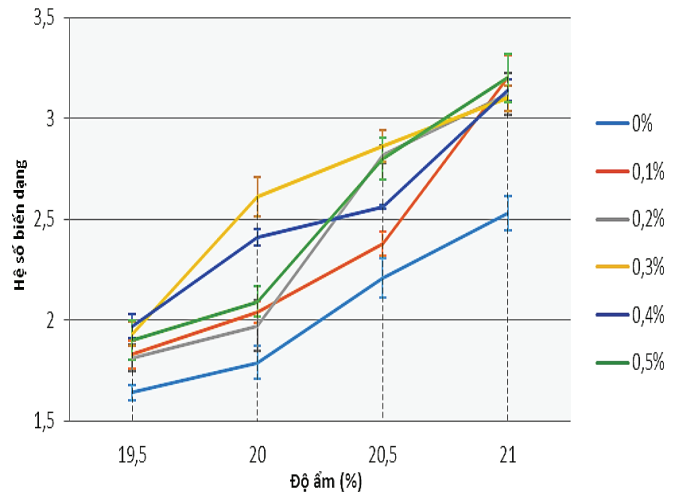
$$R_u = \frac{3}{2} \times \frac{P \times l}{b \times h^2} \quad (2)$$

trong đó: P là lực tối đa đạt được khi thử uốn là tải trọng uốn gây mẫu (N); l là khoảng cách giữa hai gối đỡ đặt mẫu (mm); b là chiều rộng tiết diện ngang của mẫu tại mặt gãy (mm); h là chiều cao tiết diện ngang của mẫu tại mặt gãy (mm). Mẫu thử nghiệm là các thanh mẫu được tạo từ phối liệu ở độ ẩm tạo hình. Các thanh mẫu có tiết diện hình chữ nhật với kích thước chiều dài 120-150 mm, chiều rộng 15-25 mm, chiều dày 8-12 mm. Các thanh mẫu được sấy khô trong tủ sấy đến nhiệt độ 105-110°C để xác định cường độ uốn dọc.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của phụ gia sodium humate

Hệ số biến dạng của phối liệu thay đổi theo hàm lượng phụ gia sodium humate sử dụng được tổng hợp ở hình 1.



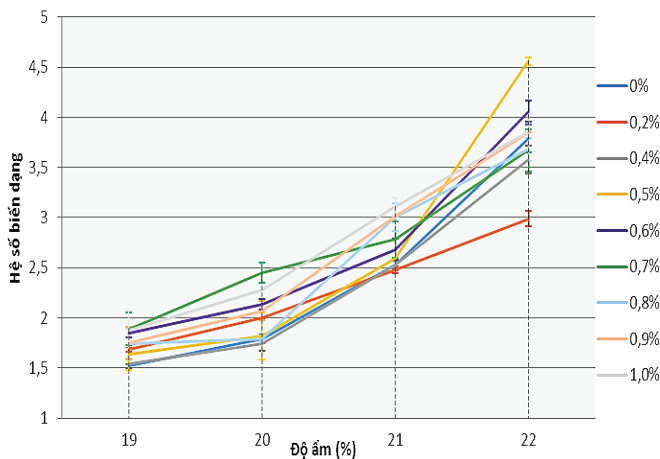
Hình 1. Sự phụ thuộc của hệ số biến dạng vào độ ẩm và hàm lượng sodium humate.

Hình 1 cho thấy, ở cùng một độ ẩm, độ chênh lệch giữa hệ số biến dạng của các mẫu có xu hướng tăng dần, sau đó dần thu hẹp khi tăng độ ẩm đến 21%. Mẫu phối liệu sử dụng 0,3% sodium humate có sự biến dạng lớn nhất so với các mẫu còn lại.

Độ ẩm tạo hình, chỉ số dẻo và cường độ uốn dọc của các mẫu phối liệu được tổng hợp ở bảng 2. Từ kết quả bảng 2 cho thấy, lượng nước tạo hình của phối liệu có xu hướng giảm rồi sau đó tăng trở lại khi thêm dần hàm lượng phụ gia sodium humate có mặt trong phối liệu sứ. Độ ẩm tạo hình thấp nhất là 19,98% khi hàm lượng sodium humate là 0,3%. Như vậy, sodium humate không ảnh hưởng nhiều tới chỉ số dẻo. Khoảng làm việc của phối liệu mở rộng lên tới 1,4% khi hàm lượng sodium humate sử dụng là 0,3%. Khi sử dụng phụ gia sodium humate, cường độ uốn dọc của phối liệu có xu hướng tăng dần. Cường độ uốn dọc của phối liệu tăng hơn 2 lần lên tới 4,2 N/mm² khi hàm lượng sodium humate sử dụng là 0,5%. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đó của C. Piribauer và cs (2020) [5] khi nghiên cứu về ảnh hưởng của sodium humate đến cường độ uốn dọc.

3.2. Ảnh hưởng của phụ gia sodium lignosulfonate

Hệ số biến dạng của phối liệu thay đổi theo hàm lượng sodium lignosulfonate được tổng hợp ở hình 2.



Hình 2. Sự phụ thuộc của hệ số biến dạng vào độ ẩm và hàm lượng sodium lignosulfonate.

Hình 2 cho thấy, chênh lệch giữa hệ số biến dạng của các mẫu phối liệu chứa phụ gia sodium lignosulfonate tăng khi so sánh tại cùng một độ ẩm. Điều này cho thấy, sodium lignosulfonate làm thay đổi độ ẩm của phối liệu sứ, làm giảm lượng nước tạo hình cần sử dụng cho mẫu phối liệu. Chỉ số dẻo, lượng nước tạo hình và cường độ uốn mội của các mẫu phối liệu được xác định ở bảng 3. Kết quả cho thấy, khi thêm phụ gia sodium lignosulfonate vào phối liệu thì độ dẻo ban đầu tăng lên đồng thời tăng lượng nước tạo hình. Nhưng sau khi tăng dần hàm lượng phụ gia sodium lignosulfonate lên 0,4% thì chỉ số dẻo giảm từ 22,56 xuống 21,69%, sau đó tiếp tục có xu hướng giảm nhẹ và không có sự thay đổi quá nhiều về độ dẻo. Lượng nước tạo hình có xu hướng giảm dần tương tự. Khi sử dụng phụ gia sodium lignosulfonate, cường độ uốn mội của phối liệu sứ có xu hướng tăng dần và đạt cao nhất là 3,1 N/mm² với hàm lượng phụ gia sodium lignosulfonate là 0,9%. Sau khi tiếp tục thêm sodium lignosulfonate là 1% vào phối liệu sứ thì cường độ uốn mội của phối liệu giảm xuống còn 2,8 N/mm². Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của A. Albertazzi và cs (2010) [4]. Tăng cường độ khi sử dụng sodium lignosulfonate là do sự tạo thành chuỗi polyme giữa các hạt liệu và hình thành liên kết giữa chúng, làm tăng độ dính của phối liệu [6, 7].

4. Kết luận

Nghiên cứu ảnh hưởng của sodium humate và sodium lignosulfonate tới độ dẻo và cường độ uốn mội của phối liệu sứ đã kết luận rằng: khi tăng dần hàm lượng sodium humate 0,1-0,5% khối lượng thì cường độ uốn mội của phối liệu sứ dân dụng in 3D có xu hướng tăng dần, nhưng chỉ

số dẻo không có sự thay đổi đáng kể so với mẫu không có phụ gia; khi tăng dần hàm lượng sodium lignosulfonate 0,2-0,9% khối lượng thì cường độ uốn mội của phối liệu sứ có xu hướng tăng dần. Tuy nhiên, khi thêm 1,0% sodium lignosulfonate thì cường độ uốn mội của phối liệu giảm, chỉ số dẻo của phối liệu có tăng lên sau khi thêm 0,2% phụ gia sodium lignosulfonate. Khi tiếp tục tăng dần đến 1,0% thì chỉ số dẻo của mẫu phối liệu có xu hướng giảm. Như vậy, phụ gia sodium humate mang lại nhiều ưu điểm hơn phụ gia sodium lignosulfonate khi sử dụng trong phối liệu sứ dân dụng in 3D bằng phương pháp dẻo. Mặc dù sodium humate và sodium lignosulfonate không làm thay đổi tính dẻo của phối liệu quá nhiều nhưng sodium humate với hàm lượng sử dụng trong mẫu phối liệu thấp hơn sodium lignosulfonate mà vẫn mang lại cho phối liệu sứ cường độ mội cao.

LỜI CẢM ƠN

Nội dung của bài báo là kết quả thực hiện nhiệm vụ: “Nghiên cứu chế tạo vật liệu in 3D sản xuất gốm sứ”, mã số KC-4.0.27/19-25 do Bộ Khoa học và Công nghệ quản lý, Viện Nghiên cứu Sành sứ Thủy tinh Công nghiệp chủ trì thực hiện. Nhóm nghiên cứu xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F.A. Andrade, H.A.A. Qureshi, D. Hotza (2011), “Measuring the plasticity of clays: A review”, *Applied Clay Science*, **51**(1-2), pp.1-7, DOI: 10.1016/j.clay.2010.10.028.
- [2] W. Ryan, C. Radford (1999), *Whiteware: Production, Testing and Quality Control*, The Institute of Material, 3rd Edition, 333pp.
- [3] S. Sales, M.C. Bordes, M. Prudent, et al. (2018), *Improvement of Behaviour in The Extrusion of Low Plasticity Ceramics*, Qualicer, 4pp.
- [4] A. Albertazzi, L. Esposito, E. Rastelli, et al. (2010), “Evaluation of performance of modified sodium lignosulfonate additives as reinforcing agent in porcelain stoneware tiles”, *Boletín De La Sociedad Espanola De Ceramica Y Vidrio*, **49**(4), pp.265-270.
- [5] C. Piribauer, R. Knodt, S. Link, et al. (2020), “Humic substances as additives in ceramic clay and bodies”, *Ceramic Forum International*, **97**(1-2), pp.36-42.
- [6] B. Ta'negonbadi, R. Noorzad (2018), “Physical and geotechnical long-term properties of lignosulfonate-stabilized clay: An experimental investigation”, *Transportation Geotechnics*, **17A**, pp.41-50, DOI: 10.1016/j.trgeco.2018.09.001.
- [7] A.K. Singh, J.P. Sahoo (2021), “Undrained cyclic loading response of lignosulfonate treated high plastic clay”, *Soil Dynamics and Earthquake Engineering*, **150**, DOI: 10.1016/j.soildyn.2021.106943.

Phân tích đồng thời chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin sử dụng cảm biến điện hóa với điện cực graphene đa lớp chế tạo bằng phương pháp điện hóa trong dung môi hữu cơ

Trịnh Thị Tuyết^{1,2}, Đỗ Thị Nhật Uyên^{1,2}, Tạ Thị Thảo², Vũ Thị Thu Hà¹,
Lê Thị Vinh Hạnh³, Lê Minh Thành⁴, Phạm Thị Hải Yến^{1*}

¹Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 19 Lê Thánh Tông, phường Phan Chu Trinh, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

³Khoa Hóa - Lý kỹ thuật, Học viện Kỹ thuật Quân sự, 236 Hoàng Quốc Việt, phường Cổ Nhuế 1, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

⁴Khoa Hóa và Môi trường, Trường Đại học Thủy lợi, 175 Tây Sơn, phường Trung Liệt, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 19/6/2023; ngày chuyển phản biện 22/6/2023; ngày nhận phản biện 13/7/2023; ngày chấp nhận đăng 17/7/2023

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, 3 thuốc kháng sinh chloramphenicol (CAP), amoxicillin (AMX) và enrofloxacin (ENR) lần đầu tiên được phân tích đồng thời sử dụng cảm biến điện hóa. Điện cực graphene đa lớp dùng trong cảm biến được chế tạo trực tiếp, nhanh chóng từ graphite bằng phương pháp một bước áp thế điện hóa trong dimethyl sulfoxide. Các kỹ thuật chụp ảnh hiển vi điện tử quét và quét thế vòng điện hóa đã thể hiện cấu trúc dạng tấm nano đa lớp graphene của điện cực với diện tích hoạt động điện hóa lớn, hoạt tính điện hóa tốt. Điện cực cho tín hiệu oxy hóa điện hóa tương ứng với 3 kháng sinh tốt nhất khi chế tạo ở thế -5 V trong 20 s. Trong các điều kiện tối ưu, cảm biến đã thể hiện khả năng phân tích đa chất hiệu quả cao khi tín hiệu của 3 chất tách biệt rõ ràng và tuyến tính tốt với nồng độ của chúng ($R^2 > 0,99$). Cảm biến có độ chính xác cao, độ nhạy tốt với giới hạn phát hiện của CAP, AMX và ENR lần lượt là 0,060, 0,381 và 0,109 μM . Tính khả dụng của cảm biến được thể hiện qua độ thu hồi chấp nhận được của cả 3 kháng sinh khi phân tích đồng thời trong mẫu nước hồ.

Từ khóa: bóc lớp điện hóa, cảm biến điện hóa, graphene, phân tích đồng thời, thuốc kháng sinh.

Chỉ số phân loại: 1.4, 1.5, 2.4

1. Giới thiệu

Trong những năm gần đây, việc lạm dụng thuốc kháng sinh trong điều trị y tế và trong chăn nuôi đã và đang trở thành mối lo ngại toàn cầu. Ước tính lượng tiêu thụ thuốc kháng sinh trên toàn cầu trong chăn nuôi sẽ tăng 67% từ năm 2010 đến năm 2030 [1]. Dư lượng thuốc kháng sinh phát thải ra môi trường và trong thực phẩm có thể xâm nhập vào cơ thể con người và gây ra các vấn đề nghiêm trọng về sức khỏe. Một hậu quả vô cùng nghiêm trọng của việc lạm dụng thuốc kháng sinh là hiện tượng kháng thuốc kháng sinh, do tạo ra các vi khuẩn và các gen kháng kháng sinh. Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), thuốc kháng sinh (ngay cả ở nồng độ thấp) có thể tạo điều kiện cho các chủng vi khuẩn kháng thuốc phát triển mạnh. WHO đã xếp kháng thuốc kháng sinh là một trong mười mối đe dọa hàng đầu đối với sức khỏe toàn cầu trong năm 2019 và đã cảnh báo việc tiêu thụ thuốc kháng sinh ở mức cao ở một số quốc gia đang dẫn đến sự xuất hiện của các bệnh nhiễm trùng siêu vi khuẩn chết người [2-4]. Ở Việt Nam, một số thuốc kháng sinh đã, đang được sử dụng trong chăn nuôi có thể kể đến là CAP, AMX và ENR. Trong đó, CAP là thuốc đã bị đưa vào danh sách cấm sử dụng trong sản xuất, kinh doanh động vật thủy sản và trên cạn, ENR bị cấm sử dụng với động vật thủy sản [5]. Trong khi đó, AMX tuy vẫn được cấp phép sử dụng,

nhưng nhiều khi còn bị lạm dụng, sử dụng không đúng liều lượng và mục đích. Theo quy định của Ủy ban châu Âu, CAP bị cấm sử dụng trong khi giới hạn dư lượng tối đa (MRLs) của các thuốc kháng sinh trong các loại thịt là 50 $\mu\text{g/kg}$ với AMX và 100 $\mu\text{g/kg}$ với ENR [6].

Với các lý do trên, để xác định và kiểm soát hàm lượng, dư lượng kháng sinh trong thực phẩm cũng như nguồn nước, đòi hỏi phải có các phương pháp phân tích có độ chính xác và độ nhạy cao, có khả năng phân tích đa chất tốt để có thể phân tích được nhiều loại thuốc kháng sinh cùng lúc. Ngày nay, một số phương pháp phân tích thuốc kháng sinh như sắc ký lớp mỏng [7], điện di mao quản [8], sắc ký khí ghép nối khối phổ, sắc ký lỏng hiệu năng cao, sắc ký lỏng siêu hiệu năng cao ghép nối khối phổ [9, 10] đã được sử dụng trong phân tích với hiệu quả cao. Tuy nhiên, chúng có chi phí đầu tư cao, vận hành phức tạp. Do vậy, phương pháp phân tích điện hóa đang là một phương pháp thay thế hiệu quả trong định tính và định lượng các thuốc kháng sinh do có quy trình phân tích đơn giản, nhanh chóng, xử lý mẫu đơn giản, tiết kiệm mà vẫn đảm bảo được tính chính xác và độ nhạy tốt [11].

Graphene là vật liệu chế tạo cảm biến điện hóa cho hiệu quả cao do có độ dẫn điện tốt, diện tích hoạt động lớn, tốc độ chuyển điện tích nhanh và cửa sổ điện hóa rộng. Các

*Tác giả liên hệ: Email: haiyen25986@gmail.com

Simultaneous analysis of chloramphenicol, amoxicillin, and enrofloxacin using electrochemical sensors with multilayer graphene electrodes fabricated by electrochemical methods in an organic solvent

Thi Tuyet Trinh^{1,2}, Thi Nhat Quyen Do^{1,2}, Thi Thao Ta²,
Thi Thu Ha Vu¹, Thi Vinh Hanh Le³,
Minh Thanh Le⁴, Thi Hai Yen Pham^{1*}

¹Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology,
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Chemistry, University of Science, Vietnam National University - Hanoi,
119 Le Thanh Tong Street, Phan Chu Trinh Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

³Department of Chemical Engineering, Military Technical Academy,
236 Hoang Quoc Viet Street, Co Nhue 1 Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

⁴Faculty of Chemistry and Environment, Thuyloi University,
175 Tay Son Street, Trung Liet Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 19 June 2023; revised 13 July 2023; accepted 17 July 2023

Abstract:

In this study, three antibiotics, chloramphenicol (CAP), amoxicillin (AMX), and enrofloxacin (ENR), were simultaneously analysed for the first time using electrochemical sensors. The multilayer graphene electrode used in the sensor was directly and rapidly fabricated from graphite through a one-step chronoamperometry method. Scanning electron microscopy and cyclic voltammetry techniques revealed the multilayer-graphene nanostructure of the prepared electrode with a large electrochemically active surface area and good electrochemical activity. The electrode exhibited the best electrochemical oxidation signals corresponding to the three antibiotics when fabricated at a potential of 5 V for 20 s. Under optimised conditions, the sensor demonstrated excellent multi-analyte analysis capability, with clear separation and good linearity of the signals of the three antibiotics ($R^2 > 0.99$) in relation to their concentrations. The sensor exhibited high accuracy and sensitivity with detection limits of 0.060, 0.381, and 0.109 μM for CAP, AMX, and ENR, respectively. The applicability of the sensor was demonstrated through acceptable recoveries of all three antibiotics when simultaneously analysed in a lake water sample.

Keywords: antibiotic, electrochemical exfoliation, electrochemical sensor, graphene, simultaneous analysis.

Classification numbers: 1.4, 1.5, 2.4

điện cực biến tính với graphene chủ yếu được chế tạo bằng phương pháp nhỏ giọt để đưa một lớp phủ của graphene lên bề mặt điện cực nền. Do graphene phân tán kém trong dung môi nước, dễ dàng bị kết tụ lại, từ đó làm cho lớp phủ không đồng đều ở các lần biến tính, cũng như làm giảm tính ổn định của lớp phủ trên bề mặt điện cực, từ đó dẫn đến độ tái lặp không được như mong muốn [12]. Một số nghiên cứu đã sử dụng dạng dẫn xuất của graphene như graphene oxit (GO) và graphene oxit dạng khử (rGO) để làm vật liệu biến tính điện cực. GO có khả năng phân tán tốt nên dễ dàng tạo lớp phủ đồng đều và bền vững [13]. Trong khi đó, rGO có mạch liên hợp được tái thiết lập gần giống với graphene giúp tăng khả năng trao đổi điện tích; thêm vào đó, một số nhóm chức còn tồn tại trong cấu trúc rGO hỗ trợ cho việc làm giàu chất phân tích lên bề mặt điện cực [14].

Với mục đích làm tăng độ nhạy và tăng khả năng phân tích đa chất khi phân tích đồng thời các thuốc kháng sinh CAP, AMX và ENR, nghiên cứu này hướng đến việc sử dụng vật liệu điện cực graphene thay vì các dẫn xuất của nó. Để tránh những hạn chế của việc biến tính bằng phương pháp nhỏ giọt, chúng tôi đã đưa ra một phương pháp biến tính bề mặt điện cực graphite bằng các tấm graphene một cách trực tiếp bằng kỹ thuật điện hóa. Phương pháp được thực hiện với quy trình một bước, đơn giản và tiết kiệm chi phí đã tạo nên một lớp bề mặt gồm các tấm graphene đa lớp. Phương pháp phân tích điện hóa sử dụng điện cực graphene chế tạo được đã thể hiện hiệu quả tốt khi phân tích đồng thời CAP, AMX và ENR trong môi trường nước. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên phân tích đồng thời 3 kháng sinh này bằng phương pháp điện hóa.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất và thiết bị

CAP ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$) (98%, Đức), AMX trihydrate ($\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (98%, Đức), ENR ($\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{F}_1\text{N}_3\text{O}_3$) (99%, Đức), dimethyl sulfoxide $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$ (DMSO) (99%, Anh), ethanol (99%, Trung Quốc), H_2SO_4 (98%, Đức), H_3PO_4 (85%, Đức), KOH ($\geq 85\%$, Đức), KH_2PO_4 ($\geq 99,5\%$, Đức), K_2HPO_4 ($\geq 98\%$, Đức), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (99%, Trung Quốc) được sử dụng mà không cần tinh chế lại. Điện cực graphite có xuất xứ từ Nhật Bản (99,9% C).

Các phép đo điện hóa được tiến hành trên máy đo điện hóa đa năng CPA-HH5 tự chế tạo tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Hệ đo điện hóa gồm 3 điện cực: điện cực làm việc là các điện cực được chế tạo, điện cực so sánh Ag/AgCl/KCl bão hòa và điện cực đối platin dạng sợi. Thiết bị chụp ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường (FESEM) S-4800 của Hitachi (Nhật Bản) được sử dụng để quan sát hình thái học, thành phần hóa học của vật liệu trên bề mặt điện cực.

2.2. Chế tạo điện cực biến tính graphene trong dung môi dimethyl sulfoxide

Bề mặt điện cực graphite được biến tính trực tiếp thành dạng graphene bằng việc bóc lớp bề mặt sử dụng kỹ thuật áp thế tĩnh trong dung môi dimethyl sulfoxide (DMSO). Đầu tiên, bề mặt điện cực graphite (pG) được mài phẳng với giấy mài có độ nhám 5000, sau đó được làm sạch bằng việc ngâm rửa trong etanol 2 phút và tia rửa với nước cất 2 lần. Sau đó được đưa vào dung dịch DMSO chứa 5 mM KCl tiến hành biến tính bề mặt bằng việc áp một điện thế có giá trị âm, không đổi, được đặt vào hệ trong một thời gian nhất định. Điện cực sau khi chế tạo được ký hiệu là mLG. Thử đặt vào hệ và thời gian áp thế được khảo sát để lựa chọn các thông số phù hợp nhất.

2.3. Phân tích thuốc kháng sinh

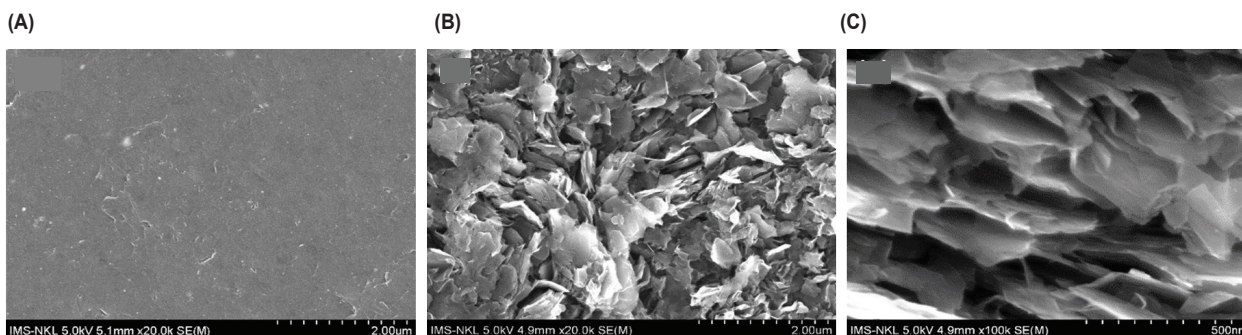
Điện cực mLG được sử dụng để phân tích các thuốc kháng sinh CAP, AMX và ENR bằng phương pháp Von-Ampe hòa tan hấp phụ kỹ thuật sóng vuông (AdS-SWV). Ban đầu, điện cực được nhúng trong dung dịch phân tích (đệm photphat - PBS) ở trạng thái mạch hở để hấp phụ làm giàu các kháng sinh lên bề mặt điện cực, sau đó thế trong mạch được quét theo chiều anot từ $U_1 = -0,8$ V đến $U_2 = 1,2$ V để ghi các tín hiệu dòng oxy hóa tương ứng với các thuốc kháng sinh. Các thông số khác của kỹ thuật AdS-SWV bao gồm: chiều cao sóng vuông 20 mV, bước nhảy thế 5 mV, thời gian mỗi bước thế 20 s và tần số sóng vuông 25 Hz.

Các điều kiện phân tích như pH của môi trường điện ly, thời gian hấp phụ làm giàu được tối ưu hóa trước khi xây dựng đường chuẩn phân tích.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tính chất bề mặt điện cực mLG

Hình thái học bề mặt điện cực được đánh giá qua các ảnh SEM ở các độ phóng đại khác nhau (hình 1). Theo đó, điện cực graphite ban đầu có bề mặt bằng phẳng, rải rác trên đó là các cạnh hẹp của các tấm graphite xếp phía ngoài của bề mặt điện cực (hình 1A). Hình ảnh này thể hiện rõ ràng đặc trưng cấu trúc tinh thể của graphite: bao gồm các lớp graphite xếp chồng lên nhau và liên kết bởi liên kết Van-der-Waal.



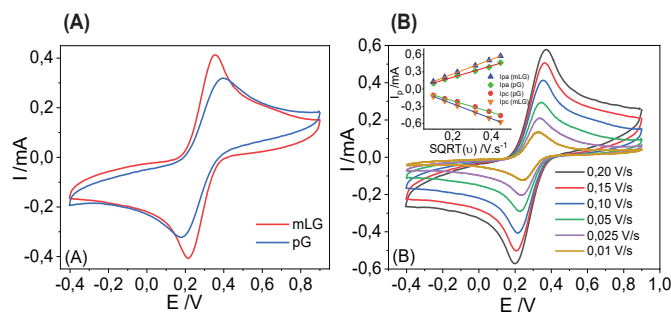
Hình 1. Ảnh hiển vi điện tử quét phát xạ trường của điện cực graphite (A) và graphene mLG chế tạo trong dung môi dimethyl sulfoxide ở các độ phóng đại khác nhau (B, C).

Ở cùng độ phóng đại với ảnh SEM của bề mặt pG, hình 1B lại cho thấy một cấu trúc bề mặt gồ ghề, lởm chởm của điện cực mLG. Kết quả được giải thích là do dưới tác động của việc áp thế âm để bóc lớp bề mặt điện cực, các ion kali được thu hút đến và xen kẽ vào giữa các lớp than chì làm mở rộng khoảng cách giữa các lớp đó. Do đó, tạo điều kiện thuận lợi cho các phân tử DMSO tiếp tục xen vào giữa và đóng vai trò cung cấp động lực để phá vỡ lực liên kết Van-der-Waal giữa các lớp graphite [15]. Kết quả là các lớp graphite trên bề mặt điện cực bị bung mở khỏi sự liên kết với các lớp khác và bóc tách ra thành các tấm graphene với hầu hết các cạnh hướng ra phía ngoài bề mặt. Ở độ phóng đại lớn hơn (100 K) (hình 1C), có thể thấy các tấm graphene có kích cỡ nano với bề dày cỡ vài nanomet và khoảng cách giữa các tấm graphene là từ 10 đến vài trăm nanomet. Như vậy, các tấm graphene có cấu trúc đa lớp. Cấu trúc bề mặt gồm các tấm graphene đa lớp sẽ làm tăng đáng kể diện tích hoạt động bề mặt của điện cực mLG so với điện cực pG ban đầu, do đó giúp tăng cường tín hiệu phân tích của các thuốc kháng sinh CAP, AMX, ENR.

3.2. Tính chất điện hóa của điện cực chế tạo được

Hoạt tính điện hóa của các điện cực (pG và mLG) được nghiên cứu bằng phương pháp quét thế vòng (CV) trong dung dịch $K_3[Fe(CN)_6]$ /PBS 0,1 M pH 7 từ $U_1 = 0,9$ V đến $U_2 = -0,4$ V, tốc độ quét thế 0,1 V/s.

Kết quả đo trình bày trên hình 2 cho thấy, 2 peak xuất hiện trên các đường đo của cả 2 điện cực pG và mLG tương ứng với sự oxy hóa khử của hệ thuận nghịch $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ là rõ ràng, với chiều cao peak oxy hóa và peak khử là gần bằng nhau và các giá trị này tuyến tính với căn bậc hai của tốc độ quét thế (hình 2B). Điều này thể hiện hoạt tính điện hóa tốt của cả 2 điện cực, phản ứng thuận nghịch điện hóa diễn ra thuận lợi trên các điện cực. Tuy nhiên, khi so với các peak ghi được trên điện cực pG, các peak trên điện cực mLG sắc nhọn, rõ ràng và cao hơn, khoảng cách giữa hai peak (ΔE_p) hẹp hơn (0,138 V nhỏ hơn 0,215 V của pG) (hình 2A). Các kết quả này cho thấy, điện cực mLG có tính chất điện hóa tốt hơn điện cực pG.



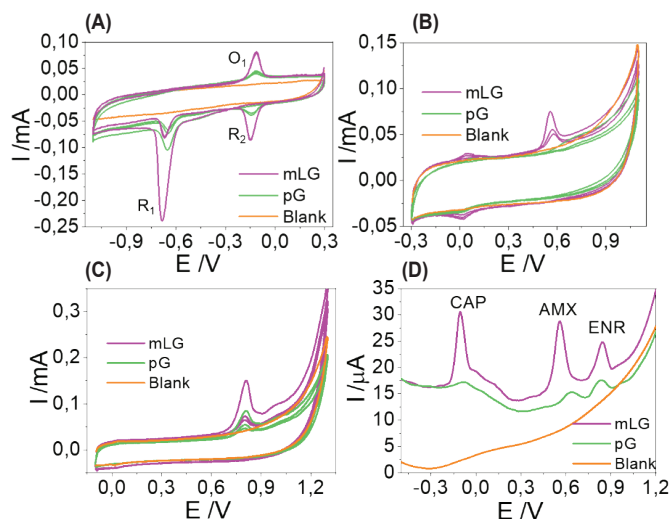
Hình 2. Đường CVs trong dung dịch $K_3[Fe(CN)_6]$ 5 mM/PBS 0,1 M của 2 điện cực (A) và của điện cực mLG ở các tốc độ quét thể khác nhau (B). Sự phụ thuộc của chiều cao peak oxy hóa khử vào căn bậc hai của tốc độ quét thể (inset).

Sự khác biệt này được cho là do các tấm graphene kích thước nano đã thúc đẩy tốc độ chuyển điện tích trên bề mặt điện cực làm tăng độ sắc nhọn của peak và làm giảm ΔE_p . Việc chiều cao các peak đo được trên điện cực mLG tăng cao là do cấu trúc gồ ghề, lờm chờm của bề mặt điện cực làm tăng diện tích hoạt động điện hóa (ECSA) của nó. Diện tích hoạt động điện hóa trên bề mặt các điện cực có thể được tính theo phương trình Randle - Sevcik [16]. Kết quả ECSA tính được của điện cực mLG là $0,35 \text{ cm}^2$, cao gấp 1,3 lần so với ECSA của điện cực graphite ban đầu ($0,27 \text{ cm}^2$). Sự tăng lên của ECSA khi điện cực graphite được biến tính thành dạng có cấu trúc các tấm graphene đa lớp hứa hẹn một khả năng làm tăng được độ nhạy của điện cực khi phân tích các thuốc kháng sinh.

3.3. Tính chất điện hóa của các thuốc kháng sinh trên điện cực đã chế tạo

Tính chất điện hóa của CAP, AMX và ENR trên điện cực mLG được đánh giá bằng phương pháp CV và phương pháp SW-AdSV khi đo trong nền đệm PBS có và không có các thuốc kháng sinh.

Trên đường CV của CAP quét theo chiều đi catot và chiều về anot (hình 3A) có thể dễ dàng quan sát thấy 1 peak khử rõ ràng, sắc nhọn ở chu kỳ quét đầu tiên tại thế cỡ -0,68 V (peak R_1). Sau đó, một peak oxy hóa xuất hiện ở khoảng thế -0,10 V (peak O_1), kéo theo đó là peak khử ở -0,15 V (peak R_2) bắt đầu xuất hiện từ chu kỳ thứ hai. Các peak này sắc nhọn và giảm mạnh ở chu kỳ thứ 2. Do trên đường đo trong dung dịch nền đệm PBS không quan sát thấy các peak này, nên chúng tương ứng với phản ứng điện hóa thuận nghịch của sản phẩm phụ sinh ra từ CAP [15]. Như vậy, bên cạnh peak khử trực tiếp CAP, peak oxy hóa O_1 của sản phẩm khử CAP trên điện cực cũng khá rõ ràng, và cũng phụ thuộc vào hàm lượng CAP trong dung dịch phân tích. Do đó, trong trường hợp quan tâm đến tín hiệu anot, peak O_1 này cũng có thể được sử dụng để phân tích CAP. Đối với AMX, khi so với đường đo trong dung dịch nền, đường đo trong dung dịch AMX xuất hiện một peak anot rõ ràng ở cỡ 0,55 V (hình 3B).



Hình 3. Đường CVs của các điện cực pG và mLG trong các dung dịch PBS pH 8,0 chứa chloramphenicol 100 μM (A); amoxicillin 200 μM (B); enrofloxacin 100 μM (C); đường AdS-SWVs của các điện cực trong dung dịch chứa đồng thời chloramphenicol 5 μM , amoxicillin 60 μM , enrofloxacin 3 μM (D).

Trong khi đó, trên đường đo trong dung dịch ENR, một peak oxy hóa được quan sát thấy ở khoảng thế 0,81 V (hình 3C) tương ứng với sự oxy hóa của ENR. Việc không quan sát thấy peak khử trên chiều quét ngược lại đã khẳng định phản ứng oxy hóa điện hóa của AMX và ENR là bất thuận nghịch. Như vậy, 3 thuốc kháng sinh CAP, AMX và ENR đều có tín hiệu tốt trên điện cực mLG và cao hơn nhiều lần so với tín hiệu tương ứng ghi được trên điện cực graphite ban đầu. Điều này là do diện tích hoạt động của điện cực sau khi biến tính tăng mạnh, đồng thời cấu trúc nano của điện cực có thể làm xúc tác cho phản ứng điện hóa của thuốc kháng sinh diễn ra được thuận lợi hơn. Tính chất này được thể hiện rõ ràng ở việc tín hiệu peak AMX trên điện cực mLG dịch về âm hơn với hình dạng sắc nhọn và rõ ràng hơn nhiều so với tín hiệu AMX trên điện cực pG ban đầu. Bên cạnh đó, các tín hiệu oxy hóa tương ứng với 3 kháng sinh ở vị trí khác biệt nhau đáng kể. Do đó, điện cực mLG có khả năng phân tích được đồng thời ba chất CAP, AMX, ENR sử dụng các peak oxy hóa này bằng cách thực hiện kỹ thuật quét thế anot có sự hấp phụ làm giàu để làm tăng độ nhạy.

Tín hiệu phân tích đồng thời 3 kháng sinh CAP 5, AMX 60 và ENR 3 μM ghi bằng kỹ thuật Von-Ampe sóng vuông trình bày trên hình 3D, cho thấy, sự xuất hiện 3 peak oxy hóa trên cả 2 điện cực graphite và graphite biến tính bằng graphene đa lớp. Vị trí các peak tương ứng với CAP, AMX và ENR trên điện cực mLG lần lượt ở giá trị thế khoảng -0,10, 0,56 và 0,84 V. Tín hiệu các peak này ghi được trên điện cực mLG cao hơn nhiều lần so với các peak ghi được trên điện cực graphite ban đầu: gấp 11,2 lần với CAP, 6,9 lần với AMX và 2,3 lần với ENR.

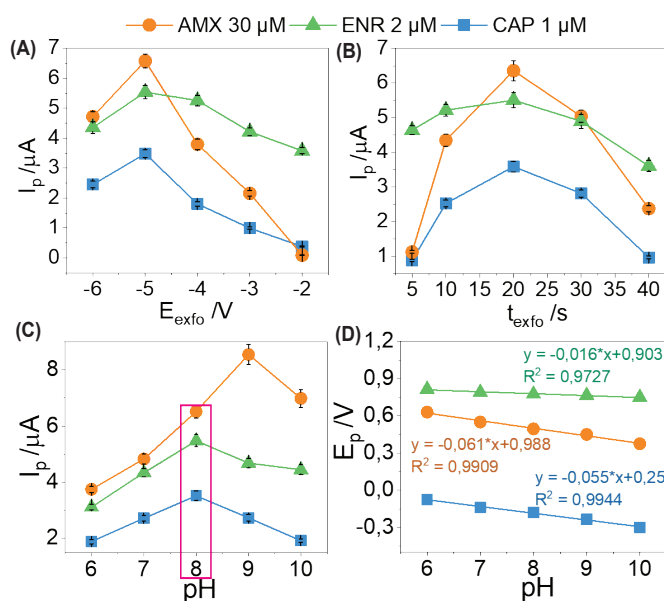
3.4. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến tín hiệu 3 thuốc kháng sinh trên điện cực mLG

Các điều kiện bao gồm điều kiện chế tạo điện cực (thể và thời gian bóc lớp chế tạo mLG) và điều kiện phân tích (pH dung dịch phân tích và thời gian hấp phụ làm giàu) được khảo sát để lựa chọn các điều kiện tối ưu nhất cho việc phân tích đồng thời 3 kháng sinh CAP, AMX và ENR sử dụng điện cực biến tính graphene đa lớp.

3.4.1. Khảo sát ảnh hưởng của thể và thời gian bóc lớp tạo mLG đến tín hiệu chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin

Thể bóc lớp (E_{exfo}) được thay đổi từ -2 đến -6 V với thời gian bóc lớp 20 s để đánh giá ảnh hưởng của nó đến tín hiệu kháng sinh đo được và kết quả được trình bày trên hình 4A. Theo đó, khi thể đặt vào hệ để bóc lớp tạo mLG càng âm, tín hiệu của 3 thuốc kháng sinh ghi được đều tăng dần. Tuy nhiên, khi thể bóc lớp là 6 V, tín hiệu ghi được lại giảm hơn so với thể -5 V. Điều này được cho là do với giá trị thể -6 V, việc bóc lớp xảy ra mạnh mẽ, đột ngột. Dẫn đến hệ quả là nhiều lớp bên ngoài bị bong hẵn ra khỏi bề mặt điện cực và các lớp còn lại trên bề mặt kết nối với nhau kém chặt chẽ hơn. Kết quả là diện tích hoạt động điện hóa và khả năng trao đổi electron trên điện cực chế tạo ở -6 V giảm so với -5 V. Do đó, -5 V được lựa chọn là thể bóc lớp để chế tạo điện cực mLG.

Với thể áp -5 V, thời gian áp thể biến tính điện cực (t_{exfo}) được khảo sát nhằm lựa chọn được điều kiện tối ưu. Đáp ứng dòng peak oxy hóa của 3 kháng sinh theo t_{exfo} được thể hiện trên hình 4B. Theo đó, tín hiệu của 3 kháng sinh thu được tốt nhất ở t_{exfo} là 20 s.



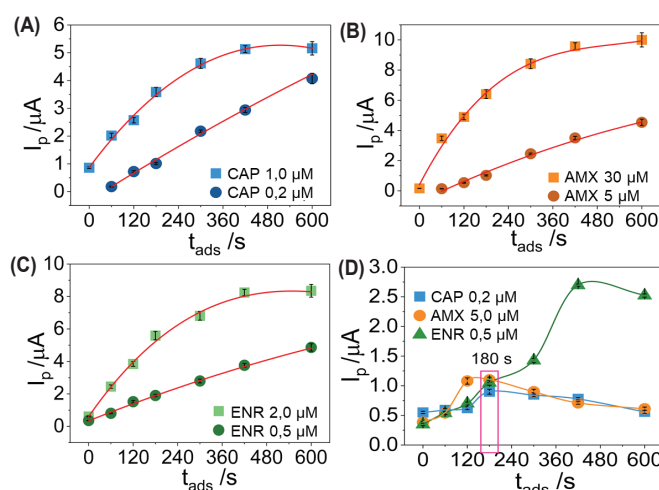
Hình 4. Sự phụ thuộc của chiều cao peak tương ứng với chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin vào thể bóc lớp (A), thời gian bóc lớp (B) chế tạo điện cực mLG, và vào pH dung dịch đo (C); sự phụ thuộc của thể đỉnh các peak vào pH dung dịch đo (D).

3.4.2. Khảo sát ảnh hưởng của pH dung dịch điện ly đến tín hiệu chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin

pH dung dịch điện ly ảnh hưởng lớn đến trạng thái tồn tại của các chất trong dung dịch cũng như khả năng tạo phức, hấp thụ các chất lên bề mặt điện cực và ảnh hưởng đến cân bằng của phản ứng điện hóa khi có sự tham gia của ion H^+ , do đó ảnh hưởng rõ ràng đến tín hiệu peak điện hóa ghi được. Do đó, tín hiệu AdS-SWV của phản ứng điện hóa của CAP, AMX và ENR trong dung dịch PBS 0,1 M ở các pH khác nhau từ 6,0 đến 10,0 được ghi lại để lựa chọn được điều kiện dung dịch phù hợp cho phép phân tích các chất này. Kết quả trình bày trên hình 4C cho thấy, với CAP và ENR, tín hiệu peak cao nhất ghi được trong dung dịch có pH 8, trong khi đó với AMX, tín hiệu peak tăng dần khi pH tăng dần từ 6 đến 9 và giảm nhẹ ở pH 10. Như vậy, để phân tích đồng thời ba chất CAP, AMX và ENR, pH 8 được lựa chọn để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo. Đối với thể đỉnh peak (E_p), sự biến thiên tuyến tính của E_p của cả 3 kháng sinh theo sự thay đổi của pH (hình 4D) đã chứng tỏ phản ứng oxy hóa điện hóa của ba chất đều có sự tham gia của H^+ . Giá trị hệ số góc 0,055 và 0,061 của phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng với CAP và AMX là gần với giá trị lý thuyết của phương trình Nerst (0,059) ở điều kiện số proton bằng số electron. Như vậy, có thể kết luận rằng, phản ứng oxy hóa điện hóa của chúng có tỷ lệ số electron/số proton bằng 1. Riêng với ENR, với hệ số góc 0,016, tỷ lệ số electron/số proton tính ra được là 4/1.

3.4.3. Khảo sát ảnh hưởng của thời gian hấp phụ đến tín hiệu chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin

Thời gian hấp phụ (t_{ads}) được khảo sát trong khoảng từ 0 đến 600 s khi ghi đo tín hiệu của các chất trong dung dịch PBS 0,1 M (pH 8). Tín hiệu các chất phụ thuộc vào thời gian hấp phụ được khảo sát riêng rẽ, đồng thời và được trình bày ở hình 5.



Hình 5. Sự phụ thuộc của chiều cao peak vào thời gian hấp phụ tương ứng với chloramphenicol (A), amoxicillin (B) và enrofloxacin (C) khi đo riêng rẽ và khi đo đồng thời (D).

Các kết quả cho thấy, khi đo riêng rẽ từng chất, ở nồng độ thấp (CAP 0,2 μM , AMX 5 μM , ENR 0,5 μM), tốc độ hấp phụ của các chất lên bề diện cực là nhanh chóng. Ở các nồng độ lớn hơn, quá trình hấp phụ làm giàu các chất tăng nhanh ở trong khoảng 180 s đầu, sau đó thay đổi không đáng kể do quá trình hấp phụ dần đạt đến cân bằng. Khi đo đồng thời ba chất, tín hiệu peak của các chất tăng dần khi t_{ads} tăng dần đến 180 s. Sau đó, xu hướng biến đổi có sự khác biệt so với khi đo riêng rẽ từng chất: tín hiệu của CAP và AMX bị giảm dần, trong khi đó, tín hiệu của ENR tăng mạnh cho đến khi t_{ads} bằng 420 s và giảm nhẹ ở t_{ads} bằng 600 s (hình 5D). Điều này có thể là do có sự cạnh tranh hấp phụ giữa các chất, cụ thể ENR có khả năng dễ dàng được hấp phụ lên bề mặt diện cực mLG hơn CAP và AMX. Như vậy, thời gian hấp phụ làm giàu phù hợp cho việc phân tích đồng thời 3 chất CAP, AMX và ENR sử dụng điện cực mLG là 180 s.

3.5. Đường chuẩn, giới hạn phát hiện, độ tái lập khi phân tích đồng thời chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin

Các đường Von-Ampe hòa tan hấp phụ quét thế sóng vuông được tiến hành trong các dung dịch có nồng độ tăng dần của CAP, AMX và ENR trong khoảng thế từ 0,5 đến 1,2 V để thu được các peak oxy hóa riêng biệt tương ứng với 3 thuốc kháng sinh (hình 6A). Dải nồng độ xây dựng đường chuẩn của từng chất là: 0,05-2,0 μM với CAP, 1,5-60 μM với AMX và 0,1-4,0 μM với ENR. Dòng peak oxy hóa ghi được của từng chất tăng tuyến tính với nồng độ của chúng theo phương trình hồi quy tuyến tính tương ứng là: $I_p (\mu\text{A}) = 3,42 \times C (\mu\text{M}) + 0,21$ ($R^2 = 0,9904$) với CAP (hình 6C), $I_p (\mu\text{A}) = 0,22 \times C (\mu\text{M}) - 0,08$ ($R^2 = 0,9962$) với AMX (hình 6D), và $I_p (\mu\text{A}) = 2,98 \times C (\mu\text{M}) - 0,31$ ($R^2 = 0,9949$) với ENR (hình 6E).

Giới hạn phát hiện (LOD) của các kháng sinh được tính toán từ đường chuẩn ở các nồng độ thấp theo công thức $\text{LOD} = 3\sigma/b$, trong đó σ là độ lệch chuẩn của giá trị đo thực tế so với đường chuẩn và b là hệ số góc của đường chuẩn. Giá trị LOD tính được của các kháng sinh lần lượt là: $\text{LOD}(\text{CAP}) = 0,060 \mu\text{M}$, $\text{LOD}(\text{AMX}) = 0,381 \mu\text{M}$, $\text{LOD}(\text{ENR}) = 0,109 \mu\text{M}$.

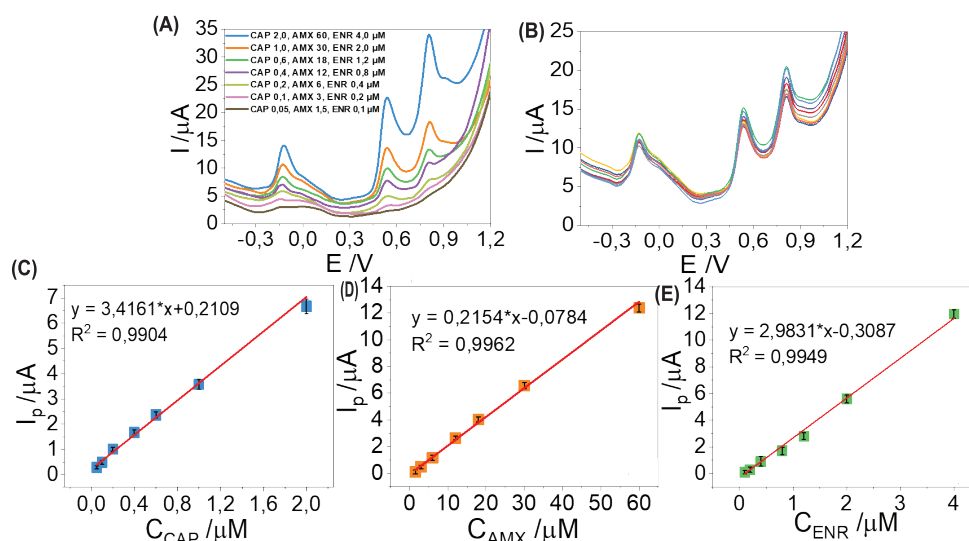
Bên cạnh đó, từ 8 lần đo đồng thời ba chất trên tám điện cực được làm mới (hình 6B), các giá trị RSD 7,1% với CAP, 6,5% với AMX và 7,1% với ENR tính toán được đã thể hiện độ tái lập tốt của điện cực khi phân tích đồng thời 3 kháng sinh.

Các kết quả trên đã chứng tỏ đặc tính tuyệt vời của vật liệu mLG đã giúp quy trình phân tích phân tích đồng thời CAP, AMX và ENR đạt được độ nhạy cao và độ tái lập tốt, có khả năng ứng dụng vào phân tích các mẫu thực tế.

3.6. Phân tích đồng thời chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin trong nền mẫu thực

Để chứng thực tính thực tiễn và độ tin cậy của phép phân tích, cảm biến với điện cực mLG được sử dụng để thử nghiệm phân tích đồng thời CAP, AMX và ENR trong mẫu nước Hồ Tây (Hà Nội). Đường đo trong mẫu nước Hồ Tây ban đầu không phát hiện thấy có các thuốc kháng sinh nghiên cứu. Sau đó, CAP, AMX và ENR được thêm vào mẫu với một nồng độ chính xác để thu được mẫu thêm chuẩn (spike sample). Các kháng sinh trong mẫu này được phân tích bằng phương pháp thêm chuẩn sử dụng kỹ thuật AdS-SWV.

Theo kết quả trình bày trong bảng 1, phép phân tích đồng thời CAP, AMX và ENR có độ thu hồi nằm trong khoảng giá trị độ thu hồi chấp nhận được theo quy định của Hiệp hội các nhà hoá phân tích chính thống (AOAC) [17] đối với cả 3 thuốc kháng sinh. Điều này chứng tỏ phương pháp có



Hình 6. Đường Ad-SWVs đo đồng thời chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin ở các nồng độ khác nhau (A) và đo tái lập trên 8 điện cực được làm mới (B); đường chuẩn tương ứng với chloramphenicol (C), amoxicillin (D) và enrofloxacin (E).

độ đúng tốt. Bên cạnh đó, độ lặp lại tốt của kết quả phân tích thể hiện qua giá trị RSD thấp (<5%) của 3 lần đo đã thể hiện độ chụm tốt của phương pháp phân tích. Các kết quả này chứng tỏ, phương pháp AdS-SWV sử dụng điện cực mLG phân tích đồng thời CAP, AMX và ENR có độ chính xác cao.

Bảng 1. Kết quả phân tích đồng thời chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin trong nền mẫu nước Hồ Tây.

Thuốc kháng sinh	Nồng độ thuốc kháng sinh (μM)		Recovery (%)	RSD (%)
	$C_{\text{thêm}}$	$*C_{\text{tính trung bình}}$		
CAP	0,1	0,107	107,0	2,5
AMX	3,0	2,95	98,3	4,8
ENR	0,2	0,201	100,6	1,2

* $C_{\text{tính trung bình}}$: nồng độ trung bình tính từ 3 lần đo.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, cảm biến sử dụng điện cực tiên tiến graphene đa lớp (mLG) lần đầu tiên được chế tạo trực tiếp từ điện cực graphite bằng kỹ thuật thể tích một bước và lần đầu tiên được ứng dụng vào phân tích đồng thời 3 thuốc kháng sinh CAP, AMX và ENR. Các đặc tính nổi bật của điện cực như diện tích hoạt động điện hóa lớn, hoạt tính xúc tác điện hóa, xuất phát từ cấu trúc nano dạng tấm đa lớp là lý do chính giúp cho điện cực có hiệu quả cao trong việc cải thiện tín hiệu điện hóa của các kháng sinh. Sự tách biệt rõ ràng của các peak tương ứng với 3 chất để thể hiện khả năng phân tích đa chất tốt của điện cực, giúp cho cảm biến hoàn toàn có khả năng phân tích đồng thời 3 chất ở cùng điều kiện đo. Ở các điều kiện tối ưu khi chế tạo điện cực và trong quá trình phân tích, đường chuẩn xây dựng được khi đo đồng thời có độ tuyến tính tốt, dải tuyến tính rộng với cả 3 thuốc kháng sinh. Cảm biến có giới hạn phát hiện thấp, độ tái lặp tốt và chính xác cao. Khả năng ứng dụng điện cực được xác nhận bằng việc phân tích CAP, AMX và ENR trong nền mẫu nước Hồ Tây. Như vậy, bằng một phương pháp chế tạo đơn giản, nhanh chóng và tiết kiệm chi phí, điện cực graphene đa lớp thu được có độ nhạy tốt, độ ổn định cao và khả năng phân tích đa chất tuyệt vời, từ đó nâng cao hiệu quả phân tích đồng thời 3 thuốc kháng sinh CAP, AMX và ENR.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED), mã số đề tài 104.06.2019.27. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] T.P.V. Boeckel, C. Brower, M. Gilbert, et al. (2015), "Global trends in antimicrobial use in food animals", *Proceedings of The National Academy of Sciences*, **112**(18), pp.5649-5654, DOI: 10.1073/pnas.1503141112.

[2] World Health Organization (2014), *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance*, <https://www.who.int/publications/i/item/9789241564748>, accessed 8 June 2023.

[3] EClinicalMedicine (2021), "Antimicrobial resistance: A top ten global public health threat", *EClinicalMedicine*, **41**, DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.101221.

[4] J. O'Neill (2016), "Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations", *Review on Antimicrobial Resistance*, https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf, accessed 8 June 2023.

[5] Ministry of Agriculture and Rural Development (2016), *Circular 10/2016/TT-BNNPTNT, Promulgating The List of Veterinary Drugs Permitted for Circulation and Prohibited for Use in Vietnam* (in Vietnamese).

[6] The European Commission (2010), *Commission Regulation (EU) No. 37/2010 on Pharmacologically Active Substances and Their Classification Regarding Maximum Residue Limits in Foodstuffs of Animal Origin*, 72pp.

[7] R.E. Saraya, Y.F. Hassan, W.E. Eltoukhi, et al. (2023), "Application of the green analytical procedure index to the simultaneous analysis of co-formulated tinidazole and ciprofloxacin in pure form, tablet dosage form, and human plasma using an environmentally friendly micellar high-performance thin-layer chromatographic technology", *JPC - J. of Planar Chromat. - Modern TLC*, **36**, pp.21-30, DOI: 10.1007/s00764-023-00225-4.

[8] J. Yang, L. Chen, Q. Wang, et al. (2023), "Determination of nitroimidazole antibiotics based on dispersive solid-phase extraction combined with capillary electrophoresis", *Electrophoresis*, **44**(7-8), pp.634-645, DOI: 10.1002/elps.202200114.

[9] I.S. Voronov, D.I. Falev, N.V. Ul'yanovskii, et al. (2023), "Suspect screening and semi-quantification of macrolide antibiotics in municipal wastewater by high-performance liquid chromatography-precursor ion scan tandem mass spectrometry", *Chemosensors*, **11**(1), DOI: 10.3390/chemosensors11010044.

[10] L. Li, Y. Yin, G. Zheng, et al. (2022), "Determining β -lactam antibiotics in aquaculture products by modified QuEChERS combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS)", *Arab. J. of Chem.*, **15**(7), DOI: 10.1016/j.arabjc.2022.103912.

[11] C. Liu, B. Li, M. Liu, et al. (2022), "Demand, status, and prospect of antibiotics detection in the environment", *Sensors and Actuators B: Chemical*, **369**, DOI: 10.1016/j.snb.2022.132383.

[12] L. Fu, S. Mao, F. Chen, et al. (2022), "Graphene-based electrochemical sensors for antibiotic detection in water, food and soil: A scientometric analysis in CiteSpace (2011-2021)", *Chemosphere*, **297**, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.134127.

[13] S.H. Yeh, M.S. Huang, C.H. Huang (2022), "Electrochemical sensors for sulfamethoxazole detection based on graphene oxide/graphene layered composite on indium tin oxide substrate", *J. of The Taiwan Inst. Chem. Eng.*, **131**, DOI: 10.1016/j.jtice.2021.11.022.

[14] M. Shah, P. Kolhe, A. Roberts, et al. (2022), "Ultrasensitive immunosensing of Penicillin G in food samples using reduced graphene oxide (rGO) decorated electrode surface", *Colloids Surf. B: Bio.*, **219**, DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112812.

[15] P. Yu, S.E. Lowe, G.P. Simon, et al. (2015), "Electrochemical exfoliation of graphite and production of functional graphene", *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **20**(5-6), pp.329-338, DOI: 10.1016/j.cocis.2015.10.007.

[16] M. Zhou, T. Tang, D. Qin, et al. (2023), "Hematite nanoparticle decorated MIL-100 for the highly selective and sensitive electrochemical detection of trace-level paraquat in milk and honey", *Sensors and Actuators B: Chemical*, **376**, DOI: 10.1016/j.snb.2022.132931.

[17] A.G. González, M.A. Herrador, A.G. Asuero (2010), "Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards", *Talanta*, **82**(5), pp.1995-1998, DOI: 10.1016/j.talanta.2010.07.071.

Tổng hợp copolyme cấu trúc liên hợp poly(3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole) bằng phương pháp điện hóa

Hoàng Duy Minh¹, Trần Lê Hải², Nguyễn Quốc Việt¹, Trần Đức Châu³, Lưu Hoàng Tâm³,
Trương Thu Thủy³, Nguyễn Trần Hà^{1,3*}

¹Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Quốc gia về Vật liệu Polymer và Composite, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 268 Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Kỹ thuật Hóa học, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 268 Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Khoa Công nghệ Vật liệu, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, 268 Lý Thường Kiệt, phường 14, quận 10, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 11/7/2023; ngày chuyển phân biện 13/7/2023; ngày nhận phân biện 3/8/2023; ngày chấp nhận đăng 7/8/2023

Tóm tắt:

Tổng hợp copolyme bằng phương pháp điện hóa của benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole và 3-hexylthiophene (3HT), hứa hẹn sẽ tạo ra một dạng polyme mới có mức năng lượng HOMO và LUMO cải tiến phù hợp với mức năng lượng HOMO và LUMO của hợp chất nhận điện tử như là Fullerene (C60), hoặc các chất nhận điện tử hữu cơ thế hệ mới trong cấu trúc dị thể của pin mặt trời hữu cơ. Tổng hợp điện hóa copolyme (3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole) bằng phương pháp quét thể tuyến tính đã được nghiên cứu và ứng dụng cho tổng hợp copolyme dẫn điện sử dụng cực điện hóa, bao gồm điện cực làm việc là tấm đế ITO (kính phủ oxit thiếc indium), điện cực so sánh Ag/AgCl trong KCl bão hòa và điện cực đếm platinum. Copolyme tổng hợp được phân tích và đánh giá thông qua phép đo điện hóa, quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FT-IR), kính hiển vi điện tử quét (SEM) và quang phổ tử ngoại khả kiến (UV-Vis). Copolyme tổng hợp có mức bandgap 2,09 eV và mức năng lượng HOMO, LUMO lần lượt là -5,21 và -3,12 eV. Mức năng lượng HOMO - LUMO của copolyme bán dẫn phù hợp với mức năng lượng của hợp chất nhận điện tử Fullerene, vì vậy copolyme dẫn điện phù hợp cho ứng dụng chế tạo pin mặt trời hữu cơ với cấu trúc dị thể.

Từ khóa: copolyme, điện trùng hợp, pin mặt trời, polyme dẫn điện.

Chỉ số phân loại: 1.4, 2.4, 2.5

1. Đặt vấn đề

Từ lâu, lớp phủ polyme trên các bề mặt vật liệu luôn là đề tài thú vị cho các ứng dụng đáng kinh ngạc của chúng. Lớp phủ có thể được thực hiện để đạt được các đặc tính thẩm mỹ, chống ăn mòn hoặc tính chất quang điện tốt hơn [1-3]. Các ứng dụng tiềm năng này sẽ tạo ra một thế hệ thiết bị điện như: hình thành các điện cực mới cho siêu tụ điện, pin mặt trời mỏng hơn có thể dễ dàng thích ứng trên mọi bề mặt, cửa sổ thông minh có thể thay đổi màu sắc bằng nhiệt độ khí quyển hoặc điện, các thiết bị tích hợp có thể được sử dụng để chuyển đổi và lưu trữ năng lượng [4-8].

Trong nhiều loại polyme dẫn điện, nhóm thiophene là một trong những loại phổ biến nhất được nghiên cứu và thu hút nhiều sự quan tâm. Polythiophene ổn định trạng thái kích thích và trạng thái trung tính. Cùng với đó là cấu trúc linh hoạt giúp phát triển nhiều ứng dụng, ví dụ như dây dẫn, vật liệu điện cực hoặc chất bán dẫn hữu cơ [9, 10]. Tuy nhiên, do tương tác mạnh mẽ giữa các liên kết hóa học nên polythiophene cực kỳ khó hòa tan, gây bất lợi trong các ứng dụng công nghệ, do đó, các nhóm alkyl có 4 phân tử carbon trở lên đã được thêm vào cấu trúc ở vị trí 3 để cải thiện độ hòa tan của polyme, bằng cách làm suy yếu sự tương tác mạnh giữa các

chuỗi polythiophene [11]. Poly(3-alkylthiophene) có độ dẫn điện cao, ổn định cao trong các môi trường khác nhau, có thể hòa tan trong nhiều dung môi thông thường. Đặc biệt, poly(3-hexylthiophene - P3HT) đã được nghiên cứu trong một thời gian dài và áp dụng cho nhiều thiết bị. Tuy nhiên, tính chất quay của liên kết hóa học trong khung mạch dẫn đến giảm đặc tính phẳng giữa các đơn vị thiophene. Do đó, mục tiêu chính là khóa toàn bộ hệ thống liên kết π thành một hệ thống "đồng phẳng" thông qua một đơn vị thứ hai. Một trong những tiền đề để cải thiện các đặc tính phẳng là tạo ra một đơn vị cầu nối giữa các vòng thiophene liên kế thành 2,2'-bithiophene. Khi thêm các liên kết của các đơn vị cầu, độ cố định của khung mạch carbon trong phân tử tăng lên rất nhiều, do đó hạn chế chuyển động quay của liên kết, giúp cải thiện các đặc điểm phẳng [12]. Dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole là một trong những đơn vị giàu điện tử được nghiên cứu rộng rãi cho các ứng dụng thiết bị quang điện tử. Dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole có cấu trúc là một hệ vòng liên hợp bithiophene với một nguyên tử cầu nitrogen có khả năng cho electron mạnh và có tính phẳng. Các copolyme kết hợp giữa dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole và các dẫn xuất thiophen đã cho hiệu quả tuyệt vời về độ linh động hạt tải nhờ vào bản chất giàu electron của pyrrole. Sự kết hợp của các đơn vị dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole phẳng giúp

*Tác giả liên hệ: Email: nguyentranha@hcmut.edu.vn

Synthesis of conjugated structural copolymer poly(3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole) by electrochemical method

Duy Minh Hoang¹, Le Hai Tran², Quoc Viet Nguyen¹,
Duc Chau Tran³, Hoang Tam Luu³,
Thu Thuy Truong³, Tran Ha Nguyen^{1,3*}

¹National Key Laboratory of Polymer and Composite Materials,
Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam National University - Ho Chi Minh City,
268 Ly Thuong Kiet Street, Ward 14, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Department of Chemical Engineering, Ho Chi Minh City University of Technology,
Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 268 Ly Thuong Kiet Street,
Ward 14, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Department of Materials Technology, Ho Chi Minh City University of Technology,
Vietnam National University - Ho Chi Minh City, 268 Ly Thuong Kiet Street,
Ward 14, District 10, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 11 July 2023; revised 3 August 2023; accepted 7 August 2023

Abstract:

Electrochemical copolymer synthesis of benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole and 3-hexylthiophene (3HT) promises to create new polymer with suitable improved HOMO and LUMO with the energy level of acceptor compounds such as Fullerene (C60) or the novel accepted organic compound in the heterojunction in organic solar cell. Electrochemical synthesis of copolymer (3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole) by linear potential scanning method was studied and applied for synthesis of conjugated copolymer where three electrodes have been used for polymerisation including the working electrode of Indium Tin Oxide (ITO) substrate, the reference electrode of Ag/AgCl in saturated KCl and the counter electrode of platinum wire. The synthesised copolymer was characterised and evaluated through an electrochemical process, Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), scanning electron microscopy (SEM) and ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) measurements. The synthesised copolymer has a bandgap of 2.09 eV, HOMO and LUMO energy levels of -5.21 and -3.12 eV, respectively. The HOMO-LUMO of the synthesised conjugated copolymer is closed with the HOMO-LUMO of Fullerene; therefore, the conjugated copolymer is a potential material for the fabrication of organic solar cell.

Keywords: conductive polymer, copolymer, electropolymerisation, solar cell.

Classification numbers: 1.4, 2.4, 2.5

mở rộng liên hợp π và các tiểu đơn vị thiophene mang lại khả năng hòa tan tốt, độ dẫn cao và tính di động mang điện tích cao. Do đó, việc kết hợp các đơn vị dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole và các thiophene thay thế khác nhau vào mạch chính polyme giúp tăng cường khả năng hòa tan, giảm khoảng cách dải và đạt được các đặc tính điện tử nâng cao [13]. Trong bài báo này, chúng tôi khảo sát quá trình trùng hợp điện hóa để kết hợp 3HT và benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole, một loại monome trong nhóm dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole phổ biến. Việc lựa chọn monome benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole nhờ vào tính chất hút điện tử của nhóm carbonyl trong cấu trúc monome, với tính chất thu điện tử này copolyme tạo ra sẽ có tính chất cho nhận điện tử giữa đơn vị 3HT và benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole làm tăng khả năng chuyển dịch electron và lỗ trống đến các điện cực trong pin hữu cơ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp và phân tích các tính chất của copolyme.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu

Tiền chất: monome 3HT, 98% GC, AK Scientific), benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole (Arcos Organic, Mỹ). Chất hỗ trợ điện phân: LiClO_4 (AR, Xiya Reagent). Dung môi: Acetonitrile (Fisher Scientific, Mỹ) và tấm đế ITO (Trung Quốc).

2.2. Polyme hóa bằng phương pháp điện hóa

2.2.1. Lựa chọn điện thế quét

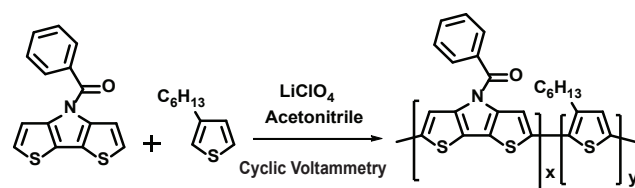
Ban đầu, chúng tôi đã khảo sát thông qua một loạt các thí nghiệm với monome 3HT ở nồng độ 0,05 M, sử dụng phương pháp Chrono trên thiết bị AUTOLAB ở điện thế lần lượt là 1,5, 1,6 và 1,8 V. Điện thế 1,5 V được chọn dựa trên nghiên cứu của R. Goncalves và cs (2017) [14].

2.2.2. Nồng độ

Để chọn nồng độ phù hợp cho các thí nghiệm, chúng tôi đã thực hiện một loạt các quá trình điện trùng hợp 3HT ở nồng độ 0,01; 0,02 và 0,05 M. Quy trình được thực hiện bằng cách sử dụng dạng Voltammetry quét tuyến tính từ 1,7 đến 1,8 V.

2.2.3. Điện trùng hợp poly(3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole)

Sơ đồ 1 trình bày phương trình phản ứng trùng hợp điện hóa của polyme (3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole).



Sơ đồ 1. Phương trình phản ứng trùng hợp điện hóa của polyme (3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole).

Dung dịch điện trùng hợp được thực hiện bằng cách hòa tan LiClO_4 0,1 M, monome *N*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d'*]pyrrole 0,002 M và monome 3HT 0,05 M vào 30 ml CH_3CN trong tế bào phản ứng, khuấy bằng đũa thủy tinh cho đến khi dung dịch đồng nhất và trong suốt, sau đó lắp các điện cực vào hệ thống điện hóa. Các điện cực trong thí nghiệm này là điện cực làm việc bằng tấm thủy tinh ITO 2 cm^2 , điện tích kính ITO phản ứng được giới hạn ở mức 1 cm^2 bằng keo dính. Điện cực so sánh Ag/AgCl trong KCl bão hòa và điện cực đối thành Pt. Quá trình thực hiện trên thiết bị AUTOLAB PGSTAT302N sử dụng Linear Sweep Voltammetry Potentiostatic, với khoảng điện thế từ 1,70-1,80 V, tốc độ quét là 0,0001 V/s. Sản phẩm được ký hiệu là P1.

2.2.4. Điện trùng hợp poly(3-hexylthiophene)

Trong cùng điều kiện, quy trình và nồng độ 3HT, tổng hợp mẫu homopolyme khác của 3HT để so sánh với sản phẩm thu được. Sản phẩm được ký hiệu là P2. P1 và P2 được rửa sạch trong CH_3CN và ngâm trong CH_3CN trong 30 phút để loại bỏ monome và LiClO_4 trên bề mặt.

2.2.5. Phương pháp nghiên cứu

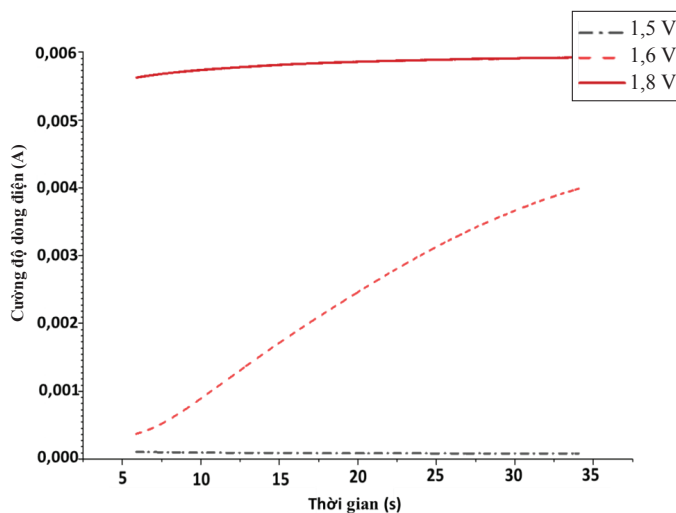
Các nghiên cứu được đo tại Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Quốc gia về Vật liệu Polymer và Composite (Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh). FT-IR được đo bởi thiết bị Bruker Tensor 27/Đức trong dải bước sóng 400-4000 cm^{-1} ở nhiệt độ phòng (25°C); phổ hấp thụ UV-Vis của tất cả các polyme trong dung dịch được khảo sát bằng thiết bị Shimadzu UV-Vis 2450 của Shimadzu Scientific ở nhiệt độ phòng (25°C) trong dải bước sóng 300-800 cm^{-1} , tốc độ quét 200 nm/phút. Các phép đo điện hóa được thực hiện trên thiết bị AUTOLAB (Hà Lan) với điện cực làm việc là kính ITO, điện cực đối là thanh Pt và điện cực so sánh là Ag/AgCl, dung dịch trợ điện ly 0,1 M LiClO_4 trong CH_3CN . Hình ảnh SEM được chụp bằng JSM-6480LV (Jeol, Nhật Bản) tại Phòng Thí nghiệm Công nghệ Nano của Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khảo sát điểm điện thế quét

Ở 1,5 V, không có sự hình thành màng nào được phát hiện. Sau 30 giây, trên bề mặt điện cực ITO vẫn không có dấu hiệu về màng polyme. Quy trình được dừng lại và sau đó điện thế được tăng lên 1,6 V. Ở 1,6 V, chất nền màu tím ngay lập tức xuất hiện. Tuy nhiên, nó không lan rộng trên điện cực ITO, mà phân tán thành cụm nhỏ, nồng độ cao nhất của chất nền được quan sát thấy ở rìa. Sự tạo mầm xảy ra ít ở giữa điện cực ITO làm cho chất nền mới không thể tạo thành một màng liên tục. Ở 1,8 V, hiện tượng là như nhau, tuy nhiên, lượng chất nền lớn hơn. Điều này có thể được giải thích ở cùng điều kiện nồng độ chất phản ứng, nhiệt độ và quy trình, điện thế cao hơn sẽ tăng cường dòng điện cao hơn như thể hiện trong hình 1, do đó, nhiều monome sẽ

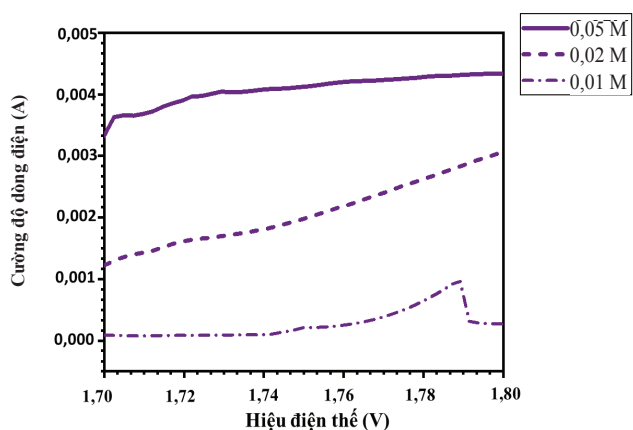
bị oxy hóa và sự hình thành polyme được cải thiện. Vì một lượng lớn polyme tạo hình là điều cần thiết cho các phân tích sâu hơn, chúng tôi quyết định sử dụng điện thế 1,8 V.



Hình 1. Biểu đồ quét thế poly(3-hexylthiophene) ở 1,5, 1,6 và 1,8 V.

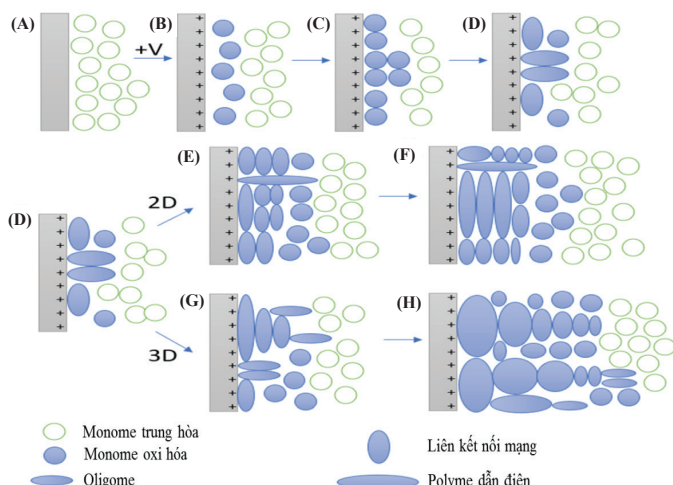
3.2. Khảo sát khoảng nồng độ

Ở nồng độ 0,01 M của 3HT, không có màng polyme hình thành trên điện cực cũng như sự thay đổi màu điện phân, dòng điện tăng nhẹ và đột ngột giảm ở 1,785 V xuống giá trị 0 A cho thấy rằng, quy trình không ổn định và không sử dụng để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo. Hiện tượng tương tự cũng xảy ra với nồng độ 0,02 M của 3HT, mặc dù có sự thay đổi rõ ràng trong dòng điện so với nồng độ 0,01 M, nhưng không có dấu hiệu xuất hiện của màng polyme. Sau đó, chúng tôi cũng từ từ tăng nồng độ của monome thêm 0,01 M mỗi lần, nhưng vẫn không thể phát hiện được sự hình thành màng polyme. Khi tăng nồng độ đến 0,05 M của 3HT và quá trình trùng hợp xảy ra (hình 2). Vì vậy, chúng tôi quyết định sử dụng 3HT nồng độ 0,05 M cho các thí nghiệm tiếp theo.



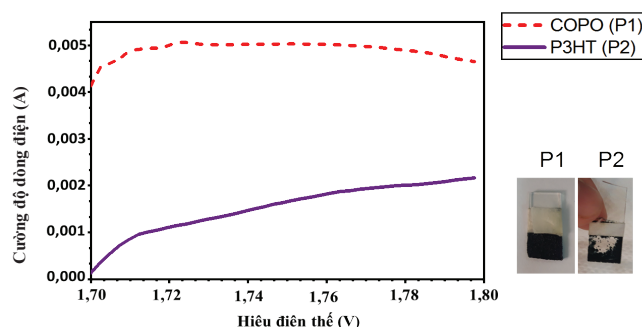
Hình 2. Biểu đồ đường cong phân cực trùng hợp poly(3-hexylthiophene) ở 0,01, 0,02 và 0,05 M.

3.3. Tổng hợp copolymer P1 và P2 bằng điện hóa



Hình 3. Cơ chế tổng hợp polymer bằng điện hóa. (A) Điện cực không tích điện không tương tác với monome; (B) Điện cực được tích điện dương tạo ra các loại nhóm có gốc tự do âm; (C) Liên kết với các monome có gốc tự do dương để tạo s-dimers; (D) Hình thành oligome sau khi có sự xuất hiện của các proton; (E, F) Tạo mầm 2D và sự hình thành polymer dạng 2D; (G, H) Tạo mầm 3D và hình thành các polymer dạng mạng 3D [15].

Sau khi điện trùng hợp, màng P1 nhận được là một màng phủ đều, màu xanh đậm. Trong khi trùng hợp, có thể nhìn thấy một phần nhỏ của dung dịch phía trước điện cực biến thành màu xanh đậm, báo hiệu các phản ứng điện hóa đã xảy ra. Sau đó, một lớp mỏng màu xanh đậm đã lắng đọng trên điện cực ITO, tuy nhiên, lớp này mỏng đến mức có thể nhìn xuyên qua. Hiện tượng này trùng hợp với cơ chế mà M.A. Valle và cs (2002) [16] đã đề cập trong nghiên cứu của họ (hình 3). Các monome gần điện cực nhanh chóng bị oxy hóa và kết nối để tạo ra oligome. Số lượng và trọng lượng phân tử của oligome liên tục tăng cho đến khi chúng đủ phân cực để lắng đọng trên bề mặt điện cực [15, 16]. Trong suốt thời gian đó, lớp màng trở nên dày hơn, tạo ra một lớp polymer màu xanh đậm đục và một phần hòa tan trở lại dung dịch. Tuy nhiên, cuối quá trình này, màu sắc của màng trở nên đậm hơn, các dòng vật liệu từ từ thay đổi thành màu xanh tím. Hiện tượng này được quan sát trong đường cong I-V trong hình 4. Ở điện thế 1,754 V, dòng điện bắt đầu giảm và giảm dần ở điện thế 1,766 V, chứng minh rằng có một sự thay đổi quan trọng trong bản chất của polymer. Khi bắt đầu quét thế, quá trình tạo mầm nhanh chóng xảy ra, tạo thành những chấm nhỏ màu tím nằm rải rác trên bề mặt điện cực. Theo thời gian, những chấm này trở nên lớn hơn và sau đó được kết nối để trở thành một lớp màng màu tím sẫm được phủ không đều trên bề mặt điện cực. Đường cong I-V cho thấy, polymer P2 có độ dẫn điện thấp hơn P1, do đó, độ dẫn điện đã tăng nhanh cho thấy quá trình điện trùng hợp đã xảy ra.

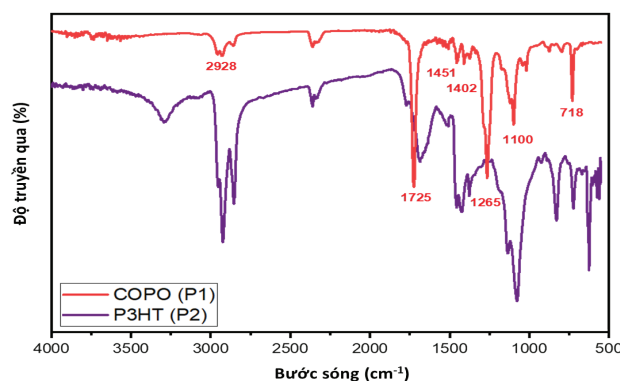


Hình 4. Đường cong I-V của quá trình điện trùng hợp P1 và P2.

Với cùng một điều kiện trong cả 2 thí nghiệm, nhưng với sự khác biệt rõ ràng về cơ chế tạo mầm: thay vì hình thành bằng cách kết nối các hạt lắng đọng trên bề mặt điện cực, để lan rộng tạo thành một màng hoàn chỉnh, lớp polymer P1 được hình thành đồng thời từ các oligome bị oxy hóa trong tế bào phản ứng. Sự khác biệt này là do monome *N*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole bị oxy hóa. Các monome này tăng cường khả năng hình thành liên kết để đạt được hiệu quả trùng hợp tốt hơn. Từ đó, có thể chứng minh sự tồn tại của một loại copolymer P1 mới khác với P2.

3.4. Phổ quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier

Nhóm chức năng quan trọng của polymer P1 và P2 đã được xác nhận bởi FT-IR. Mẫu rắn, được lấy từ điện cực phủ polymer. Phân tích được thực hiện ở chế độ phản xạ toàn phần suy giảm (ATR), dải bước sóng là 600-4000 cm^{-1} ở nhiệt độ phòng như trong hình 5.

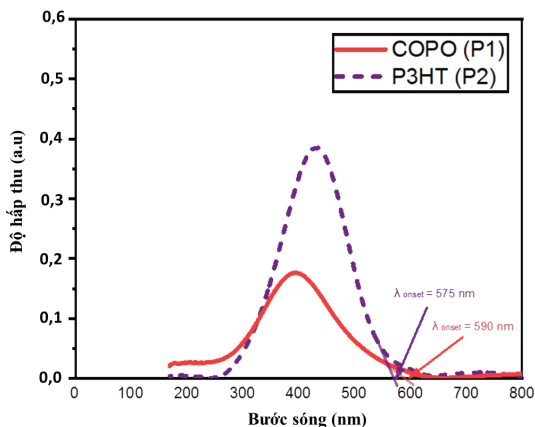


Hình 5. Phổ hồng ngoại của copolymer (P1, đỏ) và poly(3-hexylthiophene) (P2, tím).

So với P3HT (polymer P2), copolymer P1 có cùng đỉnh đặc trưng. Đỉnh ở 2928 cm^{-1} là do rung động C-H của các nhóm hexyl. Sự hiện diện của thiophene có thể được xác nhận bởi các đỉnh ở 1451 và 1402 cm^{-1} và rung động C-H của các vòng thơm ở 1100 và 718 cm^{-1} . Đỉnh ở 1265 cm^{-1} cho thấy, dao động C-N thơm, xác nhận sự hiện diện của nhóm pyrrole trong polymer. Các đỉnh mạnh ở 1725 cm^{-1} có thể được quy cho chuyển động kéo dài của C=O, tạo thành nhóm ketone (C=O) trong *N*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole [14, 17].

3.5. Phổ quang phổ tử ngoại khả kiến

P1 và P2 được đo bởi máy quang phổ UV-Vis. Mặc dù ngay từ đầu, mục đích của quá trình điện trùng hợp trên ITO là tạo điều kiện lý tưởng để phân tích UV-Vis trực tiếp, tuy nhiên, các màng quá dày và quá tối để phân tích trực tiếp. Vì vậy, hòa tan một phần của màng tách ra khỏi điện cực là điều cần thiết. Phổ được thể hiện trong hình 6.



Hình 6. Phổ UV-Vis của polyme P1 và P2 trong CHCl_3 .

Cả 2 polyme P1 và P2 đều cho thấy sự hấp thụ từ 200 đến 800 nm. Tuy nhiên, có một số khác biệt nhất định: Polyme P2 cho thấy mức hấp thụ tối đa ở 390 nm, trong khi polymer P1 cho thấy sự dịch chuyển màu đỏ rõ ràng, mức hấp thụ tối đa ở 430 nm, cao hơn 40 nm so với P2. Ngoài ra, mức hấp thụ tối đa trong P1 có độ hấp thụ cao hơn P2, cho thấy trong cấu trúc P1 có sự tương tác giữa các phân tử tốt hơn. Hơn nữa, khoảng bandgap E_g của P1 và P2, được tính bằng phương trình Planck và lambda onset ($E_g = hc/\lambda$), được xác định lần lượt là 2,09 và 2,15 eV. Sự dịch chuyển đỏ và giảm E_g là bằng chứng mạnh mẽ để kết luận chất đồng trùng hợp được tổng hợp thành công.

3.6. Quét thế tuần hoàn

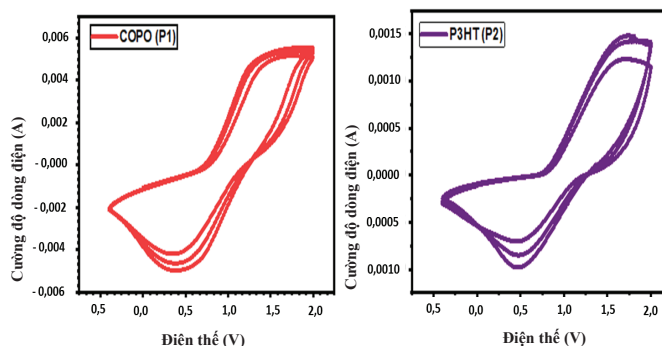
Mức năng lượng HOMO có thể được ước tính bằng cách sử dụng quét thế tuần hoàn. HOMO được tính bằng phương trình:

$$\text{HOMO} = -(E_{\text{onset}}(\text{oxd}) + E_{\text{Ferrocene}} + 4,8) \text{ eV} = -(E_{\text{onset}}(\text{oxd}) + 4,4) \text{ eV}$$

$$\text{LUMO} = E_g + \text{HOMO}$$

Với 4,8 eV là mức năng lượng HOMO đã biết của ferrocene làm chuẩn. Giá trị E_{oxd} của cặp oxy hóa khử ferrocene/ferrocenium so với Ag/Ag^+ là -0,4 eV [18]. Phép đo thế tuần hoàn được thực hiện bằng cách sử dụng điện cực phủ polyme tạo thành các thí nghiệm ở trên, ở nồng độ 0,1 M LiClO_4 hòa tan trong 30 ml CH_3CN với tốc độ quét ở 0,005 V/s từ -0,5 đến 2,0 V. Quá trình quét được lặp lại liên tục trong 4 lần để nhận được kết quả như trong hình 7. Kết quả cho thấy, một đỉnh oxy hóa rõ ràng và rộng. Các đỉnh rộng có thể giải thích rằng trong quá trình quét, các oligome trong màng tiếp tục trùng hợp để tạo thành các chuỗi dài hơn, hoặc có thể đó là kết quả của rối loạn cấu trúc. Trong

hình 7, tất cả các chu kỳ gần như nhau, cho thấy các màng ổn định và có tính thuận nghịch.



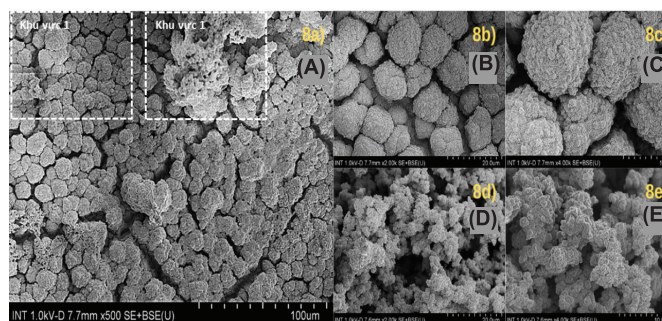
Hình 7. Quét thế vòng tuần hoàn của polyme P1 và P2.

Theo bảng 1 và hình 7, dòng điện tối đa của P1 (0,00380 A) lớn hơn nhiều so với P2 (0,00123 A), khoảng 3 lần trong cùng điều kiện tổng hợp. Điều này cho thấy, chiều dài liên hợp đã được cải thiện, sự tương tác giữa *N*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole và 3HT nâng cao hiệu quả trùng hợp, giúp polyme dẫn electron hiệu quả hơn. Ngoài ra, vì đỉnh oxy hóa của P1 gần đỉnh oxy hóa của P2, tỷ lệ monome 3HT bên trong chất đồng trùng hợp nhiều hơn *N*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole. So với kết quả đồng trùng hợp của 3HT và dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole, hiện tại vẫn chưa có nghiên cứu trong việc tổng hợp copolyme bằng phương pháp điện hóa.

Bảng 1. Các thông số của polyme P1 và P2.

Mẫu	E_{onset} (V)	E_g (eV)	HOMO (eV)	LUMO (eV)
P1	0,81	2,09	-5,21	-3,12
P2	0,72	2,15	-5,12	-2,97

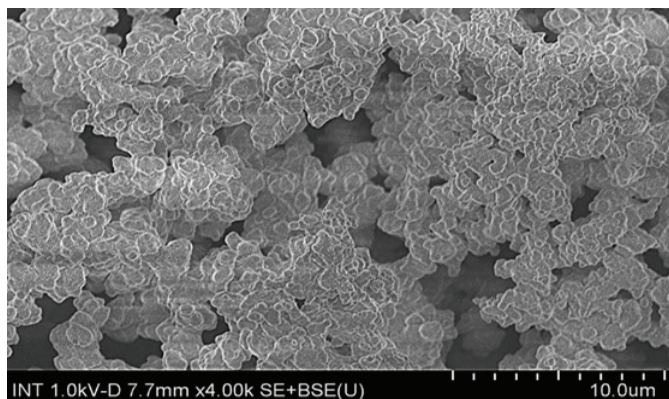
3.7. Ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM)



Hình 8. Ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM) của mẫu P1 ở 3 độ phóng đại: x500 (A), khu vực thứ nhất x2000 (B), khu vực thứ nhất x4000 (C), khu vực thứ hai x2000 (D), khu vực thứ hai x4000 (E).

Hình ảnh SEM của P1 cho thấy, có 2 vùng riêng biệt: vùng thứ nhất là vùng hình cầu với bề mặt hạt lớn, gần bằng nhau, được sắp xếp chặt chẽ và gồ ghề (hình 8A, 8B, 8C). Vùng thứ hai có kích thước hạt nhỏ hơn, dưới dạng các mảng riêng biệt không có hình dạng nhất định (hình 8D,

8E). Mặt khác, ảnh SEM của P2 (hình 9) cho thấy cùng một dạng của vùng thứ hai trong P1 với các hạt kết tụ để tạo thành các mảng riêng biệt. Những điều này có thể chứng minh cơ chế tạo mầm khác nhau giữa P1 và P2, từ đó cho thấy đồng trùng hợp đã được tổng hợp thành công. Ngoài ra, sự xuất hiện của vùng P2, vùng thứ hai trong P1 cũng chứng minh rằng, khi kết thúc quá trình điện trùng hợp, sự trùng hợp của monome 3HT vượt trội so với *N*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole.



Hình 9. Ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM) của mẫu P2 ở độ phóng đại x4000.

4. Kết luận

Copolymer của poly(3-hexylthiophene-*random*-benzoyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole) được tổng hợp thành công bằng phương pháp điện hóa. Copolymer tổng hợp có bandgap thấp hơn so với P3HT (2,09 so với 2,15 eV) và có mức năng lượng HOMO, LUMO lần lượt là -5,21 và -3,12 eV. Ở điện thế trùng hợp cao hơn, các đơn vị 3HT kết hợp nhiều hơn trong cấu trúc đồng trùng hợp. Quá trình điện trùng hợp cho thấy lợi thế trong việc phủ một loại polymer mong muốn thông qua quá trình trùng hợp tại chỗ. Màng có thể phủ đều trên bề mặt, ổn định qua nhiều chu trình oxy hóa khử. Vì vậy, quá trình tổng hợp copolymer này phù hợp để chế tạo điện cực cho các thiết bị quang điện hữu cơ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, mã số đề tài C2022-20-19. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Bajpai, V. Shukla, F. Habib (2005), "Development of a heat resistant UV-curable epoxy coating", *Progress in Organic Coatings*, **53**(4), pp.239-245, DOI: 10.1016/j.porgcoat.2004.12.010.
- [2] C. Ocampo, E. Armelin, F. Liesa, et al. (2005), "Application of a polythiophene derivative as anticorrosive additive for paints", *Progress in Organic Coatings*, **53**(3), pp.217-224, DOI: 10.1016/j.porgcoat.2005.02.009.
- [3] C.D. Dimitrakopoulos, D.J. Mascaro (2001), "Organic thin-film transistors: A review of recent advances", *IBM Journal of Research Development*, **45**(1), pp.11-27, DOI: 10.1147/rd.451.0011.

- [4] S.K. Tripathia, A. Kumar, S.A. Hashmi (2006), "Electrochemical redox supercapacitors using PVdF-HFP based gel electrolytes and polypyrrole as conducting polymer electrode", *Solid State Ionics*, **177**(33-34), pp.2979-2985, DOI: 10.1016/j.ssi.2006.03.059.

- [5] S. Yoo, B. Domercq, B. Kippelen (2004), "Efficient thin-film organic solar cells based on pentacene/C₆₀ heterojunctions", *Applied Physics Letters*, **85**(22), pp.5427-5429, DOI: 10.1063/1.1829777.

- [6] Y. Zhao, G.A. Meek, B.G. Levine, et al. (2014), "Near-infrared harvesting transparent luminescent solar concentrators", *Advanced Optical Materials*, **2**(7), pp.606-611, DOI: 10.1002/adom.201400103.

- [7] J. Kim, M. Rémond, D. Kim, et al. (2020), "Electrochromic conjugated polymers for multifunctional smart windows with integrative functionalities", *Advanced Materials Technologies*, **5**(6), DOI: 10.1002/admt.201900890.

- [8] M. Mastragostino, C. Arbizzani, P. Ferloni, et al. (1992), "Polymer-based electrochromic devices", *Solid State Ionics*, **53-56**, pp.471-478, DOI: 10.1016/0167-2738(92)90417-N.

- [9] U. Mehmood, A.A. Ahmed, I.A. Hussein (2016), "Review on recent advances in polythiophene-based photovoltaic devices", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **57**, pp.550-561, DOI: 10.1016/j.rser.2015.12.177.

- [10] W. Ma, C. Yang, X. Gong, et al. (2005), "Thermally stable, efficient polymer solar cells with nanoscale control of the interpenetrating network morphology", *Advanced Functional Materials*, **15**(10), pp.1617-1622, DOI: 10.1002/adfm.200500211.

- [11] Y.A. Udum, K. Pekmez, A. Yildiz (2004), "Electrochemical synthesis of soluble sulfonated poly(3-methyl thiophene)", *European Polymer Journal*, **40**(6), pp.1057-1062, DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2004.01.007.

- [12] S.C. Rasmussen, S.J. Evenson (2013), "Dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole-based materials: Synthesis and application to organic electronics", *Progress in Polymer Science*, **38**(12), pp.1773-1804, DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2013.04.004.

- [13] J. Liu, R. Zhang, G. Sauvé, et al. (2008), "Highly disordered polymer field effect transistors: *N*-alkyl dithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole-based copolymers with surprisingly high charge carrier mobilities", *J. Am. Chem. Soc.*, **130**(39), pp.13167-13176, DOI: 10.1021/ja803077v.

- [14] R. Goncalves, E.C. Pereira, L.F. Marchesi (2017), "The overoxidation of poly(3-hexylthiophene)(P3HT) thin film: CV and EIS measurements", *International Journal of Electrochemical Science*, **12**(3), pp.1983-1991, DOI: 10.20964/2017.03.44.

- [15] J.G. Ibanez, M.E. Ricon, S.G. Granados, et al. (2018), "Conducting polymers in the fields of energy, environmental remediation, and chemical-sensors", *Chemical Reviews*, **118**(9), pp.4731-4816, DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00482.

- [16] M.A. Valle, P. Cury, R. Schrebler (2002), "Solvent effect on the nucleation and growth mechanisms of poly(thiophene)", *Electrochimica Acta*, **48**(4), pp.397-405, DOI: 10.1016/S0013-4686(02)00685-0.

- [17] T.H. Nguyen, L.T. Nguyen, H.T. Nguyen, et al. (2019), "Direct (hetero)arylation polymerization for the synthesis of donor-acceptor conjugated polymers based on *N*-benzoyldithieno[3,2-*b*:2',3'-*d*]pyrrole and diketopyrrolopyrrole toward organic photovoltaic cell application", *Polymer International*, **68**(10), pp.1776-1786, DOI: 10.1002/pi.5888.

- [18] M.M. Ahmida, S.H. Eichhorn (2010), "Measurements and prediction of electronic properties of discotic liquid crystalline triphenylenes and phthalocyanines", *Electrochemical Society Transactions*, **25**(26), DOI: 10.1149/1.3314449.

Xác định điều kiện lên men thích hợp cho chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nhằm tăng khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* gây bệnh héo rũ trên cây chuối

Nguyễn Thị Thanh Mai¹, Nguyễn Thị Thu², Bùi Xuân Tứ², Trần Văn Tuấn³,
Phạm Hồng Hiền⁴, Nguyễn Xuân Cảnh^{2*}

¹Trung tâm Sinh học Thực nghiệm, Viện Ứng dụng Công nghệ, C6, phường Thanh Xuân Bắc, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thị trấn Trâu Quỳ, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

³Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

⁴Ban Khoa học và Hợp tác Quốc tế, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, xã Vĩnh Quỳnh, huyện Thanh Trì, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/2/2024; ngày chuyển phản biện 19/2/2024; ngày nhận phản biện 8/3/2024; ngày chấp nhận đăng 12/3/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu tập trung xác định thành phần môi trường (nguồn carbon, nồng độ carbon, nguồn nitơ) và các điều kiện lên men (nhiệt độ, pH) thích hợp nhằm nâng cao khả năng kháng nấm bệnh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (*Foc* Tr4) gây bệnh héo rũ trên cây chuối của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 (chủng VNUA116). Bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch đã xác định được chủng VNUA116 có khả năng đối kháng mạnh với nấm bệnh *Foc* Tr4 ở các điều kiện lên men: môi trường khoáng YIM 301, nguồn carbon CB1 (tinh bột tan 40 g/l, D-glucose 1 g/l) và nguồn nitơ N1 (cao thịt bò 3 g/l, cao nấm men 5 g/l, pepton 3 g/l). Đồng thời, các điều kiện lên men tối ưu như pH 7, nhiệt độ 30°C, chủng VNUA116 thể hiện khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 mạnh nhất với đường kính vòng kháng nấm đạt $30,67 \pm 0,58$ mm sau 10 ngày nuôi cấy. Nghiên cứu này đã xác định được chủng VNUA116 ở các điều kiện lên men tối ưu thể hiện khả năng ức chế nấm *Foc* Tr4 lên đến 93,20%, tương đương với nồng độ Ridomil gold 68WG 3 g/l trong phòng thí nghiệm. Điều này khẳng định chủng VNUA116 có nhiều tiềm năng ứng dụng trong sản xuất chế phẩm sinh học dùng trong phòng trừ bệnh héo rũ Panama trên cây chuối.

Từ khóa: bệnh héo rũ Panama, cây chuối, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, hoạt tính kháng nấm, xạ khuẩn.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

1. Đặt vấn đề

Bệnh héo rũ trên cây chuối là một trong những mối đe dọa nghiêm trọng nhất đối với ngành trồng chuối trên toàn thế giới. Đây là loại bệnh chưa có thuốc chữa và chưa có giống chuối nào có khả năng kháng được bệnh này. Theo tính toán, 80% sản lượng chuối toàn cầu đang bị đe dọa bởi nấm *Foc* Tr4 - đây là một trong những chủng nấm có sức tàn phá và có thể gây thiệt hại đáng kể về kinh tế [1]. Một đặc điểm quan trọng của nấm *Foc* Tr4 là tồn tại lâu dài trong đất, do đó những vùng đất này không thể tiếp tục sử dụng để trồng chuối hay các loại cây trồng khác nhiều năm sau [2]. Đối với những cây trồng bị nhiễm nấm *Foc* Tr4 thường có mức độ nhiễm bệnh và tốc độ lây lan rất nhanh, từ đó dẫn đến cây trồng có thể mất hoàn toàn năng suất [3].

Xạ khuẩn (*Actinomyces*) thuộc nhóm vi khuẩn đặc biệt có nhiều ứng dụng quan trọng trong đời sống xã hội do có khả năng sản sinh nhiều loại kháng sinh và các hợp chất thứ cấp có hoạt tính sinh học [4]. Xạ khuẩn được coi là tác nhân kiểm soát sinh học trong nông nghiệp với khả năng sinh nhiều hoạt chất có thể kiểm soát vi khuẩn và vi nấm gây bệnh thực vật [5]. Hiện nay, đã phân lập được hơn 7.000

chất chuyển hoá từ chi *Streptomyces* và khoảng 3.000 chất chuyển hoá từ các chi xạ khuẩn hiếm [6]. Trong các chất chuyển hoá này có các hợp chất chuyên biệt đóng vai trò quan trọng trong việc phòng trừ các tác nhân gây bệnh trên thực vật [7].

Khả năng sản sinh các hợp chất thứ cấp từ xạ khuẩn là không cố định và có thể bị ảnh hưởng bởi thành phần môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy tối ưu. Thành phần môi trường nuôi cấy đóng một vai trò vô cùng quan trọng ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình lên men xạ khuẩn. Do đó, lựa chọn được một môi trường lên men thích hợp là rất quan trọng và có ý nghĩa. Bên cạnh đó, những thay đổi về nguồn carbon, nguồn nitơ hay các điều kiện lên men như pH, nhiệt độ, tỷ lệ giống hay thời gian nuôi cấy đều có ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng và khả năng sinh tổng hợp các hợp chất thứ cấp trong đó có hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn của xạ khuẩn [8].

Nghiên cứu của chúng tôi năm 2023 đã công bố chủng VNUA116 được phân lập từ đất trồng chuối bị nhiễm bệnh tại Việt Nam. Trình tự toàn bộ hệ gen của chủng VNUA116 đã được lưu giữ tại Ngân hàng GenBank (số đăng nhập

*Tác giả liên hệ: Email: nxcanh@vnua.edu.vn

Determination of fermentation conditions of *Streptomyces* sp. VNUA116 to improve the antifungal activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing Panama wilt disease on banana plants

Thi Thanh Mai Nguyen¹, Thi Thu Nguyen²,
Xuan Tu Bui², Van Tuan Tran³,
Hong Hien Pham⁴, Xuan Canh Nguyen^{2*}

¹Center for Experimental Biology, National Center for Technological Progress,
C6 Thanh Xuan Bac Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture,
Trau Quy Town, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

³Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University - Hanoi,

334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

⁴Department of Science and International Cooperation, Vietnam Academy of Agricultural Sciences,
Vinh Quynh Commune, Thanh Tri District, Hanoi, Vietnam

Received 15 February 2024; revised 8 March 2024; accepted 12 March 2024

Abstract:

This study aims to identify medium components (carbon source, carbon concentration, nitrogen source) and fermentation conditions (temperature, pH) to enhance the resistance against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (*Foc* Tr4), causing Panama wilt disease of *Streptomyces* sp. VNUA116 (VNUA116). By using the agar well diffusion method, it was determined that strain VNUA116 has strong anti-fungal pathogen activities *Foc* Tr4 under fermentation nutrients: YIM 301 medium, carbon source CB1 (soluble starch 40 g/l: D-glucose 1 g/l, and nitrogen source N1 beef extract 3 g/l: yeast extract 5 g/l: peptone 3 g/l). Additionally, optimal fermentation conditions were established, including pH 7, and temperature 30°C. Strain VNUA116 exhibited the highest antifungal activity, reaching a diameter of 30.67±0.58 mm after 10 days of cultivation. Furthermore, under these optimised fermentation conditions, *Streptomyces* sp. VNUA116 demonstrated an impressive inhibitory capability against *Foc*-Tr4, reaching up to 93.20%, equivalent to the concentration of the fungicide Ridomil gold 68WG at 3 g/l in laboratory conditions. This affirms the considerable potential of the VNUA116 strain for applications in the production of biofertilizers for the biological control of Panama wilt disease in banana plants.

Keywords: antifungal activity, banana plants, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, Panama wilt disease, *Streptomyces*.

Classification numbers: 1.6, 4.6

CP130487). Chủng VNUA116 được chứng minh có khả năng đối kháng mạnh với nấm *Foc* Tr4 gây bệnh héo rũ Panama trên cây chuối [9]. Với mục đích sử dụng chủng VNUA116 vào sản xuất chế phẩm vi sinh phòng trừ bệnh héo rũ Panama trên cây chuối thì việc nghiên cứu và lựa chọn được các điều kiện lên men tối ưu tăng khả năng kháng nấm gây bệnh *Foc* Tr4 có ý nghĩa thực tiễn cao. Đây là hướng đi chính cho ngành sản xuất chế phẩm vi sinh khi tác nhân sinh học được sử dụng để quản lý bệnh dịch đang được quan tâm và là xu hướng phát triển nông nghiệp an toàn và bền vững hiện nay.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 (chủng VNUA116) và chủng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (*Foc* Tr4) gây bệnh héo rũ Panama trên chuối được cung cấp và lưu giữ tại Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Lựa chọn môi trường lên men thích hợp

Chủng VNUA116 được tiến hành lên men trên 15 môi trường khác nhau ở 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 được đánh giá hàng ngày từ ngày thứ 5 bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch cho đến khi kết thúc thí nghiệm [10]. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần với mỗi công thức. Chọn môi trường thích hợp cho khả năng kháng nấm cao nhất.

Môi trường bao gồm: Gause I (g/l: tinh bột tan-10; K₂HPO₄-0,5; MgSO₄·7H₂O-0,5; KNO₃-0,5; NaCl-0,5; FeSO₄·7H₂O-0,01; pH 7,2); Gause II (g/l: glucose-10; pepton-5; cao thịt-0,5; NaCl-5, pH 7,2); ISP-1 (g/l: trypton-5; cao nấm men-3; pH 7), ISP-2 (g/l: cao nấm men-4; cao malt-10; glucose-4; pH 7,3), ISP-3 (g/l: bột yến mạch-20; dung dịch muối vi lượng-1 ml; pH 7), ISP-4 (g/l: tinh bột tan-10; K₂HPO₄-1; MgSO₄·7H₂O-1; NaCl-1; (NH₄)₂SO₄-2; CaCO₃-2; dung dịch muối vi lượng-1 ml; pH 7), ISP-5 (g/l: L-asparagin-1; glyxerin-10; K₂HPO₄-1; dung dịch muối vi lượng-1 ml; pH 7), ISP-6 (g/l: pepton-10; cao nấm men-1; C₆H₈FeNO₇-0,5; pH 7,0), Emerson (g/l: cao thịt bò-4; cao nấm men-1; pepton-4; glucose-10; NaCl-2,5; pH 7,0), Casein (g/l: tinh bột tan-10; casein-0,3; KNO₃-2; K₂HPO₄-2; NaCl-2; CaCO₃-0,02; FeSO₄·7H₂O-0,01; pH 7), A-4 (g/l: glucose-10; bột đậu tương-10; NaCl-5; CaCO₃-11; pH 7), YIM 61 (g/l: bột đậu tương-20; pepton-2; glucose-20; tinh bột tan-5; cao nấm men-2; NaCl-4; K₂HPO₄-0,5; MgSO₄·7H₂O-0,5; CaCO₃-2; pH 7,8), YIM 301 (g/l: tinh bột tan-24; cao thịt-3; cao nấm men-5; pepton-3; glucose-1;

CaCO₃-4; pH 7), YIM 308 (g/l: glucose-10; cao thịt-3; pepton-3; tinh bột tan-20; cao nấm men-5; CaCO₃-3; pH 7) và YIM 310 (g/l: glucose-5; pepton-3; tinh bột tan-10; cao nấm men-3; CaCO₃-2; NH₄NO₃-3; pH 7,2).

2.2.2. Ảnh hưởng của nguồn carbon

Sau khi lựa chọn được môi trường lên men thích hợp, chủng VNUA116 được nuôi cấy trên môi trường có nguồn carbon là CB1 (tinh bột tan 24 g/l + D-glucose 1 g/l), D-glucose, D-mannitol, D-Sorbitol, D-xylose và xellulose với hàm lượng bằng với lượng carbon trong môi trường ban đầu, các thành phần khác trong môi trường không thay đổi. Lên men ở 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 được đánh giá hàng ngày từ ngày thứ 5 bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch cho đến khi kết thúc thí nghiệm [10]. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Lựa chọn nguồn carbon cho vòng kháng nấm cao nhất.

Tiến hành thay đổi hàm lượng carbon trong môi trường, các thành phần khác không thay đổi. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Lựa chọn hàm lượng carbon cho vòng kháng nấm cao nhất.

2.2.3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Chủng VNUA116 được tiến hành lên men trên môi trường có nguồn carbon và hàm lượng carbon đã được lựa chọn. Thay thế nguồn nitơ là N1 (cao thịt bò 3 g/l, cao nấm men 5 g/l, pepton 3 g/l), cao nấm men, cao thịt bò, bột đậu tương, pepton và KNO₃ với hàm lượng tương đương với nguồn nitơ ban đầu trong môi trường cơ sở, các thành phần khác không thay đổi. Lên men chủng VNUA116 ở 30°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 được đánh giá hàng ngày từ ngày thứ 5 bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch cho đến khi kết thúc thí nghiệm [10]. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Lựa chọn nguồn nitơ cho vòng kháng nấm cao nhất.

2.2.4. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ

Chủng VNUA116 được lên men trên môi trường với nguồn carbon, nguồn nitơ thích hợp cho hiệu quả kháng nấm tốt nhất, tiến hành thay đổi pH từ 5, 6, 7, 8, 9 đến 10 ở điều kiện nuôi cấy 30°C và nhiệt độ nuôi cấy 25, 30 và 35°C, tốc độ lắc 200 vòng/phút. Khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 được đánh giá hàng ngày từ ngày thứ 5 bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch cho đến khi kết thúc thí nghiệm [10]. Mỗi công thức thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Lựa chọn được pH và nhiệt độ cho vòng kháng nấm cao nhất.

2.2.5. Xác định hoạt tính kháng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch

Chủng VNUA116 được nuôi cấy trên môi trường kiểm tra ở các điều kiện khác nhau (nguồn carbon, nguồn nitơ,

nhiệt độ, pH), nuôi lắc 200 vòng/phút. Dịch lên men được thu từ ngày nuôi cấy thứ 5, lấy mẫu 1 lần/ngày cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Dịch lên men được ly tâm 6000 vòng/phút trong thời gian 30 phút để thu phần dịch. Nhỏ 50 µl dịch thu được vào mỗi lỗ trên đĩa thạch PDA đã được cấy trải 100 µl dịch bào tử nấm *Foc* Tr4 (10⁶ bào tử/ml). Các đĩa petri sau khi bổ sung dịch xạ khuẩn được nuôi ở 30°C trong thời gian 5-7 ngày và đo vòng kháng nấm hình thành xung quanh giếng thạch [10].

2.2.6. Đánh giá khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng VNUA116 trong điều kiện in vitro

Các điều kiện lên men tối ưu được lựa chọn từ các thí nghiệm: nguồn carbon, nồng độ carbon, nguồn nitơ, pH, nhiệt độ nuôi cấy. Tiến hành lên men trên Bioreactor 5 lít, tốc độ khuấy 200 vòng/phút, lưu lượng cấp khí 0,7 dm³ không khí/lít môi trường/phút. Dịch lên men được ly tâm 6000 vòng/phút trong thời gian 30 phút để thu phần dịch. Nhỏ 50 µl dịch thu được vào mỗi lỗ trên đĩa thạch PDA đã được cấy trải 100 µl dịch bào tử nấm *Foc* Tr4 (10⁶ bào tử/ml). Các đĩa petri sau khi bổ sung dịch xạ khuẩn được nuôi ở 30°C trong thời gian 5-7 ngày và đo vòng kháng nấm hình thành xung quanh giếng thạch [10].

Mẫu đối chứng dương được sử dụng là 100µl dung dịch Ridomil gold 68WG (hoạt chất: Metalaxyl M 40 g/l, Mancozeb 640 g/l): 3 g/l.

$$\text{Hiệu lực kháng nấm (\%)} = [(C - T)/C] \times 100$$

trong đó: C là đường kính tán nấm của đối chứng âm; T là đường kính tán nấm của thí nghiệm (đối chứng dương, thí nghiệm với chủng VNUA116).

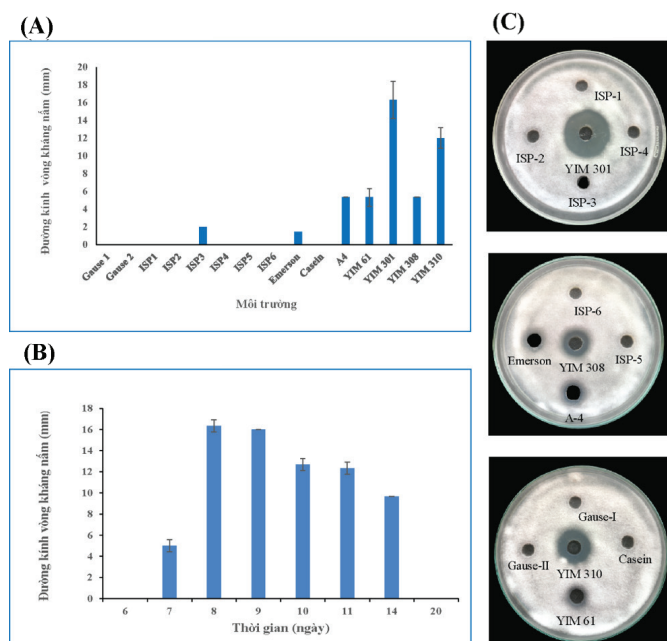
2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được thu thập, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm GraphPad Prism 9. Kết quả mỗi thí nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD) sau ba lần lặp lại ngẫu nhiên.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Lựa chọn môi trường lên men thích hợp đối với chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116

Với 15 loại môi trường lên men được khảo sát, chủng VNUA116 phát triển và thể hiện hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4 ở các mức độ khác nhau. Sau 8 ngày lên men có 7 loại môi trường có thể hiện khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 ở các mức độ khác nhau, đó là môi trường ISP-3, A-4, Emerson, YIM 61, YIM 301, YIM 308 và YIM 310. Trong đó môi trường YIM 301 thể hiện khả năng kháng nấm vượt trội (hình 1).



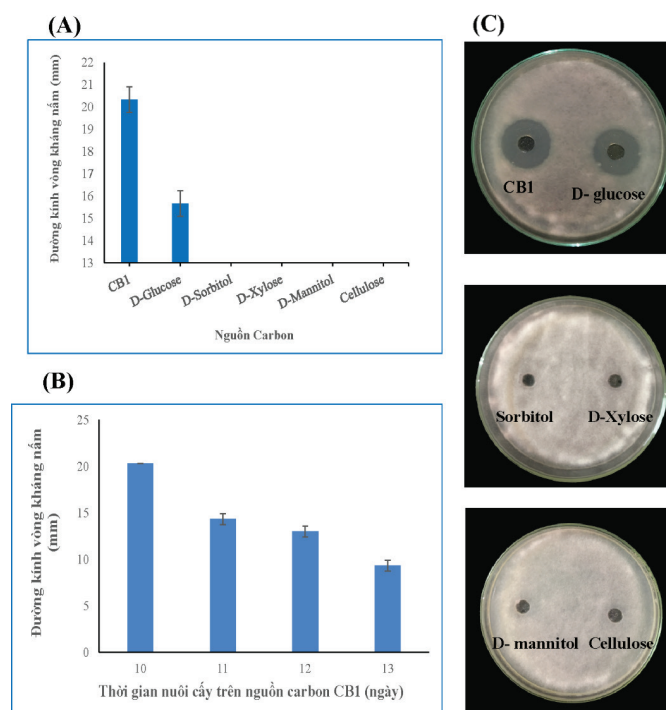
Hình 1. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 trên các loại môi trường khác nhau. (A) Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi thứ 8 trên các loại môi trường khác nhau; (B) Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian nuôi cấy trên môi trường YIM 301; (C) Vòng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 sau 8 ngày nuôi cấy trên các loại môi trường khác nhau.

Môi trường YIM 301 là môi trường tốt nhất đối với chủng VNUA116 trong việc hình thành hoạt tính kháng nấm *Foc*-Tr4. Khả năng kháng nấm của chủng VNUA116 xuất hiện từ ngày lên men thứ 7, mất đi ở ngày lên men thứ 20 và đạt cao nhất ở ngày lên men thứ 8 với đường kính vòng kháng nấm là $16,33 \pm 0,58$ mm. Đây cũng là môi trường hình thành khả năng kháng nấm sớm nhất và mạnh nhất trong 15 môi trường khảo sát. Công bố của Y. Jiang và cs (2016) [11] cho thấy, các môi trường YIM 61, YIM 301, YIM 308 và YIM 310 đều có tiềm năng ứng dụng trong lên men xạ khuẩn. Kết quả hình 1 cũng cho thấy 4 môi trường này đều thích hợp với lên men chủng VNUA116 và sinh hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4. Nhưng môi trường YIM 301 là thích hợp nhất. Do đó, môi trường YIM 301 đã được lựa chọn để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nguồn carbon

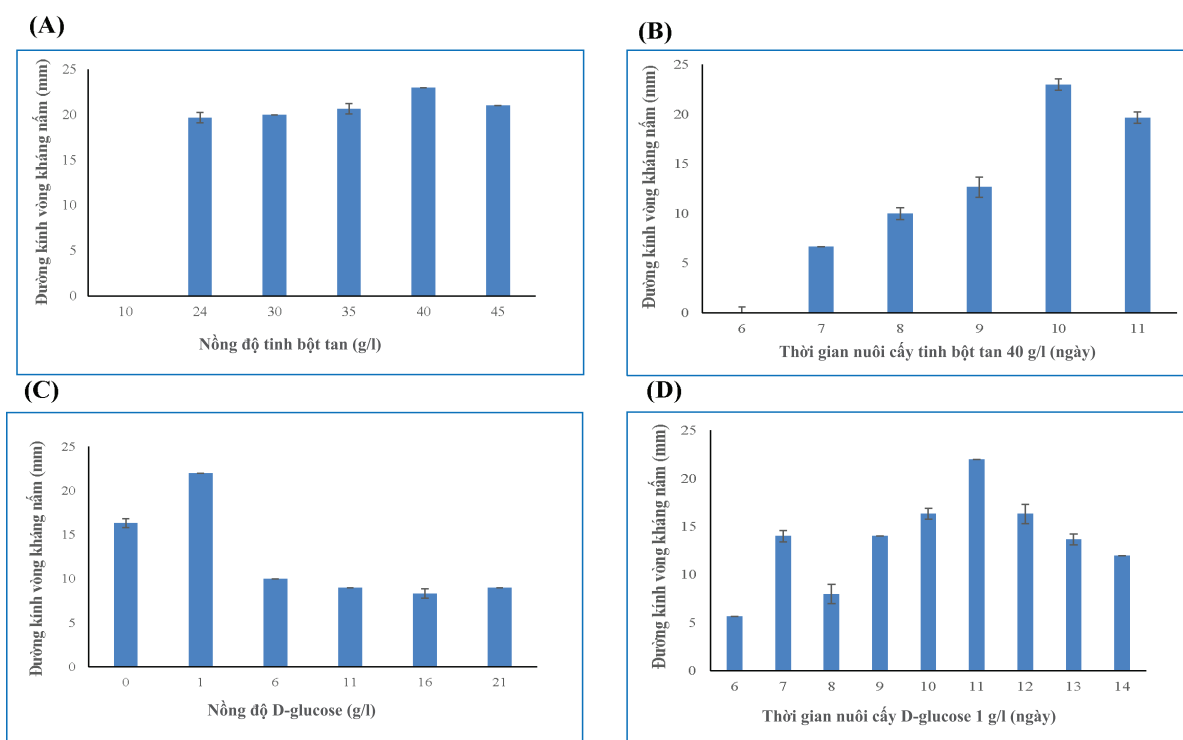
Kết quả kháng nấm *Foc* Tr4 của chủng VNUA116 cho thấy nguồn carbon CB1 và D-glucose là thích hợp với chủng VNUA116 trong việc hình thành hoạt tính kháng nấm (hình 2). Trong nghiên cứu này, hoạt tính kháng nấm xuất hiện từ ngày thứ 8 đối với cả 2 nguồn carbon CB1 và D-glucose, mất đi vào ngày thứ 18 đối với D-glucose và ngày thứ 20 đối với CB1, hoạt tính kháng nấm đạt cao nhất vào ngày thứ 10 với

cả 2 nguồn carbon CB1 và D-glucose với đường kính vòng kháng nấm lần lượt là $20,33 \pm 0,58$ và $15,67 \pm 0,58$ mm. Các nguồn carbon còn lại (D-mannitol, D-xylose, D-sorbitol và cellulose) chỉ giúp chủng VNUA116 tăng về sinh khối mà không hình thành hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4.



Hình 2. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 trên các nguồn carbon khác nhau. (A) Khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi thứ 10; (B) Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian trên nguồn carbon hỗn hợp CB1; (C) Vòng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng VNUA116 tại ngày nuôi cấy 10.

Khi tiến hành thay đổi nồng độ tinh bột tan (10, 24, 30, 35, 40 và 45 g/l) và glucose (1, 6, 11, 16, 21 g/l) trong nguồn carbon hỗn hợp CB1 thì kết quả hình 3 cho thấy: khi nồng độ tinh bột tan càng tăng thì khả năng kháng nấm càng tăng, tuy nhiên, thời gian hoạt tính kháng nấm đạt tối đa ở nồng độ tinh bột tan 40 g/l sớm hơn các nồng độ khác (tại ngày thứ 10). Nhưng với nguồn carbon là D-glucose thì ngược lại khi nồng độ D-glucose càng tăng thì hoạt tính kháng nấm tối đa hình thành càng muộn (từ ngày thứ 11 đến ngày thứ 23). Theo S. Sánchez và cs (2010) [12] công bố trong môi trường chứa hỗn hợp các nguồn carbon thì sẽ có nguồn carbon được sử dụng trước và sử dụng sau. Nguồn carbon được sử dụng đầu tiên sẽ giúp xạ khuẩn sinh trưởng nhưng chưa tạo ra chất kháng sinh hoặc rất ít. Sau khi nguồn carbon thứ nhất sử dụng hết thì nguồn carbon “tốt thứ hai” sẽ được sử dụng để hình thành chất kháng sinh [12]. Điều này giải



Hình 3. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 với nồng độ carbon khác nhau. (A) Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nuôi cấy trên các nồng độ tinh bột tan khác nhau tại ngày nuôi thứ 10; **(B)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian trên tinh bột tan 40 g/l; **(C)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nuôi cấy trên các nồng độ glucose khác nhau tại ngày nuôi thứ 11; **(D)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian trên D-glucose 1 g/l.

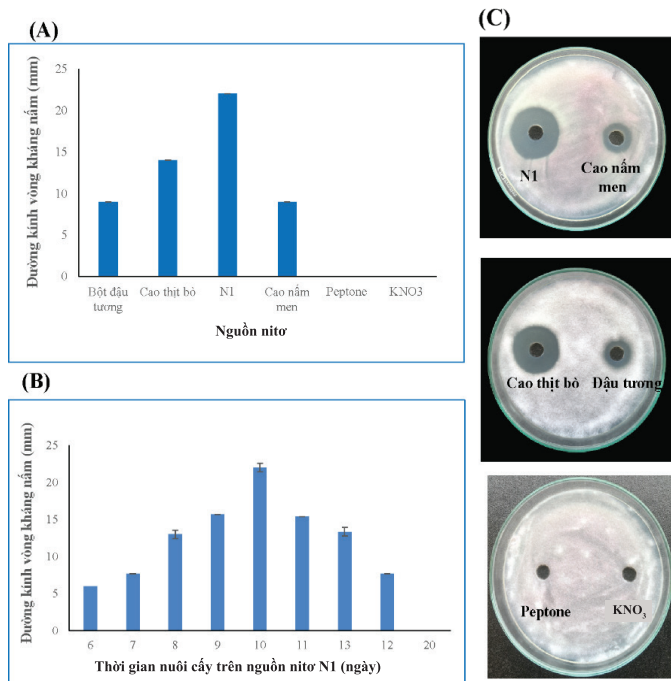
thích tại sao nồng độ glucose càng cao thì thời gian hoạt tính kháng nấm đạt tối đa của *Streptomyces* sp. VNUA116 càng muộn. Đồng thời, một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng nồng độ glucose làm giảm khả năng tổng hợp các chất kháng sinh do ức chế các enzyme tham gia vào quá trình này và có thể liên quan đến ảnh hưởng của sinh trưởng lên sinh tổng hợp kháng sinh [13]. Các nghiên cứu khác cũng công bố: tinh bột tan là nguồn carbon để xạ khuẩn sử dụng sản sinh nhiều loại kháng sinh như *Streptomyces fradiae* sản sinh ra Tylocin [14], *Streptomyces kanamyceticus* sản sinh ra Kanamycin [15], *Streptomyces rimosus* sản sinh ra hoạt chất kháng nấm [16] và *Streptomyces noursei* sản sinh ra Nystatin [17]. Do đó, chúng tôi đã lựa chọn nguồn carbon hỗn hợp là CB1 (tinh bột tan 40 g/l + D-glucose 1 g/l) là thích hợp nhất tạo hoạt tính kháng nấm tối đa với đường kính vòng kháng nấm đạt trên 22,5 mm ở thời gian sớm nhất (10-11 ngày) để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Trong nghiên cứu này, nguồn nitơ hỗn hợp N1 (cao thịt, cao nấm men, pepton) với tỷ lệ 3:5:3 g/l là nguồn nitơ tốt nhất cho sinh tổng hợp hoạt chất kháng nấm *Foc* Tr4 của chủng VNUA116. Khả năng kháng nấm xuất hiện vào ngày

thứ 7, mất đi vào ngày 28 và hoạt tính kháng nấm đạt tối đa vào ngày lên men thứ 10 với đường kính vòng kháng nấm đạt 22,13±0,58 mm. Cao thịt bò là nguồn nitơ thích hợp sau N1 về khả năng kháng nấm của chủng VNUA116. Khả năng kháng nấm *Foc* Tr4 của chủng VNUA116 bắt đầu hình thành vào ngày thứ 6, mất đi vào ngày thứ 28 và hoạt tính kháng nấm đạt tối đa tại ngày lên men thứ 12 với đường kính vòng kháng nấm đạt 17,33±0,58 mm.

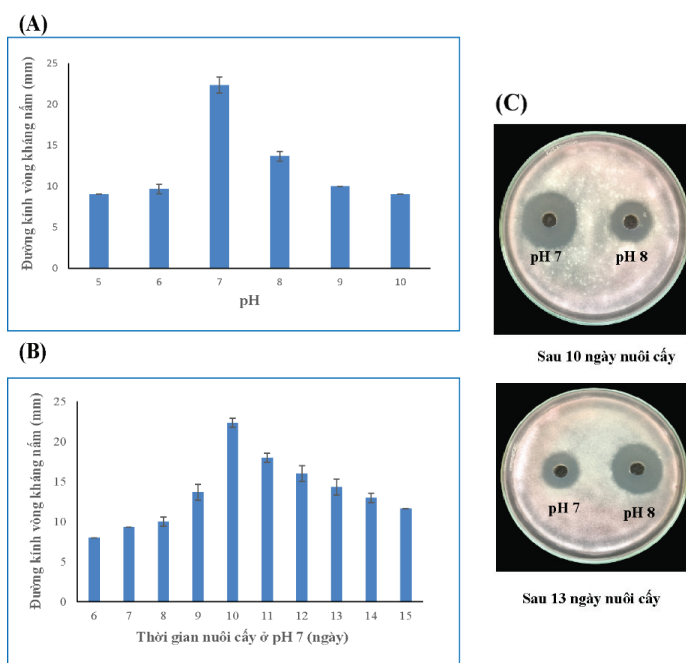
Với bột đậu tương và cao nấm men mặc dù chủng VNUA116 có sự gia tăng về sinh khối nhưng khả năng hình thành hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4 là không nhiều. Đối với môi trường sử dụng pepton và KNO_3 thì chủng VNUA116 không hình thành hoạt tính kháng nấm (hình 4). Điều này có thể thấy rằng, khi nguồn nitơ là các chất riêng lẻ là không thích hợp cho sinh chất kháng nấm đối với chủng VNUA116. Kết quả này cũng phù hợp với công bố của M.D. Young và cs (1985) [18] khi sử dụng nguồn nitơ riêng lẻ hoặc nitơ vô cơ làm giảm khả năng sinh tổng hợp hoạt chất kháng nấm. Trong tất cả các nguồn nitơ được khảo sát lựa chọn N1 (cao thịt, cao nấm men, pepton) với tỷ lệ 3:5:3 g/l là nguồn nitơ thích hợp nhất đối với chủng VNUA116 cho mục đích sinh tổng hợp hoạt chất kháng nấm.



Hình 4. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nuôi cấy trên các nguồn nitơ khác nhau. **(A)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi cấy thứ 11; **(B)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian nuôi cấy trên nguồn nitơ N1; **(C)** Vòng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi cấy 11.

3.4. Ảnh hưởng của pH

pH của môi trường không chỉ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển của xạ khuẩn mà còn ảnh hưởng tới quá trình sinh tổng hợp chất kháng nấm. Các kết quả nghiên cứu hình 5 cho thấy, chủng VNUA116 có thể sinh trưởng và sinh tổng hợp hoạt chất kháng nấm *Foc* Tr4 trong khoảng pH rộng từ pH 5-10. Ở môi trường có pH 5-6 là môi trường axit đã ức chế sự hình thành hoạt tính kháng nấm, do đó thời gian xuất hiện khả năng kháng nấm muộn (sau 10 ngày lên men) và đường kính vòng kháng nấm đạt tối đa thấp lần lượt là 13 và 19±0,58 mm sau 15 và 16 ngày. Với pH 7, chủng VNUA116 xuất hiện khả năng kháng nấm sớm nhất ngay từ ngày thứ 7 và đường kính vòng kháng nấm đạt cao nhất là 23,33±0,57 mm ở ngày thứ 10. Với pH 8, chủng VNUA116 xuất hiện khả năng kháng nấm sớm nhất từ ngày thứ 8 và đường kính vòng kháng nấm đạt cao nhất là 22,03±0,52 mm ở ngày thứ 13. Khi pH tăng lên (pH 9-10) thì thời gian xuất hiện khả năng kháng nấm muộn hơn, thời gian duy trì khả năng kháng nấm kéo dài hơn. Điều này có thể do chủng VNUA116 đã tạo thành các axit hữu cơ giúp cân bằng pH của môi trường nuôi cấy, tạo điều kiện thuận lợi cho xạ khuẩn này sinh ra các chất kháng nấm. Điều này có thể lý giải tại sao pH tăng kéo theo vùng ức chế tối đa xuất hiện muộn.



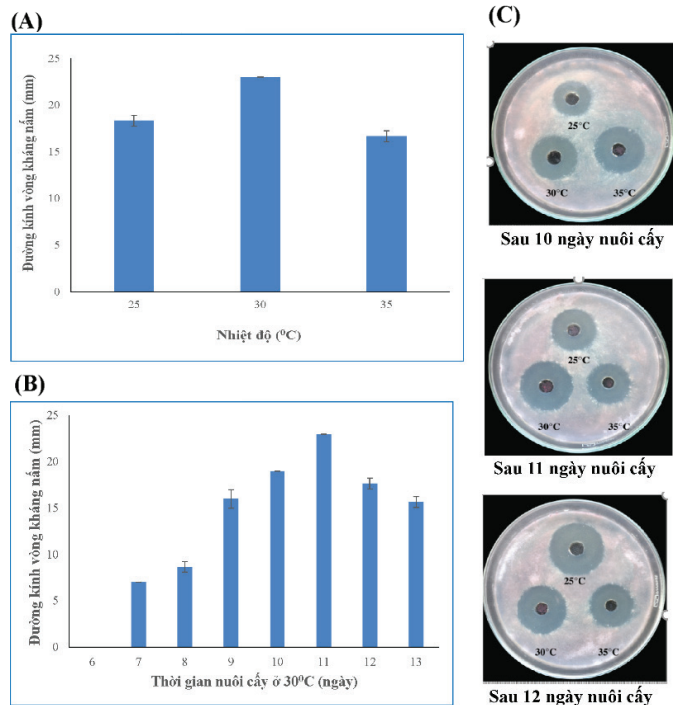
Hình 5. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nuôi cấy ở pH khác nhau. **(A)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi cấy thứ 10; **(B)** Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian nuôi cấy tại pH 7; **(C)** Vòng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi cấy 10 và 13.

Theo công bố của I. Charousová và cs (2015) [19], xạ khuẩn được biết đến là loài có khả năng sinh trưởng trong môi trường có khoảng pH 6,5-8,0 (từ trung tính tới kiềm) là lý tưởng cho sự phát triển. N. Salaria và cs (2021) [20] cũng chỉ ra rằng, pH ban đầu của môi trường sản xuất ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình sinh tổng hợp các hoạt chất sinh học của xạ khuẩn. Tại pH 7, khả năng ức chế nấm đạt cao nhất, đồng thời thích hợp với sản xuất các hoạt chất bậc hai [20]. Do đó, pH 7 được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo với mục đích sinh tổng hợp hoạt tính kháng nấm của chủng VNUA116.

3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Trong nghiên cứu này, 30°C là nhiệt độ tối ưu cho thích hợp với chủng VNUA116 tổng hợp hoạt tính kháng nấm của chủng VNUA116. Ở nhiệt độ 30°C, các hoạt tính kháng nấm xuất hiện sớm nhất (ngày thứ 7) và đạt tối đa vào ngày thứ 11. Ở nhiệt độ 25°C, hoạt tính kháng nấm xuất hiện muộn hơn khi lên men ở nhiệt độ 30°C (ngày thứ 8). Với nhiệt độ 35°C hoạt tính kháng nấm xuất hiện sớm (ngày thứ 7) nhưng yếu hơn khi nuôi cấy ở 30°C (hình 6).

Các công bố trước đây cho thấy nhiệt độ lên men tối ưu cho sinh trưởng của xạ khuẩn là 30°C. C. Singh và cs (2017) [8] cũng đã công bố 30°C là nhiệt độ thích hợp cho sinh



Hình 6. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nuôi cấy ở các nhiệt độ khác nhau. (A) Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi thứ 11; (B) Khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 theo thời gian nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C; (C) Vòng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 tại ngày nuôi cấy 10, 11 và 12.

trường và tổng hợp các chất kháng sinh của *Streptomyces* spp.. Hay như công bố của S. Bundale và cs (2015) [21] cho thấy nhiệt độ lên men tối ưu để sản xuất các chất kháng nấm là 30°C. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với công bố của các nghiên cứu trước đây. Do đó, nhiệt độ lên men 30°C được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

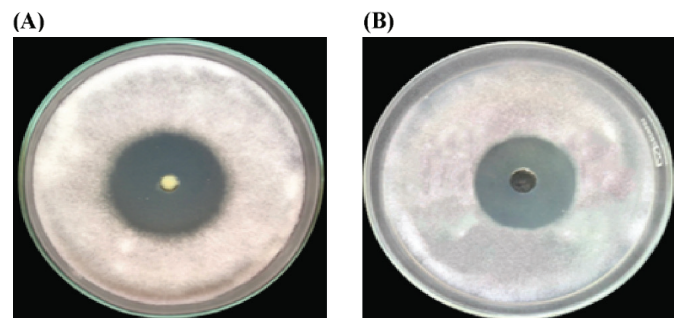
3.6. Đánh giá khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 trong điều kiện in vitro

Tiến hành lên men thử nghiệm trên Bioreactor 5 lít với các điều kiện về thành phần môi trường, điều kiện nuôi cấy như bảng 1 để đánh giá hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4.

Kết quả hình 7 cho thấy, với các thành phần môi trường và điều kiện lên men tối ưu được lựa chọn, chủng VNUA116 đã thể hiện khả năng sinh chất kháng nấm với đường kính vòng kháng nấm đạt cực đại $30,67 \pm 0,58$ mm tương đương với hiệu lực kháng nấm đạt 93,20% sau 11 ngày. Kết quả này tương đương với đối chứng dương khi sử dụng Ridomil gold 68WG (hoạt chất: Metalaxyl M: 40

Bảng 1. Các yếu tố lên men tối ưu để nuôi cấy chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116.

Yếu tố	Đơn vị tính	Số lượng
Môi trường khoáng	-	YIM 301
Nguồn C		
Tinh bột tan	g/l	40
D-glucose	g/l	1
Nguồn nito		
Cao thịt	g/l	3
Cao nấm men	g/l	5
Pepton	g/l	3
Nhiệt độ	°C	30
pH	-	7
Thời gian	ngày	10



Hình 7. Khả năng ức chế nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 trong phòng thí nghiệm. (A) Đối chứng dương (thuốc Ridomil gold 68WG); (B) Vòng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 của dịch lên men chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116.

g/l, Mancozeb: 640 g/l) với nồng độ 3 g/l khi thử nghiệm trong phòng thí nghiệm. Theo công bố của L.T. Tuong và cs (2019) [22] cũng cho thấy, sử dụng chất kháng sinh Ridomil gold 68WG với nồng độ 3 g/l có khả năng ức chế nấm *Foc* lên đến 93,75%. Nghiên cứu này có ý nghĩa thực tiễn trong việc kiểm soát bệnh cây trồng do nấm *F. oxysporum* gây ra trong nông nghiệp do việc sử dụng thuốc diệt nấm hóa học không được khuyến khích sử dụng do có nhiều bất lợi cho hệ sinh thái.

4. Kết luận

YIM 301 là môi trường lên men thích hợp đối với chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 để tăng khả năng kháng nấm bệnh *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 gây bệnh héo rũ Panama trên cây chuối. Với nguồn carbon kết hợp CB1 (tinh bột tan 40 g/l + D-glucose 1 g/l) và nguồn nito kết hợp N1 (cao thịt bò 3

g/l, cao nấm men 5 g/l, pepton 3 g/l), hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4 của chủng VNUA116 xuất hiện sớm nhất ở ngày lên men thứ 7 và đường kính vòng kháng nấm đạt cực đại $30,67 \pm 0,58$ mm sau 10 ngày lên men trong điều kiện khuấy 200 vòng/phút, lưu lượng cấp khí 0,7 dm³ không khí/lít môi trường/phút ở nhiệt độ 30°C và pH 7.

Hoạt tính kháng nấm *Foc* Tr4 của chủng VNUA116 được xác định tương đương với thuốc kháng nấm Ridomil gold 68WG với nồng độ 3 g/l có khả năng ức chế *Fusarium oxysporum* trong điều kiện *in vitro* tới 93,20%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ từ đề tài khoa học và công nghệ cấp quốc gia mã số NVQG-2021/ĐT.01. Nguyễn Thị Thanh Mai được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2023.TS085. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] H. Fang, C. Zhong, J. Sun, et al. (2023), "Revealing the different resistance mechanisms of banana 'Guijiao 9' to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical race 4 using comparative proteomic analysis", *Journal of Proteomics*, **283-284**, DOI: 10.1016/j.jprot.2023.104937.

[2] G. Martínez, B.O. Olivares, J.C. Rey, et al. (2023), "The advance of *Fusarium wilt* tropical race 4 in Musaceae of Latin America and the Caribbean: Current situation", *Pathogens*, **12(2)**, DOI: 10.3390/pathogens12020277.

[3] M.O. Montiflor, S. Vellema, L.N. Digal (2019), "Coordination as management response to the spread of a global plant disease: A case study in a major Philippine banana production area", *Frontiers in Plant Science*, **10**, DOI: 10.3389/fpls.2019.01048.

[4] N. Lee, W. Kim, S. Hwang, et al. (2020), "Thirty complete *Streptomyces* genome sequences for mining novel secondary metabolite biosynthetic gene clusters", *Scientific Data*, **7**, DOI: 10.1038/s41597-020-0395-9.

[5] S.D. Schrey, M.T. Tarkka (2008), "Friends and foes: *Streptomyces* as modulators of plant disease and symbiosis", *Antonie Van Leeuwenhoek*, **94(1)**, pp.11-19, DOI: 10.1007/s10482-008-9241-3.

[6] R.H. Baltz (2008), "Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes", *Curr. Opin. Pharmacol.*, **8(5)**, pp.557-563, DOI: 10.1016/j.coph.2008.04.008.

[7] R.H. Baltz (2017), "Gifted microbes for genome mining and natural product discovery", *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **44(4-5)**, pp.573-588, DOI: 10.1007/s10295-016-1815-x.

[8] C. Singh, R.S. Parmar, P. Jadon, et al. (2017), "Optimisation of cultural conditions for production of antifungal bioactive metabolites by *Streptomyces* spp. isolated from soil", *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **6(2)**, pp.386-396, DOI: 10.20546/ijemas.2017.602.043.

[9] M.T.T. Nguyen, S.T. Dinh, C.X. Nguyen (2023), "Complete genome sequence of *Streptomyces* strain VNUA116, a potential biocontrol against phytopathogenic fusarium wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*", *Microbiology Resource Announcements*, **12(12)**, DOI: 10.1128/MRA.00706-23.

[10] D. Dhanasekaran, N. Thajuddin, A. Panneerselvam (2012), "Applications of actinobacterial fungicides in agriculture and medicine", *Fungicides for Plant and Animal Diseases*, IntechOpen, DOI: 10.5772/25549.

[11] Y. Jiang, Q. Li, X. Chen, et al. (2016), "Isolation and cultivation methods of Actinobacteria", *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*, IntechOpen, DOI: 10.5772/61457.

[12] S. Sánchez, A. Chávez, A. Forero, et al. (2010), "Carbon source regulation of antibiotic production", *Journal of Antibiotics*, **63(8)**, pp.442-459, DOI: 10.1038/ja.2010.78.

[13] R. Rafieenia (2013), "Effect of nutrients and culture conditions on antibiotic synthesis in Streptomycetes", *Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences*, **3(3)**, pp.810-815.

[14] M.C.B. Horn, S.H. Luo, S.L. Wang, et al. (1992), "Synthesis of hydrolytic enzymes during production of tylosin by *Streptomyces fradiae*", *Journal of Industrial Microbiology*, **10(1)**, pp.25-30, DOI: 10.1007/BF01583630.

[15] O. Pringsulaka, S. Chavanich (1999), "Optimal conditions for the production of kanamycin by *Streptomyces kanamyceticus* mutants", *Journal of Scientific Research*, **24(2)**, pp.103-114.

[16] J. Yu, Q. Liu, Q. Liu, et al. (2008), "Effect of liquid culture requirements on antifungal antibiotic production by *Streptomyces rimosus* MY02", *Bioresource Technology*, **99(6)**, pp.2087-2091, DOI: 10.1016/j.biortech.2007.03.023.

[17] N.A. Elattal, A.A. Hamdy, A.E. Ali, et al. (2011), "Nystatin production by a local *Streptomyces* sp. isolated from Egyptian soil", *J. Pharm. Biomed. Sci.*, **1(6)**, pp.128-136.

[18] M.D. Young, L.L. Kempe, F.G. Bader (1985), "Effects of phosphate, glucose, and ammonium on cell growth and lincomycin production by *Streptomyces lincolnensis* in chemically defined media", *Biotechnology and Bioengineering*, **27(3)**, pp.327-333, DOI: 10.1002/bit.260270318.

[19] I. Charousová, S. Javoreková, J. Wink (2015), "Isolation and characterisation of *Streptomyces rishiriensis* (VY31) with antibiotic activity against various pathogenic microorganisms", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, **4(1)**, pp.23-27, DOI: 10.15414/jmbfs.2015.4.special1.23-27.

[20] N. Salaria, J. Furhan (2021), "Antibacterial potential of actinomycetes from north-western Himalayas against pathogenic bacteria", *Biology Bulletin, Russ. Acad. Sci.*, **48**, pp.281-289, DOI: 10.1134/S1062359021030146.

[21] S. Bundale, D. Begde, N. Nashikkar, et al. (2015), "Optimisation of culture conditions for production of bioactive metabolites by *Streptomyces* spp. isolated from soil", *Advances in Microbiology*, **5(6)**, DOI: 10.4236/aim.2015.56045.

[22] L.T. Tuong, D.P.K. Duyen, D.T.K. Uyen, et al. (2019), "Identification of agents and efficacy of chemicals for control of Panama disease pathogens on the banana in *in vitro*", *Journal of Vietnam Agricultural Science and Technology*, **10(107)**, pp.118-122.

Nghiên cứu đánh giá khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid (IAA) của chủng vi khuẩn *Flavobacterium anhuiense* MN47 phân lập từ đất trồng chè tại Thái Nguyên

Hoàng Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Giang, Nguyễn Mạnh Tuấn, Phạm Thị Tuyết Mai, Trần Văn Chí*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 22/4/2024; ngày chuyển phản biện 23/4/2024; ngày nhận phản biện 17/5/2024; ngày chấp nhận đăng 20/5/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu của nghiên cứu là lựa chọn các chủng vi khuẩn tiềm năng có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid (IAA). Từ 36 mẫu đất trồng chè thu được tại xã La Bằng, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên đã tuyển chọn được chủng MN47 có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA với hoạt lực cao nhất lần lượt là 20,41 và 106,08 $\mu\text{g/ml}$. pH 7,5 và nhiệt độ 30°C là điều kiện thích hợp cho chủng MN47 sinh tổng hợp IAA trong môi trường Ashby có bổ sung 0,1% tryptophan. Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng MN47 với các loài đã công bố trên EzTaxon cho thấy chủng MN47 có mức độ tương đồng cao nhất (99,86%) với chủng *Flavobacterium anhuiense* D3^T. Dựa vào dữ liệu phân tích trình tự gen 16S rRNA, chủng MN47 được xác định thuộc loài *F. anhuiense*. Đây là công bố đầu tiên về khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA của chủng *F. anhuiense* MN47, là nguồn chủng tiềm năng cho phát triển chế phẩm vi sinh ứng dụng trong nông nghiệp.

Từ khóa: cố định đạm, đất trồng chè, *Flavobacterium*, tổng hợp IAA, tuyển chọn, vi khuẩn.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

1. Đặt vấn đề

Chè là một trong những cây trồng chủ lực của ngành nông nghiệp Việt Nam nói chung và tỉnh Thái Nguyên nói riêng. Việc canh tác chè tại xã La Bằng, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên không chỉ mang lại nguồn thu nhập cho nông dân mà còn đóng góp vào mục tiêu xóa đói giảm nghèo của địa phương. Tình trạng suy thoái đất và giảm chất lượng, cũng như năng suất sản xuất của đất đang là một thách thức đáng kể trong canh tác chè [1]. Hiện tượng làm bạc màu đất đai và giảm nhu cầu trồng cây thương mại như chè có thể do ảnh hưởng tiêu cực của việc sử dụng thường xuyên và lâu dài phân bón, thuốc trừ sâu hóa học trên nền đất canh tác nông nghiệp [2]. Thực tế cho thấy, để tăng năng suất cây chè, người nông dân ngày càng phụ thuộc vào phân bón vô cơ, đặc biệt là phân đạm. Việc sử dụng quá liều lượng và không có kiểm soát đối với các loại phân bón vô cơ, trong đó có phân đạm có thể gây ra những vấn đề không mong muốn, bao gồm suy giảm chất lượng chè, axit hóa đất, ô nhiễm kim loại nặng, nén chặt đất và thay đổi hệ vi sinh vật trong đất [3, 4]. Ngoài ra còn tiềm ẩn nhiều rủi ro cho con người [5]. Vì vậy, phân hữu cơ và chế phẩm vi sinh thân thiện với môi trường ngày càng được khuyến khích sử dụng [6]. Việc sử dụng phân hữu cơ vi sinh có chứa vi sinh vật có hoạt tính kích thích sinh trưởng thực vật và cố định nitơ tự do là một giải pháp quan trọng và có ý nghĩa thực tiễn để khắc phục những hạn chế của việc sử dụng phân hóa học, góp phần cải thiện sự bền vững của canh tác nông nghiệp [7].

*Tác giả liên hệ: Email: tranvanchi@tuaf.edu.vn

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

36 mẫu đất trồng chè được thu tại xã La Bằng, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp thu mẫu: Tiến hành thu mẫu đất ở các nương chè tại xã La Bằng, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên. Mẫu đất được lấy ở độ sâu 6-15 cm [8]. Thu thập 36 mẫu đất (500 g/mẫu) tại các xóm trên địa bàn xã, bao gồm La Cút (8 mẫu), La Nạc (7 mẫu), Rừng Vắn (9 mẫu), Tân Sơn (6 mẫu) và Đồng Đình (6 mẫu).

Phương pháp phân lập vi khuẩn có khả năng cố định nitơ: 1 g mẫu đất được nghiền mịn và pha loãng trong 10 ml nước muối sinh lý 0,85%, tương ứng với độ pha loãng 10^{-1} . Lấy 1 ml ở độ pha loãng 10^{-1} pha với 9 ml nước muối sinh lý sẽ thu được độ pha loãng ở 10^{-2} . Tiếp tục thao tác như vậy để thu được độ pha loãng ở 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , việc pha loãng được tiến hành trong các ống nghiệm đã vô trùng. Cây trái 50 μl dung dịch đã pha loãng lên môi trường Ashby manitol agar (20 g manitol; 0,2 g $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$; 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,2 g NaCl; 0,1 g K_2SO_4 ; 5 g CaCO_3 ; 15 g Agar; 1000 ml nước cất; pH 7-7,2), ủ ở nhiệt độ 30°C trong 72 giờ [9]. Những khuẩn lạc mọc lên trên môi trường thạch đĩa vô đạm được kết luận sơ bộ là có khả năng cố định nitơ.

Evaluate the ability of nitrogen fixation and Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis of *Flavobacterium anhuiense* MN47 isolated from tea-growing soil in Thai Nguyen

Thi Lan Anh Hoang, Thi Giang Nguyen,
Manh Tuan Nguyen, Thi Tuyet Mai Pham, Van Chi Tran*

Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry - Thai Nguyen University,
Quyet Thang Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

Received 22 April 2024; revised 17 May 2024; accepted 20 May 2024

Abstract:

The goal of this study is to select potential bacterial strains capable of fixing nitrogen and Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis. From 36 tea-growing soil samples collected in La Bang commune, Dai Tu district, Thai Nguyen province, the strain MN47 was selected, with the highest ability to fix nitrogen and biosynthesize IAA of 20.41 and 106.08 $\mu\text{g/ml}$, respectively. pH 7.5 and at 30°C are appropriate conditions for strain MN47 to synthesize IAA in Ashby medium supplemented with 0.1% tryptophan. The results of comparing the 16S rRNA gene sequence of strain MN47 with species published on EzTaxon showed that strain MN47 has the highest similarity (99.86%) with *Flavobacterium anhuiense* D3^T. Based on 16S rRNA gene sequence analysis data, strain MN47 belongs to the genus *Flavobacterium*, with the scientific name *F. anhuiense*. This is the first publication on the ability to fix nitrogen and biosynthesize IAA of *F. anhuiense* MN47, which is a potential source of strains for the development of microbial products for agricultural applications.

Keywords: bacteria, *Flavobacterium*, Indole-3-acetic acid biosynthesis, nitrogen fixation, selection, tea-growing soil.

Classification numbers: 1.6, 4.6

Phương pháp xác định khả năng cố định nitơ: Nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường Ashby lỏng, lắc 180 vòng/phút ở 30°C trong 6 ngày. Sau khi nuôi cấy, dịch được ly tâm để tách vi khuẩn khỏi dung dịch, thu dịch trong. Sử dụng phương pháp so màu với thuốc thử Nessler [10] xác định nồng độ NH_4^+ được cố định bởi chủng vi khuẩn trong dịch nuôi. Định tính khả năng sinh tổng hợp IAA của vi khuẩn bằng cách bổ sung thuốc thử Salkowski vào dịch nuôi cấy các chủng vi khuẩn, dịch nuôi sẽ chuyển sang màu đỏ nếu có IAA [11].

Xác định khả năng sinh tổng hợp IAA của các chủng tiềm năng: Nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường Ashby lỏng có bổ sung 0,1% tryptophan, nuôi lắc (180 vòng/phút) trong tủ tối ở nhiệt độ 30°C trong 72 giờ. Hàm lượng IAA thô sinh ra trong dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp phản ứng màu với thuốc thử Salkowski tạo sản phẩm có màu, so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 530 nm. Hàm lượng IAA sinh ra bởi các chủng vi khuẩn được xác định theo mô tả của E. Glickmann và cs (1995) [12].

Xác định khả năng sinh enzyme và đồng hóa các nguồn đường của chủng MN47: Sử dụng bộ kit API ZYM và API 32GN (Biomérieux, Pháp) để xác định các loại enzyme và đồng hóa các nguồn đồng của chủng MN47.

Xác định ảnh hưởng pH môi trường và nhiệt độ nuôi cấy đến sinh tổng hợp IAA của chủng MN47: Về pH môi trường, chủng MN47 được cấy vào các ống nghiệm chứa 10 ml môi trường Ashby có bổ sung 0,1% tryptophan có pH 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 và 8,0 nuôi lắc (150 vòng/phút) trong tủ tối ở nhiệt độ 30°C trong 72 giờ. Hàm lượng IAA thô sinh ra trong dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp phản ứng màu với thuốc thử Salkowski tạo sản phẩm có màu, so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 530 nm. Đối với nhiệt độ nuôi cấy thích hợp, chủng MN47 được nuôi trong 10 ml môi trường Ashby bổ sung 0,1% tryptophan, pH môi trường thích hợp (được lựa chọn dựa trên kết quả thí nghiệm trước), nuôi lắc ở 150 vòng/phút ở các nhiệt độ 20, 25, 30, 35 và 40°C trong 72 giờ. Hàm lượng IAA thô sinh ra trong dịch nuôi cấy được xác định bằng phương pháp phản ứng màu với thuốc thử salkowski tạo sản phẩm có màu, so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 530 nm [12].

Định danh chủng MN47 bằng giải trình tự 16S rRNA: Chủng MN47 được hoạt hóa trong môi trường dịch thể Ashby ở 30°C với tốc độ lắc 180 vòng/phút trong 72 giờ. Thu nhận sinh khối tế bào của chủng tuyển chọn và tách chiết DNA tổng số theo phương pháp của J. Sambrook và cs (1989) [13]. Sử dụng cặp mồi 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' và 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3' để nhân trình tự gen 16S rRNA của chủng tuyển chọn. Trình tự gen 16S rRNA được đọc thông qua hệ thống Applied Biosystems 3730 xl DNA analyzer sử dụng Big Dye terminator cycle sequencing kit v.3.1 (Macrogen, Hàn Quốc) và được so sánh với dữ liệu công bố trên EzTaxon [14]. Sơ đồ phả hệ được xây dựng trên cơ sở trình tự gen 16S rRNA của chúng và so sánh với các loài gần nhất thông qua phần mềm MEGA 7 [15].

2.3. Xử lý số liệu

Tất cả các số liệu thu thập là đại diện của 3 thí nghiệm lặp lại, kết quả được phân tích phương sai một nhân tố trên phần mềm SPSS 20.0 và Microsoft Excel. Sự khác biệt của giá trị trung bình giữa các công thức được đánh giá nhờ kiểm định Duncan ở độ tin cậy 95%.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid

Từ 36 mẫu đất trồng chè thu được tại xã La Bằng, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên đã phân lập được 67 chủng vi khuẩn có khả năng sinh trưởng trên môi trường Ashby có bổ sung 0,1% (w/v) L-tryptophan. Qua sàng lọc sơ bộ, có 8/67 (chiếm 11,94%) chủng vi khuẩn với khả năng đồng thời cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA (bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm hình thái, sinh lý, khả năng cố định nitơ, tổng hợp Indole-3-acetic acid của các chủng vi khuẩn phân lập.

Ký hiệu chủng	Địa điểm lấy mẫu	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Gram	Khả năng di động	Khả năng cố định nitơ (µg/ml)	Khả năng tổng hợp IAA (µg/ml)
MN43	La Cút	Trong, lồi tròn, bề mặt bóng, không rìa, nhót	Que ngắn	-	+	3,12 ^e	13,00 ^e
MN44	La Cút	Trắng sữa, lồi tròn, không rìa, trơn	Que ngắn	-	+	0,89 ^b	5,60 ^b
MN46	La Nạc	Trong, lồi tròn, bề mặt bóng, không rìa	Que ngắn	-	+	4,68 ^c	13,96 ^f
MN47	Tân Sơn	Trắng đục, lồi tròn, có chân giả, bóng, dính	Que ngắn	-	+	20,41 ^a	101,89 ^a
MN48	Tân Sơn	Trong, lồi tròn, có nhân, không rìa	Cầu	-	+	4,11 ^f	15,79 ^e
MN50	Rừng Vắn	Trắng sữa, lồi tròn, không rìa, dính	Cầu	-	+	6,92 ^d	32,04 ^d
MN51	Đồng Đình	Trắng sữa, lồi tròn, không rìa, trơn	Que ngắn	-	+	7,84 ^c	53,00 ^b
MN57	Đồng Đình	Trắng sữa, lồi tròn, không rìa, trơn	Que ngắn	-	+	14,16 ^b	43,68 ^c

Các chữ cái trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,05$.

Kết quả bảng 1 cho thấy, khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn phân lập được có dạng hình tròn, màu trắng trong, trắng sữa và trắng đục; bề mặt bóng, trơn hoặc dính; không rìa. Tế bào có dạng hình cầu hoặc que ngắn; gram âm và có khả năng di động. Với 8 chủng vi khuẩn phân lập được có hình thái khuẩn lạc và hình thái tế bào khác nhau, nhưng đều có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA. Tuy nhiên, hoạt lực cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA giữa các chủng là khác nhau. Chủng MN44 có hoạt lực yếu nhất, với khả năng cố định nitơ là 0,89 µg/ml, khả năng tổng hợp IAA là 5,60 µg/ml. Chủng MN47 có hoạt lực cao nhất, với khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA lần lượt là 20,41 và 101,89 µg/ml. Chủng MN47 có đặc điểm sinh học tương đồng với mô tả của chi *Flavobacterium* (loài chuẩn *F. aquatile* ATCC 11947^T) là vi khuẩn hình que, gram âm và có khả năng di động [16]. Cho đến nay, có khoảng hơn 403 loài *Flavobacterium* được mô tả, chúng được phân lập chủ yếu từ đất và nước (<https://lpsn.dsmz.de/genus/flavobacterium>). Các báo cáo gần đây cho thấy, thành viên của chi *Flavobacterium* có các đặc điểm tiềm năng trong hỗ trợ sinh trưởng ở cây trồng. Chủng *Flavobacterium* sp. 72 (trình tự 16S rRNA có mức độ tương đồng 98,52% với *F. saccharophilum* NBRC 15944^T) bộc lộ cả khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp [17]. Tương tự, kết quả nghiên cứu của T.V. Chi và cs (2022) [18] đã xác định khả năng cố

định nitơ và sinh tổng hợp IAA của chủng *Flavobacterium* sp. MN26 (trình tự gen 16S rRNA tương đồng 98,88% với *F. tistrianum* GB 56.1^T) với hiệu suất lần lượt là 20,82 và 77,234 µg/ml.

Bên cạnh đó, chủng MN47 thể hiện khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA cao hơn so với các chủng vi khuẩn tiềm năng khác. Từ kết quả bảng 1, hoạt lực chủng MN47 cao hơn với công bố của D.K. Nhung và cs (2011) [19] khi khảo sát khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA

của chủng *Azospirillum* spp. và *Gluconacetobacter* spp. được phân lập từ cây mía, với khả năng cố định nitơ tương ứng đạt 8,10 và 8,77 µg/ml, khả năng sinh tổng hợp IAA tương ứng là 17,75 và 2,71 µg/ml. Hoạt lực cố định nitơ và sinh tổng hợp của chủng MN47 cũng cao hơn kết quả công bố của N.A. Huy và cs (2018) [20] khi khảo sát khả năng cố định đạm và sinh tổng hợp IAA của chủng *Bukholderia cenocepacia* PL9 được phân lập từ đất sản xuất lúa - tằm ở các tỉnh Bạc Liêu, Sóc Trăng và Kiên Giang, với khả năng chuyển đổi đạm phân tử thành nitơ dạng ammonium (NH₄⁺) đạt 2,71 µg/ml, khả năng sinh tổng hợp IAA đạt 46,46 µg/ml. Thêm nữa, kết quả này còn cao hơn công bố của T.V. Chi và cs (2023) [21] khi xác định khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA của chủng *Agrobacterium deltaense* MN72 (lần lượt là 20,13 và 56,62 µg/ml) được phân lập từ vùng chè tại huyện Phú Lương, tỉnh Thái Nguyên.

3.2. Đánh giá đặc điểm hoá sinh của chủng *Flavobacterium anhuiense* MN47

Nghiên cứu thông tin về các đặc điểm hóa sinh của chủng vi sinh vật là cần thiết, hỗ trợ cho những nghiên cứu ứng dụng liên quan đến việc thiết kế và tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy. Đồng thời, góp phần bổ sung vào cơ sở dữ liệu về nguồn gen của vi sinh vật. Sử dụng kit API đã giúp xác định một số đặc điểm hóa sinh của chủng MN47 (bảng 2).

Bảng 2. Đặc điểm hóa sinh của chủng *Flavobacterium anhuiense* MN47.

Enzyme	Khả năng sinh enzyme	Nguồn carbon	Khả năng đồng hóa
Alkaline phosphatase	+	D-glucose	+
Esterase (C4)	+	Phenylacetic acid	-
Esterase lipase (C8)	+	Glycogen	+
Lipase (C14)	-	D-mannitol	+
Leucine arylamidase	+	L-serine	-
Valine arylamidase	+	D-maltose	+
Cystine arylamidase	-	Potassium gluconate	+
Trypsine	-	Capric acid	-
D-chymotrypsine	-	Lactic acid	+
Acid phosphatase	+	Malic acid	+
Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase	+	Sodium acetate	+
D-galactosidase	-	Trisodium citrate	+
β -galactosidase	-	L-alanin	+
β -glucuronidase	-	L-rhamnose	+
D-glucosidase	+	D-ribose	+
β -glucosidase	+	3-hydroxybutyric acid	-
N-acetyl- β -glucosaminidase	+	Phản ứng Voges-Proskauer	-
D-mannosidase	-	Chuyển hóa nitrate thành nitrite	-
D-fucosidase	-	Sinh indole	+

(-): âm tính/không có khả năng; (+): dương tính/có khả năng.

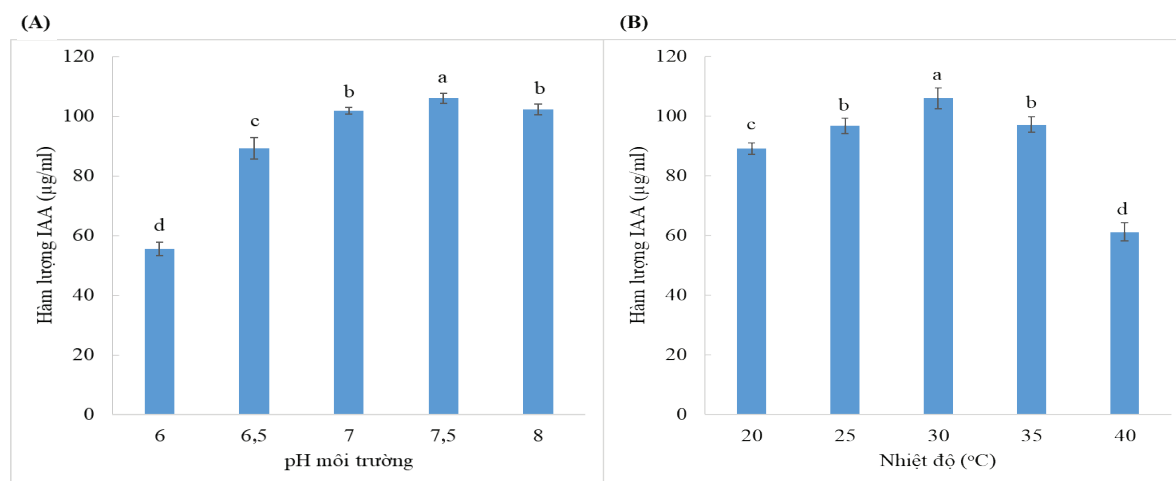
Kết quả bảng 2 cho thấy, chủng MN47 có khả năng sinh các enzyme, bao gồm alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, β -galactosidase, D-glucosidase và N-acetyl- β -glucosaminidase và có khả năng đồng hoá các nguồn carbon (D-glucose, Glycogen, D-mannitol, D-maltose, potassium gluconate, lactic acid, malic acid, sodium acetate, trisodium citrate, L-alanin, L-rhamnose, D-ribose) và có khả năng sinh indole. Khả năng sinh các loại enzyme và đồng hóa

các nguồn carbon của chủng MN47 tương đồng với chủng *F. anhuiense* D3^T [22]. Đồng thời, đặc điểm hóa sinh của chủng MN47 cũng tương đồng với công bố của Q. Feng và cs (2015) [23] khi nghiên cứu về chủng *F. procerum* T3^T như cùng có khả năng sinh các loại enzyme esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase và khả năng đồng hoá maltose. Thêm nữa, kết quả cũng có những tương đồng với nghiên cứu về chủng *F. soyangense* IMCC 26223^T, một loại vi khuẩn chịu lạnh, được phân lập từ một hồ nước ngọt nghèo dinh dưỡng của G.G. Nam và cs (2017) [24]. Theo đó, chủng MN47 và chủng *F. soyangense* sp. nov. có một số tương đồng về đặc tính sinh hoá như khả năng sinh ra các loại enzym esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase, Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase,

N-acetyl- β -glucosaminidase và trypsin và có khả năng đồng hoá một số nguồn carbon D-glucose và maltose.

3.3. Ảnh hưởng của pH môi trường và nhiệt độ lên men đến khả năng sinh Indole-3-acetic acid của chủng MN47

Tác động của pH môi trường và nhiệt độ nuôi cấy ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp IAA của chủng MN47 (hình 1). Đối với pH môi trường, hàm lượng IAA sinh ra bởi chủng MN47 trong môi trường Ashby có bổ sung 0,1%



Hình 1. Ảnh hưởng của pH môi trường (A) và nhiệt độ (B) nuôi cấy đến sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid của chủng MN47. Các chữ cái biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha \leq 0,05$.

tryptophan ở pH 6, 6,5, 7, 7,5 và 8 lần lượt là 55,56, 89,18, 101,89, 106,03 và 102,28 µg/ml (hình 1A). Trong đó, môi trường có pH 6,0 khả năng sinh tổng hợp IAA là thấp nhất (55,56 µg/ml). Ở pH 7,0 và 8,0 khả năng tổng hợp IAA của chủng lần lượt đạt 101,89 và 102,28 µg/ml; tuy nhiên sự sai khác không có ý nghĩa. Hàm lượng IAA tổng hợp được cao nhất trong môi trường có pH 7,5 (106,03 µg/ml) và ở mức sai khác có ý nghĩa với các kết quả còn lại. Do vậy, pH 7,5 của môi trường Ashby có bổ sung 0,1% tryptophan là điều kiện thích hợp nhất cho chủng MN47 sinh tổng hợp IAA.

Tương tự, nhiệt độ lên men có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng MN47. Hàm lượng IAA sinh ra bởi chủng MN47 ở các nhiệt độ 20, 25, 30, 35 và 40°C lần lượt là 89,15; 96,86; 106,08; 97,21 và 61,25 µg/ml (hình 1B). Từ kết quả tại hình 1B cho thấy, hàm lượng IAA thấp nhất thu được khi lên men ở 40°C, là 61,25 µg/ml. Khi lên men ở 25 và 35°C, hàm lượng IAA thu được cao hơn so với ở mức 20 và 40°C lần lượt là 96,86 và 97,21 µg/ml và sai khác không có ý nghĩa. Ở nhiệt độ 30°C khả năng tổng hợp IAA của chủng ở mức sai khác có ý nghĩa cao nhất, đạt 106,08 µg/ml. Do vậy, pH và nhiệt độ thích hợp cho chủng MN47 sinh tổng hợp IAA trong môi trường Ashby có bổ sung 0,1% tryptophan lần lượt là 7,5 và 30°C. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, nhiệt độ và pH môi trường là những yếu tố có tác động lớn đến tốc độ sinh trưởng của khuẩn; ở điều kiện thuận lợi, mật độ vi khuẩn và các sản phẩm trao đổi chất của chúng cũng đa dạng với hàm lượng cao hơn và ngược lại [25, 26]. Kết quả công bố của N.H. Van và cs (2017) [27] về ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đến khả năng sinh IAA của 6 chủng vi khuẩn thuộc các chi *Klebsiella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Pantoea* và *Bacillus* được phân lập từ các vùng sinh thái khác nhau cho thấy hàm lượng IAA được sinh ra bởi các chủng vi khuẩn phụ thuộc vào pH và nhiệt độ nuôi cấy thích hợp cho các chủng đó sinh trưởng.

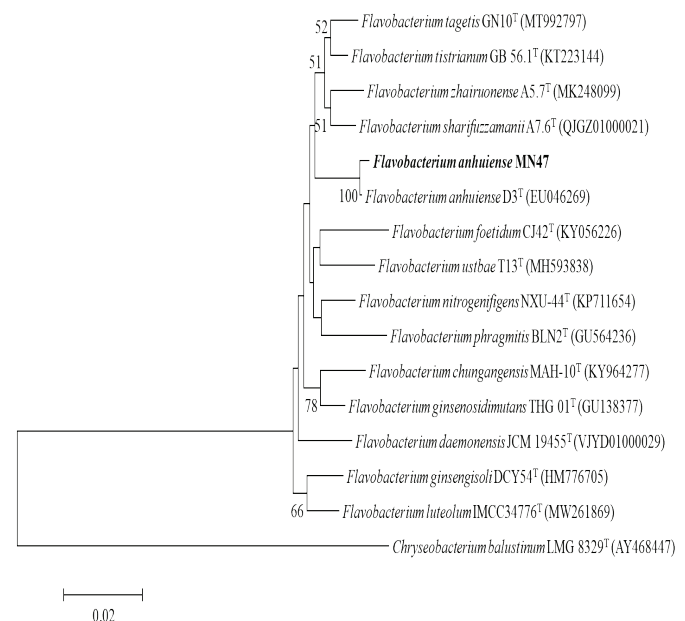
3.4. Định danh chủng MN47 bằng giải trình tự 16S rRNA

Kết quả so sánh trình tự gen 16S rRNA của chủng MN47 với các loài đã được công bố trên EzTaxon được trình bày trong bảng 3 cho thấy, chủng MN47 có mức độ tương đồng cao nhất (99,86%) với chủng *F. anhuiense* D3^T (EU046269) và 96,69-98,03% với các thành viên khác của chi *Flavobacterium*. Dựa vào giới hạn (>98,7%) về mức độ tương đồng của trình tự gen 16S rRNA, chủng MN47 được xác định là *F. anhuiense* [28].

Bảng 3. So sánh sự tương đồng về trình tự gen 16S rRNA của chủng MN47 với các loài gần nhất công bố trên dữ liệu EzTaxon.

Loài gần nhất	Tỷ lệ tương đồng (%)	Số nucleotide sai khác
<i>Flavobacterium anhuiense</i> D3 ^T (EU046269)	99,86	2/1397
<i>Flavobacterium tistrianum</i> GB 56.1 ^T (KT223144)	98,03	28/1420
<i>Flavobacterium tagetis</i> GN10 ^T (MT992797)	97,75	32/1422
<i>Flavobacterium ginsenosidimutans</i> THG 01 ^T (GU138377)	97,62	33/1388
<i>Flavobacterium sharifuzzamanii</i> A7.6 ^T (QJGZ01000021)	97,40	37/1422
<i>Flavobacterium nitrogenifigens</i> NXU-44 ^T (KP711654)	97,36	37/1401
<i>Flavobacterium chungangensis</i> MAH-10 ^T (KY964277)	97,33	37/1387
<i>Flavobacterium zhairuonense</i> A5.7 ^T (MK248099)	97,33	38/1422
<i>Flavobacterium daemonensis</i> JCM 19455 ^T (VJYD01000029)	97,05	42/1422
<i>Flavobacterium luteolum</i> IMCC34776 ^T (MW261869)	96,91	44/1422
<i>Flavobacterium foetidum</i> CJ42 ^T (KY056226)	96,85	44/1396
<i>Flavobacterium phragmitis</i> BLN2 ^T (GU564236)	96,77	46/1422
<i>Flavobacterium ginsengisoli</i> DCY54 ^T (HM776705)	96,70	46/1396
<i>Flavobacterium ustbae</i> T13 ^T (MH593838)	96,69	47/1422
<i>Flavobacterium humidisoli</i> MMS21-Er5 ^T (OK393633)	96,69	47/1422

Đồng thời, sơ đồ phả hệ cũng được thiết lập (hình 2) cho thấy, chủng MN47 được sắp xếp thuộc chi *Flavobacterium* và cùng nhánh gần nhất với chủng *F. anhuiense* D3^T (EU046269). Từ kết quả so sánh trình tự gen và sơ đồ phả hệ cho thấy chủng MN47 là loài *F. anhuiense*.



Hình 2. Sơ đồ phả hệ của chủng MN47 với các loài gần nhất thuộc chi *Flavobacterium* dựa vào trình tự gen 16S rRNA.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập được 67 chủng vi khuẩn từ các mẫu đất trồng chè tại xã La Bằng, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên, trong đó có 8 chủng có khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA. Trong 8 chủng, tuyển chọn được chủng vi khuẩn MN47 có hoạt lực cao nhất, với khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp IAA lần lượt là 20,41 và 106,08 µg/ml. Chủng MN47 được xác định thuộc loài *F. anhuiense* dựa trên trình tự 16S rRNA. Chủng *F. anhuiense* MN47 có khả năng sinh các loại enzyme alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, β-galactosidase, D-glucosidase và N-acetyl-β-glucosaminidase và có khả năng đồng hoá các nguồn carbon D-glucose, glycogen, D-mannitol, D-maltose, potassium gluconate, lactic acid, malic acid, sodium acetate, trisodium citrate, L-alanine, L-rhamnose, D-ribose). pH và nhiệt độ thích hợp cho chủng MN47 sinh tổng hợp IAA trong môi trường Ashby có bổ sung 0,1% tryptophan lần lượt là 7,5 và 30°C.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự tài trợ kinh phí từ đề tài khoa học và công nghệ cấp quốc gia mã số NVQG-2021/ĐT.04. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Y. Li, Z. Li, Y. Arafat, et al. (2017), "Characterising rhizosphere microbial communities in long-term monoculture tea orchards by fatty acid profiles and substrate utilization", *Eur. J. Soil Biol.*, **81**, pp.48-54, DOI: 10.1016/j.ejsobi.2017.06.008.

[2] J. Bhaduri, P. Kundu, D. Mitra, et al. (2016), "Isolation and characterisation of nitrogen fixing bacteria (*Azotobacter* sp.) from tea field soil of Dooars and Darjeeling region of North Bengal, India", *International Journal of Engineering Science Invention*, **5**(8), pp.46-51.

[3] G. Gao, R. Tao (2001), "Experiment studies on the hygienics of As, Ba, Cd, Pb in tea", *Chinese Journal of Food Hygiene*, **6**, pp.12-14.

[4] Y. Arafat, X. Wei, Y. Jiang, et al. (2017), "Spatial distribution patterns of root-associated bacterial communities mediated by root exudates in different aged ratooning tea monoculture systems", *International Journal of Molecular Sciences*, **18**(8), pp.17-27, DOI: 10.3390/ijms18081727.

[5] J.K. Ladha, H. Pathak, T.J. Krupnil, et al. (2005), "Efficiency of fertilizer Nitrogen in cereal production: Retrospects and prospects", *Advances in Agronomy*, **87**, pp.85-156, DOI: 10.1016/S0065-2113(05)87003-8.

[6] P.T.T. Ha, N.K.B. Tam, P.N. Ngoc, et al. (2017), "Assessing some chemical and physical properties of orange planting soil using EarthCare with SumaGrow inside product in Tran Cao Town, Phu Cu district, Hung Yen province", *VNU Journal of Science*, **33**(1S), pp.85-91, DOI: 10.25073/2588-1094/vnuess.4156 (in Vietnamese).

[7] L.T.T. Thuy, L.N. Kieu, N.T.T. Hang, et al. (2012), "Selection of beneficial microorganisms to produce micro-organic fertilizer using for tea tree in Yen Bai province", *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, **5**(23), pp.120-127 (in Vietnamese).

[8] TCVN 7538-6:2010 (2010), *Soil Quality - Sampling - Part 6: Guidance on The Collection, Handling and Storage of Soil Under Aerobic Conditions for The Assessment of Microbiological Processes, Biomass and Diversity in The Laboratory* (in Vietnamese).

[9] T.N.L. Pham, T.V. Nguyen (2016), "Isolation and selection of nitrogen fixing bacteria from soil of mangrove in Thua Thien Hue province", *Hue University Journal of Science*, **4**(1), pp.63-72 (in Vietnamese).

[10] T.T.H. Nguyen, T.T. Nguyen (2015), "Screening of *Azotobacter* strains with the ability of nitrogen fixing and synthesis of indole acetic acid (IAA)", *Journal of Forestry Science and Technology*, **4**, pp.3-9 (in Vietnamese).

[11] TCVN 10784:2015 (2015), *Microorganisms - Determination of Indole-3-Acetic Acid (IAA) Synthesis Capability* (in Vietnamese).

[12] E. Glickmann, Y. Dessaux (1995), "A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria", *Apply Environ. Microbiol.*, **61**(2), pp.793-795, DOI: 10.1128/aem.61.2.793-796.1995.

[13] J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1546pp.

[14] J. Chun, J.H. Lee, Y. Jung, et al. (2007), "EzTaxon: A web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences", *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **57**, Pt 10, pp.2259-2261, DOI: 10.1099/ijs.0.64915-0.

[15] S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura (2016), "MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets", *Molecular Biology and Evolution*, **33**(7), pp.1870-1974, DOI: 10.1093/molbev/msw054.

[16] J.F. Bernardet, J.P. Bowman (2011), "Genus I. *Flavobacterium* Bergey, et al. 1923", *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, **4**, pp.112-154.

[17] A.I. Yakubovskaya, T.N. Melnychuk, I.A. Kameneva, et al. (2019), "*Flavobacterium* sp. strain no. 72 - associative symbiont of *Oryza sativa* L. plants", *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*, **21**(3), pp.566-571.

[18] T.V. Chi, M.N. Tuan, N.X. Binh, et al. (2022), "Selection of bacterial strains capable of fixing nitrogen and synthesizing indole-3-acetic acid (IAA) from tomato soil in some communes and wards in Thai Nguyen province", *Vietnam Agricultural Science Journal*, **20**(12), pp.1599-1607 (in Vietnamese).

[19] D.K. Nhung, V.T. Cong (2011), "Investigating the ability of IAA synthesis and nitrogen fixation of *Gluconacetobacter* spp. and *Azospirillum* spp. isolated from sugarcane", *Can Tho University Journal of Science*, **18a**, pp.161-167 (in Vietnamese).

[20] N.A. Huy, N.H. Hiep (2018), "Isolation and identification of salt tolerant bacteria capable in nitrogen fixation and IAA synthesis from rice - shrimp soils in Bac Lieu, Soc Trang and Kien Giang provinces", *Can Tho University Journal of Science*, **54**(1B), pp.7-12, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2018.002 (in Vietnamese).

[21] T.V. Chi, L.V. Hien, N.M. Tuan, et al. (2023), "Selection of highly active bacterial strains for fixing nitrogen and synthesizing indole-3-acetic acid (IAA) from green tea cultivation soil at Tuc Tranh commune, Thai Nguyen province", *Journal of Forestry Science and Technology*, **12**(6), pp.3-11 (in Vietnamese).

[22] H. Liu, R. Liu, S.Y. Yang, et al. (2008), "*Flavobacterium anhuiense* sp. nov., isolated from field soil", *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **58**(4), pp.756-760, DOI: 10.1099/ijs.0.65536-0.

[23] Q. Feng, L. Han, X. Yuan, et al. (2015), "*Flavobacterium procerum* sp. nov., isolated from freshwater", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **6**, pp.2702-2708, DOI: 10.1099/ijs.0.000326.

[24] G.G. Nam, Y. Joung, M. Park, et al. (2017), "*Flavobacterium soyangense* sp. nov., a psychrotolerant bacterium, isolated from an oligotrophic freshwater lake", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **67**, pp.2440-2445, DOI: 10.1099/ijsem.0.001987.

[25] R.C. Sánchez, M.I. Igeño, A.G. Población, et al. (2018), "Study of pH changes in media during bacterial growth of several environmental strains", *Proceedings*, **2**(20), DOI: 10.3390/proceedings2201297.

[26] Y. Qiu, Y. Zhou, Y. Chang, et al. (2022), "The effects of ventilation, humidity, and temperature on bacterial growth and bacterial genera distribution", *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **19**(22), DOI: 10.3390/ijerph192215345.

[27] N.H. Van, N.T. Minh (2017), "Research on using endophytic bacteria isolated from different ecosystems", *Vietnam J. Agri. Sci.*, **15**(5), pp.605-618 (in Vietnamese).

[28] H.P. Browne, S.C. Forster, B.O. Anonye, et al. (2016), "Culturing of unculturable human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation", *Nature*, **533**, pp.543-546, DOI: 10.1038/nature17645.

Ảnh hưởng của vi khuẩn *Lysinibacillus sphaericus* đến sinh trưởng và hấp thụ crom của cây Lu lu đực (*Solanum nigrum* L.)

Nguyễn Thành Hưng*

Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh, 97 Võ Văn Tần, phường Võ Thị Sáu, quận 3, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 25/10/2023; ngày chuyển phản biện 28/10/2023; ngày nhận phản biện 10/11/2023; ngày chấp nhận đăng 17/11/2023

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện tại xã Bảo Quang, TP Long Khánh, tỉnh Đồng Nai, với mục đích tìm ra giải pháp giảm thiểu ô nhiễm kim loại nặng crom (Cr) tại đây. Bằng phương pháp thí nghiệm trồng cây Lu lu đực (*Solanum nigrum* L.) vào chậu trong nhà lưới trên hai môi trường đất được khử trùng và chưa khử trùng kết hợp với vi khuẩn *Lysinibacillus sphaericus* ở 3 nồng độ 0,5; 1 và 2 g/10 kg đất ô nhiễm Cr với nồng độ $263,8 \pm 7,98$ mg/kg đất khô, để kiểm tra ảnh hưởng đến hiệu quả xử lý Cr của cây Lu lu đực. Kết quả cho thấy, trong môi trường đất ô nhiễm Cr $263,8 \pm 7,98$ mg/kg đất khô chưa được khử trùng cây Lu lu đực phát triển về chiều cao và sinh khối tốt hơn môi trường đất được khử trùng ($p \leq 0,05$). Trong 3 nồng độ vi khuẩn *L. sphaericus* 0,5; 1 và 2 g/10 kg đất, nồng độ 1 g/10 kg đất khô, cây Lu lu đực đạt hiệu quả cao nhất về khả năng sinh trưởng và hấp thụ Cr vào thân, lá và rễ so với công thức đối chứng lên đến 1,71 mg/kg. Kết quả này đã chứng minh vi khuẩn *L. sphaericus* có tính khả thi cao khi bón cho cây Lu lu đực để xử lý giảm thiểu kim loại nặng Cr trong đất ô nhiễm với chi phí thấp và thân thiện môi trường.

Từ khóa: cải tạo đất ô nhiễm, hấp thụ Cr, kim loại Cr, *Lysinibacillus sphaericus*, *Solanum nigrum* L.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

1. Đặt vấn đề

Kim loại nặng Cr làm tăng rủi ro về an toàn sinh thái đất, bao gồm các hoạt động của enzym đất, cộng đồng vi sinh vật trong đất. Tất cả các hợp chất Cr (VI) đã được Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC) phân loại là chất gây ung thư ở người. Vì vậy, cần phải loại bỏ Cr (VI) khỏi đất [1]. Vùng đất Long Khánh, tỉnh Đồng Nai là đất canh tác nông nghiệp lâu năm, nơi trồng cây ăn quả nổi tiếng của các tỉnh Đông Nam Bộ. Tác giả đã tiến hành thu thập 50 mẫu đất ở những vị trí khác nhau, đem về phòng thí nghiệm phân tích hàm lượng kim loại nặng Cr, Zn, Cu, Cd, Pb và As theo phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (AAS). Kết quả thu được các kim loại Zn, Cu, Cd, Pb và As đều đạt quy chuẩn, tuy nhiên 100% mẫu kim loại nặng Cr đều vượt QCVN03-MT 2015 từ 1,3 đến 2 lần ($263,8 \pm 7,98$ mg/kg đất khô) [2]. Do vậy, việc tìm các giải pháp xử lý giảm thiểu Cr cao trong đất nông nghiệp tại TP Long Khánh, tỉnh Đồng Nai để bảo đảm an toàn cho nông sản là cần thiết và cấp bách.

Hiện nay, có nhiều phương pháp như vật lý, hoá học, di dòi..., để xử lý và loại bỏ kim loại nặng ô nhiễm ra khỏi đất nông nghiệp. Tuy nhiên, các phương pháp này đều tốn kinh phí, kỹ thuật phức tạp, khó xử lý trên diện rộng, đất sau xử lý bị thoái hoá, mất một thời gian dài mới tái sử dụng lại được [3]. Những năm gần đây, một số chất tạo phức nhân tạo đã được sử dụng như EDTA nhằm tăng cường khả năng chiết sinh học kim loại nặng khỏi đất bị ô nhiễm [4, 5]. Tuy nhiên, các chất hóa học này luôn tiềm ẩn những rủi ro cho môi trường, các chất tạo phức có thể gây nên hiện tượng rửa trôi các kim loại nặng

theo chiều sâu tầng đất xuống nước ngầm gây độc cho vi sinh vật, động vật đất và ảnh hưởng đến chức năng cũng như sự bền vững của hệ sinh thái [6].

Để giải quyết vấn đề này, theo nghiên cứu của G.I. Burd và cs (2000) [7] để thay thế một số chất tạo phức nhân tạo đồng vai trò nâng cao khả năng chiết kim loại nặng ra khỏi đất bằng thực vật có thể sử dụng vi sinh vật vùng rễ. Các vi sinh vật này có kích thước nhỏ, khả năng hoạt động mạnh và có tỷ diện cao nên có thể đóng vai trò như một chất tạo phức sinh học liên kết với thực vật trong xử lý ô nhiễm đất [8]. Nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy, vi sinh vật vùng rễ có thể làm tăng sự linh động của kim loại nặng bởi sự thay đổi pH đất [9], đồng thời sự liên kết giữa vi sinh vật và thực vật có thể sản sinh các hoóc môn làm tăng cường quá trình cung cấp dinh dưỡng cho thực vật [10].

Trong nghiên cứu này, để xử lý lượng kim loại nặng Cr ra khỏi đất ô nhiễm, tác giả chọn giải pháp xử lý sinh học bằng thí nghiệm trồng cây Lu lu đực là thực vật bản địa có khả năng tích lũy kim loại nặng Cr cao [11], kết hợp với vi khuẩn *L. sphaericus* được sàng lọc và phân lập trong đất ô nhiễm Cr tại địa điểm nghiên cứu. Đây là hướng đi bền vững, thuận tự nhiên và thân thiện môi trường mà những năm gần đây nhiều nước phát triển trên thế giới đang sử dụng để xử lý đất nông nghiệp bị ô nhiễm kim loại nặng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đất trong thí nghiệm được lấy tại xã Bảo Quang, TP Long Khánh, tỉnh Đồng Nai. Đất có một số tính chất cơ bản như

*Email: hung.ngt@ou.edu.vn

Effects of bacteria *Lysinibacillus sphaericus* on growth and chromium absorption of *Solanum nigrum* L.

Thanh Hung Nguyen*

Faculty of Biotechnology, Ho Chi Minh City Open University,
97 Vo Van Tan Street, Vo Thi Sau Ward, District 3, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 25 October 2023; revised 10 November 2023; accepted 17 November 2023

Abstract:

This study was conducted in Bao Quang commune, Long Khanh city, Dong Nai province, with the aim of finding solutions to reduce chromium pollution. The author used the experimental method of growing plant black nightshade (*Solanum nigrum* L.) in pots with sterilised and unsterilised soil and the experiment was carried out in a greenhouse. By using the experimental method of growing black nightshade *Solanum nigrum* L. in pots in a greenhouse on two sterilised and unsterilised soil environments combined with *Lysinibacillus sphaericus* bacteria at 3 concentrations of 0.5, 1, and 2 g/10 kg of Cr-contaminated soil with a concentration of 263.8 ± 7.98 mg/kg of dry soil, this study aims to check the effect of the aforementioned combination on the Cr treatment efficiency of black nightshade *Solanum nigrum* L. The results showed that in the soil contaminated with chromium 263.8 ± 7.98 mg/kg of unsterilised dry soil, *Solanum nigrum* L. grew in height and biomass better than in the sterilised soil ($p \leq 0.05$). At three concentrations of *Lysinibacillus sphaericus*, 0.5, 1, and 2 g/10 kg of soil, with a concentration of 1 g/10 kg of dry soil, *Solanum nigrum* L. exhibited the highest efficiency in terms of growth and absorption of chromium into stems, leaves, and roots compared to the control (up to 1.71 mg/kg). This result proved that *Lysinibacillus sphaericus* is highly feasible when fertilising *Solanum nigrum* L., to reduce chromium in contaminated soil at a low cost and friendly environment.

Keywords: chromium absorption, chromium metal, *Lysinibacillus sphaericus*, remediation of contaminated soil, *Solanum nigrum* L.

Classification numbers: 1.6, 4.6

sau: pH ($5,02 \pm 1,07$), N ($0,11 \pm 0,01\%$), P_2O_5 ($0,43 \pm 0,18\%$), K_2O ($0,10 \pm 0,02\%$), carbon hữu cơ ($1,56 \pm 0,11\%$), kali dễ tiêu ($9,74 \pm 4,93$ mg/100 g), lân dễ tiêu ($23,5 \pm 17,7$ mg/100 g), Cr ($263,8 \pm 7,98$).

Đất sau khi lấy được vận chuyển về cơ sở 5 của Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh để làm thí nghiệm. Đất được phơi khô trong môi trường tự nhiên, đập nhỏ và loại bỏ một số tạp chất để đồng nhất về kích thước hạt, tính chất hóa lý và sinh học. Sau đó chia thành 2 phần; phần một để nguyên (đất chưa được khử trùng), phần hai được sấy trong tủ sấy ở $100^\circ C$, kiểm tra lại hàm lượng vi sinh vật trên môi trường thạch sau khi sấy (đất được khử trùng), để nguội và bảo quản trong túi nilon kín.

Cây Lu lu đực con và vi khuẩn *L. sphaericus* được sàng lọc và phân lập tại TP Long Khánh, tỉnh Đồng Nai [11]. Chậu nhựa cao 30 đường kính 20 cm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế như ở bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ Cr (mg/kg đất khô) kết hợp với *Lysinibacillus sphaericus* (g/10 kg đất khô).

Thứ tự	Tên công thức	Nồng độ Cr (g) + <i>Lysinibacillus sphaericus</i> (g) + loại đất
1	ĐC	$263,8 \pm 0,0$ + đất chưa khử trùng
2	T1	$263,8 \pm 0,5$ + đất chưa khử trùng
3	T2	$263,8 \pm 1,0$ + đất chưa khử trùng
4	T3	$263,8 \pm 2,0$ + đất chưa khử trùng
5	ĐC1	$263,8 \pm 0,0$ + đất được khử trùng
6	T4	$263,8 \pm 0,5$ + đất được khử trùng
7	T5	$263,8 \pm 1,0$ + đất được khử trùng
8	T6	$263,8 \pm 2,0$ + đất được khử trùng

ĐC và ĐC1 là công thức đối chứng, không bổ sung *Lysinibacillus sphaericus*.

Mỗi chậu chọn 3 cây Lu lu đực non có cùng chiều cao (5 cm), số lá (4 lá) trồng vào chậu đất được bố trí nồng độ Cr và *L. sphaericus* như ở bảng 1, mỗi ngày tưới nước một lần đảm bảo đủ độ ẩm 70% trong đất để tránh rửa trôi Cr trong chậu, thí nghiệm được lặp lại ngẫu nhiên 3 lần như ở bảng 2.

Bảng 2. Mô hình thí nghiệm thực tế trong nhà lưới.

Đất chưa khử trùng	Đất được khử trùng	Số lần lặp lại thí nghiệm
ĐC T2 T3 T1 T4	ĐC1 T5 T6	Lần 1
ĐC T3 T1 T2 ĐC1	T4 T5 T6	
T1 T2 ĐC T3 T4	T6 T5 ĐC1	
T1 T2 T3 ĐC T5	T4 ĐC1 T6	Lần 2
ĐC T3 T1 T2 ĐC1	T4 T5 T6	
T1 T2 ĐC T2 T6	T4 T5 ĐC	
ĐC T3 T1 T2 ĐC1	T4 T5 T6	Lần 3
T1 T2 ĐC T3 T4	T6 T5 ĐC1	
T1 T3 T2 ĐC T5	T4 ĐC1 T6	

2.2.2. Ảnh hưởng của *Lysinibacillus sphaericus* đến khả năng sinh trưởng và hấp thụ crom của cây Lu lu đực

Sau 90 ngày trồng thí nghiệm thì tiến hành thu hoạch mẫu, khi thu mẫu, phần rễ được rửa cẩn thận bằng vòi nước tưới để duy trì tính toàn vẹn của hệ thống rễ, đo chiều dài rễ và chiều cao của cây (cm). Chia thành thân, lá (phần trên mặt đất) và rễ (phần dưới mặt đất), mỗi thành phần được rửa bằng nước máy để loại bỏ bụi bẩn còn lại trên bề mặt, và rửa cẩn thận bằng nước khử ion. Các mẫu tươi được cân sau khi nước khử ion trên bề mặt đã bay hơi hoàn toàn, và sau đó được sấy khô ở 105°C trong 30 phút, sau đó sấy ở 70°C cho đến khi thu được khối lượng không đổi, nghiền mịn mẫu, bỏ mẫu vào túi nilon, ghi ký hiệu nhãn như trong bảng 3 để đưa đi phân tích.

Phân tích kim loại nặng Cr trong đất và cây: cân 0,20-0,25 g mẫu cho vào ống phân hủy PTFE 25 ml, thêm 9 ml HNO₃ và 3 ml HClO₄, cho vào tủ sấy ở 130°C để phân hủy, sau khi đun sôi trong 1 giờ, dung dịch được thêm 5 ml HF tiếp tục phân hủy cho đến khi trong ống xuất hiện dung dịch màu vàng hoặc không màu. Dùng nước cất 2 lần chuyển toàn bộ dung dịch trong ống PTFE sang ống nhựa 10 ml, lắc đều. Hàm lượng Cr được xác định bằng phổ nguyên tử (AA-400, PerkinElmer, Mỹ). Để kiểm soát chất lượng, vật liệu tiêu chuẩn (GBW-08.505 cho cây và GBW-08.303 cho đất) được mua từ Trung tâm Nghiên cứu Vật liệu tiêu chuẩn, Bắc Kinh, Trung Quốc [2].

2.2.3. Xác định hệ số TF và BF

Xác định khả năng tích lũy Cr dựa trên hệ số vận chuyển TF (TF: Translocation factor: Được tính bằng tỷ lệ nồng độ kim loại nặng tích lũy ở phần trên mặt đất của cây so với nồng độ kim loại nặng tích lũy trong rễ). Nếu TF>1 được xem là loài thực vật có khả năng vận chuyển kim loại nặng cao [12]. Hệ số tích lũy BF (BF: Bioconcentration factor: Được tính bằng tỷ lệ giữa nồng độ kim loại nặng tích lũy ở phần trên mặt đất của cây so với nồng độ kim loại nặng trong môi trường đất): Nếu BF>1 loài thực vật đó thuộc dòng “thực vật tích tụ”, BF<1 loài thực vật đó thuộc dòng “thực vật ngăn chặn” và BF>10 loài thực vật đó được xếp vào “dòng siêu tích tụ” [13-15].

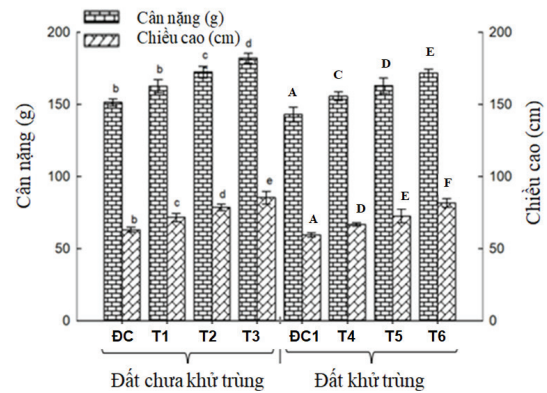
2.3. Xử lý số liệu

Dữ liệu được đánh giá theo giá trị trung bình, sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm được đánh giá bằng phân tích phương sai (ANOVA) dựa trên sự khác biệt bình phương nhỏ nhất (LSD) với độ tin cậy p<0,05 (thử nghiệm của Duncan). Các mối tương quan Pearson được tính toán để kiểm tra các mối quan hệ với khoảng tin cậy 95%, sử dụng phần mềm IBM SPSS 20 và dùng Sigma Plot 12.5 vẽ biểu đồ.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Ảnh hưởng của vi khuẩn *Lysinibacillus sphaericus* đến khả năng sinh trưởng và phát triển của cây *Solanum nigrum* L.

Kết quả hình 1 cho thấy, trong môi trường đất ô nhiễm Cr 263,8±7,98 mg/kg đất khô chưa được khử trùng cây *S. nigrum* L., phát triển về chiều cao và sinh khối tốt hơn môi trường đất được khử trùng (p≤0,05). Sự khác biệt này có thể là do trong môi trường đất được khử trùng, các vi sinh vật trong đất đã bị chết, trong đó có vi khuẩn *L. sphaericus* nên không thể sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA, là chất điều tiết sinh trưởng, thúc đẩy sự phân chia tế bào và hình thành rễ nhánh, rễ và lá giúp cây sinh trưởng và phát triển, nên cây phát triển kém hơn trong môi trường đất chưa khử trùng. Nhận định này phù hợp với kết quả nghiên cứu của A.M.A. Monroy và cs (2019) [16]: *L. sphaericus* là vi khuẩn gram dương, ưa nhiệt, được sử dụng để cải tạo đất trong quá trình tái canh, nhờ khả năng cố định nitơ, nitrat hóa và hòa tan photpho, tăng chất dinh dưỡng cho đất, sản sinh axit indole acetic (IAA) giúp cây trồng sinh trưởng và phát triển.



Hình 1. Ảnh hưởng của *Lysinibacillus sphaericus* đến sinh trưởng và phát triển của cây *Solanum nigrum* L.. Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ±SD (n=3). Các chữ cái A, B, C... a, b, c... cho thấy sự khác biệt đáng kể so với nghiệm thức không bổ sung vi khuẩn *L. sphaericus* (ANOVA một chiều, phương pháp so sánh Duncan).

Nhận xét này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả khi so sánh 2 công thức đối chứng (ĐC và ĐC1) không bổ sung vi khuẩn *L. sphaericus* đều có chiều cao và sinh khối thấp hơn các công thức còn lại (T1, T2, T3, T4, T5 và T6). Đồng thời, trong cùng một liều lượng vi khuẩn như nhau (0,5, 1 và 2 g/kg đất khô), trong môi trường đất chưa khử trùng chiều cao và sinh khối cây *S. nigrum* L., luôn cao hơn trong môi trường đất khử trùng (hình 1). Kết quả này chứng minh rằng, vi khuẩn *L. sphaericus* đã góp phần thúc đẩy quá trình sinh trưởng và phát triển của cây *S. nigrum* L. làm tăng sinh khối, tăng khả năng tích lũy sinh học.

Ngoài ra, cây *S. nigrum* L. và vi khuẩn *L. sphaericus* là loài bản địa, có thời gian dài thích nghi trên đất có hàm lượng ô nhiễm Cr cao, đã thích nghi hoàn toàn với điều kiện sống bất lợi và hình thành cơ chế đề tồn tại được trên đất ô nhiễm Cr nên ảnh hưởng đến khả năng xử lý cũng như cơ chế vận chuyển kim loại Cr trong cây. Nhận xét này phù hợp với kết quả nghiên cứu của J. Pratas và cs (2013) [17], đó là đất tại các vị trí có chất ô nhiễm kim loại nặng cao, thực vật bản địa thường sẽ trở nên thích nghi theo thời gian. Điều này có ý nghĩa rất lớn trong việc áp dụng thực vật để xử lý ô nhiễm kim loại nặng vì các cây bản địa không cần tưới nước, bón phân và phun thuốc trừ sâu thường xuyên nhưng vẫn sinh trưởng và phát triển tốt, là một trong những điều kiện cần thiết trong công nghệ dùng thực vật xử lý kim loại nặng.

3.2. Ảnh hưởng của *Lysinibacillus sphaericus* đến khả năng hấp thụ crom của cây *Solanum nigrum* L.

Sau 90 ngày trồng thí nghiệm, tác giả thu mẫu và phân tích, kết quả sau khi xử lý bằng phần mềm IBM SPSS 20 được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của *Lysinibacillus sphaericus* đến khả năng hấp thụ crom của cây *Solanum nigrum* L.

Công thức	Nồng độ vi khuẩn (g/10 kg đất khô)	Hàm lượng crom tích lũy trong cây (mg/kg)			Hệ số		
		Thân	Lá	Rễ	Trung bình	TF	BF
ĐC	0	20,70 ^a ±0,10	21,70 ^a ±0,10	18,57 ^a ±0,12	20,32 ^a	2,28	0,16
T1	0,5	22,13 ^a ±0,49	22,37 ^a ±0,21	19,20 ^a ±0,10	21,23 ^a	2,32	0,17
T2	1	23,83 ^a ±0,32	22,90 ^a ±0,10	19,30 ^a ±0,30	22,01 ^a	2,42	0,18
T3	2	23,40 ^a ±0,26	23,37 ^a ±0,25	19,33 ^a ±0,25	22,03 ^a	2,42	0,18
ĐC1	0	19,80 ^a ±0,36	20,77 ^a ±0,12	17,60 ^a ±0,17	19,3 ^a	2,30	0,15
T4	0,5	20,83 ^a ±0,06	21,80 ^a ±0,10	18,43 ^a ±0,47	20,36 ^a	2,31	0,16
T5	1	22,43 ^a ±0,64	21,87 ^a ±0,06	18,50 ^a ±0,53	20,93 ^a	2,39	0,17
T6	2	22,53 ^a ±0,32	22,60 ^a ±0,20	18,63 ^a ±0,38	21,26 ^a	2,42	0,17

TF: hệ số vận chuyển; BF: hệ số tích lũy sinh học. Các chữ cái (a, b, c...) khác nhau trong mỗi cột chỉ ra sự khác biệt đáng kể giữa các nồng độ vi khuẩn khác nhau ($p < 0,05$, thử nghiệm Duncan).

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, 100% các công thức có bổ sung vi khuẩn *L. sphaericus* đều có khả năng hút thu kim loại nặng Cr cao hơn so với công thức không bổ sung vi khuẩn *L. sphaericus* (ĐC, ĐC1 < T1, T2, T3, T4, T5, T6), trong cùng một nồng độ *L. sphaericus*, khả năng tích lũy kim loại nặng Cr trong các bộ phận của cây ở các công thức đất chưa khử trùng luôn lớn hơn các công thức đất đã khử trùng (T1, T2, T3 > T4, T5, T6) và có hàm lượng Cr tích lũy trong thân, lá (phần trên mặt đất) luôn cao hơn trong rễ (phần dưới mặt đất) (TF > 1). Theo P.B. Kumar và cs (1995) [18] và C.Y. Wei và cs (2006) [19], loài thực vật có khả năng vận chuyển kim loại nặng cao khi có hệ số TF > 1. Kết quả nghiên cứu này đã chứng minh cây *S. nigrum* L. là loài thực vật có khả năng vận chuyển Cr cao vào các bộ phận thân,

lá và rễ, kết hợp với *L. sphaericus* là loài vi khuẩn có khả năng sản sinh chất kích thích sinh trưởng thực vật IAA, là chất điều tiết sinh trưởng, thúc đẩy sự phân chia tế bào và hình thành rễ nhánh, rễ và lá giúp cây sinh trưởng và phát triển [16].

Khi so sánh nồng độ vi khuẩn *L. sphaericus* được bổ sung vào các công thức thí nghiệm, tác giả nhận thấy, hàm lượng kim loại nặng Cr tích lũy vào các bộ phận thân, lá và rễ của cây tỷ lệ thuận với hàm lượng *L. sphaericus* bổ sung vào và dao động trung bình từ 19,39 đến 22,03 mg/kg đất khô, thấp nhất ở công thức ĐC1 (19,39 mg/kg) và cao nhất ở công thức T3 (22,03 mg/kg).

Trong cùng một nồng độ vi khuẩn *L. sphaericus* được bổ sung vào các công thức thí nghiệm, hệ số TF và BF trong môi trường đất chưa khử trùng luôn cao hơn trong môi trường đất đã khử trùng (ĐC, T1, T2, T3 > ĐC1 T4, T5, T6), công thức có hệ số TF và BF nhỏ nhất là ĐC1 (TF: 2,30, BF: 0,15) lớn nhất là T2=T3 (TF: 2,42, BF=0,18). Tuy nhiên, xét về mặt hiệu quả kinh tế, tại công thức T3 cần bổ sung vi khuẩn *L. sphaericus* nhiều gấp đôi so với công thức T2 nhưng hệ số TF và BF vẫn bằng nhau và không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê về khả năng tích lũy kim loại nặng Cr vào cây (bảng 3). Vì vậy, nếu sử dụng cây *S. nigrum* L., có bổ sung vi khuẩn *L. sphaericus* để xử lý đất ô nhiễm Cr ở nồng độ 263,8±7,98 mg/kg đất khô tại xã Bảo Quang, TP Long Khánh, tỉnh Đồng Nai cần bổ sung thêm 1 g *L. sphaericus*/10 kg đất khô là đạt hiệu quả cả về kinh tế và kỹ thuật xử lý cao nhất.

Khi so sánh kết quả nghiên cứu của tác giả với nhóm nghiên cứu của H.S. Hussein (2008) [20] về mối liên hệ giữa 3 chủng vi khuẩn thuộc giống *Bacillus* là *Bacillus licheniformis*, *Bacillus thuringiensis* và *Bacillus biosubtyl* về khả năng tích lũy Cr của cây mù tạt Ấn Độ, kết quả cho thấy, cả 3 chủng đều có khả năng tăng sự tích lũy nguyên tố Cr trong cây với mức tăng lần lượt cho 3 chủng vi khuẩn là 0,93; 0,76 và 0,24 mg/kg so với đối chứng. Trong khi đó, kết quả của tác giả khi so công thức đối chứng ĐC1 với công thức T3 tăng đến 1,71 mg/kg. Kết quả chứng minh, vi khuẩn *L. sphaericus* có vai trò rất quan trọng và có tính khả thi cao khi bón cho cây *S. nigrum* L. để xử lý đất ô nhiễm Cr, mở ra triển vọng trong quá trình xử lý đất ô nhiễm kim loại nặng bằng thực vật với chi phí thấp và thân thiện với môi trường.

3.3. Đặc tính lý hoá của đất trước và sau khi thí nghiệm

Để đánh giá hiệu quả cải tạo đất của phương pháp dùng *L. sphaericus* kết hợp với cây *S. nigrum* L. trong xử lý đất ô nhiễm Cr, tác giả tiến hành xác định đặc tính lý hoá của đất trước và sau khi thí nghiệm. Kết quả sau xử lý được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Đặc tính lý hoá môi trường đất trước và sau khi thí nghiệm.

Đặc tính lý hoá môi trường đất	Trước thí nghiệm	Sau thí nghiệm	% so với ban đầu
pH	5,02±1,07	5,05±0,03	100,6
N (%)	0,11±0,01	0,13±0,04	118,2
OC (%)	1,56±0,11	1,78±0,09	114,1
K ₂ O ₅ (mg/100 g)	9,74±4,93	8,74±0,65	89,7
P ₂ O ₅ (mg/100 g)	23,5±17,7	20,77±2,21	88,4

Đất sau thí nghiệm, hàm lượng chất hữu cơ (OC) và nitơ tổng số (N) đều tăng đáng kể (OC tăng 14,1%, N tăng 18,2% so với ban đầu). Kết quả này cho thấy, nhờ *Lysinibacillus sphaericus* đã thúc đẩy khả năng phát triển cây *S. nigrum* L. tại địa điểm thí nghiệm, trong khi các chất hữu cơ không bị rửa trôi, đồng thời rễ, thân, lá của cỏ khô vùi trong đất làm tăng hàm lượng hữu cơ và nitơ trong đất. Nhận định này phù hợp với nghiên cứu của N. Chomchalow (2000) [21]. Ngược lại, K₂O₅ và P₂O₅ đều giảm so với ban đầu (K₂O₅ giảm 10,3% và P₂O₅ giảm 11,6%). Điều này có thể giải thích do thời gian phân huỷ K₂O₅ và P₂O₅ trong đất chậm, cây *S. nigrum* L. đã hút một lượng lớn K₂O₅ và P₂O₅ để phát triển. Với những đặc điểm trên cho thấy, việc trồng cây *S. nigrum* L. kết hợp với *L. sphaericus* có xu hướng cải thiện tính chất lý hoá của đất theo hướng tích cực. Kết quả này một lần nữa khẳng định hiệu quả của phương pháp sử dụng *L. sphaericus* kết hợp với cây *S. nigrum* L. để xử lý và cải tạo đặc tính lý hoá của đất ô nhiễm kim loại nặng Cr.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã chứng minh vi khuẩn *L. sphaericus* có tính khả thi cao khi bón cho cây *S. nigrum* L. để xử lý giảm thiểu đất ô nhiễm Cr với chi phí thấp và thân thiện với môi trường.

Trong môi trường đất ô nhiễm Cr 263,8±7,98 mg/kg đất khô, dùng vi khuẩn *L. sphaericus* với nồng độ 1 g/10 kg đất khô bón cho cây *S. nigrum* L. đạt hiệu quả cao nhất về kinh tế và khả năng xử lý loại bỏ kim loại nặng Cr ra khỏi đất ô nhiễm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Trường Đại học Mở TP Hồ Chí Minh tài trợ thông qua đề tài mã số E2022.02.2. Tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Shahid, S. Shamshad, M. Rafiq, et al. (2017), "Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review", *Chemosphere*, **178**, pp.513-533, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.03.074.
- [2] H.N. Thanh (2021), "Assessment of heavy metal contamination (As, Pb, Cd, Cu, Zn, Cr) in agricultural land in Long Khanh city, Dong Nai province", *Vietnam Soil Science Journal*, **63**, pp.60-64 (in Vietnamese).
- [3] H.N. Thanh, T.N. Ha (2021a), "Current status and solutions to reduce heavy metals in agricultural soil in Long Khanh City, Dong Nai", *Journal of Agriculture and Rural Development*, **22**, pp.21-27 (in Vietnamese).

- [4] B. Mark, N. Bougher, B. Dell, et al. (1996), *Working with Mycorrhiza in Forestry and Agriculture*, Australian Centre for International Agricultural Research, pp.187-201, DOI: 10.22004/ag.econ.119356.

- [5] I. Raskin, B.D. Ensley (1999), *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*, Wiley, 304pp.

- [6] P. Romkens, L. Bouwman, J. Japenga, et al. (2002), "Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils", *Environ. Pollut.*, **116**(1), pp.109-121, DOI: 10.1016/S0269-7491(01)00150-6.

- [7] G.I. Burd, D.G. Dixon, B.R. Glick (2000), "Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants", *Can. J. Microbiol.*, **46**(3), pp.237-245, DOI: 10.1139/w99-143.

- [8] S. Karenlampi, H. Schat, J. Vangronsveld, et al. (2000), "Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils", *Environ. Pollut.*, **107**(2), pp.225-231, DOI: 10.1016/S0269-7491(99)00141-4.

- [9] X. Hu, G.L. Boyer (1996), "Siderophore-mediated aluminum uptake by *Bacillus megaterium* ATCC 19213", *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**(11), pp.4044-4048, DOI: 10.1128/aem.62.11.4044-4048.1996.

- [10] C.L. Patten, R.B. Glick (1996), "Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid", *Can. J. Microbiol.*, **42**(3), pp.207-220, DOI: 10.1139/m96-032.

- [11] H.N. Thanh, T.M. Huong (2021b), "Investigation and selection of indigenous plants for potential treatment of soil contaminated with chromium in Long Khanh city, Dong Nai province", *Vietnam J. Agri. Sci.*, **19**(1), pp.110-118 (in Vietnamese).

- [12] C. Tu, L.Q. Ma (2002), "Effect of arsenic concentrations and forms on arsenic uptake by the hyperaccumulator ladder brake", *Journal of Environmental Quality*, **31**(2), pp.641-647, DOI: 10.2134/jeq2002.6410.

- [13] A.J.M. Baker, R. Brooks (1989), "Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry", *Biorecovery*, **1**, pp.81-126.

- [14] A.J.M. Baker, R.D. Reeves, A.S.M. Hajar (1994), "Heavy metal accumulation and tolerance in British population of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl (Brassicaceae)", *New Phytologist*, **127**(1), pp.61-68, DOI: 10.1111/j.1469-8137.1994.tb04259.x.

- [15] L.Q. Ma, K.M. Komar, C. Tu (2001), "A fern that hyperaccumulates arsenic", *Nature*, **409**, DOI: 10.1038/35078151.

- [16] A.M.A. Monroy, J.C.S. Martínez, J. Dussán (2019), "Lysinibacillus sphaericus as a nutrient enhancer during fire-impacted soil replantation", *Applied and Environmental Soil Science*, **2019**, pp.1-8, DOI: 10.1155/2019/3075153.

- [17] J. Pratas, P.J.C. Favas, R. D'Souza, et al. (2013), "Phytoremediation assessment of flora tolerant to heavy metals in the contaminated soils of an abandoned Pb mine in Central Portugal", *Chemosphere*, **90**(8), pp.2216-2225, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.09.079.

- [18] P.B. Kumar, V. Dushenkov, H. Motto, et al. (1995), "Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metal from soils", *Environmental Science and Technology*, **29**(5), pp.1232-1238, DOI: 10.1021/es00005a014.

- [19] C.Y. Wei, T.B. Chen (2006), "Arsenic accumulation by two brake ferns growing on an arsenic mine and their potential in phytoremediation", *Chemosphere*, **63**(6), pp.1048-1053, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2005.09.061.

- [20] H.S. Hussein (2008), "Optimisation of plant-bacteria complex for phytoremediation of contaminated soils", *International Journal of Botany*, **4**(4), pp.437-443, DOI: 10.3923/ijb.2008.437.443.

- [21] N. Chomchalow (2000), *Manual of The International Training Course on The Vetiver System*, ORDPB, Bangkok, Thailand, https://www.vetiver.org/PRNV_TCM.pdf, accessed 5 May 2023.

Cấu trúc nano xếp trật tự 3 chiều CdS/ZnO cho hiệu suất cao trong ứng dụng quang điện hóa tách nước

Hoàng Nhật Hiếu^{1*}, Nguyễn Ngọc Khoa Trường¹, Nguyễn Văn Nghĩa¹, Nguyễn Lê Hiền², Đỗ Tiến Quang³, Đặng Xuân Kỳ⁴

¹Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Quy Nhơn, 170 An Dương Vương, phường Nguyễn Văn Cừ, TP Quy Nhơn, tỉnh Bình Định, Việt Nam

²Trường THCS Nhơn Hội, phường Hội Thành, TP Quy Nhơn, tỉnh Bình Định, Việt Nam

³Trường THPT Quang Trung, 55 Võ Văn Đồng, thị trấn Phú Phong, huyện Tây Sơn, tỉnh Bình Định, Việt Nam

⁴Trường THPT Dân tộc nội trú Đông Gia Lai, phường An Tân, huyện An Khê, tỉnh Gia Lai, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/4/2022; ngày chuyển phản biện 5/4/2022; ngày nhận phản biện 24/4/2022; ngày chấp nhận đăng 27/4/2022

Tóm tắt:

Cấu trúc nano xếp trật tự 3 chiều đã và đang được xem xét như là một thông số "chìa khóa" để chế tạo những điện cực quang cho hiệu suất cao trong ứng dụng quang điện hóa tách nước (PEC), nhờ vào khả năng hấp thụ ánh sáng cao và sở hữu một diện tích bề mặt lớn. Trong nghiên cứu này, cấu trúc CdS/ZnO xếp trật tự 3 chiều được chế tạo theo phương pháp khuôn cứng: Đầu tiên những quả cầu polystyrene (PS) được lắng đọng trên đế dẫn ITO (oxit thiếc indi), sau đó vật liệu ZnO được điền đầy vào những khe hở giữa những hạt cầu sử dụng phương pháp lắng đọng điện hóa, tiếp theo các hạt cầu PS được loại bỏ bởi nhiệt độ tại 500°C để hình thành cấu trúc xếp trật tự 2 chiều. Cuối cùng, các hạt nano CdS được lắng đọng trên bề mặt của ZnO theo phương pháp hóa ướt để hình thành cấu trúc CdS/ZnO xếp trật tự 3 chiều. Thuộc tính quang điện hóa tách nước của những cấu trúc chế tạo được nghiên cứu và so sánh một cách có hệ thống. Kết quả đo quang điện hóa cho thấy, dưới bức xạ của ánh sáng mô phỏng ánh sáng mặt trời, hiệu suất chuyển đổi năng lượng của cấu trúc CdS/ZnO xếp trật tự 3 chiều tối ưu là 3,4%, cao hơn gần 1,9 lần so với hiệu suất 1,8% của cấu trúc CdS/ZnO màng mỏng với cùng điều kiện chế tạo.

Từ khóa: cấu trúc xếp CdS/ZnO, năng lượng H_2 , quang điện hóa tách nước.

Chỉ số phân loại: 1.7, 2.5

1. Đặt vấn đề

Quang điện hóa tách nước (PEC) dựa trên nguyên lý chuyển đổi năng lượng mặt trời thành năng lượng hydro, một nguồn năng lượng sạch và vô tận đang được xem xét là nguồn năng lượng của tương lai [1, 2]. Trong nguyên lý này, điện cực quang đóng vai trò rất quan trọng, quyết định hiệu suất chuyển đổi năng lượng. Một điện cực quang làm việc hiệu quả phải liên quan đến một số bước trình tự như sau: Sự sinh ra lớn các cặp điện tử - lỗ trống bởi quá trình hấp thụ quang, sự phân tách và di chuyển của các điện tích đến bề mặt điện cực nhanh, và phản ứng oxi hóa/khử nước với các điện tử - lỗ trống sinh quang hiệu quả. Do đó, hầu hết những nghiên cứu hiện nay là tập trung trên việc tìm kiếm vật liệu cũng như thiết kế những cấu trúc nano phù hợp cho điện cực quang nhằm nâng cao hiệu suất chuyển đổi năng lượng hướng tới khả năng ứng dụng thực tế của kỹ thuật này. Kẽm ôxít là vật liệu bán dẫn rẻ tiền và sẵn có, với những hình dạng cấu trúc khác nhau như dây, ống, thanh, hoặc những cấu trúc phân nhánh trật tự cao [3-8]. Hiệu suất PEC của những cấu trúc này đã được cải thiện đáng kể nhờ vào hiệu ứng bẫy ánh sáng cao và vận chuyển

điện tử nhanh. Tuy nhiên, khả năng chuyển đổi năng lượng vẫn chưa đạt cực đại, do bề dày hấp thụ quang của điện cực vẫn chưa hiệu quả. Để tăng cường khả năng hấp thụ quang có thể có nhiều cách như: xếp chồng những cấu trúc nano hoặc thiết kế những cấu trúc chặt khít... Tuy nhiên, việc này đã làm hạn chế khả năng thấm của dung dịch điện phân vào bên trong màng điện cực, làm giảm vùng phản ứng xúc tác điện hóa của vật liệu với dung dịch điện phân. Thật may mắn, gần đây những cấu trúc xếp nano ba chiều trật tự cao của vật liệu ZnO, chế tạo bằng phương pháp hỗ trợ khuôn cứng sử dụng những quả cầu PS làm vật liệu khuôn, đã giải quyết được những hạn chế nêu trên [9, 10]. Cấu trúc này đã cho thấy, hiệu suất quang điện hóa tách nước tăng lên đáng kể nhờ vào diện tích bề mặt riêng và các vùng phản ứng điện hóa cực kỳ lớn. Do đó, cấu trúc này được xem là hứa hẹn cho ứng dụng trong lĩnh vực quang điện hóa tách nước. Tuy nhiên, một hạn chế lớn của ZnO là khả năng hấp thụ ánh sáng trong vùng nhìn thấy bị giới hạn bởi khe năng lượng lớn. Gần đây, nhiều nhóm nghiên cứu thiết kế các điện cực quang kết hợp những ưu điểm của cấu trúc trật tự cao với các vật liệu có khe quang thấp đã cho thấy hiệu suất tách nước của điện cực được cải thiện đáng kể [11-15].

*Tác giả liên hệ: Email: hoangnathieu@gnu.edu.vn

Three-dimensional ordered CdS/ZnO porous nanostructures for high-performance photoelectrochemical water splitting

Nhat Hieu Hoang^{1*}, Ngoc Khoa Truong Nguyen¹, Van Nghia Nguyen¹,
Le Hien Nguyen², Tien Quang Do³, Xuan Ky Dang⁴

¹Faculty of Natural Sciences, Quy Nhon University, 170 An Duong Vuong Street,
Nguyen Van Cu Ward, Quy Nhon City, Binh Dinh Province, Vietnam

²Nhon Hoi Secondary School,

Hoi Thanh Ward, Quy Nhon City, Binh Dinh Province, Vietnam

³Quang Trung High School, 55 Vo Van Dong Street,

Phu Phong Town, Tay Son District, Binh Dinh Province, Vietnam

⁴Dong Gia Lai Ethnic Minority Boarding High School,

An Tan Ward, An Khe District, Gia Lai Province, Vietnam

Received 2 April 2022; revised 24 April 2022; accepted 27 April 2022

Abstract:

Three-dimensional ordered porous nanostructures have been considered as a key factor in developing high-performance photoelectrodes for photoelectrochemical (PEC) water splitting applications due to their high light absorption capacity and large surface area. In this study, the authors design and fabricate the three-dimensional ordered CdS/ZnO porous structures by the hard mould method. Firstly, polystyrene (PS) spheres were deposited on the indium tin oxide (ITO) conductive substrate; secondly, the gaps among the spheres were filled with ZnO material using electrochemical deposition; then the PS spheres were burned and formed the ordered porous structure of ZnO; finally, CdS nanoparticles were deposited on the surface of ZnO by wet chemical method to form a three-dimensional ordered CdS/ZnO porous structure. The photoelectrochemical water-splitting properties of the fabricated structures were studied and compared systematically. The results show that, under the irradiation of solar simulation, the efficiency of the optimised three-dimensional ordered CdS/ZnO porous structure is 3.4%, nearly 1.9 times higher than that of with 1.8% efficiency of thin-film CdS/ZnO structure at the same fabrication conditions.

Keywords: CdS/ZnO porous structure, hydrogen energy, photoelectrochemical water splitting.

Classification numbers: 1.7, 2.5

Trong nghiên cứu này, cấu trúc CdS/ZnO xốp nano trật tự ba chiều được chế tạo và ứng dụng làm điện cực quang hiệu suất cao cho ứng dụng quang điện hóa tách nước ánh sáng mặt trời. Cấu trúc này cho hiệu suất tách nước cao nhờ sự kết hợp của hai thuận lợi: *thứ nhất* là khả năng hấp thụ ánh sáng cao của cấu trúc xốp trật tự ba chiều; *thứ hai* là cấu trúc này có diện tích bề mặt riêng lớn, và khả năng thấm cao của dung dịch điện phân đến toàn bộ bề mặt vật liệu thông qua các lỗ xốp nano.

2. Thực nghiệm

2.1. Chuẩn bị điện cực để dẫn oxit thiếc indium

Đế ITO được cắt thành miếng nhỏ, kích thước 20x10 mm. Sau đó, được làm sạch trong acetone, ethanol và nước cất bằng máy rung rửa siêu âm trong thời gian 15 phút mỗi loại. Tiếp theo, để được sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ 60°C.

2.2. Lắng đọng cầu polystyrene lên đế oxit thiếc indium

Quá trình lắng đọng cầu PS lên đế ITO được thực hiện bằng 2 phương pháp:

Phương pháp bay hơi tự sắp xếp: Trộn 1 ml cầu PS kích thước 220 nm (2,5%) với 8 ml Ethanol rồi khuấy đều. Ngâm đế ITO đã làm sạch vào dung dịch cầu đã pha ở trên rồi cho vào tủ sấy ở nhiệt độ 65°C trong 24 giờ, cho đến khi dung dịch bay hơi hết, ta thu được một lớp màng mỏng màu trắng đục, đó chính là cầu PS tự sắp xếp trên đế ITO.

Phương pháp nhỏ phủ: Đế ITO đã làm sạch được gia nhiệt trước trên một đế gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C. Nhỏ 3 giọt dung dịch PS đã pha ở trên lên đế ITO, sau đó để khô trong 5 phút, ta được màng mỏng cầu (PS) trên đế ITO.

2.3. Chế tạo điện cực ZnO cấu trúc xốp

Màng ZnO cấu trúc xốp được chế tạo bằng phương pháp lắng đọng điện hóa, sử dụng hệ điện hóa 3 điện cực (CS350). Đế ITO phủ PS chế tạo ở bước trên được sử dụng làm điện cực làm việc, điện cực đối là dây Pt và điện cực Ag/AgCl (trong KCl bão hòa) làm điện cực so sánh. Dung dịch điện hóa sử dụng là $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ nồng độ 0,1 M. Điện thế lắng đọng là -1 V, nhiệt độ dung dịch được giữ không đổi ở 70°C, và thời gian lắng đọng điện là thay đổi 5, 7, 9 và 11 phút để khảo sát ảnh hưởng của bề dày màng tới hiệu suất PEC. Màng mỏng ZnO trên đế ITO không cầu PS cũng được chế tạo với điều kiện tương tự để làm mẫu so sánh. Các mẫu sau khi chế tạo được sấy khô ở 60°C, sau đó các quả cầu PS được loại bỏ bằng cách: ngâm mẫu trong dung dịch toluen nguyên chất trong 24 giờ và xử lý nhiệt tại nhiệt độ 500°C, thời gian 1 giờ trong không khí. Kết quả ở quy trình này ta được các mẫu điện cực ZnO cấu trúc màng

mỏng, ZnO cấu trúc xốp sử dụng để cầu PS chế tạo bằng phương pháp tự sắp xếp (ký hiệu mẫu là ZnO-A), ZnO cấu trúc xốp sử dụng để cầu PS chế tạo bằng phương pháp nhỏ phủ (ký hiệu mẫu là ZnO-P).

2.4. Chế tạo điện cực CdS/ZnO cấu trúc xốp

Vật liệu CdS được mọc trên bề mặt ZnO bằng phương pháp hóa ướt, quy trình mọc được tiến hành như sau: các mẫu điện cực ZnO màng mỏng và ZnO-P chế tạo ở bước trên được ngâm vào trong dung dịch mọc CdS, bao gồm 0,01 M C_2H_5NS và 0,01 M $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$. Quá trình mọc CdS được thực hiện tại nhiệt độ phòng với thời gian 30 phút. Mẫu sau khi mọc được rửa sạch với nước cất và sấy khô ở 60°C. Kết quả của bước này là hình thành các cấu trúc CdS/ZnO màng mỏng, CdS/ZnO-P cấu trúc xốp.

2.5. Đo thuộc tính quang điện hóa tách nước (PEC)

Thuộc tính PEC được đo sử dụng hệ điện hóa đa năng (CS350 Potentiostat/Galvanostat). Những điện cực quang chế tạo được sử dụng như những điện cực làm việc (photoanode), điện cực đối là điện cực dây Pt (cathode) và điện cực tham chiếu (reference) là Ag/AgCl trong KCl bão hòa. Để đánh giá hiệu suất tách nước cho những cấu trúc vật liệu ZnO ta sử dụng dung dịch điện phân là Na_2SO_4 với nồng độ 0,5 M và những cấu trúc CdS/ZnO sử dụng hỗn hợp dung dịch gồm Na_2S (0,25 M) và Na_2SO_3 (0,35 M). Nguồn ánh sáng mô phỏng ánh sáng mặt trời từ đèn Xenon với công suất 150 W, cường độ $I_0 = 75 W/cm^2$. Thế quét tuyến tính được quét tại tốc độ 100 mV/s và dòng quang tương ứng theo thế được ghi lại. Hiệu suất quang điện hóa tách nước (h%) được tính toán sử dụng công thức sau [16].

$$h(\%) = \frac{J_p(E_{rev} - E_{app})}{I_0} \cdot 100$$

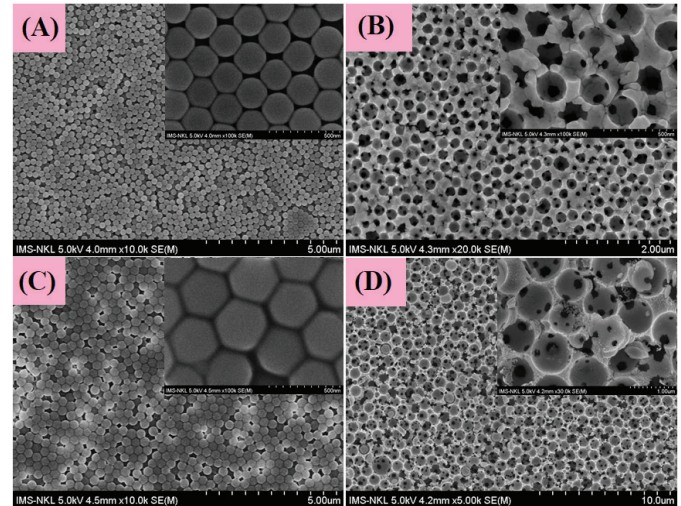
trong đó: J_p là mật độ dòng quang (mA/cm^2); I_0 là cường độ của nguồn sáng; E_{rev} là thế tách nước có giá trị 1,23 eV và $E_{app} = E_{meas} - E_{aoc}$ là thế đặt vào hai điện cực, trong đó E_{meas} là thế của điện cực làm việc theo dòng quang được đo dưới sự chiếu sáng và E_{aoc} là thế của điện cực làm việc dưới điều kiện mở mạch.

3. Kết quả và bàn luận

Hình thái bề mặt của cầu PS lắng đọng trên đế ITO và ZnO cấu trúc xốp trật tự 3 chiều được quan sát trên máy kính hiển vi điện tử quét (SEM, S-4800) tại Viện Khoa học Vật liệu Việt Nam như trình bày trong hình 1.

Hình 1A và 1C là ảnh SEM của cầu PS trên đế ITO chế tạo bằng phương pháp nhỏ phủ và phương pháp bay hơi tự sắp xếp theo thứ tự. Quan sát các ảnh SEM cho thấy, đối với phương pháp nhỏ phủ các quả cầu sắp xếp có độ xốp cao hơn, do tốc độ bay hơi nhanh của dung môi trong thời gian 5 phút. Đối với phương pháp bay hơi tự sắp xếp thì sự sắp xếp của các quả cầu PS gần như xếp chặt và khít, do thời gian

bay hơi của dung môi là khá dài (24 giờ). Tuy nhiên, cấu trúc xếp chặt vẫn chưa được hoàn hảo. Ảnh SEM phóng đại cao xác định thêm các hạt cầu PS có kích thước khá đồng dạng và kích thước là khoảng 220 nm.

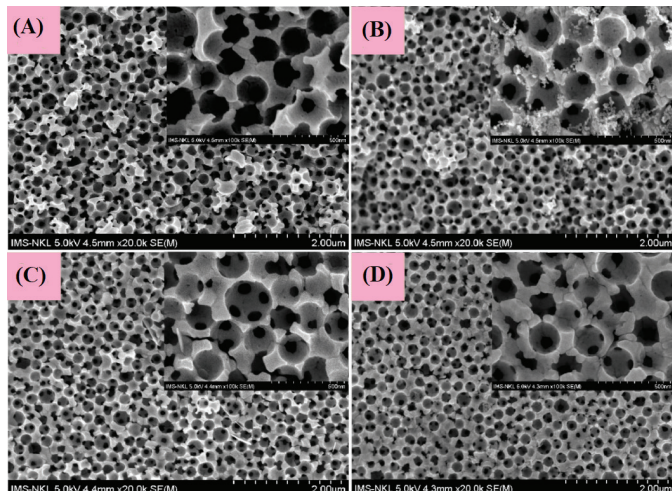


Hình 1. Ảnh kính hiển vi điện tử quét với cầu polystyrene trên đế oxit thiếc indium chế tạo bởi phương pháp nhỏ phủ (A), cấu trúc ZnO-P tương ứng (B), cầu polystyrene trên đế ITO chế tạo bởi phương pháp bay hơi tự sắp xếp (C) và cấu trúc ZnO-A tương ứng (D).

Hình 1B và 1D là ảnh SEM cấu trúc ZnO xốp chế tạo bằng phương pháp lắng đọng điện hóa với thời gian 9 phút, sử dụng điện cực cầu PS (hình 1A) và cầu PS (hình 1C), sau đó ăn mòn cầu PS trong dung dịch Toluene thời gian 24 giờ và ủ nhiệt ở 500°C trong 1 giờ, theo thứ tự. Lồng vào là các ảnh SEM phóng đại cao. Từ hình ảnh SEM cho thấy, cả 2 phương pháp đều cho dạng cấu trúc ZnO lỗ xốp nano, các lỗ xốp được tạo ra bởi sự loại bỏ các hạt cầu PS. Tuy nhiên, có sự khác nhau một ít giữa 2 cấu trúc. ZnO-P lỗ xốp bị co lại, nhỏ hơn so với kích thước hạt cầu PS và bề dày vách ZnO là khá dày. Trong khi đó, ZnO-A thì kích thước lỗ xốp không thay đổi và bề dày vách là khá mỏng. Điều này xảy ra là bởi vì phương pháp nhỏ phủ tạo màng PS có khe hở lớn hơn, do đó bề dày vách ZnO dày hơn, nghĩa là hàm lượng vật liệu ZnO lớn. Khi ủ nhiệt ở 500°C thì ZnO kết tinh và làm cho kích thước lỗ xốp nhỏ lại. Cấu trúc ZnO-P được mong đợi sẽ cho hiệu suất PEC lớn hơn, nhờ vào bề dày vách dày sẽ thuận lợi hơn trong quá trình vận chuyển điện tử. Thật vậy, kết quả đo PEC trình bày ở phần sau cho thấy hiệu suất PEC của mẫu ZnO-P cho hiệu suất tốt hơn. Do đó, phương pháp nhỏ phủ cầu PS được chọn cho tất cả những bước khảo sát tiếp.

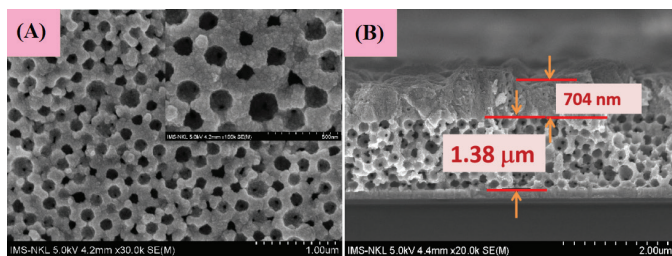
Hình 2 là ảnh SEM bề mặt của ZnO-P với thời gian lắng đọng điện hóa thay đổi: 5, 7, 9 và 11 phút theo thứ tự, lồng vào chúng là các ảnh SEM phóng đại. Kết quả ảnh SEM cho thấy, bề dày vách tăng lên khi thời gian lắng đọng điện hóa tăng và cấu trúc lỗ xốp ổn định với một bề mặt khá bằng phẳng ở thời gian điện hóa là lớn hơn 9 phút. Ở thời gian điện hóa nhỏ hơn 9 phút, thì cấu trúc vách khá mỏng và bề

mặt khá lồi lõm. Điều này cho thấy rằng, ở thời gian lắng đọng điện hóa nhỏ (5 và 7 phút) vật liệu ZnO chưa được điền đầy hết toàn bộ bề dày lớp cầu PS. Như vậy, cấu trúc ZnO-P hình thành tốt ở điều kiện thời gian điện hóa lớn hơn 9 phút.



Hình 2. Ảnh kính hiển vi điện tử quét của ZnO-P với thời gian lắng đọng điện hóa khác nhau. (A) 5 phút, (B) 7 phút, (C) 9 phút, (D) 11 phút.

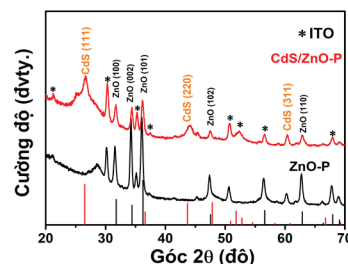
Hình 3A là mô hình bề mặt của mẫu CdS/ZnO-P với 30 phút mọc CdS. Quan sát mô hình cho thấy, sau khi mọc CdS thì cấu trúc lỗ xốp thay đổi rất nhiều, với bề dày vách dày hơn và kích thước lỗ xốp nhỏ hơn. Quan sát ảnh SEM mặt cắt ngang (hình 3B) cho thấy có hiện tượng hình thành hai lớp khác nhau, một lớp vật liệu xốp ở dưới có bề dày 1,38 mm và một lớp vật liệu màng kết chặt ở bên trên có bề dày khoảng 704 nm. Điều này cho thấy, sau một khoảng thời gian đầu dung dịch mọc CdS có thể thấm đến toàn bộ màng thông qua các lỗ xốp để mọc CdS. Tuy nhiên, sau một khoảng thời gian nhất định CdS mọc nhiều và bịt kín các lỗ xốp, khi đó CdS chỉ mọc ở lớp bên trên và hình thành cấu trúc hai lớp như quan sát thấy.



Hình 3. Ảnh kính hiển vi điện tử quét của mẫu CdS/ZnO-P với thời gian mọc CdS là 30 phút.

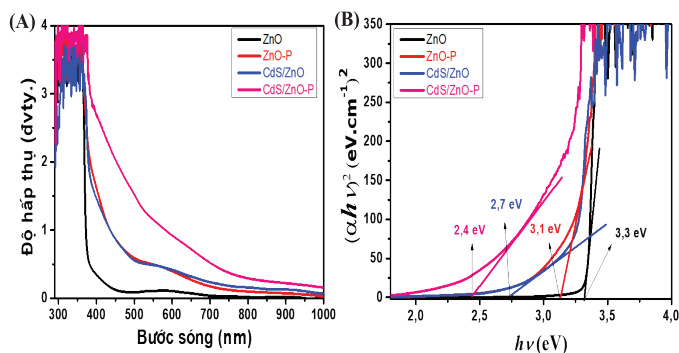
Cấu trúc tinh thể của các mẫu ZnO-P và CdS/ZnO-P được đặc trưng bởi phổ nhiễu xạ tia X trên máy BRUKER D2 tại Trường Đại học Quy Nhơn để chứng minh thêm sự mọc tinh thể của ZnO và CdS như cho thấy trên hình 4. Kết quả đo phổ XRD của cả hai mẫu đều cho thấy xuất hiện các đỉnh phổ đặc trưng ở 32, 34, 37, 47 và 63°. Các đỉnh phổ này

tương ứng với các mặt phẳng (100), (002), (101), (102) và (110) trùng khớp khá tốt với pha lục giác wurtzite của ZnO khối (JCDSD: No. 36-1451). Điều này chứng tỏ, mẫu là tinh thể ZnO có cấu trúc wurtzite. Đồng thời, trên giản đồ nhiễu xạ của mẫu CdS/ZnO-P còn cho thấy các đỉnh ở vị trí 26, 44 và 52° tương ứng với các mặt mạng (111) và (220) và (311) của CdS với pha lập phương cùng trục với pha lục giác của ZnO (JCPDS 10-0454). Điều này chứng tỏ rằng CdS được mọc thành công trên bề mặt ZnO.



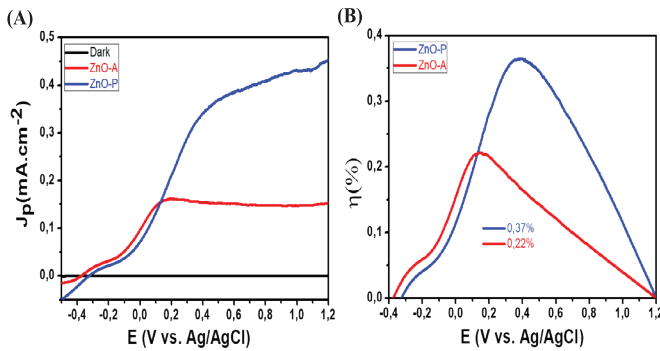
Hình 4. Phổ nhiễu xạ tia X của hai cấu trúc ZnO-P và CdS/ZnO-P.

Phổ UV-Vis của các điện cực được đo và thể hiện ở hình 5. Kết quả đo cho thấy, đối với mẫu điện cực ZnO màng thì chỉ hấp thụ trong vùng UV tại bước sóng 380 nm nhờ vào khe năng lượng rộng (~3,3 eV) (đường màu đen). Tuy nhiên, đối với mẫu ZnO-P thì biên hấp thụ mở rộng đến vùng nhìn thấy (đường màu đỏ). Điều này cho thấy, cấu trúc lỗ xốp có khả năng tăng cường hấp thụ quang trong vùng nhìn thấy, có thể là nhờ vào khả năng bẫy ánh sáng trong các lỗ xốp. Khi CdS mọc thêm lên trên các cấu trúc ZnO thì biên hấp thụ mở rộng thêm, cụ thể với mẫu CdS/ZnO màng thì biên hấp thụ là 520 nm (đường màu xanh) và CdS/ZnO-P là 600 nm (đường màu hồng) như cho thấy trong hình 5A. Điều này chứng minh vai trò hấp thụ tốt trong vùng ánh sáng nhìn thấy của vật liệu CdS nhờ vào khe năng lượng nhỏ (~2,4 eV). Khe năng lượng hấp thụ quang của các điện cực cũng được xác định bằng phương pháp Tauc như cho thấy trong hình 5B. Cụ thể khe năng lượng là 3,3 và 3,1 eV cho các điện cực ZnO màng và ZnO-P, sau khi mọc thêm CdS thì khe năng lượng là 2,7 và 2,4 eV cho các điện cực CdS/ZnO màng và CdS/ZnO-P theo thứ tự.



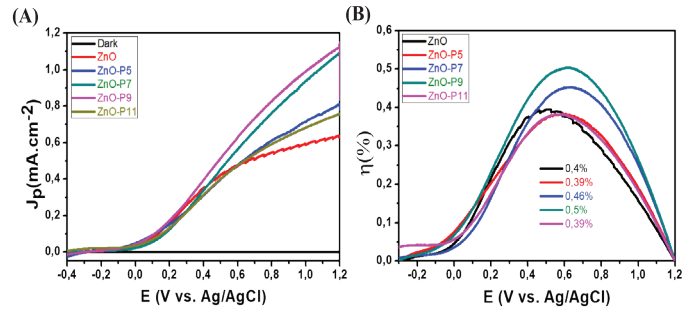
Hình 5. Phổ UV-Vis của các cấu trúc.

Thuộc tính PEC của hai cấu trúc ZnO-A và ZnO-P được đo và so sánh như thể hiện ở hình 6. Hình 6A là đường đặc trưng dòng quang theo thế được đo trong tối và dưới sự chiếu sáng của nguồn sáng đèn Xenon 150 W theo mức thế từ -0,6 đến 1,2 V, với dung dịch điện phân sử dụng là Na_2SO_4 nồng độ 0,5 M và tương ứng hình 6B là hiệu suất chuyển đổi quang tương ứng. Kết quả cho thấy, mật độ dòng quang cũng như hiệu suất chuyển đổi quang của cấu trúc ZnO-P cao hơn nhiều so với cấu trúc ZnO-A. Cụ thể, hiệu suất PEC là 0,37% cho cấu trúc ZnO-P, cao gấp 1,7 lần hiệu suất 0,22% cho cấu trúc ZnO-A. Điều này chứng minh, cấu trúc vách dày của các lỗ xốp là thuận lợi hơn trong quá trình truyền dẫn điện tử.



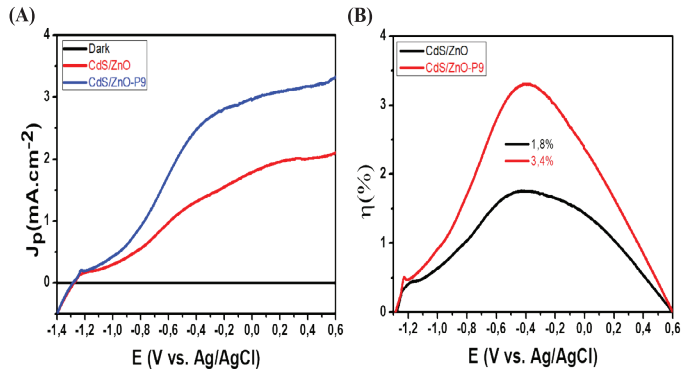
Hình 6. Mật độ dòng quang (A) và hiệu suất chuyển đổi quang (B) tương ứng của hai cấu trúc ZnO-A và ZnO-P.

Tính chất quang điện hóa tách nước phụ thuộc thời gian lắng đọng của các mẫu ZnO-P cũng được đo để tối ưu hiệu suất PEC theo bề dày (hình 7). Hình 7A là các đường cong J-V của các mẫu ZnO-P với thời gian mọc thay đổi và của mẫu ZnO màng mỏng chế tạo với cùng điều kiện và thời gian mọc là 9 phút, tương ứng hình 7B là hiệu suất PEC tính toán từ đường cong J-V. Kết quả, hiệu suất PEC đạt cực đại với mẫu ZnO-P9 (0,5%) cao hơn gấp 1,3 lần hiệu suất (0,4%) của mẫu ZnO màng mỏng. Nguyên nhân có thể được giải thích với 2 lý do: 1) Cấu trúc xốp hấp thụ quang mạnh hơn trong vùng ánh sáng nhìn thấy, do đó sinh ra nhiều hơn các cặp điện tử-lỗ trống; 2) Có tỷ số diện tích so với thể tích cực kỳ lớn, do đó tạo ra nhiều vùng xúc tác điện hóa. Thêm nữa, cấu trúc lỗ giúp cho các chất điện phân thấm dễ dàng đến toàn bộ bề mặt màng, điều này cũng làm tăng thêm vùng xúc tác điện hóa. So sánh hiệu suất PEC của các cấu trúc ZnO-P với thời gian điện hóa khác nhau cho thấy, ở thời gian mọc thấp (<9 phút) thì hiệu suất PEC thấp hơn. Cụ thể, hiệu suất 0,39% cho mẫu ZnO-P5 và 0,46% đối với ZnO-P7. Kết quả này khá phù hợp với sự quan sát mô hình bề mặt, ở thời gian mọc này, cấu trúc chưa ổn định và vật liệu chưa đủ nhiều để hấp thụ toàn bộ ánh sáng chiếu tới và các vách chưa đủ dày để vận chuyển dễ dàng các hạt tải điện. Cũng vậy, khi thời gian mọc quá dài thì hiệu suất PEC cũng giảm. Cụ thể, điện cực ZnO-P11 hiệu suất PEC giảm xuống chỉ còn 0,39%. Điều này có thể là do điện tử bị tái hợp khi vận chuyển đến điện cực với quãng đường đi dài.



Hình 7. Đường cong J-V (A) và hiệu suất chuyển đổi quang (B) của các cấu trúc ZnO màng và ZnO-P với các thời gian lắng đọng điện khác nhau.

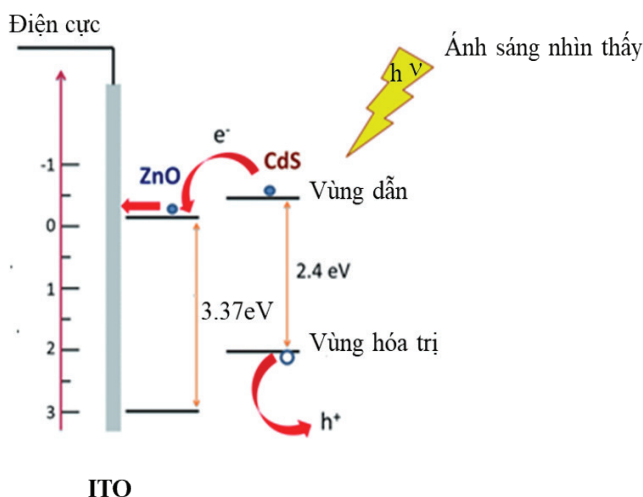
Hiệu suất quang điện hóa tách nước được tăng cường bởi mọc thêm vật liệu CdS có khe quang hẹp trên điện cực ZnO-P9 để hình thành cấu trúc CdS/ZnO-P9 và một mẫu đối chứng CdS/ZnO màng mỏng cũng được đo và so sánh như trình bày ở hình 8.



Hình 8. Đường cong J-V (A) và hiệu suất chuyển đổi quang (B) tương ứng của cấu trúc CdS/ZnO màng mỏng và CdS/ZnO-P9.

Hình 8A là đường cong J-V được đo trong mức thế từ -1,6 đến 0,6 V, dung dịch điện phân sử dụng là Na_2S (0,25 M) và Na_2SO_3 (0,35 M) và tương ứng hình 8B là hiệu suất PEC tính toán được. Kết quả, cấu trúc màng mỏng sau khi mọc thêm CdS thì hiệu suất tăng từ 0,4 lên đến 1,8%, tăng lên gấp 4,5 lần. Điều này chứng minh, vai trò hấp thụ ánh sáng mạnh trong vùng nhìn thấy của vật liệu CdS trong việc nâng cao hiệu suất PEC. Trong khi đối với cấu trúc xốp, hiệu suất tăng từ 0,5 lên đến 3,4%, tăng gấp 6,8 lần. So sánh hiệu suất PEC giữa 2 loại cấu trúc cũng cho thấy, với cấu trúc CdS/ZnO màng mỏng hiệu suất là 1,8%. Với cấu trúc CdS/ZnO-P9 xốp thì hiệu suất là 3,4%, tăng gấp 1,9 lần. Hiệu suất PEC đạt được là khá cao sau khi mọc thêm CdS là nhờ vào sự kết hợp của hai lý do: *thứ nhất* là khả năng hấp thụ quang tốt của vật liệu CdS và *thứ hai* là trật tự sắp xếp dải năng lượng của CdS so với ZnO là khá thuận lợi cho vấn đề truyền dẫn hạt tải. Mức năng lượng của dải dẫn và dải hóa trị của CdS nằm cao hơn ZnO, cho nên điện tử tạo ra từ dải dẫn của CdS dễ dàng vận chuyển đến dải dẫn của ZnO và lỗ trống di chuyển tới bề mặt trung gian giữa CdS-

electrolyte. Điều này có thể tách hiệu quả các cặp điện tử lỗ trống tạo ra và do đó ngăn chặn quá trình tái hợp. Sự sắp xếp phù hợp cấu trúc dải năng lượng của hai vật liệu có thể được mô tả ở hình 9.



Hình 9. Mô tả sự sắp xếp phù hợp dải năng lượng của hai vật liệu ZnO và CdS.

4. Kết luận

Nhóm nghiên cứu đã chế tạo thành công các vật liệu điện cực quang ZnO, CdS/ZnO cấu trúc xếp trật tự 3 chiều bằng phương pháp điện hóa kết hợp với phương pháp hóa ướt. Kết quả đo thuộc tính PEC cho thấy, dưới bức xạ của ánh sáng đèn Xenon (mô phỏng ánh sáng mặt trời) thì điện cực vật liệu ZnO với 9 phút mọc điện hóa cho hiệu suất tối ưu là 0,5%. Điện cực này sau khi dính thêm các hạt nano CdS với thời gian 30 phút bằng phương pháp thủy nhiệt thì hiệu suất đạt 3,4%, tăng gần 2 lần so với ban đầu chỉ có ZnO. Đây là giá trị khá cao so với những nghiên cứu gần đây về mô hình lõi vỏ CdS bọc ZnO. Hiệu suất cao đạt được của các điện cực chế tạo có thể được giải thích với các lý do sau: 1) Khả năng tăng cường hấp thụ quang trong vùng nhìn thấy của cấu trúc lỗ trật tự cao và vật liệu CdS, vấn đề này đã được chứng minh từ phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến; 2) Mô hình lỗ xếp trật tự 3 chiều có tỷ số diện tích bề mặt so với thể tích lớn, điều này không những tạo ra nhiều vùng phản ứng điện hóa mà còn tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình mọc CdS trên toàn bộ bề mặt vật liệu màng nhờ vào khả năng thấm cao của dung dịch.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo mã số B2021-DQN-03. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. Bak, J. Nowotny, M. Rekas, et al. (2002), "Photo-electrochemical hydrogen generation from water using solar energy. Materials-related aspects", *International Journal of Hydrogen Energy*, **27**(10), pp.991-1022, DOI: 10.1016/S0360-3199(02)00022-8.
- [2] F.E. Osterloh, B.A. Parkinson (2011), "Recent developments in solar water splitting photocatalysis", *MRS Bull.*, **36**, pp.17-22, DOI: 10.1557/mrs.2010.5.
- [3] E. Garnett, P.D. Yang (2010), "Light trapping in silicon nanowire solar cells", *Nano Letters*, **10**(3), pp.1082-1087, DOI: 10.1021/nl100161z.
- [4] K. Shankar, J.I. Basham, N.K. Allam, et al. (2009), "Recent advances in the use of TiO₂ nanotube and nanowire arrays for oxidative photoelectrochemistry", *J. Phys. Chem. C*, **113**(16), pp.6327-6359, DOI: 10.1021/jp809385x.
- [5] I.S. Cho, Z. Chen, A.J. Forman, et al. (2011), "Branched TiO₂ nanorods for photoelectrochemical hydrogen production", *Nano Lett.*, **11**(11), pp.4978-4984, DOI: 10.1021/nl2029392.
- [6] H.N. Hieu, N.Q. Dung, J. Kima, et al. (2013), "Urchin-like nanowire array: A strategy for high-performance ZnO-based electrode utilised in photoelectrochemistry", *Nanoscale*, **5**(12), pp.5530-5538, DOI: 10.1039/C3NR00889D.
- [7] A.B.F. Martinson, J.W. Elam, J.T. Hupp, et al. (2007), "ZnO nanotube based dye-sensitised solar cells", *Nano Lett.*, **7**(8), pp.2183-2187, DOI: 10.1021/nl070160+.
- [8] K.S. Leschkes, R. Divakar, J. Basu, et al. (2007), "Photosensitisation of ZnO nanowires with CdSe quantum dots for photovoltaic devices", *Nano Lett.*, **7**(6), pp.1793-1798, DOI: 10.1021/nl070430o.
- [9] Z. Liu, Z. Jin, W. Li, et al. (2006a), "Ordered porous ZnO thin films formed by dip-coating method using PS templates", *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **40**, pp.25-30, DOI: 10.1007/s10971-006-8421-8.
- [10] Z. Liu, Z. Jin, J. Qiu, et al. (2006b), "Preparation and characteristics of ordered porous ZnO films by a electrodeposition method using PS array templates", *Semiconductor Science and Technology*, **21**, DOI: 10.1088/0268-1242/21/1/011.
- [11] T. Yang, J. Xue, H. Tan, et al. (2018), "Highly ordered ZnO/ZnFe₂O₄ inverse opals with binder-free heterojunction interfaces for high-performance photoelectrochemical water splitting", *Journal of Materials Chemistry A*, **6**(3), pp.1210-1218, DOI: 10.1039/C7TA07798J.
- [12] C. Li, X. Zhu, H. Zhang, et al. (2015), "3D ZnO/Au/CdS sandwich structured inverse opal as photoelectrochemical anode with improved performance", *Adv. Mater. Interfaces*, **2**(18), DOI: 10.1002/admi.201500428.
- [13] Y.R. Lu, P.F. Yin, J. Mao, et al. (2015), "A stable inverse opal structure of cadmium chalcogenide for efficient water splitting", *Journal of Materials Chemistry A*, **3**(36), pp.18521-18527, DOI: 10.1039/C5TA03845F.
- [14] R. Zhang, C. Wang, H. Chen, et al. (2020), "Cadmium sulfide inverse opal for photocatalytic hydrogen production", *Wuli Huaxue Xuebao/Acta Physico*, **36**(3), DOI: 10.3866/PKU.WHXB201803014.
- [15] M. Zhou, J. Bao, Y. Xu, et al. (2014), "Photoelectrodes based upon Mo:BiVO₄ inverse opals for photoelectrochemical water splitting", *ACS Nano*, **8**(7), pp.7088-7098, DOI: 10.1021/nn501996a.
- [16] H.N. Hieu, N.V. Nghia, N.M. Vuong, et al. (2020), "Omnidirectional Au-embedded ZnO/CdS core/shell nanorods for enhanced photoelectrochemical water-splitting efficiency", *Chemical Communications*, **56**(28), pp.3975-3978, DOI: 10.1039/C9CC09559D.

Nghiên cứu thiết kế an toàn cho hệ thống cảnh báo đường ngang tự động ứng dụng công nghệ tiên tiến

Cồ Như Văn*

Trường Đại học Giao thông Vận tải, 3 Cầu Giấy, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 9/3/2023; ngày chuyển phản biện 12/3/2023; ngày nhận phản biện 4/4/2023; ngày chấp nhận đăng 8/4/2023

Tóm tắt:

Đường ngang là nơi giao nhau cùng mức giữa đường sắt và đường bộ, đó là điểm trọng yếu của đường sắt, dễ xảy ra tai nạn giao thông. Do vậy, yêu cầu về an toàn giao thông trên đường ngang luôn là mối quan tâm của ngành đường sắt ở mọi nước trên thế giới. Hệ thống cảnh báo đường ngang tự động là một trong những hình thức phổ biến nhất, các giải pháp kỹ thuật áp dụng cho hệ thống này cũng đa dạng và có những ưu, nhược điểm nhất định. Ứng dụng các thành tựu khoa học và công nghệ mới vào hệ thống giám sát và điều khiển trong ngành đường sắt có ý nghĩa lớn, tuy nhiên mức độ an toàn yêu cầu đối với các hệ thống đó đòi hỏi rất khắt khe, vì thế vấn đề này luôn được quan tâm nghiên cứu. Nghiên cứu này đưa ra giải pháp thiết kế và thử nghiệm hệ thống cảnh báo đường ngang tự động ứng dụng công nghệ tiên tiến theo kiến trúc an toàn, nhằm tiết kiệm chi phí xây dựng và bảo trì hệ thống, góp phần đảm bảo an toàn giao thông, thuận tiện trong công tác quản lý và nâng cao năng lực thông quan của ngành đường sắt.

Từ khóa: cảnh báo đường ngang tự động, fail-safe, hệ thống vệ tinh định vị toàn cầu, LoRa.

Chỉ số phân loại: 1.8, 2.2

1. Đặt vấn đề

An toàn giao thông nói chung và an toàn giao thông đường sắt nói riêng đang là mối quan tâm đặc biệt của các cơ quan chức năng và người dân do số vụ tai nạn xảy ra hàng năm vẫn ở con số đáng lo ngại, đặc biệt là số vụ tai nạn thảm khốc làm chết và bị thương nhiều người có xu hướng tăng. Theo phân tích của các chuyên gia, hầu hết các vụ tai nạn giao thông đường sắt xảy ra tại nơi giao cắt đường ngang đường bộ với đường sắt. Hệ thống phòng vệ đường ngang là hệ thống liên quan đến đảm bảo an toàn giao thông, phòng ngừa tai nạn tại đường ngang, bao gồm: chắn đường ngang; cọc tiêu, hàng rào cố định; vạch kẻ đường, gờ giảm tốc, gờ giảm tốc; hệ thống biển báo hiệu đường sắt, đường bộ; đèn tín hiệu và chuông điện; tín hiệu cảnh báo đường ngang, tín hiệu ngăn đường trên đường sắt và các thiết bị khác liên quan. Theo Quy định đường ngang [1], đường ngang tổ chức phòng vệ bằng cảnh báo tự động là đường ngang bố trí phòng vệ bằng báo hiệu cảnh báo tự động, có hoặc không có cản chắn tự động.

Theo báo cáo của Tổng công ty Đường sắt Việt Nam [2], tính đến ngày 31/3/2022, hệ thống đường sắt Việt Nam có 5.293 giao cắt, trong đó có 1.514 đường ngang, với 660 đường ngang có gác, 715 đường ngang cảnh báo tự động, 137 đường ngang có biển báo và 3.781 lối đi tự mở qua đường sắt. Tính từ ngày 1/1/2019 đến ngày 30/11/2019, trên địa bàn cả nước đã xảy ra 257 vụ, làm chết 112 người, bị thương 142 người. So với cùng kỳ năm 2018 giảm 19 vụ (-6,88%), giảm 13 người chết (-10,40%), tăng 13 người bị

thương (+10,08%). Trong đó, các vị trí xảy ra tai nạn giao thông đường sắt như sau: tại đường ngang hợp pháp là 62 vụ (24,2%); tai nạn do vi phạm khổ giới hạn đường sắt là 106 vụ (41,2%); tai nạn còn lại là tại các lối đi tự mở là 89 vụ (34,6%).

Từ hậu quả về tai nạn giao thông trên đường ngang diễn ra, ngay từ những thời kỳ đầu, ngành đường sắt đã luôn quan tâm triển khai lắp đặt các hệ thống cảnh báo tự động để góp phần giảm thiểu tai nạn. Đường sắt Việt Nam đã từng sử dụng giải pháp cảm biến từ của một công ty Áo, tuy nhiên, sau một thời gian sử dụng, hệ thống này đã phải dỡ bỏ vì điều kiện của Việt Nam khá phức tạp: nhiều loại phương tiện giao thông qua đường ngang (từ các phương tiện cơ giới như ô tô, xe công nông, xe máy cho đến các phương tiện thô sơ như xe đạp, xe bò...) đã gây nhiễu, tạo nên những tín hiệu cảnh báo nhầm. Một giải pháp khác đơn giản hơn, dựa trên nguyên tắc "mạch điện đường ray", cũng đã được sử dụng, giải pháp này dựa trên nguyên tắc đặt các tiếp điểm tại điểm giao tiếp giữa hai thanh ray, khi đoàn tàu đi qua, bánh tàu sẽ nối hai tiếp điểm đó, tín hiệu mạch được đưa tới hệ thống cảnh báo, hệ thống này đã được lắp đặt tại gần 100 điểm đường ngang nhưng cũng chỉ đạt được hiệu quả 50% vì môi trường khí hậu Việt Nam nóng ẩm nên các tiếp điểm nhanh chóng bị oxy hoá, sự tiếp xúc kém dần nên hoạt động kém dần hiệu quả. Giải pháp quang học cũng đã được thử nghiệm, nhưng dường như cũng chưa giải quyết hoàn hảo các vấn đề môi trường, sự gây nhiễu và những tác động của người dân sống trong môi trường xung quanh gây ra.

*Email: vancn@utc.edu.vn

Research on safety design for automatic level crossing warning system applying advanced technology

Nhu Van Co*

University of Transport and Communications,
3 Cau Giay Street, Lang Thuong Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 9 March 2023; revised 4 April 2023; accepted 8 April 2023

Abstract:

A level crossing is an intersection where a railway line crosses a road, most railway traffic accidents happen here, therefore, traffic safety requirements on the level crossing are always a concern of the railway industry in every country in the world. The automatic level crossing warning system is one of the most common structures, the technical solutions applied to this system are also diverse and have certain advantages and disadvantages. The application of new scientific and technological achievements to monitoring and controlling systems in the railway industry plays a very important role, but the required level of safety for such systems is very demanding, so the problem of this topic is always interesting in research. This paper presents a solution to design and test an automatic cross-road warning system applying advanced technology according to safety architecture, to reduce the cost of construction and maintenance of the system, contributing to ensuring safe traffic, convenience in management, and improving the throughput capacity of the railway industry.

Keywords: automatic level crossing warning, fail-safe, Global Navigation Satellite System, LoRa.

Classification numbers: 1.8, 2.2

Hiện nay, ở Việt Nam chủ yếu sử dụng cảm biến địa chấn và cảm biến từ trường để phát hiện tàu qua đường ngang, do các nhược điểm của cảm biến địa chấn mà ngành đường sắt đang dần thay thế bởi cảm biến từ trường. Với loại hình sử dụng cảm biến từ trường, hệ thống này nhập từ nước ngoài nên kinh phí đầu tư khá cao và việc thi công lắp đặt hệ thống cũng như duy tu sửa chữa phức tạp, do đó số lượng các đường ngang cảnh báo tự động đã được lắp đặt ở mức hạn chế, dẫn đến tồn kém rất lớn về nhân công tại các đường ngang có người gác, đồng thời còn rất nhiều các đường ngang khác đang trong tình trạng “3 không” (không có rào chắn, không có người gác và không có bất cứ tín hiệu, cảnh báo) gây nên tình trạng mất an toàn giao thông, tiềm ẩn nhiều nguy cơ tai nạn giao thông trên các đường ngang này. Như vậy, việc nghiên cứu thiết kế hệ thống cảnh báo đường ngang tự động vừa đảm bảo an toàn, vừa có chi phí

hợp lý và chủ động về công nghệ sẽ góp phần xóa bỏ dần các đường ngang “3 không”, giúp hạn chế thấp nhất tai nạn giao thông tại đường ngang và nâng cao năng lực thông qua.

Ngày nay, với sự phát triển mạnh mẽ của khoa học và công nghệ, nhiệm vụ ứng dụng công nghệ tiên tiến để giảm thiểu chi phí đầu tư hệ thống đường ngang tự động là khả thi. Vấn đề chính là việc thiết kế, tích hợp các công nghệ vào hệ thống cần đảm bảo nguyên tắc an toàn. Để hoàn thiện nhiệm vụ này, các nội dung tiếp theo của bài báo sẽ đi vào phân tích các hệ thống cảnh báo đường ngang tự động có ứng dụng các công nghệ tiên tiến từ các nước phát triển trên thế giới, tiếp đó là đưa ra thiết kế hệ thống cảnh báo đường ngang tự động dựa trên nguyên tắc an toàn, trên cơ sở đó công việc chế tạo và thử nghiệm hệ thống sẽ được thực hiện, và cuối cùng sẽ là phần kết luận của nghiên cứu.

2. Nghiên cứu thiết kế hệ thống

2.1. Các công nghệ tiên tiến và khả năng ứng dụng vào đường sắt

Hệ thống giao thông đường sắt đóng vai trò quan trọng, là then chốt trong bất cứ nền kinh tế quốc dân nào, có nhiệm vụ vận chuyển tỷ trọng lớn người và hàng hóa. Đồng thời, với phát triển mạng lưới đường sắt, vấn đề an toàn giao thông luôn được đặt ra hàng đầu, vì liên quan đến sinh mạng số đông hành khách và lượng lớn hàng hóa vận chuyển. Do vậy, ứng dụng khoa học kỹ thuật vào hệ thống đường sắt nói chung và hệ thống phòng vệ đường ngang nói riêng đã luôn được quan tâm ở các mức độ khác nhau từ những nước phát triển cho đến những nước đang phát triển. Các công nghệ trước đây đã và đang được ứng dụng trong hệ thống cảnh báo đường ngang tự động có mức đầu tư lớn, việc duy tu hệ thống cũng khó khăn và tốn kém, nên số lượng đường ngang có cảnh báo tự động vẫn bị hạn chế không chỉ ở trong nước mà cả ở những nước phát triển trên thế giới. Trong thời gian qua, nhiều nước đã nghiên cứu và triển khai ứng dụng các công nghệ mới vào hệ thống cảnh báo đường ngang tự động, đã góp phần đẩy chi phí đầu tư và duy tu hệ thống xuống mức thấp. Các công nghệ tiên tiến điển hình như công nghệ định vị vệ tinh toàn cầu (Global Navigation Satellite System - GNSS), công nghệ truyền thông giữa đoàn tàu với mặt đất, các giải pháp điều khiển, đo lường và giám sát từ xa đã được nghiên cứu và áp dụng rất hiệu quả cho ngành đường sắt nói chung và hệ thống cảnh báo đường ngang nói riêng [3-8], công trình [9] đã nêu một số nghiên cứu tiêu biểu và một số hệ thống điển hình đã được áp dụng cho hệ thống cảnh báo đường ngang tự động ứng dụng các công nghệ trên ở cả trong và ngoài nước.

Khi nghiên cứu giải pháp mới để áp dụng vào hệ thống điều khiển trong đường sắt thì điều đầu tiên cần đặc biệt lưu ý đó là vấn đề an toàn, vấn đề này trong ngành đường sắt đòi hỏi rất khắt khe và đã có những tiêu chuẩn được xây dựng và

công bố ở trên thế giới và trong nước. Liên quan đến vấn đề nghiên cứu thì có các tiêu chuẩn, điển hình như quy định và chứng minh độ tin cậy, tính sẵn sàng, khả năng bảo dưỡng và độ an toàn (Reliability, Availability, Maintainability, Safety - RAMS) [10]; quy định về hệ thống xử lý và thông tin tín hiệu [11]; quy định về hệ thống thông tin liên lạc, tín hiệu và xử lý - các hệ thống điện tử tín hiệu liên quan đến an toàn [12]; Thông tư số 25/2018/TT-BGTVT ngày 14/5/2018 của Bộ trưởng Bộ Giao thông Vận tải quy định về đường ngang và cấp giấy phép xây dựng công trình thiết yếu trong phạm vi đất dành cho đường sắt [1]. Đối với hệ thống cảnh báo đường ngang tự động, là hệ thống bao gồm nhiều module chức năng (các module phần cứng và các module phần mềm) được tích hợp để tạo nên hệ thống, để đáp ứng được các yêu cầu quy định thì ngoài việc lựa chọn các công nghệ có thể đáp ứng được thì điều quan trọng nữa là thiết kế phần cứng và phần mềm cũng cần phải đáp ứng. Đối với công nghệ tiên tiến áp dụng cho hệ thống cảnh báo đường ngang như hệ thống GNSS, hệ thống truyền thông vô tuyến... thông qua các nghiên cứu [3-9] cũng như các hệ thống ở trong và ngoài nước đã minh chứng phần nào, khẳng định về khả năng đáp ứng đối với lĩnh vực đường sắt. Về công nghệ mới ứng dụng trong hệ thống này, trọng tâm là công nghệ GNSS, còn các giải pháp khác để đạt được yêu cầu thì chủ yếu phụ thuộc vào việc thiết kế phần cứng và phần mềm cho hệ thống (sẽ được trình bày cụ thể ở nội dung “nghiên cứu thiết kế hệ thống”).

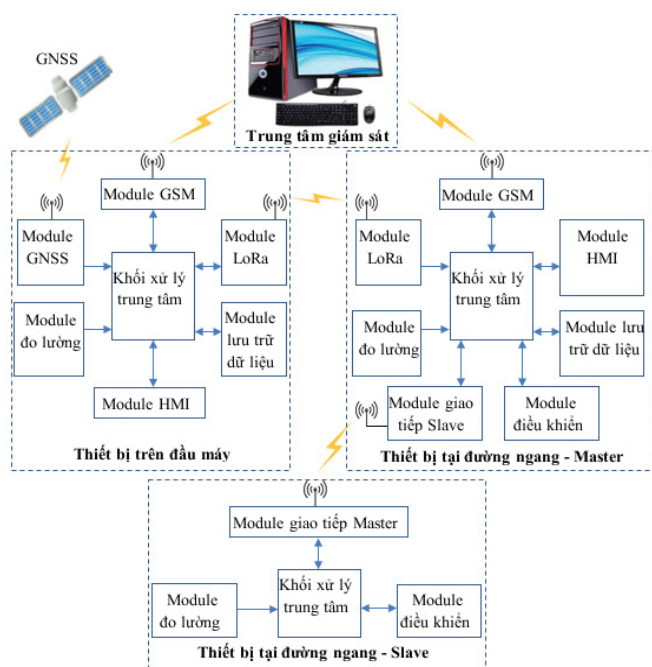
Ứng dụng hệ thống định vị toàn cầu để thu thập các thông tin về vị trí, tốc độ và thời gian thực là giải pháp rất hữu hiệu về chi phí và mức độ tiện lợi. Công nghệ định vị vệ tinh ngày càng phổ biến, nâng cao độ tin cậy và mức độ định vị chính xác của thiết bị, ngày càng có nhiều hãng đưa ra thiết bị có tần số cập nhật dữ liệu cao, có thể thu được nhiều loại tín hiệu của các vệ tinh của các hãng khác nhau, do vậy ở bất kỳ nơi đâu trên trái đất đều có thể thu được dữ liệu vệ tinh. Để khẳng định GNSS tương thích với yêu cầu của đường sắt thì ngoài các công trình tiêu biểu [3-9], theo nghiên cứu [13], GNSS đáp ứng khá tốt các yêu cầu về RAMS của đường sắt trong khu vực mở, khi đi qua khu vực hầm, rừng rậm hoặc khu vực đồi núi cao làm cho hiệu suất của GNSS có thể kém đi thì cần kết hợp thêm cảm biến gia tốc, cảm biến radar... sẽ đáp ứng được yêu cầu. Đặc thù đường sắt Việt Nam không đi qua khu vực đồi núi cao cũng như rừng rậm, chỉ đi qua một số đường hầm, tuy nhiên quãng đường di chuyển trong hầm là ngắn và không gần khu vực đường ngang. Nghiên cứu của Cơ quan chương trình không gian EU (2021) [14] đã đưa ra các yêu cầu kỹ thuật đối với hệ thống cảnh báo đường ngang và các hệ thống khác ứng dụng trong đường sắt, từ đó nghiên cứu đã đánh giá và chỉ ra rằng, GNSS tương thích với RAMS và khả thi ứng dụng trong các hệ thống cảnh báo đường ngang tự động nhằm tiết kiệm chi phí và ngăn ngừa tai nạn.

Từ thực trạng và yêu cầu của ngành đường sắt cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật, trên thế giới đã có nhiều hãng chế tạo và ứng dụng hệ thống cảnh báo đường ngang tự động dựa trên các công nghệ tiên tiến, điển hình là Công ty Kernex Microsystems đã cho ra đời sản phẩm với tên gọi “SENTINEX - Low cost level crossing warning system”, hệ thống này bao gồm thiết bị trên đầu máy có tích hợp module thu tín hiệu vệ tinh để xác định tốc độ, vị trí, cùng với module thu phát vô tuyến để kết nối với thiết bị tín hiệu và cảnh báo đặt tại đường ngang. Với cấu trúc tương tự như trên, tập đoàn URS và TranSmart Technologies đã chế tạo ứng dụng hệ thống từ năm 2005 tại Mỹ. Nhược điểm chính của hệ thống trên là không có kết nối trung tâm, do vậy mà hoạt động của các thiết bị trong hệ thống không được giám sát online để kịp thời phát hiện sự cố, và do đó đã thiếu giải pháp dự phòng (sẽ được nêu cụ thể ở nội dung thiết kế hệ thống). Trong nước, một số nghiên cứu cũng đã được công bố, nghiên cứu điển hình và gần đây là công trình [9] đã phân tích các hệ thống ứng dụng công nghệ tiên tiến vào đường sắt ở trong và ngoài nước, từ đó đưa ra thiết kế hệ thống với đầy đủ các khối chức năng, tuy nhiên công trình này lại chưa phân tích kỹ về khả năng đáp ứng yêu cầu của hệ thống đối với yêu cầu của ngành đường sắt. Tiếp đó, các nhà khoa học đã ứng dụng trí tuệ nhân tạo để phát hiện đoàn tàu vào khu vực đường ngang, từ đó kích hoạt hệ thống xác định chướng ngại vật trên đường ngang để báo đến lái tàu thông qua hệ thống máy chủ, hệ thống này đã được lắp đặt thử nghiệm thực tế và đã ghi nhận được những ưu điểm nhất định [15]. Tuy nhiên, việc truyền thông giữa thiết bị trên đầu máy và hệ thống tại đường ngang là không kết nối trực tiếp mà lại thông qua máy chủ trung tâm và ứng dụng giải pháp truyền thông là mạng điện thoại di động, do vậy mà đã làm giảm khả năng đáp ứng và độ tin cậy của hệ thống, đồng thời, cũng như nghiên cứu của C.N. Van (2021) [9], nghiên cứu này chưa phân tích kỹ về khả năng đáp ứng yêu cầu của hệ thống đối với yêu cầu của ngành đường sắt - đây là vấn đề đặc biệt quan trọng để có thể tiến tới ứng dụng hệ thống vào thực tiễn.

Từ nhược điểm của những công trình nghiên cứu cho đến các hệ thống cảnh báo đường ngang tự động của các hãng nước ngoài đã sản xuất ứng dụng thực tiễn, nghiên cứu này thiết kế, chế tạo và thử nghiệm hệ thống cảnh báo đường ngang tự động ứng dụng công nghệ tiên tiến đáp ứng được các yêu cầu đường sắt Việt Nam, đồng thời tiết giảm chi phí đầu tư và duy tu hệ thống.

2.2. Thiết kế mô hình các thành phần chức năng của hệ thống

Sau quá trình phân tích các ưu và nhược điểm của mỗi công trình nghiên cứu cũng như các sản phẩm hiện có về hệ thống cảnh báo đường ngang tự động, đồng thời đánh giá các công nghệ có thể áp dụng cho hệ thống, mô hình kiến trúc hệ thống của nghiên cứu này được xây dựng như hình 1.



Hình 1. Mô hình kiến trúc của hệ thống.

Mô hình kiến trúc trên đã thể hiện rõ việc kết nối truyền thông của hệ thống tạo thành vòng khép kín giữa thiết bị trên đầu máy với thiết bị tại đường ngang và với trung tâm giám sát điều hành, các hệ thống cảnh báo đường ngang tự động hiện nay chưa được thiết kế như trên. Mô hình khép kín đó cho phép truyền thông hai chiều, đảm bảo ổn định truyền thông ngay cả khi có một kênh truyền nào đó bị mất kết nối. Ngoài ra, từ phần mềm trên máy chủ, cho phép giám sát theo thời gian thực về trạng thái hoạt động của toàn bộ hệ thống. Các khối chức năng trong hệ thống được mô tả cụ thể như sau:

Thiết bị trên đầu máy: Liên tục cập nhật vị trí và tốc độ để xác định khoảng cách từ đầu máy đến đường ngang phía trước thông qua module GNSS, khi đạt được đến khoảng cách nhất định thì module LoRa (Long Range) của thiết bị trên đầu máy sẽ kết nối đến module LoRa của thiết bị tại đường ngang, hai thiết bị này sẽ trao đổi thông tin (thiết bị trên đầu máy sẽ gửi thông tin về vị trí và tốc độ đến thiết bị tại đường ngang, đồng thời nhận thông tin về trạng thái hoạt động của các thiết bị tại đường ngang), khi một thiết bị nào đó tại đường ngang (đèn, chuông) bị lỗi thì thiết bị trên đầu máy sẽ cảnh báo đến lái tàu thông qua giao diện người máy (cảnh báo qua âm thanh và đèn báo hiệu). Module đo lường có nhiệm vụ kiểm tra trạng thái của nguồn cấp, kịp thời cảnh báo sớm khi nguồn gặp sự cố; các thông tin về cấu hình và vị trí của toàn bộ đường ngang sẽ được lưu trữ vào module lưu trữ dữ liệu, module lưu trữ dữ liệu ngoài lưu các thông tin đó ra thì còn lưu các công lệnh tốc độ được quy định tương ứng với mỗi khu vực khác nhau, khối xử lý trung tâm luôn so sánh tốc độ thực với công lệnh tốc độ, hiển thị và cảnh báo đến lái tàu khi lái tàu vi phạm tốc độ. Module GSM (Global System for Mobile Communication) có nhiệm vụ giao tiếp với máy chủ,

mọi thông tin về trạng thái hoạt động của hệ thống (trình trạng kết nối RF, tín hiệu vệ tinh GNSS...) đều được gửi về trung tâm giám sát, đồng thời các thông tin đó kèm theo thông tin về trạng thái hoạt động của GSM cũng được hiển thị trên giao diện người máy (Human Machine Interface - HMI) để lái tàu nắm bắt được tình trạng hoạt động của hệ thống.

Thiết bị tại đường ngang: Hệ thống cảnh báo tại đường ngang gồm hai khối cảnh báo được lắp đặt ở hai bên đường sắt (hướng từ hai phía đường bộ đi vào), để tiết kiệm chi phí đầu tư và duy tu hệ thống, kết nối giữa hai khối này sử dụng giải pháp truyền thông vô tuyến. Hai khối đó có thể gọi là thiết bị Master và thiết bị Slave, thiết bị Slave thực hiện chức năng điều khiển đèn và còi theo lệnh điều khiển từ thiết bị Master gửi tới, đồng thời thiết bị Slave luôn kiểm tra trạng thái hoạt động của còi và đèn để gửi đến thiết bị Master. Thiết bị Master bao gồm module đo lường thực hiện chức năng kiểm tra trạng thái hoạt động của đèn và chuông theo thời gian thực, gửi thông tin trạng thái hoạt động đến thiết bị trên đầu máy thông qua module LoRa và gửi về trung tâm giám sát thông qua module GSM, đồng thời lưu thông tin vào module lưu trữ dữ liệu, các thông tin lưu trữ về số hiệu đường ngang, vị trí đường ngang, cũng được lưu trữ vào module lưu trữ dữ liệu này; module điều khiển thực hiện chức năng điều khiển đèn và chuông từ bộ xử lý trung tâm theo quy định của ngành đường sắt, lệnh điều khiển cũng được gửi đến thiết bị Slave qua module giao tiếp Slave.

Trung tâm giám sát: Tại đây có các module phần mềm chức năng để thực hiện nhiệm vụ kết nối để thu thập dữ liệu từ thiết bị trên đầu máy và thiết bị tại đường ngang, đồng thời cho phép truyền thông tin ngược lại đến các thiết bị đó. Dữ liệu thu thập theo thời gian thực, lưu trữ vào cơ sở dữ liệu, người dùng có thể truy xuất dữ liệu theo các khoảng thời gian mong muốn. Trên giao diện người dùng, hiển thị trực quan về trạng thái hoạt động của các thiết bị tại đường ngang và trên đầu máy.

2.3. Nguyên tắc an toàn cho hệ thống

Đối với hệ thống cảnh báo tự động thì nguyên tắc quan trọng trước hết là không để xảy ra tai nạn, để làm được điều này, điều chủ yếu là phòng chống tới mức tối đa những rủi ro có khả năng gây ra tai nạn như hỏng hóc hoặc hư hại máy móc, thiết bị. Thiết kế an toàn là thiết kế kết hợp các kỹ thuật khác nhau để giảm thiểu tổn thất do lỗi hệ thống hoặc thành phần, để đề phòng những phát sinh bất thường và sai sót, hệ thống cần được thiết kế với cấu trúc an toàn 2 lần (fail-safe) và hệ thống khoá liên động. Hệ thống an toàn 2 lần là hệ thống được thiết kế dựa trên nguyên tắc, nếu một bộ phận của hệ thống gặp hỏng hóc, thì lập tức chuyển sang trạng thái an toàn. Điều quan trọng tiếp theo là nếu phát sinh trục trặc bất thường thì cũng không để sự cố lan rộng.

Về cơ bản thì nguyên tắc an toàn được xác định thông qua hoạt động nội tại của mỗi module trong hệ thống và tiếp đó là nguyên tắc vận hành của hệ thống. Hệ thống cảnh báo đường

ngang tự động được tích hợp bởi các module chức năng, trong đó module xác định vị trí, tốc độ đoàn tàu và module truyền thông được xác định là yếu tố quan trọng. Như đã nêu ở trên, ứng dụng công nghệ GNSS để xác định vị trí và tốc độ đoàn tàu thông qua module thu định vị vệ tinh, nghiên cứu này lựa chọn sử dụng module thu GNSS của U-blox. Module U-blox hỗ trợ 72 kênh của các hệ thống định vị vệ tinh là GPS L1C/A, SBAS L1C/A, QZSS L1C/A, QZSS L1-SAIF, GLONASS L1OF, BeiDou B1I, Galileo E1B/C. Với việc hỗ trợ nhiều kênh kết nối và với số lượng vệ tinh nhiều như hiện nay, ở khu vực mở thì tại bất kỳ nơi đâu trên trái đất đều có thể thu được tín hiệu vệ tinh. Đặc điểm của thiết bị này là ngoài tính năng định vị vệ tinh còn tích hợp cảm biến gia tốc và cảm biến hướng để tăng độ chính xác của dữ liệu định vị và không bị ngắt đoạn khi mất tín hiệu vệ tinh. Theo nhà sản xuất U-blox, dữ liệu thu nhận có độ chính xác trung bình là 2,5 m; tần số cập nhật dữ liệu lên đến 10Hz; độ nhạy lớn, kích thước nhỏ và tiêu thụ năng lượng ít. Tiếp đó là nhiệm vụ truyền thông, quá trình truyền nhận dữ liệu cần đảm bảo về tính chính xác, tính bảo mật, an toàn và kịp thời, để đáp ứng được các yêu cầu này thì ngoài việc xử lý thuật toán chương trình phần mềm thì thiết bị phần cứng cũng cần đáp ứng các chỉ tiêu quan trọng như:

- Khoảng cách truyền: Theo Thông tư số 25/2018/TT-BGTVT của Bộ trưởng Bộ Giao thông Vận tải [1], thời điểm đèn báo hiệu bật sáng phải bảo đảm trước lúc tàu tới đường ngang là 60 giây (đối với đường ngang có tín hiệu cảnh báo tự động), với tốc độ tối đa đoàn tàu là 80 km/h, kết hợp với thời gian trễ trong việc kết nối và xác thực thông tin thì khoảng cách truyền thông tối thiểu cần đạt là 1,5 km. Để đảm bảo an toàn và dự phòng trong trường hợp thiết bị tại đường ngang gặp sự cố (đèn, chuông bị lỗi) thì hệ thống cần cung cấp thông tin sớm đến thiết bị trên đầu máy, để lái tàu kịp thời phanh hãm, giảm tốc độ tới mức an toàn, như vậy khoảng cách truyền thông cần đạt khoảng 3 km (khoảng cách truyền thông lớn hơn thì càng tốt, để hướng tới tương lai khi cơ sở hạ tầng của đường sắt được nâng cấp, tốc độ tối đa sẽ lớn hơn).

- Tránh hiệu ứng Doppler: Do thiết bị lắp đặt trên đoàn tàu di chuyển với tốc độ cao, nên cần lựa chọn loại module đảm bảo tránh được hiệu ứng này.

- Tốc độ truyền dữ liệu: Việc truyền nhận dữ liệu áp dụng trên đoàn tàu - là phương tiện di chuyển do vậy tốc độ truyền nhận dữ liệu cần nhanh.

- Có kích thước nhỏ gọn, phương thức làm việc đơn giản và dễ kết nối.

Từ các yêu cầu đó, nghiên cứu này ứng dụng kỹ thuật không dây LoRa được phát triển bởi Cycleo SAS và sau này được mua lại bởi Semtech. Đây là công nghệ truyền thông vô tuyến với năng lượng thấp mà vẫn đạt được khoảng cách xa, đồng đáp ứng các chỉ tiêu quan trọng đã nêu ở trên. Loại module được lựa chọn có các thông số kỹ thuật chính được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thông số kỹ thuật chính của module LoRa được lựa chọn.

Chỉ tiêu	Thông số kỹ thuật
IC chính của module	SX1278
Điện áp hoạt động	8~28 VDC
Chuẩn giao tiếp	RS232/RS485
Tốc độ truyền thông (có thể cấu hình được)	300~19200 bps
Tốc độ truyền thông mặc định	9600 bps
Tần số sóng	410~441 Mhz
Công suất	37 dBm (5 W)
Khoảng cách trong điều kiện lý tưởng (với ăngten 5 dBm, cao 2 m)	20 km
Bộ đệm dữ liệu	512 bytes
Dải nhiệt độ làm việc	-40~85°C

Nguyên tắc vận hành của hệ thống: Từ mô hình kiến trúc của hệ thống (hình 1) ta thấy 3 khối chính của hệ thống bao gồm thiết bị trên đầu máy, thiết bị tại đường ngang và trung tâm giám sát được kết nối truyền thông thành vòng khép kín, đồng thời mỗi kết nối đó là truyền thông hai chiều. Do vậy, một khi kênh truyền thông nào đó bị mất kết nối, ngoài việc cảnh báo đến người vận hành, giám sát, đường truyền sẽ tự động đi gián tiếp qua khối trung gian để đến được đích, thiết kế này đảm bảo được tính năng fail-safe, như vậy đường truyền luôn được thông suốt. Khi tàu tiếp cận khu vực đường ngang, module thu phát trên đầu máy và module thu phát tại đường ngang sẽ nhận được tín hiệu và kết nối truyền thông với nhau. Trong trường hợp module GPS ở thiết bị trên đầu máy lúc này bị lỗi, thiết bị trên đầu máy sẽ cảnh báo đến lái tàu, đồng thời gửi thông tin đến thiết bị tại đường ngang để đưa ra cảnh báo còi/đèn tại khu vực đường ngang. Trong quá trình đoàn tàu di chuyển, thiết bị trên đầu máy liên tục thu dữ liệu vệ tinh về vị trí và tốc độ, so sánh với vị trí của các đường ngang (đã lưu sẵn trong bộ nhớ) khi tàu tiếp cận đến đường ngang ở một khoảng cách cần đưa ra cảnh báo mà lúc này module thu phát vô tuyến RF ở đường ngang hoặc trên đầu máy bị lỗi, dẫn đến thiết bị trên tàu và đường ngang không kết nối được với nhau, thiết bị trên đầu máy sẽ cảnh báo đến lái tàu để đưa ra cơ chế giảm tốc độ đoàn tàu đến mức tối thiểu để đảm bảo an toàn. Thiết bị tại đường ngang và thiết bị trên đầu máy liên tục kiểm tra hoạt động của chính mình, khi có bất kỳ lỗi gì xảy ra thì hệ thống tự động đưa hệ thống về chế độ hoạt động fail-safe, đồng thời đưa ra cảnh báo để bộ phận quản lý kịp thời khắc phục. Ngoài ra, hệ thống cần có độ tin cậy về tính bảo mật trong việc truyền nhận thông tin. Giải pháp đưa ra trên nguyên tắc lựa chọn phần cứng và phần mềm cần có cơ chế mã hóa và giải mã thông tin, kiểm soát dữ liệu...

3. Chế tạo và thử nghiệm hoàn thiện hệ thống

3.1. Chế tạo thiết bị phần cứng

Các mạch điện phần cứng bao gồm mạch điện trên đầu máy và mạch điện tại đường ngang: mạch điện Master, mạch điện Slave. Các linh kiện trên mạch điện được lựa chọn là những linh kiện chính hãng, có chất lượng cao, đáp ứng được các điều kiện làm việc đối với môi trường và khí hậu ở Việt Nam.

3.2. Xây dựng chương trình phần mềm

Chương trình phần mềm được xây dựng trên nền ngôn ngữ C, bao gồm nhiều module phần mềm để thực hiện các chức năng của hệ thống. Trong đó module phần mềm trọng tâm của hệ thống đó là độ tin cậy của thông tin truyền thông và xác định vị trí hay khoảng cách của đầu máy đến đường ngang. Hai thuật toán đó được thực hiện như dưới đây:

Khả năng bảo đảm và toàn vẹn thông tin: Đối với hệ thống điều khiển nói chung và đặc biệt là hệ thống điều khiển tự động trong đường sắt nói riêng thì thông tin có vai trò đặc biệt quan trọng, nó ảnh hưởng trực tiếp đến năng lực và an toàn của hệ thống. Như vậy, yêu cầu trước tiên là dữ liệu truyền thông vô tuyến giữa các thiết bị trong hệ thống cần có tính bảo mật để không bị các thiết bị vô tuyến khác hoặc hacker tấn công, yêu cầu thứ hai là dữ liệu cần phải chính xác (toàn vẹn dữ liệu). Về vấn đề bảo mật thông tin, nghiên cứu này đã áp dụng tiêu chuẩn mã hóa dữ liệu AES (Advanced Encryption Standard), AES là một thuật toán tiêu chuẩn của Chính phủ Hoa Kỳ nhằm mã hóa và giải mã dữ liệu do Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia Hoa Kỳ (National Institute Standards and Technology - NIST) phát hành ngày 26/11/2001 và được đặc tả trong Tiêu chuẩn Xử lý thông tin Liên bang 197. AES được sinh ra nhằm bảo vệ các dữ liệu thông qua quá trình mã hoá và giải mã dữ liệu, tính đến hiện nay, AES được sử dụng vô cùng phổ biến trên thế giới và tại Việt Nam (theo TCVN 7816:2007). Đối với yêu cầu về tính toàn vẹn dữ liệu, trong quá trình truyền nhận dữ liệu, hệ thống có thể bị nhiễu tác động từ bên ngoài, dẫn đến dữ liệu bị sai lệch, làm cho việc giám sát và điều khiển không chính xác, là nguyên nhân dẫn đến mất an toàn cho hệ thống. Như vậy, việc xác thực tính chính xác của dữ liệu có vai trò quan trọng đối với hoạt động an toàn hệ thống. Có một số phương pháp xác định tính toàn vẹn của thông tin, nghiên cứu này áp dụng thuật toán CRC-16, thuật toán CRC (Cyclic Redundancy Check) không phức tạp mà lại đạt hiệu quả cao trong việc phát hiện lỗi của dữ liệu, do

vậy mà thuật toán này được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như truyền thông dân dụng và truyền thông công nghiệp.

Tính toán khoảng cách từ đầu máy tới đường ngang: Theo Thông tư số 25/2018/TT-BGTVT, thời điểm bật tín hiệu cảnh báo tại đường ngang trước lúc tàu đến là 60 giây. Như vậy, khi đoàn tàu tiếp cận vào khu vực đường ngang, thiết bị cần liên tục tính toán thời gian đến đường ngang, từ đó bật tín hiệu cảnh báo tại thời điểm 60 giây. Để tính toán thời gian đó ta cần biết được tốc độ thực của đoàn tàu và khoảng cách từ đoàn tàu tới đường ngang, tốc độ đoàn tàu được xác định từ dữ liệu vệ tinh GNSS, khoảng cách của đoàn tàu được xác định từ vị trí của đường ngang (đã được lưu sẵn trong bộ nhớ của thiết bị) và vị trí của đoàn tàu được lấy từ GNSS, công thức tính khoảng cách này được xác định như sau:

$$x = \sin^2\left(\frac{\Delta\varphi}{2}\right) + \cos(\varphi_1) \times \cos(\varphi_2) \times \sin^2\left(\frac{\Delta\lambda}{2}\right)$$

$$y = 2 \times \arctan2(\sqrt{x}, \sqrt{1-x})$$

$$d = R \times y$$

trong đó: d là khoảng cách giữa 2 điểm (km), ; φ_1 là vĩ độ điểm 1; φ_2 là vĩ độ điểm 2; $\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1$; λ_1 là kinh độ điểm 1; λ_2 là kinh độ điểm 2; $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$; R là bán kính trái đất.

3.3. Thử nghiệm hoàn thiện hệ thống

Bước đầu của công việc thử nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm, tiếp đó là thử nghiệm giả lập ở ngoài trời (hình 2) bằng cách đưa thiết bị đầu máy đặt lên ô tô, thiết bị tại đường ngang được đặt dưới đường, công việc này được thực hiện dọc theo tuyến đường Bưởi - Võ Chí Công - sân bay Nội Bài, số đường ngang giả lập là 8 vị trí được đặt với khoảng cách ngẫu nhiên, số lượt thử nghiệm là 15 lượt ở các tốc độ di chuyển và thời điểm khác nhau trong ngày để đánh giá khả năng làm việc của thiết bị. Sau khi hoàn tất bước thử nghiệm giả lập, công tác thử nghiệm tại thực địa được tiến hành tại km 11+270 trên tuyến đường sắt Hà Nội - Sài Gòn.



Hình 2. Công tác thử nghiệm hệ thống tại phòng thí nghiệm và tại thực địa.

Công việc thử nghiệm thực tế được thực hiện qua nhiều ngày với nhiều lượt tác nghiệp trên tuyến đường sắt từ ga Hà Nội cho đến km11+850 (Ngọc Hồi - Thường Tín). Khoảng cách truyền thông giữa thiết bị trên đầu máy với thiết bị tại đường ngang thực tế đạt được là 4 km - với xác suất lỗi truyền thông là 0%; khi tăng dần khoảng cách thì xác suất lỗi truyền thông cũng tăng dần, tuy nhiên lỗi đó không ảnh hưởng đến hoạt động của hệ thống, và với khoảng cách 4 km cũng đã đảm bảo được khoảng cách yêu cầu là 3 km. Thời điểm đèn báo hiệu bật sáng đã bảo đảm trước lúc tàu tới đường ngang là 60 với xác suất 100%. Ngoài ra, sản phẩm này là hệ thống được nghiên cứu trên cơ sở ứng dụng công nghệ mới, hiện nay ở Việt Nam chưa có hệ thống tương tự nên một số tiêu chí về hệ thống này chưa được ban hành, do đó, các chỉ tiêu kỹ thuật chính của sản phẩm sẽ được đối chiếu theo chỉ tiêu mà nước ngoài đã quy định [14] (để sản phẩm của nghiên cứu này có thể ứng dụng thực tiễn thì sau bước nghiên cứu, công việc tiếp theo sẽ thực hiện xây dựng tiêu chuẩn Việt Nam cho hệ thống này). Sau quá trình thử nghiệm nhiều ngày và nhiều lượt, kết hợp thực hiện các tình huống giả lập các sự cố để đánh giá khả năng làm việc của hệ thống, kết quả thống kê ban đầu cho thấy hệ thống đã đáp ứng được các yêu cầu theo quy định đối với một số tiêu chí chính như thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. So sánh tiêu chí kỹ thuật của sản phẩm với yêu cầu.

Tiêu chí	Theo quy định	Kết quả đạt được
Độ chính xác ngang (Horizontal accuracy)	10 m	7 m
Tính sẵn sàng (Availability)	99,98%	99,99%
Thời gian khắc phục lần đầu (TTF)	120 s	45 s
Thời gian cảnh báo (TTA)	<7 s	5 s

4. Kết luận

Từ việc phân tích thiết kế hệ thống, lựa chọn linh kiện cho đến thiết kế phần cứng và xây dựng chương trình phần mềm được thực hiện trên nguyên tắc an toàn, cùng với việc thử nghiệm kỹ lưỡng tại thực địa, đã cho thấy hệ thống đáp ứng được các yêu cầu kỹ thuật theo quy định của Nhà nước, đồng thời thỏa mãn được một số tiêu chí kỹ thuật chính mà nước ngoài đã quy định (bảng 2) về hệ thống cảnh báo đường ngang tự động trên cơ sở ứng dụng các công nghệ tiên tiến. Thiết bị trên đầu máy có tích hợp ắc quy để ổn định nguồn cấp, bộ chuyển đổi nguồn được sử dụng có khả năng làm việc phù hợp với nguồn cấp trên các loại đầu máy, sản phẩm được thiết kế nhỏ gọn và khá độc lập nên có thể đặt trên các loại đầu máy khác nhau. Thiết bị tại đường ngang sử dụng truyền thông vô tuyến và nguồn cấp từ pin năng lượng mặt trời cùng ắc quy tích điện, tạo nên sự độc lập của thiết bị, do vậy mà có thể linh động lắp đặt ở các khu vực đường ngang khác nhau. Như vậy, sản phẩm của nghiên cứu thích ứng phù hợp với yêu cầu quy định cũng như tính linh động trong ứng dụng, đồng thời giảm thiểu tối đa chi phí xây dựng và bảo trì hệ thống, góp phần xóa bỏ các giao cắt “3 không” giữa đường bộ và đường sắt, giúp giảm thiểu tai nạn giao thông và nâng cao năng lực thông qua của đường sắt Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Bộ Giao thông Vận tải thông qua đề tài khoa học công nghệ cấp Bộ mã số DT224016 và sự hỗ trợ của Công ty Cổ phần Thông tin Tín hiệu Đường sắt Hà Nội trong quá trình thực hiện nghiên cứu thực nghiệm. Tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ministry of Transport (2018), *Circular No. 25/2018/TT-BGTVT Regulations on Level Crossings and Licensing for Construction of Essential Works Within Land Reserved for Railways* (in Vietnamese).
- [2] Vietnam Railways (2022), *Announcement No. 87/TB-DS on Results of Implementing Decree No. 65, Decision No. 1168/QĐ-DS, Dated 31/12/2020 of Vietnam Railways Corporation and Coordination in Implementing Decision No. 358/QĐ-TTg Dated 10/3/2020 of The Prime Minister* (in Vietnamese).
- [3] Congressional Research Service (2018), “Positive train control (PTC): Overview and policy issues”, *CRS Report Prepared for Members and Committee of Congress, R42637 Version 7-update*, 20pp.
- [4] J. Baker (2012), “Positive train control”, *The Joint Council on Transit Wireless Communications*, pp.1-25.
- [5] S. Badugu, A. Movva (2013), “Positive train control”, *International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering*, **3(4)**, pp.304-307.
- [6] S. Lo, S. Pullen, J. Blanch, et al. (2017), “Projected performance of a baseline high integrity GNSS railway architecture under nominal and faulted conditions”, *Proceedings of The 30th International Technical Meeting of The Satellite Division of The Institute of Navigation (ION GNSS+ 2017)*, pp.2148-2171, DOI: 10.33012/2017.15152.
- [7] C. Wullems (2011), “Towards the adoption of low-cost rail level crossing warning devices in regional areas of Australia: A review of current technologies and reliability issues”, *Safety Science*, **49(8-9)**, pp.1059-1073, DOI: 10.1016/j.ssci.2011.04.006.
- [8] C.N. Van (2017), “Research, design and manufacture signal equipment stern train use on freight trains in Vietnam railway”, *Science Journal of Transportation*, **61**, pp.61-70 (in Vietnamese).
- [9] C.N. Van (2021), “Research and design automatic railway crossing warning system based on application of radio solution and satellite positioning technology”, *The 6th International Conference and Exhibition on Control and Automation (VCCA-2021)*.
- [10] Ministry of Transport (2015), *TCVN 10935-1: Railway Applications - The Specification and Demonstration of Reliability, Availability, Maintainability and Safety (RAMS) - Part 1: Basic Requirements and Generic Process* (in Vietnamese).
- [11] Ministry of Transport (2016), *TCVN 11391: Railway Applications - Communications, Signalling and Processing Systems - Software for Railway Control and Protection Systems* (in Vietnamese).
- [12] Ministry of Transport (2019), *TCVN 12580: Railway Applications - Communication, Signalling and Processing Systems - Safety Related Electronic Systems for Signalling* (in Vietnamese).
- [13] D. Lu, E. Schnieder (2015), “Performance evaluation of GNSS for train localisation”, *IEEE Transactions on Intelligent Transportation Systems*, **16(2)**, pp.1054-1059, DOI: 10.1109/TITS.2014.2349353.
- [14] European Union Agency for The Space Program (2021), *Report on Rail User Needs and Requirements: Outcome of The Euspa User Consultation Platform, Revision: 3.0*.
- [15] V.D. Trung, P.H. Quang, P.H. Cong, et al. (2022), “Research and experimental applications of artificial intelligence for safety assurance of level crossing”, *Journal of Science and Technology, University of Danang*, **20(11)**, pp.33-38 (in Vietnamese).

Ứng dụng kỹ thuật Immunoblot (ANA 23 Profile) trong xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trên bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống

Đỗ Thị Thu Hiền^{1,2*}, Nguyễn Thị Thảo Nhi²

¹Bệnh viện Da liễu Trung ương, 15A Phương Mai, phường Phương Mai, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 16/3/2024; ngày chuyển phản biện 19/3/2024; ngày nhận phản biện 8/4/2024; ngày chấp nhận đăng 12/4/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu: Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tỷ lệ một số tự kháng thể trong bệnh xơ cứng bì hệ thống (XCBHT) bằng kỹ thuật Immunoblot (ANA 23 Profile). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 57 bệnh nhân được chẩn đoán xác định XCBHT theo tiêu chuẩn chẩn đoán của Hội Thấp khớp học Hoa Kỳ và Liên đoàn chống Thấp khớp châu Âu (ACR/EULAR) năm 2013 và được làm xét nghiệm tìm tự kháng thể bằng kỹ thuật Immunoblot (ANA 23 Profile) tại Bệnh viện Da liễu Trung ương. **Kết quả:** Trong số 57 bệnh nhân XCBHT, tỷ lệ nữ/nam là 5/1. Độ tuổi khởi phát bệnh trung bình là $49,3 \pm 13,3$ với 57,9% mắc bệnh ở độ tuổi trên 50. XCBHT thể lan tỏa thường gặp nhất (70%). Raynaud là triệu chứng hay gặp nhất (98,2%), tiếp theo là trào ngược dạ dày thực quản (86%) và xơ phổi (70,2%). Tổn thương tim và thận ít được ghi nhận nhất, với tỷ lệ lần lượt là 15,8 và 5,3%. Tỷ lệ dương tính của 3 kháng thể chính trong bệnh XCBHT là kháng thể kháng Scl-70 (63,2%), Centromerase (17,5%) và ARN Polyme III (12,3%). Kháng thể Scl-70 chủ yếu gặp ở thể da lan tỏa (91,7%), kháng thể CENP chủ yếu gặp ở thể da khu trú (90%) với $p < 0,05$. Kháng thể RNAP III chủ yếu gặp ở thể da lan tỏa (85,7%), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). **Kết luận:** Sự hiện diện của kháng thể Scl-70 liên quan đến thể da lan tỏa trong khi sự hiện diện của CENP liên quan đến thể da khu trú.

Từ khóa: ANA 23 Profile, Immunoblot, tự kháng thể, xơ cứng bì hệ thống.

Chỉ số phân loại: 2.6, 3.1

1. Đặt vấn đề

XCBHT là một bệnh tự miễn, thường gặp thứ hai sau lupus ban đỏ hệ thống [1]. Căn nguyên của bệnh chưa rõ, diễn biến mạn tính, điều trị còn gặp nhiều khó khăn. XCBHT chủ yếu gặp ở giới nữ (75-80%), tần số mắc bệnh khoảng 1-2/10000 dân. Biểu hiện lâm sàng của XCBHT rất đa dạng với tổn thương ở da và các cơ quan nội tạng. Các triệu chứng ở da bao gồm: da dày, cứng, giảm đàn hồi, teo da, rối loạn sắc tố, lắng đọng canxi gây ảnh hưởng đến thẩm mỹ và hạn chế hoạt động của bệnh nhân. Tuy nhiên, điều khiển bệnh nặng và tỷ lệ tử vong cao là tổn thương các cơ quan nội tạng không hồi phục như tổn thương tim gây rối loạn dẫn truyền, suy tim; tổn thương phổi gây tăng áp lực động mạch phổi, xơ phổi; tổn thương thận gây tăng huyết áp ác tính, xơ thận [2].

Trong quá trình nghiên cứu về XCBHT, các tác giả đã phát hiện ra nhiều tự kháng thể có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của xơ cứng bì hệ thống. Các kháng thể kháng nhân được tìm thấy ở 85-99% bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống (SSc) và có liên quan với các biểu hiện của bệnh và tổn thương nội tạng [3]. Tần suất kháng thể kháng tâm động (ACA) ở bệnh nhân XCBHT đã được báo cáo là 20-30% tổng thể, nhưng thay đổi tùy thuộc vào chủng tộc [4]. Anti-topo I gặp với tỷ lệ khác nhau, 28-70% tùy chủng tộc, thấp ở người da trắng, cao ở người Nhật Bản và Thái Lan, tỷ lệ cao hơn ở nhóm XCBHT có tổn thương da

lan tỏa [5]. ACA là những yếu tố tiên đoán cho tiên lượng tốt, trong khi anti-topo I liên quan với tiên lượng xấu và tử vong của SSc. Ngoài ra, kháng thể kháng RNA polymerase (anti-RNAP) có liên quan đến thể da lan tỏa và sự xuất hiện tổn thương thận, tỷ lệ gặp 4-22%, tùy thuộc vào vùng địa lý [6]. Các kháng thể khác thường ít được báo cáo: kháng thể kháng Ku, kháng thể kháng Ro52, SSA, SSB, PmScl... Những kháng thể này thường ít đặc hiệu hơn đối với SSc, nhưng cũng xuất hiện với những tần suất riêng [5].

Ở Việt Nam, các nghiên cứu về các tự kháng thể nói chung và mối liên quan giữa kháng thể này với các tổn thương trong XCBHT nói riêng còn rất ít và chưa được thực hiện một cách hệ thống. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tỷ lệ của một số tự kháng thể trong bệnh XCBHT.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Bệnh nhân nội và ngoại trú được chẩn đoán xác định XCBHT theo tiêu chuẩn chẩn đoán của ACR/EULAR năm 2013 và được làm xét nghiệm tìm tự kháng thể bằng kỹ thuật Immunoblot (ANA 23 Profile) tại Bệnh viện Da liễu Trung ương. Tiêu chuẩn loại trừ là các bệnh nhân mắc các bệnh lý nội khoa khác không phải do XCBHT như suy thận mạn, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính...

*Tác giả liên hệ: Email: hienphuonglinh@yahoo.com

Application of Immunoblot assay (ANA 23 Profile) for detection of autoantibodies in systemic sclerosis

Thi Thu Hien Do^{1,2*}, Thi Thao Nhi Nguyen²

¹National Hospital of Dermatology and Venereology,
15A Phuong Mai Street, Phuong Mai Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

²University of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University - Hanoi,
144 Xuan Thuy Street, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 16 March 2024; revised 8 April 2024; accepted 12 April 2024

Abstract:

Objective: Examine the clinical and subclinical characteristics and the rate of autoantibodies in systemic sclerosis (SSc) using Immunoblot technique (ANA 23 Profile). **Research subjects and methods:** Cross-sectional descriptive study of 57 patients diagnosed with SSc according to the 2013 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism (ACR/EULAR) criteria and were tested for autoantibodies using the Immunoblot technique (ANA 23 Profile) at the National Hospital of Dermatology and Venereology. **Results:** Among 57 SSc patients, the female/male ratio was 5/1. The average age of disease onset was 49.3 ± 13.3 , with 57.9% of patients over the age of 50. Diffuse SSc was the most common (70%). Raynaud was the most common symptom (98.2%), followed by gastroesophageal reflux (86%), and pulmonary fibrosis (70.2%). Heart and kidney damage were less frequently observed, accounting for 15.8 and 5.3%, respectively. Positive rates of the three major antibodies in SSc included anti-Scl-70 antibody (63.2%), anti-centromere antibody (17.5%), and anti-RNA polymerase III antibody (12.3%), respectively. Scl-70 autoantibodies were mainly found in diffuse skin types (91.7%) while CENP autoantibodies were mainly found in localised skin types (90%) with $p < 0.05$. RNAP III antibodies were mainly found in diffuse skin types (85.7%), however, this difference was not statistically significant ($p > 0.05$). **Conclusion:** The presence of Scl-70 was related to the diffuse skin types while the presence of CENP was related to localised skin types.

Keywords: ANA 23 Profile, autoantibodies, Immunoblot, systemic sclerosis.

Classification numbers: 2.6, 3.1

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang.

Các xét nghiệm siêu âm tim, điện tâm đồ được tiến hành tại Bệnh viện Lão khoa Quốc gia và Viện Tim mạch, Bệnh viện Bạch Mai. Xét nghiệm đo chức năng hô hấp được tiến hành tại Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng và Trung tâm Hô hấp của Bệnh viện Bạch Mai. Xét nghiệm chụp cắt lớp lồng ngực độ phân giải cao thực hiện ở Khoa Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Bạch Mai. Xét nghiệm tại Bệnh viện Da liễu Trung ương bao gồm các xét nghiệm tìm tự kháng thể, công thức máu, sinh hóa máu, X-quang tim phổi.

Kỹ thuật Immunoblot là kỹ thuật được sử dụng rộng rãi để phát hiện các tự kháng thể trong mẫu bệnh phẩm. Cơ chế: dựa trên sự kết hợp kháng nguyên - kháng thể. Màng được gắn các kháng nguyên tinh khiết tạo thành đường thẳng song song, kết hợp với các kháng thể đặc hiệu trong máu (IgG) của bệnh nhân, được nhuộm màu và biểu hiện bằng các vạch màu trên dải. Bệnh viện Da liễu Trung ương bắt đầu triển khai xét nghiệm sử dụng bộ kit ANA Profile 23 - bao gồm 23 tự kháng thể khác nhau trong các bệnh hệ thống từ năm 2017 (bảng 1).

Kết quả hiển thị dạng định tính và định lượng:

- Định tính: dương tính hoặc âm tính.

- Định lượng: mật độ tín hiệu 0-100 quy ước thành 3 mức độ dương tính: 0-10: âm tính; 11-25: dương tính 1+; 26-50: dương tính 2+; >50: dương tính 3+.

Bảng 1. Kết quả hiển thị của test ANA 23 Profile.

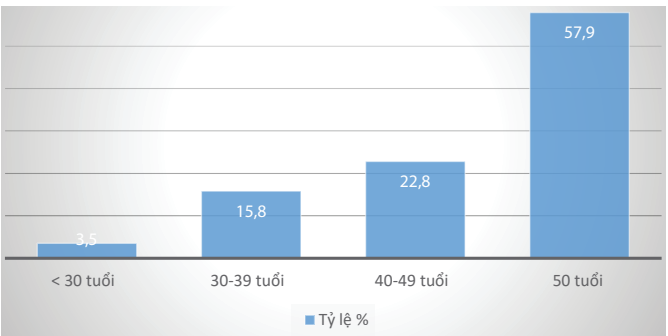
Kết quả hiển thị	Kháng thể	Bệnh mô liên kết thường gặp
Scl-70	antiTopoisomerase	XCBHT
CENP A, CENP B	Centromerese	XCBHT
RP 11, RP 155	RNA polime III	XCBHT
dsDNA	DsDNA	SLE
SSA	SSA	SLE or SSc
SSB	SSB	SLE or SSc
Ro52	Ro52	SLE or SSc
SM	antiSmith	SLE
RNP/SM	U1-RNP	MCTD
Ku	Ku	SLE/Myositis/SSC
Mi-2	Mi	DM
Pm-Scl75, Pm-Scl100	Pm-Scl	Overlap/SSc
Histon	Histon	SLE
Nucleosome	Nucleosome	SLE
DFS70	DFS70	VDCA/RA
PCNA	PCNA	SLE
Gp210	Gp210	Xơ gan mật tiên phát
Sp100	Sp100	Xơ gan mật tiên phát
PML	PML	Xơ gan mật tiên phát

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0.

3. Kết quả

3.1. Một số yếu tố liên quan đến bệnh xơ cứng bì hệ thống

Trong 57 bệnh nhân XCBHT nghiên cứu, có 9 bệnh nhân nam (16%) và 48 bệnh nhân nữ (84%), tỷ lệ nam/nữ là 1/5. Trong đó, XCBHT thể da lan tỏa chiếm tỷ lệ cao hơn (40 bệnh nhân, 70%) so với thể da khu trú (17 bệnh nhân, 30%).



Biểu đồ 1. Phân bố nhóm tuổi khởi phát bệnh.

Nhận xét: Nhóm tuổi khởi phát bệnh thường gặp nhất là trên 50 tuổi (chiếm 57,9%), nhóm tuổi khởi phát bệnh ít gặp nhất là dưới 30 tuổi (chiếm 3,5%) (biểu đồ 1).

Bảng 2. Phân bố tuổi, giới bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống theo thể lâm sàng.

	Chung	Thể da lan tỏa	Thể da khu trú	p
n (bệnh nhân)	57	40	17	
Tuổi khởi phát	49,3±13,3	49,6±12,7	48,8±11,6	0,8
Nam/nữ	1/5	0,21	0,18	0,8
Thời gian bị bệnh (tháng)	18,8±13,4	18,2±13,3	20,1±15,9	0,6

Kết quả bảng 2 cho thấy, tuổi khởi phát bệnh trung bình là 49,6±12,7 tuổi, tỷ lệ nam/nữ là 1/5, thời gian bị bệnh trung bình trước khi đến khám là 19±3 tháng, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa 2 thể lâm sàng.

3.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng

Chẩn đoán xác định bệnh: Điểm triệu chứng theo tiêu chuẩn Euler 2013 trung bình là 15±2,1, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa 2 thể da khu trú và lan tỏa (bảng 3).

Bảng 3. Điểm triệu chứng trung bình theo tiêu chuẩn Euler 2013.

	Điểm triệu chứng trung bình (điểm)	p
Thể da khu trú (n=17)	14,6±2,3	p=0,43
Thể da lan tỏa (n=40)	15,1±2	
Chung (n=57)	15±2,1	

Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của các bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống: Điểm dày da Mrodman trung bình là 13,6±9,4, nhóm bệnh nhân XCBHT thể da lan tỏa

(16,6±9,6) cao hơn so với thể da khu trú (6,5±2,8) với $p<0,05$ (bảng 4). Độ nắm bàn tay trung bình là 0,6±1 cm, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 thể lâm sàng (bảng 4).

Bảng 4. Tổn thương da của bệnh xơ cứng bì hệ thống.

Đặc điểm tổn thương cơ quan	Chung (n=57)	Thể da khu trú (n=17)	Thể da lan tỏa (n=40)	p
Mrodman (điểm)	13,6±9,4	6,5±2,8	16,6±9,6	p=0,003
Độ nắm bàn tay (cm)	0,6±1	0,4±0,9	0,7 ± 1,1	p=0,3

Kết quả bảng 5 cho thấy, trong 57 bệnh nhân nghiên cứu, 59,7% không có tổn thương mạch máu, còn lại 40,3% có tổn thương mạch máu (sẹo rỗ + loét + hoại tử đầu ngón), trong đó tổn thương sẹo rỗ đầu ngón thường gặp nhất (22,8%), loét đầu ngón (12,3%), hoại tử đầu ngón ít gặp nhất (5,2%). Tỷ lệ bệnh nhân loét đầu ngón của nhóm bệnh nhân thể da lan tỏa (15%), cao hơn nhóm da khu trú (5,9%) với p có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ bệnh nhân hoại tử đầu ngón của nhóm bệnh nhân thể da lan tỏa (5%) thấp hơn nhóm da khu trú (5,9%) với p có ý nghĩa thống kê.

Bảng 5. Tổn thương mạch máu trong bệnh xơ cứng bì hệ thống.

Tổn thương	Không tổn thương (%)	Sẹo rỗ đầu ngón (%)	Loét đầu ngón (%)	Hoại tử đầu ngón (%)
Chung (n=57)	59,7	22,8	12,3	5,2
Thể da khu trú (n=17)	58,8	29,4	5,9	5,9
Thể da lan tỏa (n=40)	60	20	15	5
p	p=0,21	p=0,45	p=0,03	p=0,03

Kết quả bảng 6 cho thấy, áp lực động mạch phổi trung bình (PAP) là 33,8±10,1, ở nhóm thể da khu trú (34,7±11,6) cao hơn so với thể da lan tỏa (31,5±5,1) với $p<0,05$ có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ viêm xơ phổi kẽ ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu là 70,2%, tỷ lệ này ở thể da lan tỏa (75%) cao hơn so với thể da khu trú (58,8%) với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

Bảng 6. Tổn thương phổi của bệnh xơ cứng bì hệ thống.

Đặc điểm tổn thương cơ quan	Chung (n=57)	Thể da khu trú (n=17)	Thể da lan tỏa (n=40)	p
Áp lực động mạch phổi (mmHg)	33,8±10,1	34,7±11,6	31,5±5,1	p=0,02
Viêm xơ phổi kẽ (%)	70,2%	58,8%	75%	p<0,05

Kết quả bảng 7 cho thấy, trong 57 bệnh nhân nghiên cứu, tổn thương tiêu hóa thường gặp nhất là trào ngược dạ dày thực quản (86%), khó nuốt gặp với tỷ lệ 42%, táo bón (3,5%), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân thể da lan tỏa so với thể da khu trú.

Bảng 7. Tổn thương tiêu hóa trong bệnh xơ cứng bì hệ thống.

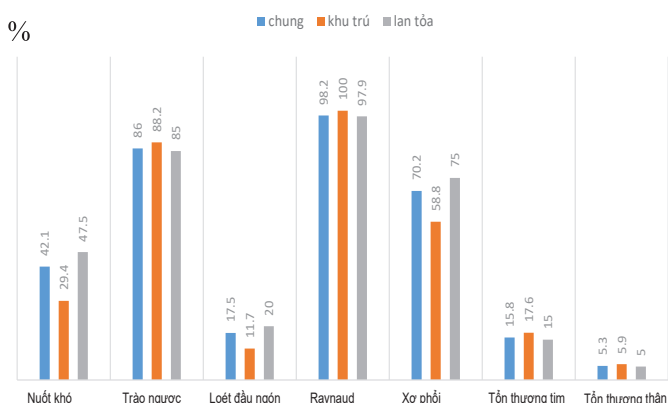
Tổn thương	Không tổn thương (%)	Trào ngược (%)	Khó nuốt (%)	Táo bón (%)	Tiêu chảy (%)
Chung (n=57)	14	86	42	3,5	0
Thể da khu trú (n=17)	12	88	29,4	0	0
Thể da lan tỏa (n=40)	15	85	47,5	5%	0
p	p>0,05				

Kết quả bảng 8 cho thấy, ảnh hưởng đến toàn trạng theo thang điểm Mesdger trung bình là: $6,6 \pm 4,8$, ở nhóm bệnh nhân thể da lan tỏa ($7,6 \pm 5,2$) cao hơn so với thể da khu trú ($4,3 \pm 2,8$), với $p=0,01$ có ý nghĩa thống kê.

Bảng 8. Ảnh hưởng đến toàn trạng của bệnh xơ cứng bì hệ thống.

	Chung (n=57)	Thể da khu trú (n=17)	Thể da lan tỏa (n=40)
Điểm Mesdger (điểm)	$6,6 \pm 4,8$	$4,3 \pm 2,8$	$7,6 \pm 5,2$
p	$p=0,01$		

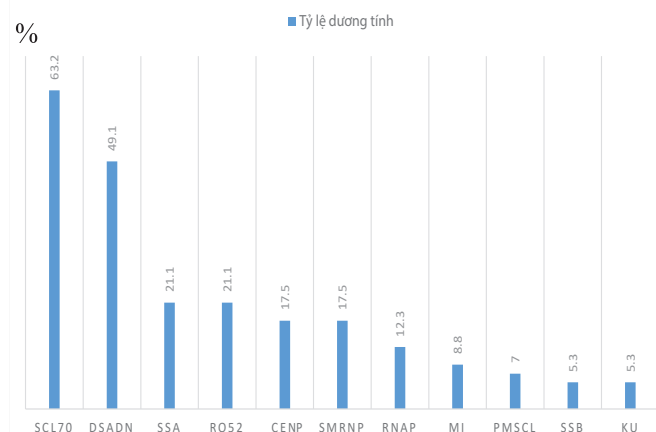
Trong 57 bệnh nhân nghiên cứu, triệu chứng Raynaud là thường gặp nhất (98,2%), sau đó là triệu chứng trào ngược dạ dày thực quản (86%), tổn thương thận và tim ít gặp nhất với tỷ lệ lần lượt 5,3 và 15,8% (biểu đồ 2).



Biểu đồ 2. Tỷ lệ xuất hiện tổn thương một số cơ quan ở bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống.

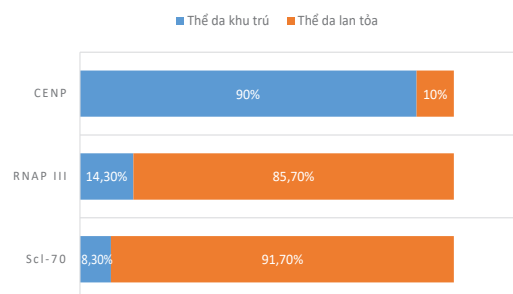
3.3. Tỷ lệ các kháng thể trong bệnh xơ cứng bì hệ thống

Tỷ lệ dương tính của các kháng thể: Kháng thể kháng Scl-70 và kháng thể kháng DsDNA thường gặp nhất với tỷ lệ lần lượt là 63,2 và 49,1% (biểu đồ 3). Các kháng thể SSB, Ku, Mi, PmScl gặp với tỷ lệ thấp (<10%).



Biểu đồ 3. Tỷ lệ dương tính của các kháng thể trong bệnh xơ cứng bì hệ thống.

Phân bố một số tự kháng thể theo thể lâm sàng: Kháng thể Scl-70 chủ yếu gặp ở thể da lan tỏa (91,7%), kháng thể CENP chủ yếu gặp ở thể da khu trú (90%) với $p<0,05$, kháng thể RNAP III chủ yếu gặp ở thể da lan tỏa (85,7%) với $p>0,05$ (biểu đồ 4).



Biểu đồ 4. Phân bố một số tự kháng thể theo thể lâm sàng.

4. Bàn luận

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên 57 bệnh nhân XCBHT được chẩn đoán theo tiêu chuẩn ACR/EULAR năm 2013. Trong đó, phần lớn bệnh nhân XCBHT (84%) là nữ, tỷ lệ nữ/nam là 5/1. Tuổi khởi phát bệnh trung bình ở cả hai giới là $49,3 \pm 13,3$ tuổi. Nhóm tuổi mắc bệnh hay gặp nhất là trên 50 tuổi (57,9%). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ tuổi, giới tính và thời gian mắc bệnh giữa thể da khu trú và thể da lan tỏa. Kết quả này tương tự với một số nghiên cứu trước đây ở Việt Nam và các nước khác. Số bệnh nhân nữ vượt trội cũng được thể hiện qua nghiên cứu của D.T. Diep (2007) [7] là 4,9/1, J.H. Korn và cs (2004) [8] là 3,8/1. Theo P.T. Tuyen (2012) [9], nhóm tuổi thường gặp nhất là 30-60 tuổi (86,6%); nghiên cứu của A.J. Greirsson và cs (2001) [10] cũng cho thấy tuổi trung bình khởi phát bệnh là 42,4 còn tuổi khám bệnh trung bình là 47,2.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, XCBHT thể da lan tỏa thường gặp nhất (70%), XCBHT thể khu trú chiếm 30%. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của U.A. Walker và cs (2007) [11], trong đó tỷ lệ của XCBHT thể da lan tỏa và khu trú lần lượt là 60,9 và 39,1%.

XCBHT là bệnh có tổn thương đa cơ quan. Trong nghiên cứu của chúng tôi, hội chứng Raynaud (98,2%) và trào ngược dạ dày thực quản (86%), xơ phổi (70,2%) là các triệu chứng thường gặp nhất, tổn thương thận ít gặp nhất (5,3%). Theo các nghiên cứu nước ngoài hiện tượng Raynaud đều gặp ở cả hai thể với tỷ lệ cao: U.A. Walker và cs (2007) [11] 95,9 và 96,1% hay S.K. Ghosh và cs (2012) [12] 89,5 và 88,9%. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tổn thương viêm xơ phổi kể được xác định dựa vào phim chụp HrCT ngực với tỷ lệ 70,2%, ở thể da lan tỏa cao hơn so với thể khu trú với tỷ lệ lần lượt là 75 và 58,8%. Tỷ lệ viêm xơ phổi kể trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn một số nghiên cứu trong nước và ngoài nước như: U.A. Walker và cs (2007) [11] xơ phổi gặp 53,4% ở thể lan tỏa và 34,7% thể khu trú; T.T. Tuy (2014) [13] tỷ lệ tương ứng là 49,1 và

15,4%. Trong các nghiên cứu của A. Perera và cs (2007) [14] trên 212 bệnh nhân, A. Hashimoto và cs (2012) [15] trên 405 bệnh nhân, V.D. Steen và cs (2000) [16] trên 953 bệnh nhân đều ghi nhận bệnh nhân có tổn thương thận với tỷ lệ 13,2, 14,8 và 19% tương ứng, tổn thương này chủ yếu gặp ở bệnh nhân thể da lan tỏa với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi tổn thương thận xuất hiện với tỷ lệ thấp là 5,3% và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 thể lâm sàng. Nghiên cứu trong nước khác như của T.T. Tuy (2014) [13], N.T. Hoa (2015) [17] cũng ghi nhận không có tổn thương thận. Sự khác biệt này có thể do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi chưa đủ lớn và cần có những nghiên cứu lớn hơn để xác định tỷ lệ tổn thương thận ở bệnh nhân XCBHT và mối liên quan giữa tổn thương thận với thể lâm sàng.

Theo nghiên cứu này, kháng thể kháng Scl-70 dương tính với tỷ lệ 63,2% và thường gặp hơn ở XCBHT thể da lan tỏa. Kết quả này tương tự với kết quả trong các nghiên cứu của K. Hanke và cs (2009) [18] và M. Hasegawa và cs (2013) [19] với tỷ lệ kháng thể kháng Scl-70 dương tính lần lượt là 60,4 và 40%.

Kháng thể kháng Centromerase có tỷ lệ dương tính là 17,5% và thường gặp ở XCBHT thể da khu trú. Theo các nghiên cứu khác, ACA dương tính ở 20-30% bệnh nhân SSc và cũng được quan sát phổ biến ở SSc ở da khu trú [4].

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, kháng thể kháng RNAP III dương tính với tỷ lệ 12,3% và gặp ở 85,7% bệnh nhân XCBHT thể da lan tỏa so với 14,3% thể da khu trú, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Trong các nghiên cứu khác, tỷ lệ kháng thể kháng RNAP III ở bệnh nhân SSc thay đổi từ 4 đến 22% tùy theo khu vực địa lý. Tần suất cao hơn được báo cáo ở Hoa Kỳ (8,3%), Anh (11,7%) và tần suất thấp hơn được tìm thấy ở bệnh nhân Nhật Bản (5%) và Pháp (4%) [20].

5. Kết luận

XCBHT là bệnh thường gặp ở người trên 50 tuổi, nữ nhiều hơn nam, thể da lan tỏa (70%) chiếm ưu thế, hội chứng Raynaud (98,2%) và trào ngược dạ dày thực quản (86%), xơ phổi (70,2%) là các triệu chứng thường gặp nhất, tổn thương thận ít gặp nhất (5,3%), Kết quả xét nghiệm ANA 23 Profile trên bệnh nhân XCBHT cho thấy, kháng thể Scl-70, CENP, RNAP III hay gặp hơn cả với tỷ lệ dương tính lần lượt là 63,2; 17,5 và 12,3%. Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa thể lâm sàng và tỷ lệ phát hiện kháng thể, trong đó kháng thể Scl-70 chủ yếu gặp ở thể da lan tỏa, kháng thể CENP chủ yếu gặp ở thể da khu trú.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] J.B. Afred (1996), "History of scleroderma", *Systemic Sclerosis*, **1**, pp.3-22.
 [2] A.G. Lowell, I.K. Stephen, G. Barbara, et al. (2012), *Fitzpatrick's Dermatology General in Medicine*, Mc Graw Hill, **2**, pp.1943-1953.
 [3] A. Kill, G. Riemekasten (2005), "Functional autoantibodies in systemic sclerosis pathogenesis", *Curr. Rheumatol. Rep.*, **17**(5), DOI: 10.1007/s11926-015-0505-4.

[4] K.H. To, J.D. Reveille (2003), "The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma", *Arthritis Research and Therapy*, **5**(2), pp.80-93, DOI: 10.1186/ar628.
 [5] Y. Hamaguchi (2010), "Autoantibody profiles in systemic sclerosis: Predictive value for clinical evaluation and prognosis", *The Journal of Dermatology*, **37**(1), pp.42-53, DOI: 10.1111/j.1346-8138.2009.00762.x.
 [6] J. Varga, C.P. Denton, M.W. Fredrick (2012), *Scleroderma from Pathogenesis to Comprehensive Management*, Springer, 778pp.
 [7] D.T. Diep (2007), *Clinical and Paraclinical Characteristics of Systemic Sclerosis Patients with Cardiovascular Damage*, Thesis for Graduation, Hanoi Medical University (in Vietnamese).
 [8] J.H. Korn, M. Mayes, M.M. Cerinic, et al. (2004), "Digital ulcers in systemic sclerosis: Prevention by treatment with bosentan", *Arthritis Rheum.*, **50**(12), pp.3985-3993, DOI: 10.1002/art.20676.
 [9] P.T. Tuyen (2012), *Clinical Characteristics and The Association Between Skin Lesions and Internal Organ's Damage in Patients with Systemic Sclerosis*, Thesis for Resident Doctor's Graduation, Hanoi Medical University (in Vietnamese).
 [10] A.J. Greirsson, F.A. Wollheim, A. Akesson (2001), "Disease severity of 100 patients with systemic sclerosis over a period of 14 years: Using a modified Medsger scale", *Ann. Rheum. Dis.*, **60**(12), pp.1117-1122, DOI: 10.1136/ard.60.12.1117.
 [11] U.A. Walker, A. Tyndall, L. Czirják, et al. (2007), "Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: A report from the Euler scleroderma trials and research group database", *Ann. Rheum. Dis.*, **66**(6), pp.754-763, DOI: 10.1136/ard.2006.062901.
 [12] S.K. Ghosh, D. Bandyopadhyay, I. Saha, et al. (2012), "Mucocutaneous and demographic features of systemic sclerosis: A profile of 46 patients from Eastern India", *Indian Journal of Dermatology*, **57**(3), pp.201-205, DOI: 10.4103/0019-5154.96193.
 [13] T.T. Tuy (2014), *Evaluating The Effectiveness of Treatment of Systemic Sclerosis with Methotrexate*, Thesis for Resident Doctor's Graduation, Hanoi Medical University (in Vietnamese).
 [14] A. Perera, N. Fertig, M. Lucas, et al. (2007), "Clinical subsets, skin thickness progression rate, and serum antibody levels in systemic sclerosis patients with anti-topoisomerase I antibody", *Arthritis Rheum.*, **56**(8), pp.2740-2746, DOI: 10.1002/art.22747.
 [15] A. Hashimoto, H. Endo, H. Kondo, et al. (2012), "Clinical features of 405 Japanese patients with systemic sclerosis", *Mod. Rheum.*, **22**(2), pp.272-279, DOI: 10.1007/s10165-011-0515-7.
 [16] V.D. Steen, T.A. Medsger (2000), "Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma", *Arthritis Rheum.*, **43**(11), pp.2437-2444, DOI: 10.1002/1529-0131(200011)43:11<2437::AID-ANR10>3.0.CO;2-U.
 [17] N.T. Hoa (2015), *The Relationship Between Anti-Topoisomerase I Antibodies and Internal Organ's Damage in Systemic Sclerosis*, Thesis for Resident Doctor's Graduation, Hanoi Medical University (in Vietnamese).
 [18] K. Hanke, C. Dähnrich, C.S. Brückner (2009), "Diagnostic value of anti-topoisomerase I antibodies in a large monocentric cohort", *Arthritis Research and Therapy*, **11**(1), pp.28-33, DOI: 10.1186/ar2622.
 [19] M. Hasegawa, S.I. Kumada, T. Matsushita, et al. (2013), "Anti-topoisomerase I antibody levels as serum markers of skin sclerosis in systemic sclerosis", *Journal Dermatology*, **40**(2), pp.89-93, DOI: 10.1111/1346-8138.12030.
 [20] A. Kelly, C.T. Derk (2015), "Anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis", *Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases*, **5**(3), pp.81-86, DOI: 10.4236/ojra.2015.53013.

Mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF* V600E với một số đặc điểm tiến triển trong ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú $\leq 1,5$ cm

Trần Thị Lan¹, Nguyễn Thị Trang², Phạm Văn Tuyền¹, Phạm Cẩm Phương¹, Nguyễn Thuận Lợi¹, Đào Thị Huyền Trang², Dương Danh Bộ³, Hoàng Xuân Cường⁴, Biện Văn Hoàn^{5*}

¹Bệnh viện Bạch Mai, 78 Giải Phóng, phường Phương Mai, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

³Bộ Y tế, 138A Giảng Võ, phường Kim Mã, quận Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

⁴Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, phường Phúc La, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

⁵Bệnh viện Tai Mũi Họng Trung ương, 78 Giải Phóng, phường Phương Mai, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/4/2024; ngày chuyển phản biện 5/4/2024; ngày nhận phản biện 23/4/2024; ngày chấp nhận đăng 26/4/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu: Xác định mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E trong vi ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú (PTMC) và ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú (PTC) kích thước nhỏ 1-1,5 cm (PTC 1-1,5 cm) với các đặc điểm tiến triển của khối u. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả hồi cứu 104 bệnh nhân PTMC được chẩn đoán xác định bằng mô bệnh học và có kết quả xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E được chia thành 2 nhóm PTMC (có kích thước $\leq 1,0$ cm) và PTC (1-1,5 cm), được đánh giá các yếu tố tiến triển (tình trạng xâm lấn ngoài tuyến giáp trên đại thể, di căn hạch, biến thể nguy cơ cao). **Kết quả:** Đột biến gen *BRAF* V600E được phát hiện trong 72,8% PTMC và 76,5% PTC 1-1,5 cm. Tỷ lệ khối u có đặc điểm tiến triển trong PTMC có đột biến và không có đột biến lần lượt là 66,7 và 52,63% ($p=0,28$). Tỷ lệ khối u có đặc điểm tiến triển trong PTC 1-1,5 cm có đột biến và không có đột biến lần lượt là 80,7 và 100% ($p=0,309$). Trong nhóm PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những khối u có đột biến *BRAF* V600E ($p<0,05$). Không nhận thấy có mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và di căn hạch, biến thể tế bào cao, >1 yếu tố tiến triển ở cả 2 nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm. **Kết luận:** Trong nhóm PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* V600E. Không thấy mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và đặc điểm tiến triển khác ở bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm.

Từ khóa: đặc điểm tiến triển, đột biến *BRAF* V600E, ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú, vi ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhú.

Chỉ số phân loại: 2.6, 3.1

1. Đặt vấn đề

Ung thư biểu mô tuyến giáp là bệnh lý ác tính phổ biến nhất của các cơ quan nội tiết. Trong đó, PTC là tít mô bệnh học thường gặp nhất, chiếm đến 80-85% các trường hợp ung thư của tuyến giáp [1].

Nhờ có những cải tiến lớn trong siêu âm tuyến giáp và chọc hút tế bào bằng kim nhỏ tuyến giáp dưới hướng dẫn của siêu âm, PTC ngày càng được phát hiện sớm, từ đó dẫn đến sự gia tăng của PTMC. PTMC nguy cơ thấp được xem như là các khối u chậm tiến triển có thể được điều trị bằng phẫu thuật hoặc theo dõi tích cực [2]. Tuy nhiên, có một tỷ lệ nhỏ PTMC có đặc điểm tiến triển, xâm lấn ra ngoài tuyến giáp, di căn hạch và di căn xa. Vì vậy, xác định các bệnh nhân có nguy cơ tiến triển cao là rất quan trọng để đưa ra hướng theo dõi, điều trị hợp lý. Nhiều yếu tố dự báo đã được đưa ra, tuy nhiên phần lớn chỉ có thể xác định được sau phẫu thuật.

Gần đây, các dấu ấn phân tử để dự đoán PTC đã được nghiên cứu rộng rãi nhằm cải thiện việc phân tầng rủi ro của PTC. Xác định các dấu ấn phân tử có thể nhận biết các khối u

tiến triển, đặc biệt là ở giai đoạn trước phẫu thuật, rất hữu ích trong việc hướng dẫn điều trị lâm sàng PTC. *BRAF* V600E là đột biến được báo cáo phổ biến nhất ở bệnh nhân PTC và PTMC. Tỷ lệ đột biến *BRAF* V600E thay đổi đáng kể tùy theo biến thể mô học của PTC (30-90%), cao nhất trong biến thể tế bào cao của PTC (lên tới 95%) - là biến thể tiến triển phổ biến nhất của PTC [3]. Mặc dù vẫn còn nhiều tranh cãi về mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E và đặc điểm tiến triển bệnh cũng như tiên lượng xấu của PTC, nhiều nghiên cứu đã báo cáo rằng, PTC với *BRAF* V600E đột biến có liên quan đến tiên lượng xấu hơn. Một số nghiên cứu trên thế giới trên đối tượng PTMC và PTC 1-1,5 cm ghi nhận mối liên quan giữa tình trạng đột biến và các đặc điểm tiến triển của khối u, từ đó đề xuất sử dụng xét nghiệm phân tử đánh giá đột biến *BRAF* V600E như một yếu tố độc lập giúp xác định PTMC, PTC nhỏ có nguy cơ cao cần can thiệp phẫu thuật hơn là theo dõi lâm sàng [4]. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E trong PTMC, PTC 1-1,5 cm và các đặc điểm tiến triển của khối u trên đối tượng người Việt Nam.

*Tác giả liên hệ: Email: bienvanhoan@gmail.com

Relationship between *BRAF* V600E and some aggressive features in papillary thyroid carcinoma ≤ 1.5 cm

Thi Lan Tran¹, Thi Trang Nguyen², Van Tuyen Pham¹, Cam Phuong Pham¹, Thuan Loi Nguyen¹, Thi Huyen Trang Dao², Danh Bo Duong³, Xuan Cuong Hoang⁴, Van Hoan Bien^{5*}

¹Bach Mai Hospital, 78 Giai Phong Street, Phuong Mai Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street,

Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

³Ministry of Health, 138A Giang Vo Street,

Kim Ma Ward, Ba Dinh District, Hanoi, Vietnam

⁴Vietnam Military Medical University, 160 Phung Hung Street,

Phuc La Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

⁵National Otorhinolaryngology Hospital, 78 Giai Phong Street,

Phuong Mai Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

Received 2 April 2024; revised 23 April 2024; accepted 26 April 2024

Abstract:

Objectives: Determine the association between *BRAF* V600E mutation in papillary thyroid microcarcinoma (PTMC), small papillary thyroid carcinoma (PTC 1-1.5 cm), with tumour-aggressive characteristics. **Subjects and methods:** Retrospective descriptive study of 104 patients with PTMC diagnosed by histopathology and with *BRAF* V600E gene mutation testing results. Study subjects were divided into 2 groups: PTMC (tumour size ≤ 1.0 cm) and PTC 1-1.5 cm (tumour size 1-1.5 cm) and evaluated aggressive features (macroscopic extrathyroidal invasion, lymph node metastasis, high-risk variants). **Results:** *BRAF* V600E gene mutation was detected in 72.8% of PTMC and 76.5% of PTC 1-1.5 cm. The proportion of tumours with aggressive features in PTMC with and without mutations was 66.7 and 52.63%, respectively ($p=0.28$). The proportion of tumours with aggressive features in PTC 1-1.5 cm with and without mutations was 80.7 and 100%, respectively ($p=0.309$). In the PTMC group, the rate of extrathyroidal invasion was higher in tumours with *BRAF* V600E mutation ($p<0.05$). No association was found between *BRAF* V600E gene mutation and lymph node metastasis, high cell variation, and more than one aggressive feature in both PTMC and PTC 1-1.5 cm patient groups. **Conclusions:** In the PTMC group, the rate of extrathyroidal invasion was higher in patients with the *BRAF* V600E mutation. No association was found between *BRAF* V600E gene mutation and other aggressive features in patients with PTMC and PTC 1-1.5 cm.

Keywords: aggressive features, *BRAF* V600E mutation, papillary thyroid carcinoma, papillary thyroid microcarcinoma.

Classification numbers: 2.6, 3.1

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

104 bệnh nhân được chẩn đoán xác định PTC bằng mô bệnh học và có kết quả xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E tại Trung tâm Y học Hạt nhân và Ung bướu, Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 8/2021 đến tháng 3/2022.

Đối tượng nghiên cứu chia thành 2 nhóm dựa vào kích thước khối u sau phẫu thuật: Nhóm PTMC ($\leq 1,0$ cm) gồm 70 bệnh nhân và nhóm PTC nhỏ (1-1,5 cm) gồm 34 bệnh nhân.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu dữ liệu.

Cờ mẫu và chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện.

Công cụ nghiên cứu và kỹ thuật thu thập thông tin: Các bệnh nhân được thu thập các thông tin bao gồm tuổi, giới, kích thước khối u, tình trạng xâm lấn ngoài tuyến giáp trên đại thể, tình trạng di căn hạch, đặc điểm mô học có nguy cơ cao (tế bào cao, tế bào cột, hobnail, rắn/trabecular, xơ cứng lan toả) và kết quả xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E bằng phương pháp PCR kết hợp lai đầu dò phân tử đặc hiệu (bộ kit *BRAF* 600/601 StripAssay® của Hãng ViennaLab) (xét nghiệm thực hiện tại Đơn vị Gen - Tế bào gốc, Trung tâm Y học Hạt nhân và Ung bướu, Bệnh viện Bạch Mai).

Quy trình xét nghiệm đột biến gen *BRAF* V600E gồm 4 bước: (1) Tách DNA từ mô cố định formalin - vùi paraffin; (2) Khuếch đại đoạn gen mục tiêu bằng phản ứng PCR theo kit *BRAF* 600/601 StripAssay®; (3) Lai sản phẩm khuếch đại với đầu dò đặc hiệu được phân bố trên Test strip theo kit *BRAF* 600/601 StripAssay®; (4) Phân tích kết quả bằng cách so sánh các vạch trên teststrip với thang chuẩn.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm STATA 15.0.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành hồi cứu thông tin bệnh án với sự tuân thủ về mặt y đức. Các thông tin thu thập chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu, không sử dụng cho mục đích khác và hoàn toàn được giữ bí mật, không ảnh hưởng đến sức khỏe và lợi ích của đối tượng nghiên cứu.

3. Kết quả

Trong 70 trường hợp PTMC có 51 trường hợp (72,8%) có đột biến *BRAF* V600E và trong 34 trường hợp PTC kích thước nhỏ, 26 trường hợp có đột biến gen *BRAF* V600E chiếm 76,5%.

Kết quả bảng 1 cho thấy, trong PTMC và PTC 1-1,5 cm, tuổi trung bình của các bệnh nhân mang đột biến gen *BRAF* V600E cao hơn so với các trường hợp không mang gen đột biến. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở nhóm PTC 1-1,5 cm ($p=0,043$). Tỷ lệ mắc ở nữ cao hơn nam trong cả PTMC và PTC 1-1,5 cm, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giới giữa nhóm mang gen đột biến và nhóm không mang gen đột biến.

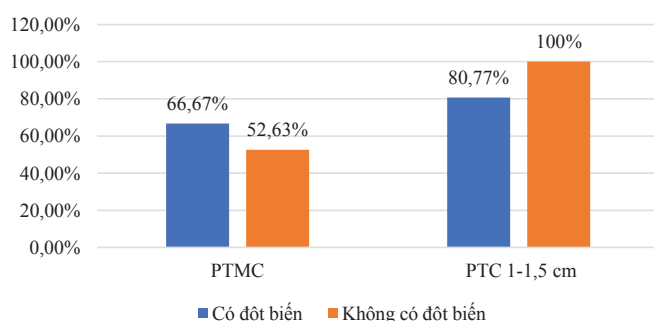
Bảng 1. Đặc điểm tuổi, giới của đối tượng nghiên cứu.

	<i>BRAF</i> V600E	Tuổi trung bình	Nữ/nam
PTMC (n=70)	Có đột biến	50,67	4,10
	Không có đột biến	47,84	3,75
PTC 1-1,5 cm (n=34)	Có đột biến	44,88*	1,67
	Không có đột biến	31,75	2,71

*: giá trị p có ý nghĩa thống kê $<0,05$.

Kết quả biểu đồ 1 cho thấy, không ghi nhận mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và yếu tố tiến triển trong cả 2 nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm ($p=0,309$).

% bệnh nhân có ít nhất 1 đặc điểm tiến triển



Biểu đồ 1. Tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và yếu tố tiến triển ở 2 nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm.

Kết quả bảng 2 cho thấy, trong PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* V600E ($p=0,01$); không nhận thấy có mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và tình trạng di căn hạch ($p=0,313$), biến thể tế bào cao ($p=1,00$), có >1 yếu

Bảng 2. Mối liên quan giữa tình trạng đột biến *BRAF* V600E và các đặc điểm tiến triển trong PTMC và PTC 1-1,5 cm.

Đặc điểm	PTMC		PTC 1-1,5 cm	
	Có đột biến (n=51)	Không có đột biến (n=19)	Có đột biến (n=26)	Không có đột biến (n=8)
Xâm lấn ngoài tuyến giáp	23 (45,10%)*	2 (10,53%)	9 (34,62%)	1 (12,50%)
Di căn hạch	20 (39,22%)	10 (52,63%)	18 (69,23%)	8 (100,00%)
Biến thể tế bào cao	1 (1,96%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	2 (25,00%)
>1 đặc điểm	10 (19,61%)	2 (10,53%)	6 (23,08%)	2 (25,00%)

*: giá trị p có ý nghĩa thống kê $<0,05$.

tổ tiến triển ($p=0,491$). Trong nhóm PTC 1-1,5 cm, không có sự khác biệt giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và đặc điểm xâm lấn ngoài tuyến giáp ($p=0,385$), di căn hạch ($p=0,152$), biến thể tế bào cao ($p=0,05$), có >1 yếu tố tiến triển ($p=1,00$).

4. Bàn luận

Đột biến gen *BRAF* V600E có vai trò như một gen sinh ung thư trong ung thư biểu mô tuyến giáp. Đột biến *BRAF* V600E làm tăng hoạt tính enzyme kinase lên gấp 10 lần và hoạt hóa mạnh con đường tín hiệu MAPK, làm cho tế bào có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn nhiều lần so với dòng tế bào tuyến giáp không mang đột biến. Có thể nói *BRAF* V600E là một mắt xích phân tử quan trọng trong cơ chế phân tử của PTC. Nhiều nghiên cứu được tiến hành ở trong nước và trên thế giới cho thấy, tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E không đồng nhất giữa các quốc gia và vùng lãnh thổ [5, 6]. Các nước phương Tây có nhiều báo cáo chỉ ra tỷ lệ lưu hành đột biến *BRAF* V600E là 35-60% [5]; nghiên cứu của các nhà khoa học trong nước cho thấy tỷ lệ đột biến trong khoảng 46,2-77,6% [6].

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E cao ở nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm lần lượt là 72,8 và 76,5%. Không thấy có sự khác biệt về tỷ lệ đột biến giữa nhóm PTMC và nhóm u kích thước nhỏ. Tuổi trung bình của các trường hợp có đột biến gen cao hơn so với nhóm không có đột biến gen, tuy nhiên khác biệt này chỉ có ý nghĩa thống kê ở nhóm bệnh nhân PTC 1-1,5 cm. Không có sự khác biệt về tỷ lệ nam/nữ giữa 2 nhóm. Kết quả này tương đồng với kết quả của một số nghiên cứu trên thế giới và tại Việt Nam cho thấy không có sự khác biệt về tuổi, giới, kích thước u ở nhóm bệnh nhân có đột biến và nhóm bệnh nhân không có đột biến [4, 6].

Vai trò yếu tố tiên lượng tiến triển của đột biến *BRAF* V600E đã được nghiên cứu rộng rãi trong các nghiên cứu trước đây nhưng đến thời điểm hiện tại, luận điểm này vẫn còn nhiều tranh cãi. Nhiều nghiên cứu đã mô tả mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E với các đặc điểm tiến triển của PTC, bao gồm xâm lấn ngoài tuyến giáp trên đại thể, di căn hạch, giai đoạn muộn và tái phát bệnh [1]. Trong các nghiên cứu trên đối tượng PTMC và PTC 1-1,5 cm cũng ghi nhận thấy mối liên quan giữa tình trạng đột biến và các đặc điểm tiến triển của khối u. Từ đó, các nhà nghiên cứu đề xuất sử dụng xét nghiệm phân tử đánh giá đột biến *BRAF* V600E như một yếu tố độc lập giúp hướng dẫn việc ra quyết định điều trị và xác định PTMC, PTC 1-1,5 cm nhỏ có nguy cơ cao cần can thiệp phẫu thuật hơn là theo dõi lâm sàng [4]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy chưa có mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF* V600E và yếu tố tiên lượng xấu trong PTC [7]. Hiện nay, xét nghiệm phân tử vẫn chưa được đưa vào trong phân tầng nguy cơ và quyết định điều trị ở các bệnh nhân PTC.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích dữ liệu từ 2 nhóm nốt tuyến giáp nhỏ: PTMC ($\leq 1,0$ cm) và PTC 1-1,5 cm dựa theo cách phân nhóm được lựa chọn trong nghiên cứu của J.A. Silver và cs (2021) [4]. Kết quả nghiên cứu chỉ ghi nhận thấy ở nhóm PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến *BRAF* V600E so với nhóm không có đột biến. Chưa thấy có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và các yếu tố: di căn hạch, biến thể tế bào cao ở cả 2 nhóm PTMC và PTC 1-1,5 cm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của I. Sugitani và cs (2021) [8] khi kiểm tra các mẫu bệnh phẩm PTMC được cắt bỏ sau theo dõi tích cực cho thấy tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E không khác biệt đáng kể giữa các nhóm bệnh ổn định, nhóm tăng kích thước khối u và nhóm biểu hiện di căn hạch. Nghiên cứu của C. Yan và cs (2019) [7] trên 2048 bệnh nhân PTC cũng không tìm thấy mối liên quan giữa đột biến *BRAF* V600E và sự xâm lấn ngoài tuyến giáp, di căn xa và tình trạng kháng trị hoặc tái phát. Nghiên cứu của chúng tôi vẫn còn một số hạn chế: tính chất đơn trung tâm, phương pháp chọn mẫu thuận tiện, chưa theo dõi được hiệu quả điều trị. Do đó, cần thêm nhiều nghiên cứu trên nhóm đối tượng PTMC và PTC 1-1,5 cm nhằm đánh giá khả năng sử dụng đột biến gen *BRAF* V600E như một yếu tố tiên lượng trước phẫu thuật cho bệnh nhân u tuyến giáp nhỏ.

5. Kết luận

Tỷ lệ đột biến gen *BRAF* V600E ở nhóm bệnh nhân PTMC và PTC 1-1,5 cm lần lượt là 72,8 và 76,5%. Tuổi trung bình của nhóm có đột biến gen cao hơn so với nhóm không có đột biến gen. Ở bệnh nhân PTMC, tỷ lệ xâm lấn ngoài tuyến giáp cao hơn ở những bệnh nhân có đột biến

BRAF V600E so với nhóm không có đột biến. Không thấy mối liên quan giữa tình trạng đột biến gen *BRAF* V600E và tình trạng di căn hạch, biến thể tế bào cao ở cả 2 nhóm PTMC và PTC 1-1,5 cm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] X. Wei, X. Wang, J. Xiong, et al. (2022), "Risk and prognostic factors for *BRAF*^{V600E} mutations in papillary thyroid carcinoma", *BioMed Res. Int.*, **2022**, DOI: 10.1155/2022/9959649.
- [2] B.R. Haugen, E.K. Alexander, K.C. Bible, et al. (2016), "2015 American thyroid association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer", *Thyroid*, **26**(1), pp.1-133, DOI: 10.1089/thy.2015.0020.
- [3] M. Xing (2005), "BRAF mutation in thyroid cancer", *Endocr. Relat. Cancer*, **12**(2), pp.245-262, DOI: 10.1677/erc.1.0978.
- [4] J.A. Silver, M. Bogatchenko, M. Pusztaszeri, et al. (2021), "BRAF V600E mutation is associated with aggressive features in papillary thyroid carcinomas ≤ 1.5 cm", *Journal of Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, **50**(1), DOI: 10.1186/s40463-021-00543-9.
- [5] The Cancer Genome Atlas Research Network (2014), "Integrated genomic characterisation of papillary thyroid carcinoma", *Cell*, **159**(3), pp.676-690, DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.050.
- [6] M.T. Khoa, P.C. Phuong, N.T. Trung, et al. (2018), "The relationship between the *BRAF*V600E mutation in differentiated thyroid cancer and clinicopathologic factors in Vietnam", *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, **9**(1), pp.6890-6894, DOI: 10.26717/BJSTR.2018.09.001748.
- [7] C. Yan, M. Huang, X. Li, et al. (2019), "Relationship between *BRAF* V600E and clinical features in papillary thyroid carcinoma", *Endocr. Connect.*, **8**(7), pp.988-996, DOI: 10.1530/EC-19-0246.
- [8] I. Sugitani, Y. Ito, D. Takeuchi, et al. (2021), "Indications and strategy for active surveillance of adult low-risk papillary thyroid microcarcinoma: Consensus statements from the Japan Association of Endocrine Surgery task force on management for papillary thyroid microcarcinoma", *Thyroid*, **31**(2), pp.183-192, DOI: 10.1089/thy.2020.0330.

Đánh giá ô nhiễm môi trường từ hoạt động nuôi tôm tại tỉnh Sóc Trăng

Tiền Hải Lý^{1*}, Nguyễn Thị Kiều¹, Nguyễn Thị Thùy Nhi², Phạm Văn Tùng²,
Bùi Như Ý², Huỳnh Long Toàn³, Nguyễn Võ Châu Ngân³

¹Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Bạc Liêu, 178 Võ Thị Sáu, phường 8, TP Bạc Liêu, tỉnh Bạc Liêu, Việt Nam

²Sở Tài nguyên và Môi trường Sóc Trăng, 18 Hùng Vương, phường 6, TP Sóc Trăng, tỉnh Sóc Trăng, Việt Nam

³Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/2/2024; ngày chuyển phản biện 15/2/2024; ngày nhận phản biện 24/2/2024; ngày chấp nhận đăng 1/3/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu nhằm đánh giá mức độ ô nhiễm môi trường từ hoạt động nuôi tôm tại các huyện ven biển tỉnh Sóc Trăng. Tổng cộng 10 hộ nuôi tôm và 50 hộ lân cận được phỏng vấn về tình hình phát thải và các điều kiện vệ sinh môi trường. Ở thời điểm cuối vụ nuôi, mẫu nước trong ao nuôi được thu từ 05 ao bán thâm canh (BTC) và 05 ao thâm canh (TC), mẫu trầm tích thu từ 5 ao BTC để đánh giá mức độ ô nhiễm. Kết quả phỏng vấn ghi nhận nước thải và bùn thải từ nuôi tôm là nguyên nhân chủ yếu làm suy giảm chất lượng nước mặt, giảm số lượng thủy sản trong tự nhiên; mức độ ô nhiễm có chiều hướng gia tăng trong tương lai. Giá trị pH, TSS, BOD₅ và COD của mẫu nước ao phù hợp cho nuôi tôm (ngoại trừ TSS của mẫu nước ở Cù Lao Dung và Long Phú), tổng nitơ trong các chất hữu cơ (TKN) và tổng phốt pho biến động lớn giữa các ao thu mẫu. Hàm lượng các kim loại trong trầm tích thấp hơn ngưỡng giới hạn cho phép của Tiêu chuẩn quốc gia về chất lượng trầm tích. Chất thải rắn (CTR) phát sinh tại các vùng nuôi chưa được quan tâm thu gom và xử lý phù hợp. Để ngành tôm phát triển bền vững, các cơ quan chuyên ngành cần khuyến khích hộ nuôi tôm áp dụng các công nghệ xử lý chất thải bên cạnh các giải pháp quản lý nhà nước.

Từ khóa: nuôi tôm bán thâm canh, nuôi tôm thâm canh, tỉnh Sóc Trăng, tôm thẻ chân trắng.

Chỉ số phân loại: 2.7, 4.5

1. Đặt vấn đề

Sóc Trăng nằm ở cửa nam sông Hậu có điều kiện tự nhiên thuận lợi để canh tác thủy sản ở cả 3 vùng sinh thái nước mặn, lợ, ngọt. Năm 2023, diện tích thả nuôi tôm nước lợ là hơn 53.000 ha, vượt 0,14% cùng kỳ, trong đó 75% diện tích là tôm thẻ chân trắng (TCT). Sản lượng nuôi trồng thủy sản đạt hơn 300.000 tấn, trong đó tôm nước lợ hơn 206.000 tấn [1]. Đặc biệt, diện tích nuôi tôm TC, BTC chiếm gần 95% diện tích thả nuôi tập trung tại các huyện Cù Lao Dung, Mỹ Xuyên, Long Phú, Trần Đề và thị xã Vĩnh Châu. Hoạt động nuôi tôm đem lại nguồn thu nhập cao và thu hút nhiều lao động trực tiếp và gián tiếp. Kim ngạch xuất khẩu tôm nuôi nước lợ của tỉnh đạt 905 triệu USD, chiếm 95,62% kim ngạch xuất khẩu của tỉnh [2].

Những năm gần đây, việc gia tăng diện tích nuôi tôm TC và BTC ở Sóc Trăng đã phát sinh một lượng lớn nước thải và bùn thải chứa thức ăn dư thừa, phân tôm, các hóa chất và thuốc kháng sinh, xác tảo chết, phù sa lắng đọng... Đối với các ao nuôi TC có lót bạt, việc hút bùn đáy ao (còn gọi là xi phông đáy ao) diễn ra trung bình 1-2 lần/ngày; nhưng ở ao đất nuôi BTC, lượng chất thải sẽ lắng xuống đáy ao và được vệ sinh vào cuối vụ nuôi sau khi thu hoạch tôm. Một nghiên cứu ở tỉnh Sóc Trăng đã tính toán để sản xuất 1 tấn tôm TCT cần có 6.644-8.289 m³ nước thải, 27,9-29,9 m³ nước xi phông, 145-179 kg COD, 12,5-16,3 kg P và 57,6-77,5 kg TKN thải vào môi trường qua quá trình thay nước và xi phông [3]. Nghiên cứu mẫu bùn thải ao tôm TCT ở tỉnh Nghệ An ghi nhận giá trị pH trung tính 7,4-7,8, chưa có dấu hiệu ô nhiễm kim loại nặng

của Pb và Cd [4]. Nghiên cứu sự chuyển hóa vật chất hữu cơ trong ao nuôi tôm TCT ở Bạc Liêu ghi nhận tải lượng các thành phần ô nhiễm gia tăng ở những ao nuôi với mật độ cao hơn và ao nuôi có tuổi tôm cao hơn [5]. Thông thường vùng nuôi tôm TCT phát sinh chất thải có tải lượng ô nhiễm cao, tuy nhiên một khảo sát đối với 30 hộ nuôi tôm TCT ở Sóc Trăng chỉ ghi nhận 8/30 hộ xử lý nước ao nuôi trước khi thải ra môi trường và 6/30 hộ cho bùn sau vụ nuôi vào khu chứa bùn để xử lý [6]. Nước thải và bùn thải không chỉ phát sinh từ quá trình vệ sinh và thay nước hàng ngày mà còn tập trung vào cuối vụ nuôi sau khi thu hoạch tôm. Nếu không được thu gom xử lý phù hợp, nguồn thải này đưa ra môi trường sẽ gây ô nhiễm nguồn nước mặt, phân hủy yếm khí trong kênh rạch tạo các khí nhà kính NH₃, H₂S, CH₄... gây tác động xấu đến hệ sinh thái trong khu vực [7].

Nhằm phát triển ngành tôm của địa phương theo hướng bền vững, Ủy ban nhân dân tỉnh Sóc Trăng đã ban hành Công văn số 1345/UBND-KT ngày 12/7/2021 về tăng cường công tác quản lý hộ nuôi, cơ sở, trang trại nuôi tôm nước lợ trên địa bàn tỉnh Sóc Trăng [8]. Đồng thời, Hội đồng nhân dân tỉnh Sóc Trăng (2023) đã ban hành Nghị quyết số 55/NQ-HĐND ngày 6/10/2023 thông qua Đề án Phát triển nuôi tôm nước lợ tỉnh Sóc Trăng giai đoạn 2023-2025, tầm nhìn đến năm 2030 [9]. Những văn bản trên đã thể hiện mối quan tâm của chính quyền đối với việc bảo vệ môi trường vùng nuôi tôm và phát triển bền vững ngành tôm. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát và đánh giá tổng quan hiện trạng ô nhiễm môi trường tại các vùng nuôi tôm, định hướng cho việc triển

*Tác giả liên hệ: Email: thly@blu.edu.vn

Assessing environmental pollution from shrimp farming activities in Soc Trang province

Hai Ly Tien^{1*}, Thi Kieu Nguyen¹, Thi Thuy Nhi Nguyen²,
Van Tung Pham², Nhu Y Bui², Long Toan Huynh³,
Vo Chau Ngan Nguyen³

¹College of Agriculture, Bac Lieu University,

178 Vo Thi Sau Street, Ward 8, Bac Lieu City, Bac Lieu Province, Vietnam

²Soc Trang Department of Natural Resources and Environment,

18 Hung Vuong Street, Ward 6, Soc Trang City, Soc Trang Province, Vietnam

³College of Natural Resources and Environment, Can Tho University,

3/2 Street, Xuan Khanh Ward, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

Received 10 February 2024; revised 24 February 2024; accepted 1 March 2024

Abstract:

The study aimed to evaluate the level of environmental pollution from shrimp farming in coastal areas of Soc Trang province. A total of 10 shrimp farming households and 50 neighbouring households were interviewed about emissions and environmental sanitation conditions. At the end of the shrimp season, pond water samples were collected from 5 semi-intensive ponds and 5 intensive ponds, bottom sediment samples were collected from 5 semi-intensive ponds to evaluate the level of pollution. Interview results indicated that wastewater and bottom sediment from shrimp farming are the main causes of declining surface water quality and reducing the number of wild fish; pollution levels are likely to increase in the future. The pH, total suspended solid (TSS), BOD₅, and chemical oxygen demand (COD) values of pond water samples are suitable for shrimp farming (except TSS of water samples in Cu Lao Dung and Long Phu); total Kjeldahl nitrogen (TKN) and total phosphorus (TP) contents fluctuate widely between sampling ponds. The metal content in the bottom sediment is lower than the allowable discharge threshold of sediment quality standards. Solid waste generated in farming areas has not been properly collected and treated. To sustainably develop the shrimp industry, local authorities need to encourage shrimp farmers to apply proper waste treatment technologies in addition to state management solutions.

Keywords: intensive shrimp farming, semi-intensive shrimp farming, Soc Trang province, white leg shrimp.

Classification numbers: 2.7, 4.5

khai các giải pháp bảo vệ môi trường vùng nuôi, nâng cao giá trị thương hiệu ngành tôm của tỉnh Sóc Trăng.

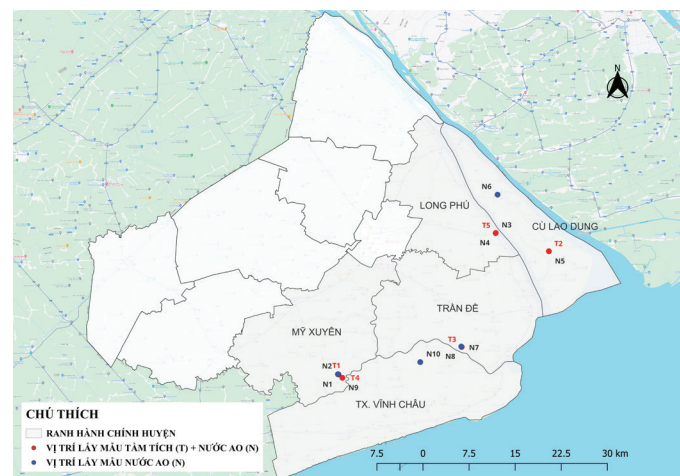
2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phạm vi, thời gian thực hiện

Nghiên cứu thực hiện trên 2 loại ao nuôi tôm tại các huyện Mỹ Xuyên, Cù Lao Dung, Long Phú, Trần Đề và thị xã Vĩnh Châu - những địa phương dẫn đầu về hoạt động nuôi tôm của tỉnh Sóc Trăng (bảng 1, hình 1). Tại mỗi huyện thị chọn đại diện 1 hộ nuôi ao TC và 1 hộ nuôi ao BTC để thu mẫu nước ao và mẫu trầm tích.

Bảng 1. Vị trí các ao nuôi thu mẫu nước ao và mẫu trầm tích.

Thứ tự	Tọa độ		Huyện	Loại ao	Ký hiệu mẫu nước	Ký hiệu mẫu trầm tích
	X	Y				
1	105.9172565	9.4005514	Mỹ Xuyên	Ao BTC	N1	T1
2	105.9163812	9.4009736		Ao TC	N2	-
3	106.1498946	9.6100332	Long Phú	Ao TC	N3	-
4	106.1500545	9.6102511		Ao BTC	N4	T5
5	106.2287434	9.5831526	Cù Lao Dung	Ao BTC	N5	T2
6	106.1527312	9.6669451	Trần Đề	Ao TC	N6	-
7	106.0996236	9.4413272		Ao BTC	N7	T3
8	106.0989857	9.4419157	Vĩnh Châu	Ao TC	N8	-
9	105.9230725	9.3955981		Ao BTC	N9	T4
10	106.0382897	9.4188725		Ao TC	N10	-



Hình 1. Bản đồ vị trí các ao nuôi tôm thu mẫu.

- Ao nuôi tôm TC: Những ao nuôi được lót bạt xung quanh thành vách ao và đáy ao, mật độ thả nuôi cao từ 120 đến 140 con/m².

- Ao nuôi tôm BTC: Những ao nuôi hoàn toàn không lót bạt (ao đất) hoặc chỉ lót bạt xung quanh thành vách ao, riêng đáy ao vẫn là nền đất; mật độ thả nuôi 60-80 con/m².

Thời gian thực hiện: tháng 4-6 năm 2022.

2.2. Phương pháp thực hiện

Trong khuôn khổ nghiên cứu này, bên cạnh kế thừa các dữ liệu, thông tin từ những nghiên cứu, các báo cáo trước đây, các phương pháp sau được triển khai:

- Phương pháp khảo sát thực địa và phỏng vấn:

+ Khảo sát thực tế về công tác quản lý môi trường trong thu gom, quản lý và xử lý nước thải, bùn thải, CTR và tình hình dịch bệnh tại các ao nuôi tôm.

+ Soạn 2 bảng câu hỏi phỏng vấn (i) hộ dân nuôi tôm và (ii) người dân lân cận về các tác động đến môi trường từ hoạt động nuôi tôm; ảnh hưởng của nuôi tôm đến đời sống của người dân tại địa phương. Phỏng vấn thứ 2 hộ nuôi tôm và 6 hộ lân cận để kiểm tra bảng hỏi vào ngày 25/4/2022. Thực hiện những hiệu

chính, cập nhật cần thiết cho bảng hỏi. Sau đó tiến hành phỏng vấn chính thức trong hai ngày 10-11/6/2022: Phỏng vấn 10 hộ dân có ao nuôi lấy mẫu quan trắc (5 hộ nuôi ao TC và 5 hộ nuôi ao BTC) về việc phát sinh nước thải, bùn thải, cách quản lý và xử lý các nguồn thải; phỏng vấn 50 hộ dân sinh sống gần 10 hộ lấy mẫu về các ảnh hưởng từ việc nuôi tôm đến tải lượng và chất lượng nguồn nước mặt; công tác quản lý từ chính quyền địa phương trong việc hạn chế các nguồn xả thải chưa xử lý.

- Phương pháp thu thập và phân tích mẫu: thu thập mẫu nước ao và mẫu trầm tích từ ao tôm, bảo quản và vận chuyển về phòng thí nghiệm phân tích tuân thủ các tiêu chuẩn kỹ thuật hiện hành.

+ Mẫu nước ao: Được thu từ 10 ao (5 ao BTC + 5 ao TC) tuân thủ theo TCVN 6663-4:2020 [10]; quá trình lưu giữ vận chuyển về phòng thí nghiệm tuân theo TCVN 6663-3:2016 [11].

+ Mẫu trầm tích: Được thu từ 5 ao BTC (trùng với 5 ao BTC thu nước thải) tuân thủ TCVN 6663-13:2015 [12]; việc lưu giữ vận chuyển về phòng thí nghiệm tuân thủ theo TCVN 6663-15:2004 [13]. Đối với 5 ao nuôi TC không thu mẫu trầm tích vì những ao này đã lót bạt xung quanh và đáy ao, không phát sinh trầm tích trong quá trình nuôi.

Thời gian thu mẫu được thực hiện vào cuối vụ (ngày 76-88) do đây là thời điểm tích lũy tải lượng ô nhiễm cao nhất [5]. Chỉ tiêu phân tích gồm: mẫu nước ao gồm pH, TSS, BOD₅, COD, TKN, tổng photpho (TP); mẫu trầm tích gồm nitơ tổng (Nt), photpho tổng (Pt), kim loại nặng Cu, Zn, Cd, Pb.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu phân tích mẫu được tính toán giá trị trung bình theo từng nhóm nước ao và trầm tích, so sánh đánh giá chất lượng nước ao và trầm tích giữa các loại ao nuôi trong cùng một đợt lấy mẫu. Các thông số chất lượng của mẫu nước ao so sánh với QCVN 02-19:2014/BNNPTNT [14]. Kết quả phân tích các mẫu trầm tích so sánh với QCVN 43:2017/BTNMT [15].

Số liệu phỏng vấn hộ dân được nhập liệu, xử lý, phân tích và đánh giá hiện trạng ô nhiễm môi trường vùng nuôi tôm.

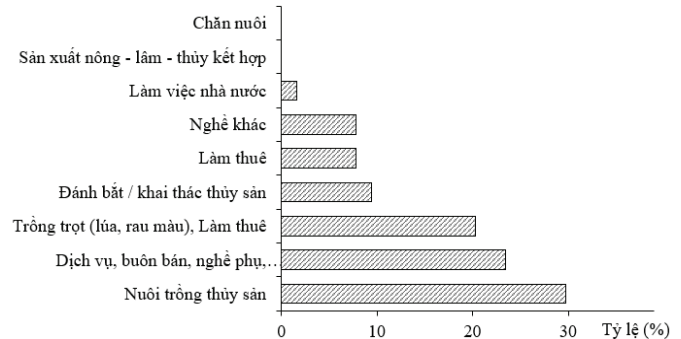
Trong nghiên cứu này, phần mềm Microsoft Excel 2021 được sử dụng để tổng hợp và xử lý các số liệu như trình bày ở trên.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Thông tin về hộ dân phỏng vấn

Các hộ dân được phỏng vấn đa dạng về ngành nghề sinh kế. Số hộ dân tham gia nuôi trồng thủy sản (29,7%) phân bố nhiều tại khu vực huyện Mỹ Xuyên, thị xã Vĩnh Châu, trong khi đó nghề đánh bắt, khai thác thủy

sản (9,4%) lại chiếm đa số ở huyện Trần Đề. Các loại hình canh tác nông nghiệp (20,3%) như trồng lúa, hoa màu tập trung chủ yếu tại huyện Long Phú, trồng mía và cây ăn trái là loại hình đặc trưng tại huyện Cù Lao Dung (hình 2).



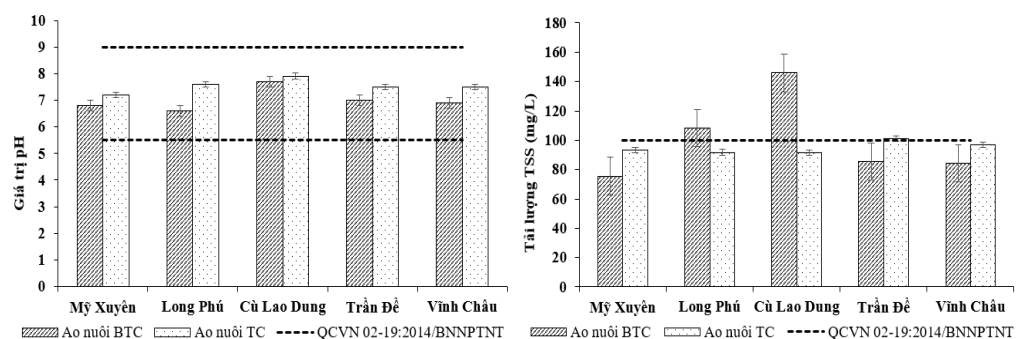
Hình 2. Các loại hình sinh kế chính của người dân.

3.2. Chất lượng nước

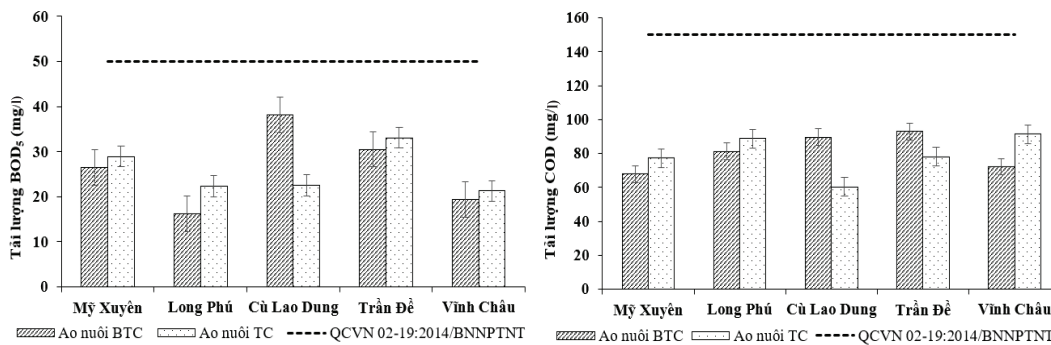
Chất lượng nguồn nước mặt hiện tại được đa số những người dân tham gia phỏng vấn (chiếm 51%) đánh giá kém hơn các năm trước phù hợp với thực tế tình hình mở rộng diện tích nuôi tôm trên địa bàn, cùng với lượng nước thải từ ao nuôi gia tăng làm ô nhiễm nguồn nước, kể đó là các hoạt động sinh hoạt xả thải trực tiếp ra kênh rạch (chiếm 19%). Một số hộ dân cho rằng, chất lượng nước không thay đổi (chiếm 24%) là do họ không trực tiếp sử dụng nguồn nước mặt cho các hoạt động sản xuất hoặc đang sinh sống gần các sông lớn, có điều kiện tiếp cận nguồn nước dồi dào. Có 6% các hộ dân cho rằng, nguồn nước mặt được cải thiện tại một số khu vực ở huyện Long Phú, Cù Lao Dung. Tuy nhiên, nguyên nhân của sự thay đổi tích cực này là do việc nâng cấp hệ thống công trình thủy lợi trong khu vực (xây dựng các hệ thống cống và đê bao).

pH: giá trị pH tại các ao nuôi TC từ 6,6 đến 7,7 thấp hơn ao nuôi BTC từ 7,2 đến 7,9 (hình 3). Ngưỡng pH này phù hợp với ghi nhận pH $7,6 \pm 0,8$ [3]; nhưng khá thấp so với báo cáo pH $8,1 \pm 0,2$ (buổi sáng) và $8,6 \pm 0,1$ (buổi chiều) [5]. Giá trị pH ở cả 2 loại ao nuôi đều nằm trong giới hạn cho phép của QCVN 02-19:2014/BNNPTNT, tuy nhiên biến động pH trong các ao TC thấp hơn ao BTC cho thấy chất lượng nước trong ao nuôi TC ổn định hơn.

TSS: giá trị TSS ở mẫu nước ao bạt (91,3-101,2 mg/l) ít biến động và đạt giới hạn yêu cầu của QCVN 02-19:2014/BNNPTNT đối với nước nuôi tôm trừ mẫu nước ao ở Trần Đề vượt 1,01 lần



Hình 3. Giá trị pH và TSS trong nước ao nuôi.

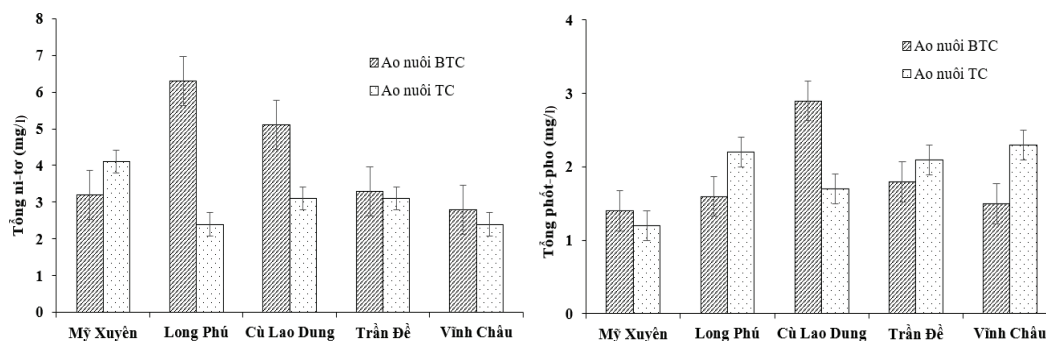


Hình 4. Hàm lượng BOD₅ và COD trong nước ao nuôi.

(hình 3). Đối với ao đất, hàm lượng TSS biến động lớn (75,5-145,9 mg/l) và vượt quy chuẩn cho phép về nước ao nuôi ở Cù Lao Dung (1,46 lần), Long Phú (1,08 lần). Mặc dù ao nuôi BTC có mật độ thấp, lượng thức ăn cung cấp và chất thải tôm thấp hơn ao bạt, tuy nhiên hàm lượng TSS tại ao nuôi ở Long Phú và Cù Lao Dung lại cao hơn so với ao lót bạt ở cùng địa bàn chứng tỏ quá trình nuôi tôm sẽ có những chất rắn từ bờ đất và nền đáy ao đưa vào. Người nuôi cần chú ý xi phông thường xuyên để vệ sinh ao, tạo môi trường nước sạch và phù hợp cho tôm phát triển.

Chất hữu cơ: Chất lượng nước ao có hàm lượng BOD₅ biến động nhiều hơn COD, đặc biệt ở ao nuôi BTC với 16,2-38,1 mg BOD₅/l và 67,8-92,9 mg COD/l, trong khi ở ao nuôi TC thấp hơn 21,3-33,1 mg BOD₅/l và 60,4-91,5 mg COD/l (hình 4). Hàm lượng hữu cơ của nước trong hầu hết ao TC đều cao hơn ao BTC, trừ các ao nuôi huyện Cù Lao Dung và Trần Đề. Hàm lượng hữu cơ nằm trong ngưỡng cho phép của QCVN 02-19:2014/BNNPTNT cho thấy, người nuôi đã cơ bản áp dụng các kỹ thuật vệ sinh ao như xi phông đáy, sử dụng men vi sinh hỗ trợ xử lý nước trong quá trình nuôi. Khảo sát ở ao nuôi tôm TCT có lót bạt quanh bờ ao nhưng không lót đáy ghi nhận hàm lượng COD là 12,9±6,0 mg/l (nuôi mật độ thấp) và 11,7±6,7 mg/l (nuôi mật độ cao) [3] thấp hơn nhiều so với kết quả của ao nuôi TC trong nghiên cứu này.

TKN, TP: Tồn tại trong nước ao đa phần là do thức ăn tồn dư, tích lũy từ quá trình đào thải của tôm và quá trình phân hủy xác tôm, vỏ tôm trong giai đoạn sinh trưởng và phát triển... Hàm lượng TKN và TP trong các ao nuôi biến động lớn, đặc biệt ở ao BTC với 2,8-6,3 mg TKN/l và 1,4-2,9 mg TP/l, trong khi ở ao TC thấp hơn đạt 2,4-4,1 mg TKN/l và 1,2-2,3 mg TP/l (hình 5). Các ao



Hình 5. Hàm lượng TKN và TP trong nước ao nuôi.

BTC ở huyện Long Phú và Cù Lao Dung ghi nhận hàm lượng TKN và TP cao nhất do đây là khu vực mới phát triển nuôi tôm, người dân chưa có nhiều kinh nghiệm trong kỹ thuật nuôi, trong kiểm soát chất lượng nước ao nuôi. Hàm lượng vô cơ ghi nhận tại ao nuôi chỉ lót bạt bờ ao là 4,0-5,9 mg TKN/l và 0,8-1,2 mg TP/l [3]; ao TC là 2,19-6,78

mg TKN/l và 0,29-0,78 mg TP/l [5] tương đồng với giá trị TKN, nhưng thấp hơn giá trị TP của nghiên cứu này.

Có 59,3% số hộ phỏng vấn đồng ý nước thải từ nuôi tôm ảnh hưởng đến nguồn nước, làm giảm số lượng các loài cá tự nhiên trong kênh rạch. Đặc biệt, tại huyện Mỹ Xuyên, nguồn thải này ảnh hưởng đến một số hộ dân nuôi tôm quảng canh do họ sử dụng trực tiếp nguồn nước mặt cho nuôi tôm, và dễ hạn chế ảnh hưởng người dân phải bơm trữ nước trong ao lắng trước khi đưa vào ao nuôi. Những khu vực được người dân đánh giá nước thải từ ao tôm không ảnh hưởng tập trung ở huyện Trần Đề là nơi các hộ dân có thu nhập chủ yếu từ kinh doanh buôn bán; một số hộ dân tại thị xã Vĩnh Châu cho biết, các hộ nuôi tôm có ao chứa nước thải trước khi đưa ra kênh rạch nên ít ảnh hưởng đến chất lượng môi trường. Cũng có một số ít hộ dân cho rằng lượng nước thải của các ao nuôi rất nhỏ so với lượng nước sông nên không gây ảnh hưởng nhiều đến môi trường. Tại huyện Long Phú có hệ thống đê bao ngăn cách giữa vùng nuôi tôm và canh tác nông nghiệp nên người dân canh tác nông nghiệp không bị ảnh hưởng bởi nguồn nước tiếp nhận nước thải từ nuôi tôm.

3.3. Ô nhiễm chất thải rắn

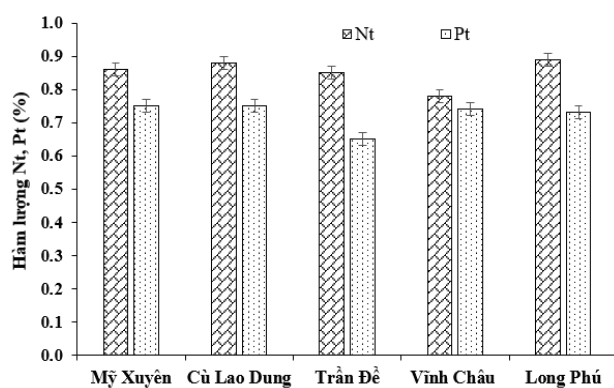
CTR phát sinh từ vùng nuôi gồm CTR sinh hoạt của công nhân và CTR từ hoạt động sản xuất. CTR từ sinh hoạt gồm thực phẩm, giấy, bịch nilon, nhựa... trong khi CTR từ sản xuất gồm bùn đáy ao, phụ tùng thay thế từ quá trình sửa chữa, bảo trì hệ thống cung cấp oxy (giàn quạt, cánh quạt hư), bao bì đựng thức ăn... Có 71,1%

hộ dân phỏng vấn phản hồi CTR phát sinh ít ảnh hưởng đến môi trường. Khảo sát tại thị xã Vĩnh Châu và huyện Trần Đề ghi nhận CTR được thu gom và bán cho các cơ sở thu mua nên ít gây ảnh hưởng đến môi trường xung quanh. Một số khu vực có ý kiến bị ảnh hưởng chủ yếu do chưa có tuyến thu gom CTR tại nhà

như khu vực An Thạnh 3, huyện Cù Lao Dung và Hòa Tú 2, huyện Mỹ Xuyên. Khối lượng CTR phát sinh từ các cơ sở nuôi tôm phụ thuộc vào hình thức nuôi (TC, BTC), loại tôm nuôi (tôm sú, TCT), mức độ ứng dụng khoa học và công nghệ... Thông thường nuôi tôm theo hình thức BTC phát sinh lượng CTR thấp hơn nuôi TC do có mật độ nuôi thấp, lượng thức ăn cung cấp ít hơn. Bên cạnh đó, quá trình nuôi tôm còn phát sinh lượng chất thải nguy hại, bao gồm bao bì đựng hóa chất - chất kháng sinh các loại, dầu nhớt cặn, bóng đèn huỳnh quang hư, giẻ lau dính dầu thải... cũng cần được quan tâm thu gom và xử lý đúng theo quy định.

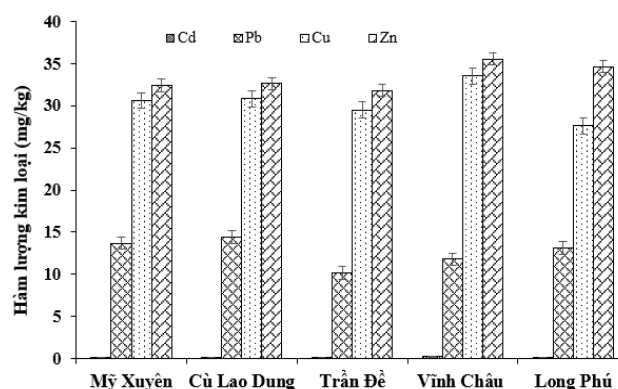
Lượng CTR phát sinh từ quá trình sản xuất đáng quan tâm nhất là bùn thải ao nuôi nếu không thu gom và xử lý phù hợp khi thải vào môi trường sẽ gây sức ép không nhỏ đối với môi trường nước và đất xung quanh các vùng nuôi. Bùn phát sinh từ ao nuôi bao gồm lượng bùn xi phông hàng ngày từ các ao TC, và bùn thải cuối vụ từ ao nuôi BTC. Việc thải bùn trực tiếp ra môi trường cũng gây nhiều tác động đến người dân xung quanh như làm tăng độ đục của nước, bồi lắng một số kênh cấp nước nội đồng gây khó khăn trong vận chuyển đường thủy và cấp nước. Bên cạnh đó, các thành phần hữu cơ sẽ phân hủy yếm khí trong nước tạo ra các khí thải CH_4 , NH_3 , H_2S ... là các khí nhà kính, đồng thời gây độc cho các loài thủy sản. Nghiên cứu về quản lý ao tôm ở Sóc Trăng ghi nhận chỉ có 26,7% hộ dân có dành đất làm khu chứa bùn để xử lý [6]. Việc cải tạo các tuyến kênh cấp và kênh thoát nước ở những vùng nuôi tôm theo phản hồi của người dân là khá thường xuyên, thông thường khoảng 1-2 năm sẽ nạo vét một lần (chiếm 67%).

Trầm tích ở đáy ao nuôi BTC gồm có bùn nhão từ lớp đất nền tự nhiên, các chất cặn lắng, lượng chất hữu cơ do thức ăn dư thừa bị phân hủy, phân tôm, dư lượng khoáng chất bổ sung nuôi tôm và hóa chất xử lý nước. Trong nghiên cứu này, kết quả phân tích mẫu trầm tích ghi nhận giá trị Nt dao động từ 0,78 đến 0,89% và Pt từ 0,65 đến 0,75% (hình 6). Kết quả này cao hơn nghiên cứu trên mẫu bùn thải ao nuôi tôm ở Nghệ An có hàm lượng Nt đạt mức trung bình từ 0,58 đến 0,79% [4], và mẫu bùn thải của ao tôm ở Bến Tre có Nt đạt 0,13% [16].



Hình 6. Hàm lượng Nt và Pt trong mẫu trầm tích ao bán thâm canh.

Hàm lượng kim loại trong mẫu trầm tích khá thấp, Zn có giá trị quan sát lớn nhất từ 31,8 đến 35,5 mg/kg, tiếp theo là Cu từ 27,6 đến 33,5 mg/kg, Pb từ 10,2 đến 14,4 mg/kg, thấp nhất là Cd với 0,13 đến 0,23 mg/kg (hình 7). Kết quả của nghiên cứu này thấp hơn giá trị 26,8-39,1 mg Pb/kg và 0,29-0,96 mg Cd/kg của trầm tích ao nuôi tôm ở tỉnh Nghệ An [4]; tuy nhiên cao hơn nhiều so với kết quả 0,09 mg Cu/kg, 0,07 mg Zn/kg ghi nhận ở ao nuôi tôm của Bến Tre [16]. Sự khác biệt về hàm lượng kim loại trong trầm tích đáy ao là do sự khác biệt về các loại hóa chất, khoáng chất, thuốc kháng sinh sử dụng trong canh tác, loại thức ăn, về khu vực địa lý của vùng thu mẫu...



Hình 7. Hàm lượng kim loại nặng trong mẫu trầm tích ao bán thâm canh.

Giá trị các kim loại ghi nhận đều nằm trong giới hạn cho phép của QCVN 43:2017/ BTNMT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng trầm tích (Cu 108 mg/kg, Pb 112 mg/kg, Zn 271 mg/kg, Cd 4,2 mg/kg). Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng kim loại nặng được kiểm soát tốt trong ao nuôi, tuy nhiên không được chủ quan mà cần bơm rút định kỳ, xử lý nhanh chóng sau mỗi vụ, dành thời gian để đất hồi phục, tránh để lượng chất ô nhiễm này tích tụ sâu vào đất gây thoái hóa chất lượng đất và ảnh hưởng đến chất lượng nước cũng như năng suất tôm.

3.4. Vấn đề sinh kế và quản lý

Số hộ cho rằng vùng nuôi tôm lân cận ảnh hưởng trực tiếp đến sinh kế của gia đình mình chiếm 17%, trong đó 6% hộ bị ảnh hưởng đến sản lượng trồng trọt do độ mặn trong đất gia tăng làm giảm năng suất cây trồng, 5% hộ dân NTTS bị ảnh hưởng đến năng suất do dịch bệnh, 4% hộ dân đánh bắt và khai thác thủy sản tự nhiên bị ảnh hưởng do nguồn lợi thủy sản trong kênh rạch giảm sút, 2% hộ còn lại là những hộ kinh doanh dịch vụ bị ảnh hưởng liên đới.

Tuy nhiên, các hộ dân lân cận vùng nuôi tôm đều có nhận định việc nuôi tôm trong thời gian tới sẽ ảnh hưởng nhiều đến môi trường, cụ thể nguồn nước mặt 39,8%, môi trường đất 26,1%. Tại huyện Mỹ Xuyên và thị xã Vĩnh Châu, các hộ dân nuôi tôm quảng canh và đánh bắt thủy hải sản cho rằng, trong thời gian tới sẽ có dịch bệnh xảy ra trên diện rộng và số lần xảy ra dịch bệnh sẽ nhiều hơn do ô nhiễm môi trường. Có 44,4% hộ dân cho biết tại địa phương có các quy định về xử lý chất thải từ ao nuôi, tuy nhiên việc quản lý và xử phạt chưa thực hiện thường xuyên.

Có 58,5% hộ dân được phỏng vấn đề nghị nên để cho cơ quan nhà nước phụ trách tài nguyên và môi trường trực tiếp quản lý và nên có quy định xử phạt đối với các hành vi xả thải chất thải chưa xử lý ra môi trường. Số khác cho rằng các hộ dân và doanh nghiệp nuôi tôm phải tự có trách nhiệm và quản lý các nguồn thải, trong đó 12% người dân mong muốn việc quản lý môi trường ao nuôi cần sự kết hợp giữa cơ quan chuyên trách, hộ dân/doanh nghiệp nuôi tôm và cả người dân địa phương, đảm bảo quyền lợi của các bên liên quan.

4. Kết luận

Trong những năm qua, tỉnh Sóc Trăng ghi nhận bước phát triển vượt bậc trong sản xuất sản phẩm tôm. Tuy nhiên, nước thải và bùn thải từ nuôi tôm đang ảnh hưởng tiêu cực đến chất lượng nguồn nước tại các vùng nuôi. Hầu hết người dân được phỏng vấn cho rằng, nước thải từ ao nuôi tôm là nguyên nhân chủ yếu làm ô nhiễm chất lượng nguồn nước mặt, giảm số lượng các loài cá tự nhiên trong kênh rạch. CTR, đặc biệt bùn thải phát sinh cuối vụ nuôi cần được quan tâm xử lý tránh gây bồi lắng. Mức độ ô nhiễm từ hoạt động nuôi tôm có xu hướng tăng trong thời gian tới.

Giá trị pH, tải lượng BOD₅ và COD của các mẫu nước ao nuôi đều nằm trong ngưỡng giới hạn của quy chuẩn QCVN 02-19:2014/BNNPTNT. Tuy nhiên, lượng TSS trong nước ao nuôi BTC của huyện Cù Lao Dung và Long Phú vượt giới hạn cho phép. Các thông số ô nhiễm của nước ao nuôi BTC có xu hướng cao hơn nước ao nuôi TC, tuy nhiên không có sự khác biệt có ý nghĩa.

Đối với mẫu trầm tích, hàm lượng Nt và Pt ghi nhận 0,78-0,89% và 0,65-0,75% cao hơn một số nghiên cứu trước đây. Kim loại nặng tích tụ trong các mẫu trầm tích ở mức 33,4±1,6 mg Zn/kg, 30,4±2,2 mg Cu/kg, 12,6±1,7 mg Pb/kg và 0,16±0,04 mg Cd/kg đều thấp hơn ngưỡng giá trị giới hạn của QCVN 43:2017/BTNMT.

Để ngành tôm phát triển bền vững, bên cạnh các giải pháp quản lý nhà nước như cải thiện môi trường đầu tư nuôi tôm; quy hoạch các vùng nuôi chuyên canh; tăng cường quản lý vùng nuôi; tăng cường thanh tra, kiểm tra, xử lý các vi phạm trong hoạt động nuôi tôm..., các cơ quan địa phương cần hỗ trợ nghiên cứu ứng dụng tiến bộ khoa học kỹ thuật bao gồm các công nghệ nuôi mới, các kỹ thuật xử lý nước và bùn thải phù hợp với từng loại hình nuôi tôm.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ nhiệm vụ “Xây dựng sổ tay Hướng dẫn chi tiết các quy định về bảo vệ môi trường đối với hoạt động nuôi trồng thủy sản trên địa bàn tỉnh Sóc Trăng (lĩnh vực nuôi tôm)” do Sở Tài nguyên và Môi trường tỉnh Sóc Trăng chủ trì. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Soc Trang's Department of Agriculture and Rural Development (2023), *Reporting Agricultural Production Results in 2023 and Mission Directions for 2024*, Official Dispatch No. 636/BC-SNN, Date 29 December 2023, Soc Trang Provincial People's Committee (in Vietnamese).

[2] N. Phong (2024), *Soc Trang Reduced More Than 3,500 Hectares of Brackish Water Shrimp Farming*, <https://nhandan.vn/soc-trang-giam-hon-3500ha-nuoi-tom-nuoc-lo-post797384.html#:~:text=NDO%20%2D%20Ng%C3%A0y%2024%2F2%2C,%C4%91%E1%BB%8Ba%20b%C3%A0n%20t%E1%BB%89nh%20S%C3%B3c%20Tr%C4%83ng,accessed 1 February 2024> (in Vietnamese).

[3] N.T.D. Trang, T.D. Duy, T.P. Toan, et al. (2022), “Evaluation of water quality and discharge from intensive white-legged shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming ponds in Soc Trang province”, *Journal of Science of Can Tho University*, **58(1B)**, pp.213-225, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2022.024 (in Vietnamese).

[4] D.T.C Van, V.D. Duy (2019), “Study on composition, characteristics of waste sludge from Nghe An shrimp raising-pond and evaluation of sludge quality for compost production”, *Journal of Science and Technology*, **53**, pp.90-95 (in Vietnamese).

[5] N.T.B. Van (2020), *Research on Organic Matter Metabolism in Intensive White Shrimp Litopenaeus Vannamei (Boone, 1931) Ponds*, Doctoral Thesis in Agricultural Sciences, University of Agriculture and Forestry of Ho Chi Minh City (in Vietnamese).

[6] L.T.T Truc, N.T.B. Ly, D.T.T Ai, et al. (2018), “Current status of wastes management and treatments in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) intensive aquaculture in Soc Trang, Bac Lieu and Ca Mau”, *Journal of Science of Can Tho University*, **54(1B)**, pp.82-91, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2018.012 (in Vietnamese).

[7] Soc Trang's Department of Resources and Environment (2022), *Report on The Current State of The Environment in Soc Trang Province for The Period 2016-2020* (in Vietnamese).

[8] Soc Trang Provincial People's Committee (2021), *Strengthening The Management of Brackish Water Shrimp Farming Households, Establishments and Farms in Soc Trang Province*, Official Dispatch No. 1345/UBND-KT, Date 12 July 2021 (in Vietnamese).

[9] Soc Trang Provincial People's Council (2023), *Approving The Project to Develop Brackish Water Shrimp Farming in Soc Trang Province for The Period 2023-2025, Vision to 2030*, Resolution No. 55/NQ-HDND, Date 6 October 2023 (in Vietnamese).

[10] Ministry of Natural Resources and Environment (2020), *National Standard of TCVN 6663-4:2020 Water Quality - Sampling - Part 4: Guidance on Sampling from Lakes, Natural and Man-Made*, Decision No. 3936/QĐ-BKHCHN, Date 31 December 2020 (in Vietnamese).

[11] Ministry of Science and Technology (2016), *National Standard of TCVN 6663-3:2016 Water Quality - Sampling - Part 3: Preservation and Handling of Water Samples*, Decision No. 4248/QĐ-BKHCHN, Date 30 December 2016 (in Vietnamese).

[12] Ministry of Science and Technology (2015), *National Standard of TCVN 6663-13:2015 Water Quality - Sampling - Part 13: Guidance on Sampling of Sludges*, Decision No. 247/QĐ-BKHCHN, Date 2 May 2015 (in Vietnamese).

[13] Ministry of Science and Technology (2008), *National Standard of TCVN 6663-15:2004 Water Quality - Sampling - Part 15: Guidance on Preservation and Handling of Sludge and Sediment Samples*, Decision No. 2733/QĐ-BKHCHN, Date 9 December 2008 (in Vietnamese).

[14] Ministry of Agriculture and Rural Development (2014), *National Technical Regulations on Brackish Water Shrimp Farming Facilities - Conditions to Ensure Veterinary Hygiene and Safety Environmental Protection and Food Safety QCVN 02-19:2014/BNNPTNT*, Circular No. 22/2014/TT-BNNPTNT, Date 29 July 2014 (in Vietnamese).

[15] Ministry of Natural Resources and Environment (2017), *National Technical Regulations on Sediment Quality QCVN 43:2017/BTNMT*, Circular No. 78/2017/TT-BTNMT, Date 29 December 2017 (in Vietnamese).

[16] L.D. Trung, N.V. Huy, T.M. Bao, et al. (2022), “Treatment of shrimp pond bottom sludge in Binh Dai district, Ben Tre province towards reuse as raw materials for organic fertilizer production”, *Science & Technology Development Journal - Science of The Earth & Environment*, **6(1)**, pp.587-594, DOI: 10.32508/stdjsec.v6i1.669 (in Vietnamese).

Thử nghiệm đánh giá an toàn và tác dụng của sản phẩm bào tử lợi khuẩn *Bacillus* trên trẻ em tiêu chảy kéo dài

Đặng Thuý Hà^{1*}, Trần Minh Điền¹, Phùng Thị Bích Thuý¹, Nguyễn Thị Việt Hà¹, Bùi Thị Phương Anh², Vũ Hải Yến¹, Lương Thị Minh¹, Nguyễn Thị Thu Trang¹, Phạm Thị Thanh Nga¹, Nguyễn Thị Ngọc Hồng¹, Lê Thị Hương¹, Nguyễn Văn Ngoan¹, Nguyễn Minh Hằng¹, Trịnh Thị Hương¹, Bùi Thị Huyền², Võ Thị Ngọc Hảo², Nguyễn Thị Vân Anh², Nguyễn Hoà Anh^{2,3}

¹Bệnh viện Nhi Trung ương, 8/879 La Thành, phường Láng Thượng, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Công ty TNHH ANABIO R&D, 22 Lô 7+8 Khu đô thị Văn Khê, phường La Khê, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

³Công ty TNHH LiveSpo Pharma, N03 T5 Ngoại Giao Đoàn, phường Xuân Tảo, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 7/9/2023; ngày chuyển phản biện 10/9/2023; ngày nhận phản biện 25/9/2023; ngày chấp nhận đăng 29/9/2023

Tóm tắt:

Tiêu chảy kéo dài (TCKD) ở trẻ dưới 24 tháng tuổi cho đến nay vẫn đang là một vấn đề sức khỏe cộng đồng toàn cầu, trong đó có Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành một thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, mù đôi, có đối chứng, để đánh giá hiệu quả của 2 loại probiotic dạng bào tử lợi khuẩn *Bacillus*, gồm LiveSpo CLAUSY chứa *B. clausii* 2 tỷ CFU/ống 5 ml; LiveSpo DIA30 chứa *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* 5 tỷ CFU/ ống 5 ml, trong hỗ trợ điều trị cho trẻ em bị TCKD. Trẻ được phân nhóm ngẫu nhiên vào nhóm chứng (sử dụng nước RO) và 2 nhóm thử nghiệm là Clausy (sử dụng LiveSpo CLAUSY) và Dia30 (sử dụng LiveSpo DIA30), n=30/nhóm. Cả 3 nhóm đều được điều trị theo phác đồ thường quy tại bệnh viện bổ sung giả dược hay probiotic ở liều cao lên tới 4-6 ống/ngày. Kết quả cho thấy, bào tử lợi khuẩn *Bacillus* giúp rút ngắn thời gian điều trị khoảng 1-3 ngày và tăng hiệu quả điều trị 1,3-2,4 lần so với nhóm chứng trong việc giảm ba triệu chứng điển hình của tiêu chảy, gồm: đi ngoài ≥ 3 lần/ngày, phân có nhầy và phân lỏng - toé nước, trong đó LiveSpo DIA30 có hiệu quả tốt hơn so với LiveSpo CLAUSY 10-50%. Đây là nghiên cứu đầu tiên trên thế giới chứng minh hiệu quả hỗ trợ điều trị triệu chứng của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* ở liều cao trên trẻ em bị TCKD.

Từ khóa: *Bacillus*, bào tử lợi khuẩn, probiotic, tiêu chảy kéo dài.

Chỉ số phân loại: 3.2, 3.3

1. Đặt vấn đề

TCKD là tình trạng đi ngoài phân lỏng hoặc nước bất thường xảy ra ít nhất 3 lần/ngày, kéo dài từ 2-4 tuần. Định nghĩa này loại trừ các bệnh tiêu chảy do nguyên nhân khác như tiêu chảy do dị ứng thức ăn, các bệnh lý đường ruột bẩm sinh và bệnh Celiac [1]. Đây là một vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng, đặc biệt ảnh hưởng đến trẻ nhỏ, gây ra tỷ lệ tử vong cao và ảnh hưởng đến sự phát triển của trẻ. Tiêu chảy là nguyên nhân gây tử vong thứ 3 trên toàn cầu ở trẻ dưới 5 tuổi, với khoảng 443,832 ca tử vong mỗi năm. Tổng cộng có gần 1,7 tỷ ca bệnh tiêu chảy ở trẻ em hàng năm, đồng thời cũng là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây suy dinh dưỡng ở nhóm tuổi này [2]. Tỷ lệ mắc TCKD có sự khác biệt đáng kể giữa các khu vực. Ở các nước có nguồn thu nhập thấp và trung bình, tỷ lệ mắc TCKD thường dưới 10%, dao động 1,4-28,4%. Trong khi đó, ở các nước phát triển, thông tin về tỷ lệ mắc bệnh còn hạn chế. Tuy nhiên, nghiên cứu tại Hoa Kỳ cho thấy, khoảng 8% các trường hợp tiêu chảy cấp tiến triển thành TCKD [3, 4].

Các nghiên cứu cho thấy, TCKD là hậu quả của nhiều tác nhân gây bệnh khác nhau. Điều này phù hợp với quan sát TCKD phổ biến hơn ở những khu vực có điều kiện vệ sinh kém, nơi môi trường chứa nhiều tác nhân gây bệnh đường ruột. Nhiều loại vi khuẩn, virus, ký sinh trùng đều có thể dẫn đến TCKD ở trẻ em. Một số mầm bệnh đặc biệt liên quan đến TCKD bao gồm *E. coli* bám dính (EAEC), *E. coli* gây bệnh đường ruột (EPEC), *Shigella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Yersinia* spp. hay *Cryptosporidium* spp. và *Giardia lamblia*. Ngoài ra, các mầm bệnh do virus như Rotavirus, Adenovirus và

Norovirus là nguyên nhân chính gây tiêu chảy cấp tính, nhưng cũng có thể dẫn đến TCKD sau những đợt bùng phát nghiêm trọng [5]. Tiêu chảy sau viêm ruột: là tình trạng tổn thương niêm mạc ruột vẫn tồn tại sau các đợt nhiễm trùng cấp tính, và sự thiếu hụt men disaccharidase thứ phát làm tăng tính nhạy cảm với thức ăn, cũng như sự thay đổi hệ vi sinh đường ruột, góp phần dẫn đến bệnh TCKD [6]. Tiêu chảy liên quan đến kháng sinh là tình trạng đi ngoài phân lỏng hoặc nước bất thường từ 3 lần/ngày sau khi dùng kháng sinh, có thể xảy ra trong vòng vài giờ đến 8 tuần sau khi bắt đầu uống kháng sinh [7].

Để điều trị TCKD hiệu quả, bên cạnh bù nước điện giải, bổ sung kẽm, sử dụng kháng sinh hợp lý và chế độ ăn theo khuyến cáo. Ngày nay, với mục tiêu khôi phục hệ vi sinh đường ruột về trạng thái “eubiotic-cân bằng” và khỏe mạnh, việc sử dụng probiotics đóng vai trò quan trọng [8]. Nhiều thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng (Randomized Controlled Trials, RCTs) đã chứng minh tác dụng của probiotic trong hỗ trợ điều trị bệnh lý đường ruột. Ví dụ, *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) và *Saccharomyces boulardii* có hiệu quả trong điều trị bệnh viêm dạ dày ruột cấp tính (AGE) ở trẻ em làm giảm đáng kể thời gian tiêu chảy. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, probiotic thuộc các loài như *L. rhamnosus*, *S. boulardii* và *B. bifidum* có thể giảm tần suất và mức độ nặng của bệnh do các tác nhân gây bệnh khác nhau, bao gồm Rotavirus, *C. difficile* và các chủng của *E. coli* [9, 10].

So với những loài vi khuẩn và nấm men probiotic đã được đề cập, các chủng vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* có ưu điểm là có

*Tác giả liên hệ: Email: dr.dangthuyha@gmail.com

Evaluate the safety and effectiveness of *Bacillus* probiotic spores in children with persistent diarrhea

Thuy Ha Dang^{1*}, Minh Dien Tran¹, Thi Bich Thuy Phung¹, Thi Viet Ha Nguyen¹,
Thi Phuong Anh Bui², Hai Yen Vu¹, Thi Minh Luong¹, Thi Thu Trang Nguyen¹,
Thi Thanh Nga Pham¹, Thi Ngoc Hong Nguyen¹, Thi Huong Le¹,
Van Ngoan Nguyen¹, Minh Hang Nguyen¹, Thi Huong Trinh¹, Thi Huyen Bui²,
Thi Ngoc Hao Vo², Thi Van Anh Nguyen², Hoa Anh Nguyen^{2,3}

¹Vietnam National Children's Hospital, 8/879 La Thanh Street, Lang Thuong Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

²ANABIO R&D Company Limited, 22 Lot 7+8 Van Khe Urban Area, La Khe Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

³LiveSpo Pharma Company Limited, N03 T5 Ngoai Giao Doan, Xuan Tao Ward, Bac Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

Received 7 September 2023; revised 25 September 2023; accepted 29 September 2023

Abstract:

Persistent diarrhea in children under 24 months old has been a global public health concern, including in Vietnam. Therefore, the authors conducted a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial to evaluate the effectiveness of two *Bacillus* spore probiotic suspensions, namely LiveSpo CLAUSY containing *B. clausii* at 2 billion CFU/5 ml ampoule; and LiveSpo DIA30 containing *B. subtilis*, *B. clausii*, and *B. coagulans* at 5 billion CFU/5 ml ampoule, as a supportive treatment for children with persistent diarrhea. Children were randomly allocated into the control (using RO water) and two experimental groups, Clausy (using LiveSpo CLAUSY) and Dia30 (using LiveSpo DIA30), n=30/group. All three groups were treated following the standard protocol at the hospital, supplemented with either placebo or high-dose probiotics up to 4-6 ampoules/day. The results showed that *Bacillus* spore probiotics helped to shorten the treatment duration by approximately 1-3 days and enhanced treatment effectiveness by 1.3-2.4 folds compared to the control group in reducing the typical diarrhea symptoms, including bowel movements ≥ 3 times/day, presence of mucus, and diaper stool. Notably, LiveSpo DIA30 exhibited a better efficacy of 10-50% compared to LiveSpo CLAUSY. This is the world's first clinical study demonstrating the effectiveness of high-dose *Bacillus* spore probiotics in supporting the treatment of diarrhea symptoms in children with persistent diarrhea.

Keywords: *Bacillus*, persistent diarrhea, probiotic, spore.

Classification numbers: 3.2, 3.3

khả năng hình thành bào tử kháng lại những yếu tố bất lợi từ môi trường như nhiệt độ cao acid dạ dày và mật. Điều này giúp các bào tử lợi khuẩn *Bacillus* có khả năng sống sót và phát huy tác dụng có lợi cho sức khỏe con người khi đi qua dạ dày và tới ruột non. Trong số các loài *Bacillus* an toàn, *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* được sử dụng phổ biến nhất để làm probiotic. Đặc biệt, *B. clausii* đã được chứng minh giảm nồng độ Rotavirus/Adenovirus và giảm tần suất đi ngoài ở trẻ em mắc tiêu chảy cấp tính, giảm số lượng

trung bình các trường hợp tiêu chảy trong thời gian điều trị, khi sử dụng với liều hàng ngày là 2 ống x 2 tỷ CFU/ống [11, 12]. Tuy nhiên, hầu hết các thử nghiệm lâm sàng về *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* trên thế giới và tại Việt Nam mới được thực hiện trên trẻ em mắc tiêu chảy cấp tính và thời gian đạt được hiệu quả thường mất tới 5-7 ngày, trong khi đó chưa có nghiên cứu nào thực hiện trên trẻ em mắc TCKD. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đề xuất sử dụng 2 loại bào tử lợi khuẩn *Bacillus*, gồm LiveSpo DIA30 chứa *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* 5 tỷ CFU/ống 5 ml; LiveSpo CLAUSY chứa *B. clausii* 2 tỷ CFU/ống 5 ml, ở liều cao 4-6 ống/ngày gấp 2-3 lần so với liều thông thường, như một giải pháp tiềm năng để hỗ trợ giảm nhanh chóng các triệu chứng TCKD trên đối tượng trẻ em từ 3 đến 24 tháng tuổi. Trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi theo dõi các triệu chứng lâm sàng điển hình của bệnh TCKD, bao gồm tần suất đi ngoài ≥ 3 lần/ngày, phân có nhầy, và phân lỏng - toé nước (type 4-5B), ở nhóm thử nghiệm và so sánh với nhóm chứng để đánh giá hiệu quả rút ngắn thời gian điều trị và tăng hiệu quả điều trị của các probiotic này.

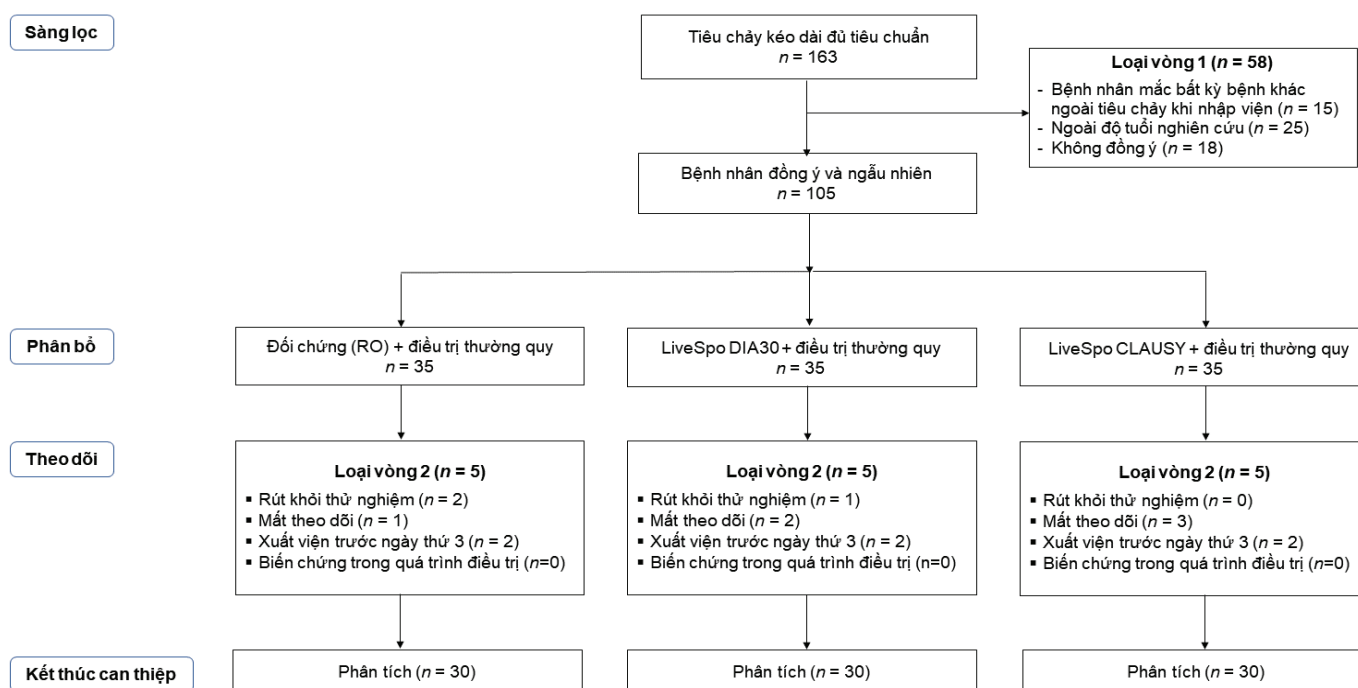
2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe LiveSpo CLAUSY (*B. clausii* nồng độ 2 tỷ CFU/5 ml ống) và LiveSpo DIA30 (*B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* nồng độ 5 tỷ CFU/5 ml ống), do Công ty LiveSpo Pharma sản xuất tại Hà Nội. Sản phẩm được sản xuất theo tiêu chuẩn GMP được Bộ Y tế (số chứng nhận 18/2021/ATTP/CNG-GMP) và HACCP (số chứng nhận VICB 7831.6-A) và có số đăng ký lưu hành lần lượt là 4071/2021/ĐKSP và 6547/2019/ĐKSP. Sản phẩm đã được nghiên cứu chứng minh không gây độc tính cấp tính hay bán trường diễn khi tiến hành thử nghiệm trên chuột và thỏ tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Các sản phẩm LiveSpo CLAUSY và LiveSpo DIA30 không phân biệt được về mùi, vị, màu sắc với giả được (nước RO) do hỗn dịch bào tử được bảo chế dưới dạng tinh khiết trong nước RO, và được đựng trong ống nhựa đục. Các sản phẩm đối chứng và thử nghiệm LiveSpo DIA30, LiveSpo CLAUSY được dán nhãn tương ứng với mã A, B và C, thông tin này được bảo mật với hầu hết các thành viên của nhóm nghiên cứu (trừ chủ nhiệm đề tài và người phân tích dữ liệu) cũng như tất cả phụ huynh của trẻ em và trẻ em.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu và thu thập bệnh nhân: Đây là một thử nghiệm mù, ngẫu nhiên, có đối chứng, với nhóm chứng sử dụng nước RO và 2 nhóm thử nghiệm được đặt tên là "Clausy" và "Dia30" sử dụng probiotics tương ứng là LiveSpo CLAUSY và LiveSpo DIA30. Nghiên cứu kéo dài trong 12 tháng, từ tháng 7/2022 đến tháng 7/2023, và bao gồm các bệnh nhân nhi (cả nam và nữ) có triệu chứng TCKD điều trị tại Khoa Tiêu hóa, Bệnh viện Nhi Trung ương. Kích thước mẫu được tính toán dựa trên giả thuyết rằng LiveSpo CLAUSY và LiveSpo DIA30 làm giảm triệu chứng TCKD hiệu quả hơn khoảng 30%, được biểu thị bởi 90% bệnh nhân trong nhóm Clausy/Dia30 không có triệu chứng vào ngày 5-9 của can thiệp, so với 60% bệnh nhân trong nhóm chứng. Kích thước mẫu cần thiết ước tính cho mỗi nhóm là 31 bệnh nhân



Hình 1. Các bước thực hiện trong nghiên cứu cho thử nghiệm lâm sàng đánh giá an toàn và tác dụng của các sản phẩm bào tử lợi khuẩn *Bacillus* trên trẻ bị tiêu chảy kéo dài. Thu thập và phân tích dữ liệu được thực hiện từ ngày 0 đến khi xuất viện. Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 7/2022 đến tháng 7/2023.

vào cuối can thiệp ($\alpha=0,05$; power=0,8). Do tỷ lệ trẻ em nhập viện với triệu chứng TCKD trong tất cả các bệnh dạ dày/ruột ở trẻ em được nhập viện tại Khoa Tiêu hóa, Bệnh viện Nhi Trung ương, dự kiến có khoảng 150-200 bệnh nhân tham gia khảo sát để thu được 105 bệnh nhân đủ điều kiện tham gia nghiên cứu ($n=35$ cho mỗi nhóm x 3 nhóm). Các bệnh nhân được gán ngẫu nhiên bằng cách rút thăm vào các nhóm được mã hoá ngẫu nhiên: nhóm chứng (nhóm A), Dia30 (nhóm B) và Clausy (nhóm C). Số bệnh nhân được tính dư khoảng 10% để đảm bảo số lượng bệnh nhân khi kết thúc nghiên cứu đạt được như kỳ vọng, có tính toán tới rủi ro cha mẹ bệnh nhân rút khỏi nghiên cứu trong quá trình theo dõi điều trị. Sơ đồ của nghiên cứu được hiển thị trong hình 1.

Các tiêu chí lựa chọn bao gồm: Bệnh nhân 3-24 tháng tuổi bị đi ngoài phân lỏng hoặc nước bất thường xảy ra ít nhất 3 lần/ngày kéo dài từ 14 ngày trở lên (tối đa 29 ngày) mà không thấy thuyên giảm, nhập viện điều trị tại Khoa Tiêu hóa, Bệnh viện Nhi Trung ương. Cha mẹ trực tiếp chăm sóc trẻ khỏe mạnh, hiểu nội dung câu hỏi phỏng vấn, đồng ý tham gia và tuân thủ quy trình nghiên cứu.

Các tiêu chí loại trừ bao gồm: (1) Bệnh nhân có bất kỳ bệnh lý toàn thân nào khác ngoài tiêu chảy khi nhập viện như dị tật tim bẩm sinh, khe hở vòm, sút môi, hội chứng Down, bại não (do các bệnh này có thể gây ra các vấn đề liên quan đến đường tiêu hóa và ảnh hưởng đến tăng trưởng của trẻ); (2) Trẻ chẩn đoán mắc bệnh lao, HIV hoặc bệnh lý ruột viêm mạn tính (bệnh Crohn, viêm loét đại trực tràng chảy máu), bệnh Celiac; (3) Trẻ nhập viện trong tình trạng nặng như sốc, co giật, khó thở, suy hô hấp... (4) Trẻ đẻ non, suy dinh dưỡng với chiều cao, cân nặng lúc nhập viện $<-3SD$ (chỉ số đo cân nặng theo tuổi (Z-score)) hoặc phù.

Bảng câu hỏi, quy trình điều trị và quan sát lâm sàng: Cha mẹ của bệnh nhân được yêu cầu cung cấp các thông tin sau về con cái của họ: họ và tên đầy đủ, giới tính, tuổi, hồi cứu thông tin về thai sản của mẹ, tiền sử của trẻ, sử dụng kháng sinh và bệnh nền... Y tá và hộ lý được đào tạo để cho trẻ uống theo liều 2 ống (giã được hoặc probiotics) mỗi lần, ba lần mỗi ngày (tổng cộng 6 ống mỗi ngày - "liều tấn công") trong 3 ngày đầu và hai lần mỗi ngày (tổng cộng 4 ống mỗi ngày - "liều duy trì") trong những ngày điều trị tiếp theo. Bào tử lợi khuẩn *Bacillus* được sử dụng kết hợp với phác đồ điều trị bệnh thông thường tại bệnh viện, như dung dịch bù điện giải (Oremut), gluconate kẽm và kháng sinh trong trường hợp nhiễm vi khuẩn. Thử nghiệm độ nhạy với kháng sinh và điều trị kháng sinh thích hợp đã được cung cấp cho tất cả bệnh nhân có kết quả dương tính cho các chủng vi khuẩn gây bệnh tiêu hóa. Các kháng sinh dùng để điều trị có thể là kháng sinh đường uống (ví dụ Zithromax hoặc Ciprofloxacin) và/hoặc kháng sinh đường tiêm (ví dụ Ceftriaxone, Ciprofloxacin, Metronidazole, hoặc Vancomycin). Trong quá trình điều trị, bệnh nhân được theo dõi hàng ngày để theo dõi các triệu chứng thông thường của tiêu chảy, bao gồm số lần đi ngoài >3 lần/ngày, phân có nhầy, phân lỏng - toé nước theo thang phân loại phân của trẻ nhỏ (thang phân loại gồm các type 1, 2, 3, 4, 5A và 5B, trong đó phân lỏng - toé nước thuộc type 4, 5A và 5B) cho đến khi xuất viện. Tình trạng sức khỏe của bệnh nhân được quan sát và ghi chép trong hồ sơ bệnh án bởi bác sỹ và y tá.

Quan sát hiển vi và đo độ pH của phân: Các xét nghiệm này đã được tiến hành vào ngày 0, 3 và 5 cho tất cả bệnh nhân tham gia theo quy trình thông thường tại Khoa Vi khuẩn - Virus, Bệnh viện Nhi Trung ương. Các xét nghiệm bao gồm: (i) Xác định sự có mặt của tiểu cầu và bạch cầu trong phân, được phân loại thành các

mức độ khác nhau bao gồm âm tính (-), có vết (+), nhẹ (++) , trung bình (+++) và nặng (++++); (ii) Đo độ pH của phân, với khoảng 5,5-6,5 được xem là bình thường, trong khi các giá trị nằm ngoài khoảng này được phân loại là bất thường. Đây cũng là một tiêu chí sàng lọc để đảm bảo các tiêu chí lựa chọn và cân bằng đầu vào cho mỗi nhóm.

Phương pháp xét nghiệm real time RT-PCR đa môi: Bộ xét nghiệm Cartridge QIAstat-Dx Gastrointestinal Panel (Qiagen, Hoa Kỳ) được sử dụng cho xét nghiệm vào ngày 0 tại Khoa Sinh học phân tử các bệnh truyền nhiễm, Bệnh viện Nhi Trung ương theo tiêu chuẩn ISO 15189:2012, bằng hệ thống phân tích tự động hoàn toàn theo hướng dẫn của nhà sản xuất để phát hiện 24 chủng vi sinh vật đường ruột trong mẫu phân với mục đích tư vấn về phương pháp điều trị thích hợp. Các chủng vi sinh vật được phát hiện bao gồm: *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium* spp., *Giardia lamblia*, *Cyclospora cayetanensis*, *Vibrio vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *Campylobacter* spp. (*C. jejuni*, *C. upsaliensis*, *C. coli*), *Salmonella* spp., *Clostridium difficile* (*tcdA/tcdB*), *Yersinia enterocolitica*, *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enteraggregative E. coli* (EAEC), *Shiga-like toxin-producing E. coli* (STEC), *Shiga toxin-producing E. coli* (STEC) serotype O157:H7, *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), *Shigella*, *Plesiomonas shigelloides*, *Human adenovirus F40/F41*, *Norovirus GI*, *Norovirus GII*, *Rotavirus A*, *Astrovirus* và *Sapovirus GI/GII/ GIV/GV*. Quy trình bao gồm việc sử dụng 25-100 mg phân trên mỗi ml chất mang Cary-Blair, sau đó chuyển 200 µl mẫu vào ống Cartridge QIAstat-Dx Gastrointestinal Panel. Tiếp theo, mã vạch của mẫu và ống Cartridge QIAstat-Dx Gastrointestinal Panel được quét bằng thiết bị phân tích QIAstat-Dx Analyzer 1.0, và quá trình phân tích được khởi động. Phản ứng real time RT-PCR được thực hiện ở chu trình nhiệt: 50°C trong 20 phút, 95°C trong 15 phút, tiếp theo là 45 chu kỳ khuếch đại và phát hiện ở 95°C trong 10 giây, 60°C trong 1 phút, 72°C trong 30 giây. Sau 70 phút, kết quả được phân tích bằng thiết bị phân tích QIAstat-Dx Analyzer 1.0.

Đồng thời, xét nghiệm real time PCR SYBR Green sử dụng môi đặc hiệu cũng được thực hiện trên mẫu phân nhưng ở 3 mốc thời gian ngày 0, 5 và ngày xuất viện (nếu sau ngày 5) để phát hiện sự hiện diện của *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* nhằm kiểm tra việc sử dụng probiotics hoặc giả dược đúng cách trong các nhóm thí nghiệm và kiểm soát tương ứng [13]. Điều kiện real time PCR SYBR Green được thiết lập như sau: 95°C trong 10 phút, khuếch đại trong 40 chu kỳ tại 95°C trong 15 giây, 60°C trong 20 giây, 72°C trong 30 giây. Mẫu phân được coi là chứa *Bacillus* thuộc một trong ba loài *B. subtilis*, *B. clausii*, *B. coagulans* khi giá trị C_t của mỗi phản ứng đặc hiệu là <35. Quy trình “in-house” được tối ưu và thực hiện phục vụ cho mục đích nghiên cứu tại Khoa Sinh học phân tử các bệnh truyền nhiễm, Bệnh viện Nhi Trung ương.

2.3. Phân tích thống kê

Phân tích bảng được thực hiện trên biến phân loại bằng cách sử dụng kiểm định χ^2 hoặc Fisher's exact test khi giá trị kỳ vọng của bất kỳ ô nào dưới năm. Các biến liên tục hoặc độc lập được so sánh

bằng cách sử dụng kiểm định Wilcoxon hoặc kiểm định Mann-Whitney test khi dữ liệu không tuân theo phân phối chuẩn. Phân tích thống kê và đồ họa được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism v8.4.3 (GraphPad Software, California, Hoa Kỳ).

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y học của Bệnh viện Nhi Trung ương chấp thuận theo Quyết định 1077/BVNTU-HĐĐĐ ngày 1/6/2022 và đã được thực hiện tuân thủ các nguyên tắc đạo đức được nêu ra trong tuyên bố Helsinki, hướng dẫn ICH GCP và các quy định và tiêu chuẩn của Bộ Y tế Việt Nam về nghiên cứu đối tượng người. Tất cả phụ huynh của các bệnh nhân nhi tham gia nghiên cứu đã được thông báo đầy đủ về nghiên cứu và đồng ý tham gia nghiên cứu. Người tham gia có quyền rút khỏi nghiên cứu bất cứ lúc nào theo yêu cầu.

3. Kết quả

3.1. Thiết kế thử nghiệm và đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của trẻ ở thời điểm đầu vào tham gia nghiên cứu

Từ tháng 7/2022 đến tháng 7/2023, tổng cộng 163 trẻ đã được sàng lọc để đủ điều kiện tham gia nghiên cứu. Trong số đó, 105 trẻ tham gia bị TCKD đã được ngẫu nhiên chia thành 3 nhóm, mỗi nhóm 35 bệnh nhân, bao gồm nhóm Chứng, nhóm Dia30 sử dụng LiveSpo DIA30 và nhóm Clausy sử dụng LiveSpo CLAUSY. Trong thời gian theo dõi bình thường 5-9 ngày sau điều trị, 5 người nhóm Chứng, 5 người nhóm Clausy và 5 người nhóm Dia30 đã bị loại trừ, dẫn đến số người tham gia vào phân tích cuối cùng của nhóm Chứng, Clausy và Dia30 tương ứng còn 30 bệnh nhân (hình 1).

Bảng 1 cho thấy, trẻ em mắc chứng TCKD tham gia vào nghiên cứu này có độ tuổi từ 3 đến 24 tháng, và không có sự khác biệt đáng kể về tuổi tác hay phân bố giới tính giữa nhóm Clausy so với nhóm Chứng ($p=0,49$ và $0,79$) hay giữa nhóm Dia30 với nhóm Chứng ($p=0,19$ và $0,59$). Trước khi điều trị, các đặc điểm lâm sàng cơ bản, bao gồm tần suất đi ngoài hàng ngày ≥ 3 lần/ngày, phân có nhầy, và phân lỏng - toé nước phân loại thuộc các type 4-5B, không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm Clausy so với nhóm Chứng (giá trị p tương ứng cho 3 triệu chứng là: 0,12; 1 và 0,24) hay giữa nhóm Dia30 với nhóm Chứng (giá trị p tương ứng cho 3 triệu chứng là: 0,08; 0,19 và 0,4).

Hơn nữa, chúng tôi cũng thấy không có sự khác biệt đáng kể về các đặc điểm cận lâm sàng liên quan tới tính chất phân, bao gồm sự hiện diện của tế bào bạch cầu (leukocytes) và tế bào hồng cầu (erythrocytes) trong phân giữa nhóm Clausy so với nhóm Chứng ($p=0,57$ và 1) hay giữa nhóm Dia30 so với nhóm Chứng ($p=0,08$ và $0,69$); cũng không có sự khác biệt đáng kể về các giá trị pH bất thường của phân nằm ngoài khoảng pH bình thường từ 5,5 đến 6,5 giữa nhóm Clausy so với nhóm Chứng ($p=1$) hay giữa nhóm Dia30 so với nhóm Chứng ($p=0,79$).

Như được thể hiện ở bảng 1, có một tỷ lệ nhất định gần 30%, bao gồm 26,67% trong nhóm Chứng, 26,67% trong nhóm Clausy

Bảng 1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của trẻ em bị tiêu chảy kéo dài trước và trong quá trình điều trị.

Các chỉ số	Nhóm chứng			Nhóm Clausy			Nhóm DIA30			Giá trị p					
										Clausy - chứng			DIA30 - chứng		
	Ngày 0	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 0	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 0	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 0	Ngày 3	Ngày 5	Ngày 0	Ngày 3	Ngày 5
Tuổi (tháng)															
3≤x≤12, n (%)	29 (96,67)			30 (100,0)			26 (86,67)						0,49		0,19
12<x≤24, n (%)	1 (3,33)			0 (0,00)			4 (13,33)								
Giới tính															
Nam, n (%)	18 (60,00)			19 (63,33)			20 (66,67)						0,79		0,59
Nữ, n (%)	12 (40,00)			11 (36,67)			10 (33,33)								
Đặc điểm lâm sàng															
Số lần đi ngoài (>3 lần/ngày), n %	29 (96,67)	19 (63,33)	14 (46,67)	25 (83,33)	17 (56,67)	6 (20,00)	24 (80,00)	15 (50,00)	3 (10,00)	0,12	0,6	0,03	0,08	0,3	0,0037
Nhảy trong phân n %	29 (96,67)	27 (90,00)	21 (70,00)	29 (96,67)	21 (70,00)	12 (40,00)	26 (86,67)	22 (73,33)	8 (26,67)	1	0,06	0,02	0,19	0,11	0,0012
Phân loại phân (Type 4-5B) n %	28 (93,33)	23 (76,67)	15 (50,00)	25 (83,33)	15 (50,00)	8 (26,67)	26 (86,67)	12 (40,00)	7 (23,33)	0,24	0,035	0,067	0,4	0,005	0,035
Kết quả soi phân															
Hồng cầu (≥2+) n %	10 (33,33)	3 (10,00)	1 (3,33)	8 (26,67)	3 (10,00)	0 (0,00)	4 (13,33)	2 (6,67)	0 (0,00)	0,57	1	0,49	0,08	0,64	0,49
Bạch cầu (≥2+) n %	27 (90,00)	15 (50,00)	5 (16,67)	27 (90,00)	5 (16,67)	1 (3,33)	26 (86,67)	3 (10,00)	0 (0,00)	1	0,008	0,12	0,69	0,002	0,09
Chỉ số pH (pH <5,5+pH >6,5) n %	19 (63,33)	17 (56,67)	13 (43,33)	19 (63,33)	16 (53,33)	12 (40,00)	18 (60,00)	18 (60,00)	9 (30,0)	1	0,8	0,79	0,79	0,79	0,29
<i>Campylobacter</i> spp.	1 (3,33)			2 (6,67)			2 (6,67)								
<i>Clostridium difficile</i>	1 (3,33)			3 (10,00)			1 (3,33)								
<i>Enteraggregative E. coli</i>	2 (6,67)						1 (3,33)								
<i>Enteropathogenic E. coli</i>	1 (3,33)			1 (3,33)											
<i>Enterotoxigenic E. coli</i>	1 (3,33)														
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1 (3,33)														
<i>Salmonella</i> spp.	3 (10,0)			1 (3,33)			1 (3,33)								
Astrovirus							2 (6,67)								
Norovirus (GI, GII)	2 (6,67)			2 (6,67)			5 (16,67)								
Rotavirus A				1 (3,33)											
Số bệnh nhân	8 (26,67)			8 (26,67)			9 (30,0)			1			0,77		

và 30% nhóm Dia30 được phát hiện nhiễm các vi sinh vật gây bệnh đường ruột. Trong cùng một mẫu phân, có thể có đơn lẻ 1 tác nhân hay có tới 2, 3, đến 4 tác nhân nhiễm đồng thời sau khi sàng lọc 24 vi sinh vật phổ biến nhất gây tiêu chảy bằng kỹ thuật real time RT-PCR như đã mô tả ở phần phương pháp. Trong các tác nhân sàng lọc được, phát hiện thấy tổng cộng có 11 loài vi sinh vật gây bệnh, bao gồm 7 loài vi khuẩn và 4 loài virus được phát hiện trong các mẫu phân của trẻ tham gia nghiên cứu. Trong đó, các vi sinh vật gây bệnh phổ biến nhất trong cả 3 nhóm là *Norovirus* (GI, GII) (n=5 trong nhóm Dia30, tỷ lệ chiếm 6,67-16,67%). Tiếp theo là *C. difficile* sản sinh độc tố A/B (n=3 trong nhóm Clausy, tỷ lệ chiếm 3,33-10%), *Salmonella* spp. (n=3 trong nhóm chứng, tỷ lệ 3,33-10%) và *Campylobacter* spp. (n=2 trong nhóm Clausy và Dia30, tỷ lệ chiếm 3,33-6,67%).

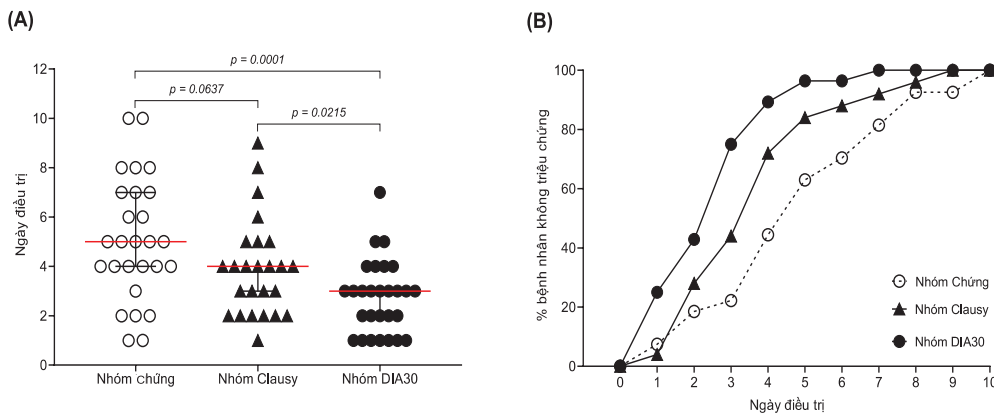
Kết luận lại, các bệnh nhân nhi được phân nhóm ngẫu nhiên và có tính chất tương đồng nhau về các chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng ở thời điểm đầu vào nghiên cứu, vì vậy thỏa mãn điều kiện để tiến hành thử nghiệm can thiệp với phác đồ thường quy kết hợp với probiotic cho nhóm thử nghiệm và giả dược cho nhóm chứng.

3.2. An toàn của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* khi dùng ở liều cao

Trong thời gian điều trị, chúng tôi không ghi nhận bất kỳ trường hợp phản ứng phụ nào đối với sản phẩm LiveSpo CLAUSY và LiveSpo DIA30 ở liều cao, lên tới 8-12 tỷ CFU hàng ngày đối với sản phẩm LiveSpo CLAUSY và lên tới 20-30 tỷ hàng ngày đối với sản phẩm LiveSpo DIA30, như mô tả ở phần phương pháp. Đặc biệt, không có trường hợp nôn mửa hay thay đổi nhiệt độ quá 1°C nào được quan sát ở bất kỳ trẻ nào ở 2 nhóm sử dụng sản phẩm này.

3.3. Hiệu quả giảm số lần đi ngoài ở bệnh nhân tiêu chảy kéo dài khi uống bào tử lợi khuẩn *Bacillus*

Đầu tiên, chúng tôi đánh giá thời gian điều trị cần thiết để làm giảm triệu chứng lâm sàng điển hình nhất của tiêu chảy là “đi ngoài >3 lần/ngày”. Thuật ngữ “ngày điều trị” được định nghĩa là ngày đầu tiên (trong quá trình điều trị) khi bệnh nhân không còn biểu hiện triệu chứng đó. Kết quả, được thể hiện ở bảng 1 cho thấy, số lượng bệnh nhân biểu hiện triệu chứng này ở ngày 5 của nhóm Clausy (20%) và Dia30 (10%) đã ít hơn nhiều so với nhóm chứng (46,67%) và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê, với giá



Hình 2. Số ngày điều trị triệu chứng đi ngoài hơn 3 lần/ngày (A) và tỷ lệ phần trăm (%) bệnh nhân không còn triệu chứng quan sát theo thời gian điều trị (B) ở nhóm chứng, Clausy, và Dia30. Phương pháp phân tích Mann-Whitney test được sử dụng để đánh giá sự khác biệt có tính thống kê giữa các nhóm.

trị $p=0,03$ ở nhóm Clausy và $p=0,0037$ ở nhóm Dia30. Kết quả này thống nhất với kết quả ở hình 2 về số ngày điều trị triệu chứng đi ngoài >3 lần/ngày ở 3 nhóm tham gia thử nghiệm. Cụ thể, kết quả ở hình 2A cho thấy, số ngày điều trị cho triệu chứng đi ngoài >3 lần/ngày khỏi nhanh nhất ở nhóm Dia30 (trung vị: 3 ngày), tiếp theo là nhóm Clausy (trung vị: 4 ngày), so với nhóm chứng (trung vị: 5 ngày). Việc rút ngắn thời gian điều trị 2 ngày ở nhóm Dia30 so với nhóm chứng là có ý nghĩa thống kê, với giá trị $p=0,0001$. Tuy sự khác biệt giữa thời gian điều trị của nhóm Clausy với nhóm chứng sớm hơn 1 ngày chưa có ý nghĩa thống kê, nhưng với giá trị $p=0,0637$ nhỏ hơn 0,1 cũng chỉ ra được xu hướng rút ngắn thời gian điều trị triệu chứng này khi bệnh nhân sử dụng LiveSpo CLAUSY. Kết quả ở hình 2A cũng chỉ ra sự khác biệt trong thời gian điều trị của nhóm Dia30 so với Clausy là có ý nghĩa thống kê với $p=0,0215$, chứng tỏ LiveSpo DIA30 có tác dụng rút ngắn thời gian tiêu chảy nhanh hơn so với LiveSpo CLAUSY.

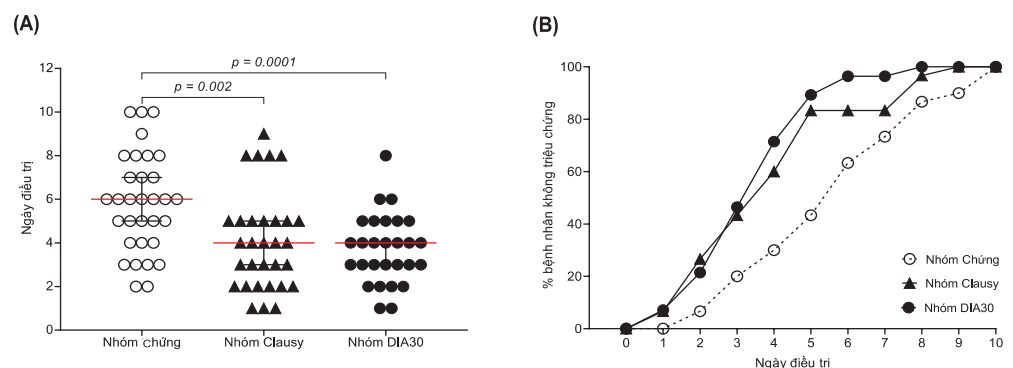
Như được thể hiện ở hình 2B, trong vòng 1 ngày đầu sau khi bắt đầu điều trị, không có sự khác biệt đáng kể về số lượng bệnh nhân khỏi triệu chứng đi ngoài hơn 3 lần/ngày giữa nhóm chứng và nhóm Clausy, với tỷ lệ đạt được khoảng dưới 5%. Đáng chú ý, nhóm Dia30 đạt tỷ lệ bệnh nhân khỏi triệu chứng này lên tới khoảng 25% trong ngày đầu tiên điều trị. Bắt đầu từ ngày thứ 2, có sự tăng đáng kể và liên tục trong tỷ lệ bệnh nhân khỏi triệu chứng này trong cả 3 nhóm nghiên cứu, với tỷ lệ khỏi bệnh đạt nhanh nhất ở nhóm Dia30, sau đó là nhóm Clausy, cuối cùng là nhóm chứng. Đến ngày thứ 3 và 4, hơn 50% trẻ em tương ứng trong nhóm Dia30 và Clausy đã không còn triệu chứng đi ngoài >3 lần/ngày, trong khi nhóm chứng phải tới ngày thứ 5 mới đạt được tỷ

lệ này. Xu hướng khỏi triệu chứng tăng dần theo ngày điều trị và đến ngày thứ 7, hầu hết 100% trẻ em trong nhóm Dia30 đã hồi phục khỏi triệu chứng này, trong khi nhóm Clausy và nhóm chứng cần 9 và 10 ngày tương ứng để kiểm soát hoàn toàn 100% trẻ không còn triệu chứng. Dựa trên dữ liệu về tỷ lệ bệnh nhân không còn triệu chứng đi ngoài ≥ 3 lần/ngày theo thời gian được thể hiện ở hình 2B, có thể thấy nhóm Dia30, Clausy và nhóm chứng có thời gian điều trị khi 50% bệnh nhân không còn triệu chứng (Days of

treatment, DT_{50}) tương ứng là 2,2; 3,2 và 4,3 ngày. Kết quả cho thấy, liệu pháp hỗ trợ bằng bào tử lợi khuẩn Clausy và Dia30 hiệu quả hơn tương ứng gấp 1,3 và 2,0 lần so với liệu pháp thường quy khi cải thiện tần suất đi ngoài ở bệnh nhân.

3.4. Hiệu quả giảm phân nhầy khi uống bào tử lợi khuẩn *Bacillus*

Tương tự với việc đánh giá tác dụng giảm triệu chứng tần suất đi ngoài ≥ 3 lần/trong ngày, chúng tôi cũng quan sát thấy có sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm sử dụng bào tử lợi khuẩn *Bacillus* so với nhóm chứng trong giảm triệu chứng phân có nhầy. Cụ thể, nhóm Clausy và Dia30 đã rút ngắn được thời gian điều trị tương ứng là 2 và 2,5 ngày, thể hiện qua giá trị trung vị về thời gian điều trị triệu chứng phân có nhầy (hình 3A) cho các nhóm chứng, Clausy và Dia30 lần lượt là 6, 4 ngày ($p=0,002$) và 3,5 ngày ($p=0,0001$). Sự chênh lệch này là có ý nghĩa thống kê khi giá trị p đều nhỏ hơn 0,05, và được củng cố bởi số liệu thể hiện ở bảng 1 cho thấy tại ngày 5, số bệnh nhân còn triệu chứng phân nhầy ở nhóm Clausy (40%) và Dia30 (26,67%) đã ít hơn nhiều so với nhóm chứng (70%), với giá trị $p=0,02$ ở nhóm Clausy và $p=0,0012$ ở nhóm Dia30.



Hình 3. Số ngày điều trị triệu chứng phân nhầy (A) và tỷ lệ phần trăm (%) bệnh nhân không còn triệu chứng quan sát theo thời gian điều trị (B) ở nhóm chứng, Clausy và Dia30. Phương pháp phân tích Mann-Whitney test được sử dụng để đánh giá sự khác biệt có tính thống kê giữa các nhóm.

Dựa trên dữ liệu về tỷ lệ bệnh nhân không có triệu chứng phân nhầy theo thời gian được thể hiện trong hình 3B, chúng tôi tính toán và nhận thấy rằng, cả 2 nhóm Clausy và Dia30 có giá trị DT_{50} cho triệu chứng phân nhầy thấp hơn so với nhóm chứng. Cụ thể, DT_{50} ở nhóm chứng, Clausy và Dia30, Clausy có giá trị tương ứng là 5,3, 3,4 và 3,1 ngày. Kết quả cho thấy, liệu pháp hỗ trợ bằng bào tử lợi khuẩn LiveSpo CLAUSY và LiveSpo DIA30 hiệu quả hơn gấp 1,6 và 1,7 lần so với liệu pháp thường quy khi cải thiện triệu chứng phân có nhầy ở trẻ bị TCKD.

3.5. Hiệu quả giảm phân lỏng - toé nước khi uống bào tử lợi khuẩn *Bacillus*

Cuối cùng, chúng tôi đánh giá hiệu quả cải thiện tính chất của phân bằng cách quan sát triệu chứng phân lỏng - toé nước ở bệnh nhân giữa các nhóm. Kết quả cho thấy, khi uống bào tử lợi khuẩn *Bacillus*, có sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm sử dụng bào tử lợi khuẩn *Bacillus* so với nhóm chứng về số lượng bệnh nhân có tính chất phân lỏng - toé nước thuộc type 4, 5A và 5B theo thang phân loại phân cho trẻ nhỏ. Kết quả (bảng 1) cho thấy ngay tại ngày thứ 3, số lượng bệnh nhân biểu hiện triệu chứng này ở nhóm Clausy (26,67%) và Dia30 (23,33%) đã ít hơn đáng kể so với nhóm chứng (50%), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với giá trị $p=0,035$ cho nhóm Clausy và $p=0,005$ cho nhóm Dia30. Ở ngày thứ 5, có sự khác biệt rõ hơn ở nhóm Dia30 so với nhóm chứng với giá trị $p=0,035$.

Kết quả này cũng tương thích với kết quả ở hình 4 liên quan đến số ngày điều trị triệu chứng phân lỏng - toé nước trong 3 nhóm tham gia thử nghiệm. Cụ thể, nhóm Clausy và Dia30 đều đã rút ngắn thời gian điều trị lần lượt là 2 và 3 ngày, được thể hiện qua giá trị trung vị của thời gian điều trị triệu chứng phân lỏng - toé nước (hình 4A) ở nhóm chứng là 5 ngày còn ở nhóm Clausy (3 ngày) và Dia30 (2 ngày). Sự chênh lệch này có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng khi tất cả giá trị p đều nhỏ hơn 0,05, với $p=0,0322$ ở nhóm Clausy và $p=0,0009$ ở nhóm Dia30.

Dựa trên kết quả ở hình 4B về tỷ lệ bệnh nhân không có triệu chứng phân lỏng - toé nước theo thời gian, chúng tôi nhận thấy, nhóm Clausy và Dia30 có giá trị DT_{50} cho triệu chứng này thấp

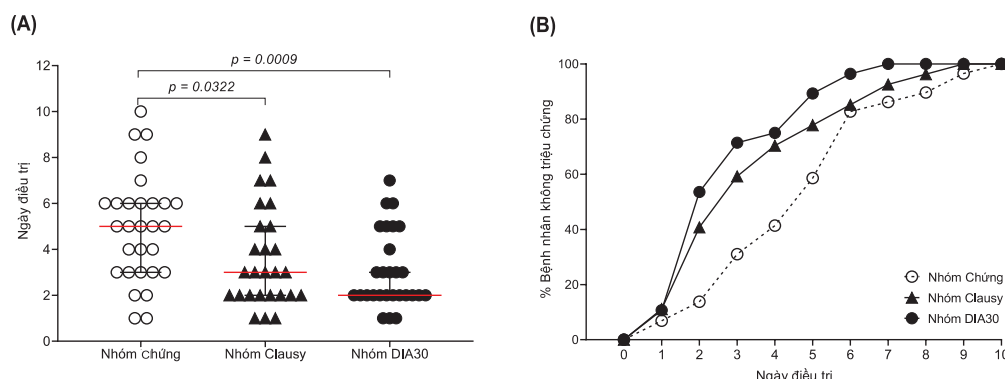
hơn đáng kể so với nhóm chứng, với giá trị DT_{50} là 4,5 ngày cho nhóm chứng, 2,5 ngày cho nhóm Clausy và chỉ còn 1,9 ngày cho nhóm Dia30. Kết quả cho thấy, liệu pháp hỗ trợ bằng bào tử lợi khuẩn Clausy và Dia30 hiệu quả hơn gấp 1,8 lần và 2,4 lần so với liệu pháp thường quy khi cải thiện triệu chứng phân lỏng - toé nước ở trẻ bị TCKD.

4. Bàn luận

Sử dụng vi sinh vật có lịch sử an toàn và đem lại tác dụng lợi cho sức khỏe của con người dưới dạng thực phẩm bổ sung probiotic cho đường tiêu hoá là xu hướng được các nhà khoa học và các nhà sản xuất probiotic quan tâm từ trước tới nay. Các nghiên cứu trước đã chứng minh được khả năng hỗ trợ điều trị tiêu chảy cấp của bào tử lợi khuẩn *B. subtilis* và *B. clausii* ở các liều sử dụng thông thường trong khoảng 4-5 tỷ CFU/ngày và hiệu quả rõ rệt đem lại thường sau tới 5-7 ngày sử dụng [12, 14]. Đây là nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng mẫu mù có đối chứng đầu tiên trên thế giới đánh giá về mặt an toàn và hiệu quả của bào tử lợi khuẩn *Bacillus* thuộc 3 loài *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* ở liều sử dụng hàng ngày khá cao, lên tới khoảng 8-12 tỷ đối với sản phẩm LiveSpo CLAUSY và 20-30 tỷ đối với sản phẩm LiveSpo DIA30 để điều trị TCKD ở trẻ em 3-24 tháng tuổi. Các liều cao này được chọn dựa trên liều lượng vi sinh vật có thể sử dụng cho mục đích hỗ trợ điều trị, được khuyến cáo bởi Tổ chức Tiêu hoá Gan mật Thế giới (WGO) [15]. Kết quả về an toàn của nghiên cứu cho thấy, liệu pháp điều trị với bào tử lợi khuẩn *Bacillus* ở những liều cao này đã được dung nạp tốt và không có biến cố bất lợi nào được ghi nhận. Kết quả này càng khẳng định thêm lịch sử an toàn của bào tử lợi khuẩn thuộc 3 loài *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans*.

Sử dụng men vi sinh trong điều trị tiêu chảy ở trẻ em đã được chứng minh là có hiệu quả trong việc giảm thời gian tiêu chảy và giảm tần suất đi ngoài nhờ quá trình điều chỉnh chứng rối loạn tiêu hóa và phục hồi hệ vi sinh đường ruột. Đặc biệt, các dạng men vi sinh bằng đường uống giúp cải thiện sự mất cân bằng vi khuẩn của cơ thể con người và có khả năng chống lại nhiễm trùng đường ruột. Liên quan đến hiệu quả của bào tử lợi khuẩn

Bacillus trong giảm triệu chứng của bệnh lý đường tiêu hoá, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự giảm thiểu đáng kể về thời gian điều trị cả ba triệu chứng điển hình cho trẻ em bị TCKD, thể hiện qua giá trị trung vị được quan sát ở nhóm Dia30 và Clausy luôn thấp hơn so với giá trị này ở nhóm chứng khoảng 1-3 ngày, tùy từng triệu chứng. Nhóm sử dụng LiveSpo DIA30 và LiveSpo CLAUSY đã cho thấy sự giảm đáng kể cả 3 triệu chứng điển hình liên quan đến TCKD tại hai thời điểm quan



Hình 4. Số ngày điều trị triệu chứng phân lỏng - toé nước thuộc type 4-5B theo thang phân loại phân của trẻ nhỏ (A) và tỷ lệ phần trăm (%) bệnh nhân không còn triệu chứng quan sát theo thời gian điều trị (B) ở nhóm chứng, Clausy và Dia30. Phương pháp phân tích Mann-Whitney test được sử dụng để đánh giá sự khác biệt có tính thống kê giữa các nhóm.

sát, cụ thể là số bệnh nhân thể hiện cả 3 triệu chứng đều giảm có ý nghĩa thống kê ở ngày 5 so với nhóm chứng (bảng 1). Các hình đồ thị thể hiện số bệnh nhân không còn triệu chứng tiêu chảy của các nhóm Clausy và Dia30 cũng có tốc độ bệnh nhân khỏi bệnh nhanh hơn so với nhóm chứng, và sự khác biệt này bắt đầu quan sát thấy ở ngay ngày thứ 1-2 sau khi sử dụng probiotic. Trong đó, nhóm Dia30 có tốc độ khỏi bệnh nhanh nhất và vượt trội so với cả nhóm Clausy. Điều này có thể là do các bào tử lợi khuẩn *B. subtilis*, *B. clausii* và *B. coagulans* ở sản phẩm LiveSpo DIA30 có nồng độ rất cao, lên tới 5 tỷ/ống, cao hơn 2,5 lần so với bào tử lợi khuẩn *B. clausii* ở sản phẩm LiveSpo CLAUSY, nên bám dính trên niêm mạc ruột nhiều hơn, tác dụng hiệp đồng để nảy mầm thành tế bào sinh trưởng và phát triển để cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột nhanh và hiệu quả hơn. Một số nghiên cứu lâm sàng khác sử dụng các chủng *Lactobacillus* sp. và *Saccharomyces boulardii* [16] hay chủng *L. rhamnosus* GG [17] cũng đã cho thấy hiệu quả của việc điều trị bằng men vi sinh, nhưng với tốc độ chậm hơn so với LiveSpo DIA30 vì việc giảm số lần đi ngoài đạt được vào ngày thứ 5 ở trẻ em TCKD. Nghiên cứu của S. Basu và cs (2007) [17] sử dụng liều cao của men vi sinh chứa *Lactobacillus rhamnosus* GG nồng độ trong khoảng 10^{10} - 10^{12} CFU lại đều cho hiệu quả như nhau ở cả hai liều lượng trong việc giảm tần suất và thời gian tiêu chảy cũng như giảm thời gian nằm viện ở ngày thứ 6, rút ngắn 2 ngày điều trị so với nhóm đối chứng không sử dụng probiotic là 8 ngày. Nghiên cứu chúng tôi sử dụng bào tử lợi khuẩn *Bacillus* có khả năng tạo bào tử và sống sót cao trong môi trường acid tại dạ dày giúp tác dụng nhanh và hiệu quả hơn khi so sánh với hai nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu dùng liều cao của LiveSpo DIA30 và LiveSpo CLAUSY đã chứng minh khả năng rút ngắn thời gian điều trị cho 3 triệu chứng điển hình của tiêu chảy, gồm số lần đi ngoài >3 lần/ngày, phân có nhầy, và phân lỏng - toé nước khoảng 2-3 ngày, giúp cải thiện hiệu quả lên đến 1,3-2,4 lần. Khi so sánh giữa 2 loại probiotic sử dụng, chúng tôi nhận thấy LiveSpo DIA30 thể hiện khả năng vượt trội hơn so với LiveSpo CLAUSY khi rút ngắn nhanh thời gian điều trị 1 ngày và tăng hiệu quả điều trị tốt hơn so với LiveSpo CLAUSY khoảng 10-50% cho cả 3 triệu chứng.

Tóm lại, hiệu quả đem lại khi sử dụng 2 loại bào tử lợi khuẩn LiveSpo CLAUSY và LiveSpo DIA30 không chỉ có lợi rõ rệt cho sức khỏe đường tiêu hoá của trẻ em mà còn giảm lo âu của phụ huynh và giảm thời gian chăm sóc, đồng thời giảm chi phí điều trị trong bệnh viện. Liệu pháp probiotic bào tử lợi khuẩn *Bacillus* dạng nước nồng độ cao có thể mang lại lợi ích đáng kể về cả mặt xã hội và kinh tế trong việc điều trị tiêu chảy, đặc biệt là ở các nước thu nhập thấp và trung bình, nơi TCKD vẫn là một căn bệnh nghiêm trọng.

5. Kết luận

Sử dụng probiotic bào tử lợi khuẩn *Bacillus* (LiveSpo) dạng nước, nồng độ cao giúp hỗ trợ điều trị và giảm các triệu chứng tiêu chảy ở trẻ em bị tiêu chảy kéo dài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. Giannattasio, A. Guarino, A.L. Vecchio (2016), "Management of children with prolonged diarrhea", *F1000 Research*, **5**, DOI: 10.12688/f1000research.7469.1.
- [2] S.R. Moore (2011), "Update on prolonged and persistent diarrhea in children", *Curr. Opin. Gastroenterol.*, **27**(1), pp.19-23, DOI: 10.1097/MOG.0b013e32833f215d.
- [3] S.A. Sarker, T. Ahmed, H. Brussow (2017), "Persistent diarrhea: A persistent infection with enteropathogens or a gut commensal dysbiosis?", *Environ. Microbiol.*, **19**(10), pp.3789-3801, DOI: 10.1111/1462-2920.13873.
- [4] P.H.T. Linh (2017), "Knowledge and practice of mothers of children under 5 years old with acute diarrhea at Hai Phong Children's Hospital in 2017", *Nursing Science*, **1**, pp.44-50 (in Vietnamese).
- [5] H.U. Ugbo, O.C. Nwinyi, S.U. Oranusi, et al. (2020), "Childhood diarrhoeal diseases in developing countries", *Heliyon*, **6**(4), DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03690.
- [6] A.L. Vecchio, M.L. Conelli, A. Guarino (2021), "Infections and chronic diarrhea in children", *Pediatr. Infect. Dis. J.*, **40**(7), pp.e255-e258, DOI: 10.1097/INF.0000000000003182.
- [7] G.A. Coté, A.L. Buchman (2006), "Antibiotic-associated diarrhoea", *Expert. Opin. Drug Saf.*, **5**(3), pp.361-372, DOI: 10.1517/14740338.5.3.361.
- [8] P. Szychowiak, K.V. Tran, J. Patrier, et al. (2022), "The role of the microbiota in the management of intensive care patients", *Ann. Intensive Care*, **12**(1), DOI: 10.1186/s13613-021-00976-5.
- [9] S. Hempel, S.J. Newberry, A.R. Maher, et al. (2012) "Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: A systematic review and meta-analysis", *Jama*, **307**(18), pp.1959-1969, DOI: 10.1001/jama.2012.3507.
- [10] M. Sanklecha, L. Verma, U. Pai, et al. (2022), "*Lactobacillus rhamnosus* GG evaluation in acute diarrhea (LEAD): An observational study", *Cureus*, **14**(4), DOI: 10.7759/cureus.24594.
- [11] G. Ianaro, G. Rizzatti, M. Plomer, et al. (2018), "*Bacillus clausii* for the treatment of acute diarrhea in children: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials", *Nutrients*, **10**(8), DOI: 10.3390/nu10081074.
- [12] J.A.D. Castro, D. Kesavelu, K.R. Lahiri, et al. (2020), "Recommendations for the adjuvant use of the poly-antibiotic-resistant probiotic *Bacillus clausii* (O/C, SIN, N/R, T) in acute, chronic, and antibiotic-associated diarrhea in children: Consensus from Asian experts", *Trop. Dis. Travel Med. Vaccines*, **6**(21), DOI: 10.1186/s40794-020-00120-4.
- [13] M. Perotti, N. Mancini, A. Cavallero, et al. (2006), "Quantitation of *Bacillus clausii* in biological samples by real-time polymerase chain reaction", *J. Microbiol. Methods*, **65**(3), pp.632-636, DOI: 10.1016/j.mimet.2005.10.010.
- [14] B. Maugo, C.Y. Jowi, F. Murila, et al. (2021), "Effectiveness of *Bacillus clausii* in reducing duration of illness in acute diarrhoea in children 6-59 months of age admitted with severe dehydration", *East Afr. Med. J.*, **98**, pp.3649-3658.
- [15] World Gastroenterology Organisation Global Guidelines (2023), *Probiotics and Prebiotics*, <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/probiotics-and-prebiotics/english>, accessed 5 May 2022.
- [16] D. Gaón, H. García. L. Winter, et al. (2003), "Effect of *Lactobacillus* strains and *Saccharomyces boulardii* on persistent diarrhea in children", *Medicina*, **63**(4), pp.293-298.
- [17] S. Basu, M. Chatterjee, S. Ganguly, et al. (2007), "Efficacy of *Lactobacillus rhamnosus* GG in acute watery diarrhoea of Indian children: A randomised controlled trial", *J. Paediatr. Child Health*, **43**(12), pp.837-842, DOI: 10.1111/j.1440-1754.2007.01201.x.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI BÁO ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài báo gửi đăng trên Tạp chí phải là bài báo nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài báo trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài báo gửi qua Hệ thống gửi bài trực tuyến tại địa chỉ https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/about/submissions hoặc có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam) hoặc qua hòm thư điện tử: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn.

Cấu trúc của các loại bài báo khác nhau có thể thay đổi tùy theo loại hình nghiên cứu và nội dung của bài báo. Sau đây là chi tiết các thành phần chính của bài báo.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, in đậm, không gạch chân hay viết nghiêng.
- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.
- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số ^(1,2,...) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.
- Khí liệt kê cơ quan công tác của tác giả, cần nêu rõ tên cơ quan và địa chỉ cơ quan (số nhà, tên đường, phường, quận, thành phố, quốc gia) bằng tiếng Việt và tiếng Anh.

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh (khoảng 160-250 từ). Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khóa bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

1. Đặt vấn đề/Dẫn nhập/Mở đầu

Định nghĩa vấn đề; tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

2. Đối tượng/Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu. Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

3. Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

4. Bàn luận (phần này có thể gộp với phần kết quả)

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài. Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài. Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

5. Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

LỜI CẢM ƠN (nếu có)

Tác giả cảm ơn các tổ chức/cá nhân đã tài trợ kinh phí hoặc hỗ trợ cho nghiên cứu.

Phụ lục (nếu có)

Đăng tải bảng số liệu, thông tin để hỗ trợ thêm cho nội dung bài báo.

Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện ^(1,2,3,...) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với một hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

Lưu ý:

- Đối với trích dẫn trong bài báo: tài liệu tham khảo có nhiều hơn một tác giả chỉ để tên tác giả đầu tiên và cộng sự, viết tắt là cs, ví dụ: T.V. Nguyen và cs (năm xuất bản) [thứ tự trong danh mục tài liệu tham khảo].
- Đối với danh mục tài liệu tham khảo cuối bài: tài liệu tham khảo bằng tiếng Anh, các tài liệu không phải tiếng Anh cần được dịch sang tiếng Anh và chú thích ở cuối câu, ví dụ: (in Vietnamese), (in French)...
- Tài liệu tham khảo là các đường link cần bổ sung ngày truy cập.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập(số)**, trang/số trang/trang đầu-trang cuối (nếu có), số DOI (nếu có), URL (nếu có), ngày truy cập (ghi rõ ngôn ngữ nào nếu không phải tài liệu bằng tiếng Anh).

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả (chữ viết tắt đưa lên trước) với những tài liệu tham khảo có ≤3 tác giả; liệt kê 3 tác giả đầu tiên và theo sau là "et al." khi có từ 4 tác giả trở lên.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách... (chỉ viết hoa chữ cái đầu, trừ tên riêng và sau dấu hai chấm), viết trong ngoặc kép.

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được *in nghiêng*), viết hoa chữ cái đầu tiên của mỗi từ chính.

Tập(số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang/số trang/trang đầu cuối phần ảnh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng tác giả đầu tiên và cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a, 1986b...).

Nếu có một số tài liệu tham khảo có cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: A. Amber (1982, p.39).

Chi tiết vui lòng xem thêm tại: https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/quy-dinh-bai-viet.

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Toà soạn không trả lại bản thảo.
- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.
- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

Quy định này áp dụng từ năm 2022 trở đi.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng; kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 66 - Number 6 - June 2024

Sử dụng mô hình học sâu dự đoán hàm lượng vi chất của thực phẩm sau chế biến.

Nguyễn Hoàng Vũ, Đào Ngọc Bích, Trần Thanh Hương, Phạm Minh Triền

Ảnh hưởng của sodium humate và sodium lignosulfonate tới tính dẻo của phối liệu in 3D sản xuất sứ dân dụng.

Nguyễn Thị Luyên, Mai Văn Dương, Nguyễn Thu Hà

Phân tích đồng thời chloramphenicol, amoxicillin và enrofloxacin sử dụng cảm biến điện hóa với điện cực graphene đa lớp chế tạo bằng phương pháp điện hóa trong dung môi hữu cơ.

Trịnh Thị Tuyết, Đỗ Thị Nhật Quỳnh, Tạ Thị Thảo, Vũ Thị Thu Hà, Lê Thị Vinh Hạnh, Lê Minh Thành, Phạm Thị Hải Yến

Tổng hợp copolyme cấu trúc liên hợp poly(3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole) bằng phương pháp điện hóa.

Hoàng Duy Minh, Trần Lê Hải, Nguyễn Quốc Việt, Trần Đức Châu, Lưu Hoàng Tâm, Trương Thu Thủy, Nguyễn Trần Hà

Xác định điều kiện lên men thích hợp cho chủng xạ khuẩn *Streptomyces* sp. VNUA116 nhằm tăng khả năng kháng nấm *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* gây bệnh héo rũ trên cây chuối.

Nguyễn Thị Thanh Mai, Nguyễn Thị Thu, Bùi Xuân Tứ, Trần Văn Tuấn, Phạm Hồng Hiến, Nguyễn Xuân Cảnh

Nghiên cứu đánh giá khả năng cố định nitơ và sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid (IAA) của chủng vi khuẩn *Flavobacterium anhuiense* MN47 phân lập từ đất trồng chè tại Thái Nguyên.

Hoàng Thị Lan Anh, Nguyễn Thị Giang, Nguyễn Mạnh Tuấn, Phạm Thị Tuyết Mai, Trần Văn Chí

Ảnh hưởng của vi khuẩn *Lysinibacillus sphaericus* đến sinh trưởng và hấp thụ crom của cây Lu lu đực (*Solanum nigrum* L.).

Nguyễn Thành Hưng

Cấu trúc nano xếp trật tự 3 chiều CdS/ZnO cho hiệu suất cao trong ứng dụng quang điện hóa tách nước.

Hoàng Nhật Hiếu, Nguyễn Ngọc Khoa Trường, Nguyễn Văn Nghĩa, Nguyễn Lệ Hiền, Đỗ Tiến Quang, Đặng Xuân Kỳ

Nghiên cứu thiết kế an toàn cho hệ thống cảnh báo đường ngang tự động ứng dụng công nghệ tiên tiến

Cổ Như Văn

Ứng dụng kỹ thuật Immunoblot (ANA 23 Profile) trong xét nghiệm phát hiện tự kháng thể trên bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống.

Đỗ Thị Thu Hiền, Nguyễn Thị Thảo Nhi

Mối liên quan giữa đột biến gen *BRAF* V600E với một số đặc điểm tiến triển trong ung thư biểu mô tuyến giáp thể nhũ $\leq 1,5$ cm.

Trần Thị Lan, Nguyễn Thị Trang, Phạm Văn Tuyến, Phạm Cẩm Phương, Nguyễn Thuận Lợi, Đào Thị Huyền Trang, Dương Danh Bộ, Hoàng Xuân Cường, Biện Văn Hoàn

Đánh giá ô nhiễm môi trường từ hoạt động nuôi tôm tại tỉnh Sóc Trăng.

Tiền Hải Lý, Nguyễn Thị Kiều, Nguyễn Thị Thủy Nhi, Phạm Văn Tùng, Bùi Như Ý, Huỳnh Long Toàn, Nguyễn Võ Châu Ngân

Thử nghiệm đánh giá an toàn và tác dụng của sản phẩm bào tử lợi khuẩn *Bacillus* trên trẻ em tiêu chảy kéo dài.

Đặng Thủy Hà, Trần Minh Điển, Phùng Thị Bích Thủy, Nguyễn Thị Việt Hà, Bùi Thị Phương Anh, Vũ Hải Yến, Lương Thị Minh, Nguyễn Thị Thu Trang, Phạm Thị Thanh Nga, Nguyễn Thị Ngọc Hồng, Lê Thị Hương, Nguyễn Văn Ngoan, Nguyễn Minh Hằng, Trịnh Thị Hương, Bùi Thị Huyền, Võ Thị Ngọc Hào, Nguyễn Thị Vân Anh, Nguyễn Hoà Anh

1 Using deep learning model to predict micronutrients in food after processing.

Hoang Vu Nguyen, Ngoc Bich Dao, Thanh Huong Tran, Minh Trien Pham

9 Effects of sodium humate and sodium lignosulfonate additives on the plasticity of 3D printing materials for ceramic tableware production.

Thi Luyen Nguyen, Van Duong Mai, Thu Ha Nguyen

13 Simultaneous analysis of chloramphenicol, amoxicillin, and enrofloxacin using electrochemical sensors with multilayer graphene electrodes fabricated by electrochemical methods in an organic solvent.

Thi Tuyen Trinh, Thi Nhat Quyen Do, Thi Thao Ta, Thi Thu Ha Vu, Thi Vinh Hanh Le, Minh Thanh Le, Thi Hai Yen Pham

20 Synthesis of conjugated structural copolymer poly(3-hexylthiophene-random-benzoyl dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole) by electrochemical method.

Duy Minh Hoang, Le Hai Tran, Quoc Viet Nguyen, Duc Chau Tran, Hoang Tam Luu, Thu Thuy Truong, Tran Ha Nguyen

26 Determination of fermentation conditions of *Streptomyces* sp. VNUA116 to improve the antifungal activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing Panama wilt disease on banana plants.

Thi Thanh Mai Nguyen, Thi Thu Nguyen, Xuan Tu Bui, Van Tuan Tran, Hong Hien Pham, Xuan Canh Nguyen

34 Evaluate the ability of nitrogen fixation and Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis of *Flavobacterium anhuiense* MN47 isolated from tea-growing soil in Thai Nguyen.

Thi Lan Anh Hoang, Thi Giang Nguyen, Manh Tuan Nguyen, Thi Tuyen Mai Pham, Van Chi Tran

40 Effects of bacteria *Lysinibacillus sphaericus* on growth and chromium absorption of *Solanum nigrum* L.

Thanh Hung Nguyen

45 Three-dimensional ordered CdS/ZnO porous nanostructures for high-performance photoelectrochemical water splitting.

Nhat Hieu Hoang, Ngoc Khoa Truong Nguyen, Van Nghia Nguyen, Le Hien Nguyen, Tien Quang Do, Xuan Ky Dang

51 Research on safety design for automatic level crossing warning system applying advanced technology.

Nhu Van Co

58 Application of Immunoblot assay (ANA 23 Profile) for detection of autoantibodies in systemic sclerosis.

Thi Thu Hien Do, Thi Thao Nhi Nguyen

63 Relationship between *BRAF* V600E and some aggressive features in papillary thyroid carcinoma ≤ 1.5 cm.

Thi Lan Tran, Thi Trang Nguyen, Van Tuyen Pham, Cam Phuong Pham, Thuan Loi Nguyen, Thi Huyen Trang Dao, Danh Bo Duong, Xuan Cuong Hoang, Van Hoan Bien

67 Assessing environmental pollution from shrimp farming activities in Soc Trang province.

Hai Ly Tien, Thi Kieu Nguyen, Thi Thuy Nhi Nguyen, Van Tung Pham, Nhu Y Bui, Long Toan Huynh, Vo Chau Ngan Nguyen

73 Evaluate the safety and effectiveness of *Bacillus* probiotic spores in children with persistent diarrhea.

Thuy Ha Dang, Minh Dien Tran, Thi Bích Thủy Phung, Thi Việt Hà Nguyễn, Thi Phương Anh Bùi, Hai Yên Vũ, Thi Minh Lương, Thi Thu Trang Nguyễn, Thi Thanh Nga Phạm, Thi Ngọc Hồng Nguyễn, Thi Hương Lê, Văn Ngoan Nguyễn, Minh Hằng Nguyễn, Thi Hương Trinh, Thi Huyền Bùi, Thi Ngọc Hào Võ, Thi Văn Anh Nguyễn, Hoa Anh Nguyễn