



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003076

(51) **G01N 33/18**
2021.01

(13) **Y**

(21) 2-2022-00291

(22) 31/07/2018

(67) 1-2020-04216

(45) 27/03/2023 420

(43) 25/11/2020 392A

(73) Viện Công nghệ Hóa học - Viện Hàn lâm Khoa học và công nghệ Việt Nam (VN)
Số 1A Đường Thanh Lộc 29, khu phố 1, phường Thanh Lộc, quận 12, thành phố
Hồ Chí Minh

(72) Phạm Thị Thùy Phương (VN); Nguyễn Phúc Hoàng Duy (VN); Hoàng Tiến Cường
(VN); Nguyễn Thị Thùy Vân (VN); Nguyễn Trí (VN); Dương Huỳnh Thanh Linh
(VN).

(54) **PHƯƠNG PHÁP CHẾ TẠO ỐNG PHẢN ỨNG SINH HỌC ĐỂ XÁC ĐỊNH NHU CẦU
OXY SINH HÓA BOD₅**

(57) Giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học ứng dụng trong dự đoán nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ của mẫu lỏng. Ống phản ứng sinh học theo sáng chế khác biệt ở chỗ vi sinh vật được cố định lên giá thể thích hợp bằng phương pháp hấp phụ đơn giản, nhờ đó cho phép đơn giản hóa quy trình chế tạo thiết bị phản ứng sinh học, giảm chiều dài ống phản ứng và tăng ngưỡng đo tuyến tính.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực hóa phân tích và môi trường, cụ thể giải pháp hữu đề cập đến phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học và phương pháp xác định nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bằng ống phản ứng sinh học này để phân tích cũng như kiểm soát ô nhiễm môi trường.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Nhu cầu oxy sinh hóa (Biochemical Oxygen Demand – BOD) được định nghĩa là lượng oxy cần thiết mà các vi sinh vật (VSV) đã sử dụng để oxy hoá cacbon hữu cơ thành CO₂ và nitơ hữu cơ thành NO₃⁻. Do đó, chỉ số BOD chỉ ra lượng oxy mà vi khuẩn tiêu thụ trong phản ứng oxy hoá các chất hữu cơ trong nước ô nhiễm và chỉ số này càng cao chứng tỏ lượng chất hữu cơ có khả năng phân huỷ sinh học trong nước càng lớn.

Trong thực tế, người ta không thể xác định lượng oxy cần thiết để phân huỷ hoàn toàn chất hữu cơ vì tốn quá nhiều thời gian nên với phương pháp đo BOD truyền thống thường chỉ xác định lượng oxy cần thiết trong 5 ngày đầu ở nhiệt độ 20°C, kí hiệu BOD₅. Dù vậy, thời gian phân tích như vậy vẫn là quá dài và kỹ thuật đo theo phương pháp truyền thống rất phức tạp, hoàn toàn không đáp ứng các yêu cầu cho việc giám sát chất lượng nguồn nước tự động và liên tục.

Để khắc phục những nhược điểm trên, một số cải tiến về bộ phận tiếp nhận và chuyển đổi tín hiệu cho thiết bị đo BOD theo phương pháp truyền thống đã được thực hiện. Tuy nhiên, thời gian để thu nhận được giá trị BOD₅ thực vẫn cần đến 5 ngày cho dù có sử dụng các thiết bị đo hiện đại hơn trước kia. Chính vì vậy, gần đây các nhà khoa học đã đề xuất phương pháp dự đoán giá trị BOD₅ bằng các cảm biến sinh học và các giải thuật tính toán để rút ngắn thời gian phân tích.

Cảm biến sinh học ứng dụng đo BOD với kỹ thuật cố định hoặc nhốt VSV trong vật liệu thích hợp được công bố lần đầu vào năm 1977 bởi Karube và các cộng sự [Tập chí Biotechnology and bioengineering số 19, trang 1535-1547]. Tổng quan tài liệu cho thấy, đây là loại cảm biến sinh học được nghiên cứu nhiều nhất trong lĩnh vực ứng dụng để phân tích nhanh BOD, tuy nhiên cho đến hiện nay, loại cảm biến sinh học này

vẫn chưa được thương mại hóa do tính không ổn định của nó khi VSV có thể bị rửa trôi hoặc sinh sôi thêm bên trong vật liệu cố định. Ngoài ra, khó khăn chính của kỹ thuật đo này là phải tìm phương án khuếch tán tốt oxy và tác chất vào mạng polymer hoặc vật liệu giữ VSV.

Cho đến hiện nay, các thiết bị BOD biosensor có trên thị trường được phát triển chủ yếu dựa trên công nghệ bioreactor, được đề xuất lần đầu vào năm 1967 bởi Vernimmen và các cộng sự [Tập chí thuộc Water Pollution Control Federation, 1006-1020]. Nguyên lý đo của BOD biosensor dựa trên bioreactor giống như phương pháp truyền thống, khác biệt chính là sử dụng một lượng lớn vi sinh vật và chất ô nhiễm hữu cơ được cung cấp liên tục nên thời gian để ước lượng giá trị BOD₅ được giảm xuống so với phương pháp xác định trực tiếp giá trị BOD trong 5 ngày. Chính vì vậy, kết quả đo vẫn có biến động lớn phụ thuộc vào giai đoạn cấy VSV như phương pháp đo truyền thống. Thêm vào đó, việc hiệu chuẩn thiết bị với dung dịch chuẩn trước khi tiến hành đo mẫu là bắt buộc và rất quan trọng đối với loại BOD biosensor này. Ngoài ra, một nhược điểm nữa của loại BOD biosensor này là sử dụng các bioreactor chiếm diện tích lớn, cần một lượng lớn mẫu đo cũng như bùn hoạt tính cấy cho bioreactor.

Patent Mỹ US5518893A công khai một phương pháp và thiết bị cho phép xác định nhanh giá trị BOD₅ cũng dựa trên biosensor. Khác biệt ở chỗ phương pháp này cho phép tính toán giá trị BOD₅ mà không cần qua công đoạn hiệu chuẩn. Mẫu cần đo sẽ được bơm một lượng nhất định vào bình đo có chứa sẵn môi trường vi sinh vật. Chính vì vậy, hạn chế lớn nhất của phương pháp này là không thể sử dụng để xác định liên tục giá trị BOD trong một thời gian dài vì thể tích bình đo là có giới hạn.

Năm 2013, Liu và các cộng sự [Tập chí Biosensors and Bioelectronics số 45, trang 213–218] đưa ra phương pháp dự đoán BOD₅ sử dụng thiết bị phản ứng sinh học là ống xoắn thủy tinh được xử lý bề mặt bằng HF. Vi sinh vật được cho phát triển thành màng mỏng trên bề mặt trong của ống thủy tinh. Kỹ thuật đo này cho phép đo liên tục trong thời gian dài, tuy nhiên, khó phản ánh được giá trị đo theo thời gian thực (real-time) vì thời gian để đạt giá trị cân bằng là gần 20 phút, chưa kể thời gian vệ sinh trước và sau mỗi lần đo.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích nhằm khắc phục các tồn tại nêu trên, cụ thể giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu

oxy hóa BOD₅ và phương pháp xác định nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bằng ống phản ứng sinh học này.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị ống phản ứng sinh học bằng cách nhồi giá thể được chọn từ đá bọt, gốm xốp, nhựa xốp hoặc than tre vào ống phản ứng hình trụ có đường kính từ 8 đến 12 mm, chiều dài từ 10 đến 20 cm được uốn cong thành hình chữ U, trong đó lượng giá thể được nhồi bằng $\frac{3}{4}$ thể tích ống và tỷ lệ giữa kích thước của giá thể với đường kính ống là từ 1/16 đến 1/30;

b) cố định vi sinh vật lên giá thể bằng cách bơm tuần hoàn môi trường thu được từ nguồn nước cần xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ chứa vi sinh vật hiếu khí được sục không khí bão hòa với tốc độ dòng chảy không quá 1m/s để hấp phụ vi sinh vật có trong môi trường này lên giá thể; và

c) ổn định hoạt tính của ống phản ứng sinh học bằng cách bằng cách sau mỗi khoảng thời gian cố định vi sinh vật lên giá thể, tiến hành bơm dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ là 25 mg/L được bão hòa oxy qua ống phản ứng và xác định giá trị nhu cầu oxy hóa (OD) bằng cách đo nồng độ oxy hòa tan trước và sau khi bơm dung dịch GGA này qua ống phản ứng sinh học, lặp lại quá trình cố định vi sinh vật lên giá thể đến khi thu được giá trị DO giữa hai lần đo liên tiếp không đổi, thu được ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ với hoạt tính ổn định.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó thời gian định kỳ để xác định giá trị DO của ống phản ứng sinh học là 6 giờ và giá trị DO của ống phản ứng sinh học được xác định thông qua sự chênh lệch về nồng độ oxy hòa tan của dung dịch GGA tại đầu vào và đầu ra của ống phản ứng sinh học được uốn cong hình chữ U này.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp xác định nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bằng ống phản ứng sinh học theo giải pháp, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

a) bơm mẫu cần đo vào đầy ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định, trong đó ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định này được tạo ra bằng cách nhồi giá thể được chọn từ đá bọt, gốm xốp, nhựa xốp hoặc than tre vào ống phản ứng hình trụ có

đường kính từ 8 đến 12 mm, chiều dài từ 10 đến 20 cm được uốn cong thành hình chữ U, trong đó lượng giá thể được nhồi bằng $\frac{3}{4}$ thể tích ống và tỷ lệ giữa kích thước của giá thể với đường kính ống là từ 1/16 đến 1/30 được cố định vì sinh vật hiếu khí từ nguồn nước cần xác định BOD₅ và ống phản ứng này đã đạt đến giá trị DO ổn định, đồng thời xác định giá trị DO của mẫu trước khi bơm thông qua bộ đo oxy hòa tan;

b) giữ mẫu cần đo trong ống phản ứng sinh học trong khoảng thời gian nhốt mẫu, trong đó thời gian nhốt mẫu này đã được xác định trước đó bằng cách:

- bơm lần lượt 5 mẫu chuẩn là dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ lần lượt là 5, 12,5, 25, 50 và 100 mg/L qua ống phản ứng sinh học với các khoảng thời gian nhốt mẫu lần lượt là 1, 2, 3 và 4 phút, tiến hành xác định giá trị DO trước (DO_{in}) và sau (DO_{out}) của từng mẫu trước và sau khi qua ống phản ứng sinh học;

- lập biểu đồ tuyến tính với giá trị chênh lệch ΔDO giữa giá trị DO trước (DO_{in}) và giá trị DO sau (DO_{out}) cho mỗi mẫu với $\Delta DO = DO_{in} - DO_{out}$, so sánh hệ số tương quan (R^2) của mỗi biểu đồ để đưa ra thời gian nhốt mẫu theo biểu đồ có độ dốc và hệ số tương quan lớn nhất;

c) xác định giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học bằng cách tiếp tục bơm mẫu cần đo vào một đầu vào để đẩy mẫu đã được giữ trong ống phản ứng sinh học qua đầu ống còn lại qua bộ đo oxy hòa tan để xác định giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học; và

d) đưa ra kết quả xác định giá trị BOD₅ dựa trên giá trị DO của mẫu trước khi qua ống phản ứng sinh học được xác định ở bước a) và giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học được xác định ở bước c) để tính và đưa ra giá trị BOD₅ của mẫu cần đo.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó hoạt tính ổn định của ống phản ứng sinh học thu được bằng cách:

- cố định vi sinh vật lên giá thể trong ống phản ứng sinh học bằng cách bơm tuần hoàn môi trường thu được từ nguồn nước cần xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ chứa vi sinh vật hiếu khí được sục không khí bão hòa với tốc độ dòng chảy không quá 1m/s để hấp phụ vi sinh vật có trong môi trường này lên giá thể; và

- định kỳ bơm dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ là 25 mg/L được bão hòa oxy qua ống phản ứng và xác định giá trị nhu cầu oxy hóa (OD) bằng cách đo nồng độ oxy hòa tan trước và sau khi bơm dung dịch GGA này qua ống

phản ứng sinh học, lặp lại quá trình cố định vi sinh vật lên giá thể đến khi thu được giá trị DO giữa hai lần đo liên tiếp không đổi, thu được ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ với hoạt tính ổn định.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là đồ thị biểu diễn độ lệch nồng độ oxy hòa tan trong mẫu đo theo thời gian cố định vi sinh vật trong ống phản ứng sinh học theo ví dụ 1.

Hình 2 là đồ thị thể hiện giá trị BOD₅ tương quan của dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) theo giá trị DO với các thời gian nhốt mẫu khác nhau.

Hình 3 là đường chuẩn với giá trị BOD₅ của dung dịch GGA theo độ lệch giá trị DO (Δ DO) tương ứng với thời gian nhốt 4 phút.

Hình 4 là đồ thị biểu diễn giá trị thực đo, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sai số chuẩn theo từng ngày làm việc liên tục trong 14 ngày với dung dịch GGA có giá trị BOD₅ là 30 mg/L.

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích đề xuất phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ và phương pháp xác định nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bằng ống phản ứng sinh học này.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: a) chuẩn bị ống phản ứng sinh học, b) cố định vi sinh vật lên giá thể; và ổn định hoạt tính của ống phản ứng sinh học.

Trong bước chuẩn bị ống phản ứng sinh học, ống được sử dụng làm ống sinh học theo giải pháp hữu ích là ống hình trụ có đường kính từ 8 đến 12 mm, chiều dài từ 10 đến 20 cm được uốn cong thành hình chữ U. Trong ống này được nhồi giá thể để làm môi trường cố định vi sinh vật. Giá thể nhồi trong ống phản ứng sinh học theo giải pháp hữu ích được chọn từ đá bọt, gốm xốp, nhựa xốp hoặc than tre. Lượng giá thể được nhồi bằng $\frac{3}{4}$ thể tích ống và tỷ lệ giữa kích thước của giá thể với đường kính ống là từ 1/16 đến 1/30.

Trong bước cố định vi sinh vật lên giá thể, tiến hành bơm tuần hoàn môi trường thu được từ nguồn nước cần xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ chứa vi sinh vật hiếu khí. Mục đích của quá trình này nhằm thu được hệ vi sinh vật có trong môi trường cần xác

định BOD được hấp phụ trên giá thể. Môi trường thu được từ nguồn nước cần xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ chứa vi sinh vật hiếu khí tốt nhất là được thu từ bể phản ứng sinh học của hệ thống xử lý nước thải và được sục không khí bão hòa. Tốc độ dòng chảy qua ống sinh học không quá 1m/s để hấp phụ vi sinh vật có trong môi trường này lên giá thể.

Trong bước ổn định hoạt tính của ống phản ứng sinh học, sau mỗi khoảng thời gian bơm mẫu cố định vi sinh vật lên giá thể, tiến hành xác định hoạt tính của ống phản ứng sinh học này bằng cách bơm dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ là 25 mg/L được bão hòa oxy qua ống phản ứng. Tiến hành xác định giá trị nhu cầu oxy hóa (OD) bằng cách đo nồng độ oxy hòa tan trước và sau khi bơm dung dịch GGA này qua ống phản ứng sinh học. Theo đó, tỷ lệ tiêu thụ GGA tỷ lệ thuận với nồng độ vi sinh vật được cố định trên giá thể và giá trị này tiến dần đến mức bão hòa, nghĩa là lượng vi sinh vật có trong ống phản ứng sinh học đạt đến giá trị lớn nhất. Sau mỗi khoảng thời gian, lặp lại quá trình cố định vi sinh vật lên giá thể đến khi thu được giá trị DO giữa hai lần đo liên tiếp không đổi. Khi đó lượng vi sinh vật đã được cố định đạt ngưỡng bão hòa và thu được ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ với hoạt tính ổn định.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó thời gian định kỳ để xác định giá trị DO của ống phản ứng sinh học là 6 giờ và giá trị DO của ống phản ứng sinh học được xác định thông qua sự chênh lệch về nồng độ oxy hòa tan của dung dịch GGA tại đầu vào và đầu ra của ống phản ứng sinh học được uốn cong hình chữ U này. Các phương pháp để tính giá trị DO theo lượng oxy tiêu thụ và dung dịch GGA có giá trị BOD₅ không đổi là đã biết và có thể thực hiện được bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và không thuộc phạm vi của giải pháp hữu ích.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến phương pháp xác định nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bằng ống phản ứng sinh học theo giải pháp, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: a) bơm mẫu cần đo vào đầy ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định; b) giữ mẫu cần đo trong ống phản ứng sinh học trong khoảng thời gian nhốt mẫu; c) xác định giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học; và d) đưa ra kết quả xác định giá trị BOD₅.

Trong bước bơm mẫu cần đo vào đầy ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định. Ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định này được tạo ra bằng cách nhồi giá

thể được chọn từ đá bọt, gốm xốp, nhựa xốp hoặc than tre vào ống phản ứng hình trụ có đường kính từ 8 đến 12 mm, chiều dài từ 10 đến 20 cm được uốn cong thành hình chữ U. Lượng giá thể được nhồi bằng $\frac{3}{4}$ thể tích ống và tỷ lệ giữa kích thước của giá thể với đường kính ống là từ 1/16 đến 1/30 được cố định vì sinh vật hiếu khí từ nguồn nước cần xác định BOD₅. Ống phản ứng này được cố định vì sinh vật đến khi đạt đến giá trị DO ổn định.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó hoạt tính ổn định của ống phản ứng sinh học thu được bằng cách:

- cố định vi sinh vật lên giá thể trong ống phản ứng sinh học bằng cách bơm tuần hoàn môi trường thu được từ nguồn nước cần xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ chứa vi sinh vật hiếu khí được sục không khí bão hòa với tốc độ dòng chảy không quá 1m/s để hấp phụ vi sinh vật có trong môi trường này lên giá thể; và

- định kỳ bơm dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ là 25 mg/L được bão hòa oxy qua ống phản ứng và xác định giá trị nhu cầu oxy hóa (DO-Dissolved Oxygen) bằng cách đo nồng độ oxy hòa tan trước và sau khi bơm dung dịch GGA này qua ống phản ứng sinh học, lặp lại quá trình cố định vi sinh vật lên giá thể đến khi thu được giá trị DO giữa hai lần đo liên tiếp không đổi, thu được ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ với hoạt tính ổn định.

Quá trình này nhằm thu được ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định. Như vậy, bằng việc xác định nồng độ oxy hòa tan của dung dịch GGA có BOD₅ cố định là 25 mg/L được bão hòa oxy, từ đó có thể tính được giá trị DO của mẫu trước và sau khi bơm qua ống phản ứng sinh học có thể xác định được chính xác khả năng tiêu thụ oxy của vi sinh vật có trong ống phản ứng sinh học theo thời gian. Từ đó làm cơ sở lý thuyết để tính DO của mẫu cần xác định.

Để xác định được giá trị BOD₅ của mẫu, tiến hành xác định giá trị DO của mẫu trước khi bơm bằng cách đo oxy hòa tan có trong mẫu.

Để xác định chính xác giá trị DO dựa trên nồng độ oxy của mẫu trước và sau khi qua ống phản ứng sinh học để từ đó xác định được giá trị BOD₅ của mẫu, tiến hành xác định nhu cầu oxy hóa dựa trên việc tiêu thụ oxy qua ống phản ứng sinh học theo một khoảng thời gian nhất định. Thời gian này được gọi là thời gian nhốt mẫu. Bằng cách uốn cong ống phản ứng sinh học cho phép dễ dàng giữ được mẫu trong một

khoảng thời gian mong muốn mà không làm xáo trộn mẫu, ảnh hưởng đến hệ vi sinh vật được cố định trong ống phản ứng sinh học.

Để giữ mẫu cần đo trong ống phản ứng sinh học trong khoảng thời gian nhót mẫu tối ưu cụ thể, trước đó tiến hành xác định thời gian nhót mẫu, trong đó thời gian nhót mẫu này được xác định bằng cách:

- bơm lần lượt 5 mẫu chuẩn là dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ lần lượt là 5, 12,5, 25, 50 và 100 mg/L qua ống phản ứng sinh học với các khoảng thời gian nhót mẫu lần lượt là 1, 2, 3 và 4 phút, tiến hành xác định giá trị DO trước (DO_{in}) và sau (DO_{out}) của từng mẫu trước và sau khi qua ống phản ứng sinh học; và

- lập biểu đồ tuyến tính với giá trị chênh lệch ΔDO giữa giá trị DO trước (DO_{in}) và giá trị DO sau (DO_{out}) cho mỗi mẫu với $\Delta DO = DO_{in} - DO_{out}$, so sánh hệ số tương quan (R^2) của mỗi biểu đồ để đưa ra thời gian nhót mẫu theo biểu đồ có độ dốc và hệ số tương quan lớn nhất.

Việc nhót mẫu trong một khoảng thời gian xác định cho phép tăng thời gian lưu mẫu để vi sinh vật tiêu thụ được nhiều chất hữu cơ hơn mà không kéo dài quá trình phân tích so với việc giảm tốc độ bơm mẫu như giải pháp của Liu và các cộng sự (Tạp chí Biosensors and Bioelectronics số 45, trang 213–218). Tuy nhiên, thời gian nhót mẫu không được quá dài để đảm bảo lượng oxy hòa tan còn lại đủ để không ảnh hưởng đến hoạt động của vi sinh vật. Nghiên cứu cho thấy, thời gian nhót mẫu sẽ ảnh hưởng đến khoảng đáp ứng tuyến tính và độ chính xác của phép đo BOD và giá trị tối ưu phụ thuộc vào kích thước ống phản ứng, bản chất giá thể sử dụng và lượng vi sinh vật được cố định lên giá thể. Chính vì vậy, trước khi tiến hành phân tích, cần phải xác định thời gian nhót mẫu bằng cách xây dựng đường tuyến tính với ít nhất 5 mẫu chuẩn chứa dung dịch GGA có giá trị BOD₅ khác nhau như trên. Thời gian nhót mẫu được xác định tối thiểu là 1 phút và thời gian nhót tối đa được lựa chọn sao cho khi đo mẫu chuẩn có chứa dung dịch GGA có nồng độ cao nhất thì giá trị DO xác định ở c) không thấp hơn 2 mg/L. Lập biểu đồ tuyến tính với giá trị chênh lệch ΔDO giữa giá trị DO trước (DO_{in}) và giá trị DO sau (DO_{out}) cho mỗi mẫu với $\Delta DO = DO_{in} - DO_{out}$. Hệ số tương quan (giá trị R^2) của đường tuyến tính trong từng biểu đồ được thiết lập được áp dụng theo phương pháp thống kê điều chỉnh so sánh hệ số của mỗi biểu đồ để đưa ra thời gian nhót mẫu tối ưu. Lựa chọn thời gian nhót mẫu theo biểu đồ có độ dốc và hệ

số tương quan lớn nhất để hạn chế sai số trong phương pháp thống kê. Các phương pháp điều chỉnh sai số thống kê được thực hiện, ví dụ, tham khảo <https://phantichspss.com/r-binh-phuong-r-binh-phuong-hieu-chinh-cong-thuc-y-nghia-cach-tinh-thu-cong-va-cach-tinh-bang-spss.html>. Việc tính hệ số tương quan và phương pháp xác định có thể được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và không thuộc phạm vi của giải pháp hữu ích. Như vậy, có thể thấy rằng, thời gian nhốt mẫu tối ưu có thể là 1, 2, 3 hoặc 4 phút.

Trong bước xác định giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học bằng cách tiếp tục bơm mẫu cần đo vào một đầu vào để đẩy mẫu đã được giữ trong ống phản ứng sinh học qua đầu ống còn lại qua bộ đo oxy hòa tan để xác định giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học. Như vậy, bằng cách xác định DO của mẫu trước khi bơm vào một đầu của ống phản ứng sinh học, nhốt mẫu trong một khoảng thời gian xác định, và xác định DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học dựa trên việc đo hàm lượng oxy hòa tan, có thể xác định được liên tục BOD₅ của mẫu theo từng khoảng thời gian nhốt mẫu bằng ống phản ứng sinh học này.

Trong bước đưa ra kết quả xác định giá trị BOD₅ của mẫu cần đo dựa trên giá trị DO của mẫu trước khi qua ống phản ứng sinh học được xác định ở bước a) và giá trị DO của mẫu sau khi qua ống phản ứng sinh học được xác định ở bước c) để tính và đưa ra giá trị BOD₅ của mẫu cần đo. Việc tính toán này hoàn toàn có thể thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này khi tham khảo các tài liệu chuyên ngành và hoàn toàn là phương pháp tính toán thông thường.

Như vậy, bằng cách tạo ra ống phản ứng sinh học được uốn cong, xác định được hoạt tính ổn định của ống phản ứng sinh học này, từ đó có thể xác định được nhu cầu BOD₅ của mẫu cần đo một cách nhanh chóng và chính xác. Ống phản ứng sinh học này có thể ứng dụng để xác định BOD₅ liên tục hoặc gián đoạn với thời gian xác định.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1: Chế tạo ống phản ứng sinh học

Ống nhựa PU có đường kính ngoài 12 mm, đường kính trong 8 mm, dài 200 mm được uốn cong thành hình chữ U được sử dụng để chế tạo ống phản ứng sinh học. Than tre hoạt tính được nghiền nhỏ và rây sao cho kích thước than hoạt tính nằm trong khoảng từ 0,25-0,5 mm. Cân 1 gram đá bọt đã được rây đến kích thước đồng đều và nhồi vào ống nhựa PU này đến khi đạt 3/4 thể tích. Bơm nguồn nước chứa vi sinh vật

được lấy từ bể phản ứng sinh học trong hệ thống xử lý nước thải của nhà máy chế biến thủy sản được sục khí bão hòa qua ống nhựa này. Duy trì bơm bơm tuần hoàn nguồn nước chứa vi sinh vật qua ống chữ U đã chứa giá thể đá bọt để cố định trên giá thể. Sau mỗi 6 giờ, kiểm tra hoạt tính của ống phản ứng sinh học với dung dịch GGA có giá trị BOD_5 là 25 mg/L. Kết quả giá trị ΔDO theo thời gian được xác định như được thể hiện trên hình 1. Kết quả này cho thấy thu được ống phản ứng sinh học có hoạt tính ổn định sau 24 giờ và đạt khoảng 0,25 mg/L.

Ví dụ 2: Xác định thời gian nhốt mẫu tối ưu và xây dựng đường chuẩn BOD_5

Để xác định thời gian nhốt mẫu tối ưu và xây dựng đường chuẩn BOD_5 , tiến hành chuẩn bị dung dịch chuẩn GGA có giá trị BOD_5 chuẩn 5; 12,5; 25; 50 và 100 mg/L. Trong ví dụ này, sử dụng trực tiếp nước máy để pha loãng mẫu và làm dung dịch đo có giá trị $BOD_5 = 0$. Tiến hành sục không khí vào mẫu trong vòng 30 phút trước khi bơm mẫu qua ống phản ứng sinh học ở mức lưu lượng 25 ml/phút trong vòng 3 phút (xác định thời gian nhốt mẫu 0 phút). Sau đó, tiến hành nhốt mẫu ở các mức thời gian 1, 2, 3 và 4 phút, đồng thời ghi nhận kết quả DO trước khi bơm mẫu vào ống phản ứng sinh học (thu được giá trị DO_{in}). Sau khoảng thời gian khảo sát, bơm mẫu qua ống phản ứng sinh học và ghi nhận kết quả DO thay đổi. Giá trị DO thấp nhất (DO_{out}) sẽ được sử dụng để tính độ lệch giữa giá trị DO trước và sau phản ứng theo phương trình:

$$\Delta DO = DO_{in} - DO_{out} \text{ (mg/L)}$$

Tiến hành vẽ đồ thị điểm với giá trị ΔDO ở trục tung và giá trị BOD_5 của mẫu đo ở trục hoành ứng với từng thời gian nhốt. Kết quả được thể hiện trên Hình 2. Sau khi loại bỏ các giá trị đo nằm ngoài khoảng tuyến tính (sai số) thu được các đường chuẩn như hình 3. So sánh giá trị R^2 và độ dốc của đường tuyến tính chọn được thời gian nhốt mẫu tốt nhất là 4 phút.

Tiến hành đo và xác định giá trị ΔDO của mẫu trong cùng điều kiện nhốt mẫu, so sánh với đồ thị chuẩn thu được giá trị BOD_5 của mẫu cần đo.

Ví dụ 3: Xác định thời gian làm việc ổn định của ống phản ứng sinh học

Vận hành ống phản ứng sinh học với mẫu dung dịch GGA có giá trị BOD_5 là 30 mg/L liên tục trong vòng 14 ngày. Mỗi ngày tiến hành lấy giá trị đo ΔDO vào cùng 1 thời điểm: 5 giờ sáng, 11 giờ trưa, 5 giờ chiều và 11 giờ khuya. Kết quả đo được thể hiện theo giá trị thực đo, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và sai số chuẩn theo từng

ngày làm việc như được thể hiện trên Hình 4. Kết quả tính toán cho thấy giá trị trung bình của tất cả các ngày đo là 30,07 mg/L và hệ số biến thiên là 3,8%. Kiểm định t-test cho thấy giá trị BOD₅ đo được bằng phương pháp này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giá trị BOD₅ của mẫu. Điều này cho thấy ống phản ứng sinh học có hiệu quả xác định chính xác giá trị BOD₅ ổn định ít nhất trong 14 ngày đo liên tục.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học theo giải pháp hữu ích cho phép dễ dàng thu được ống phản ứng sinh học được cố định hệ vi sinh đặc hiệu cho mẫu cần đánh giá, ngoài ra, bằng cách sử dụng ống phản ứng sinh học được uốn cong, cho phép giảm được kích thước chiều dài cũng như dễ dàng nhốt mẫu mà không làm xáo trộn hệ vi sinh như các bình phản ứng hoặc các ống phản ứng sinh học thẳng. Ống phản ứng sinh học theo giải pháp hữu ích có thể ứng dụng để xác định BOD₅ liên tục hoặc gián đoạn theo thời gian xác định.

Phương pháp xác định nhanh và liên tục nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bằng ống phản ứng sinh học theo giải pháp hữu ích cho phép xác định nhanh, chính xác và liên tục BOD₅ trong mẫu nước cần xác định. Đây là một phương pháp dễ vận hành, đơn giản, giá trị đo có độ lặp lại cao và ít sai lệch so với phương pháp đo BOD truyền thống.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp chế tạo ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

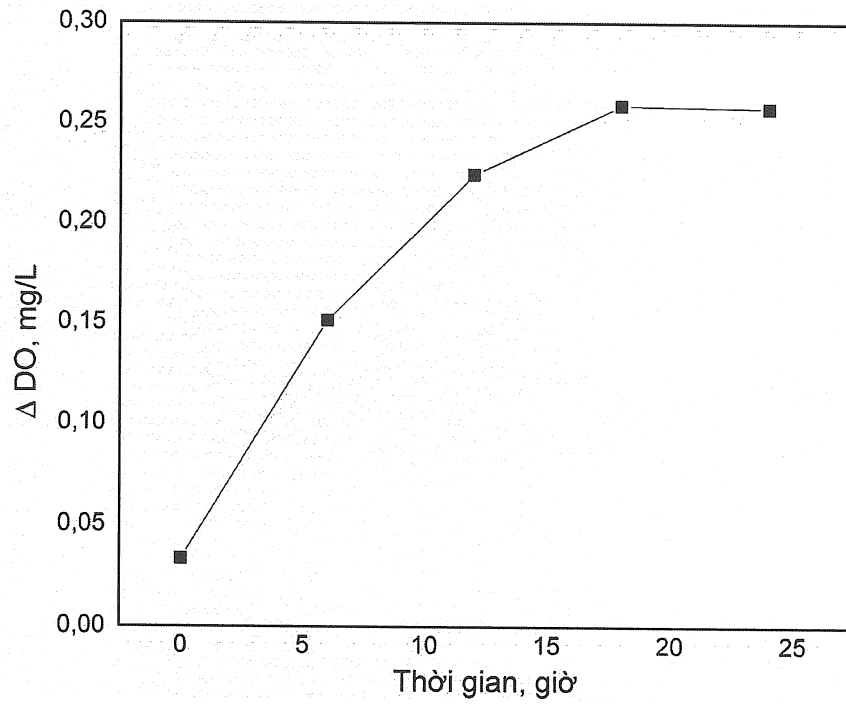
a) chuẩn bị ống phản ứng sinh học bằng cách nhồi giá thể được chọn từ đá bọt, gốm xốp, nhựa xốp hoặc than tre vào ống phản ứng hình trụ có đường kính từ 8 đến 12 mm, chiều dài từ 10 đến 20 cm được uốn cong thành hình chữ U, trong đó lượng giá thể được nhồi bằng $\frac{3}{4}$ thể tích ống và tỷ lệ giữa kích thước của giá thể với đường kính ống là từ 1/16 đến 1/30;

b) cố định vi sinh vật lên giá thể bằng cách bơm tuần hoàn môi trường thu được từ nguồn nước cần xác định nhu cầu oxy hóa BOD₅ chứa vi sinh vật hiếu khí được sục không khí bão hòa với tốc độ dòng chảy không quá 1m/s để hấp phụ vi sinh vật có trong môi trường này lên giá thể; và

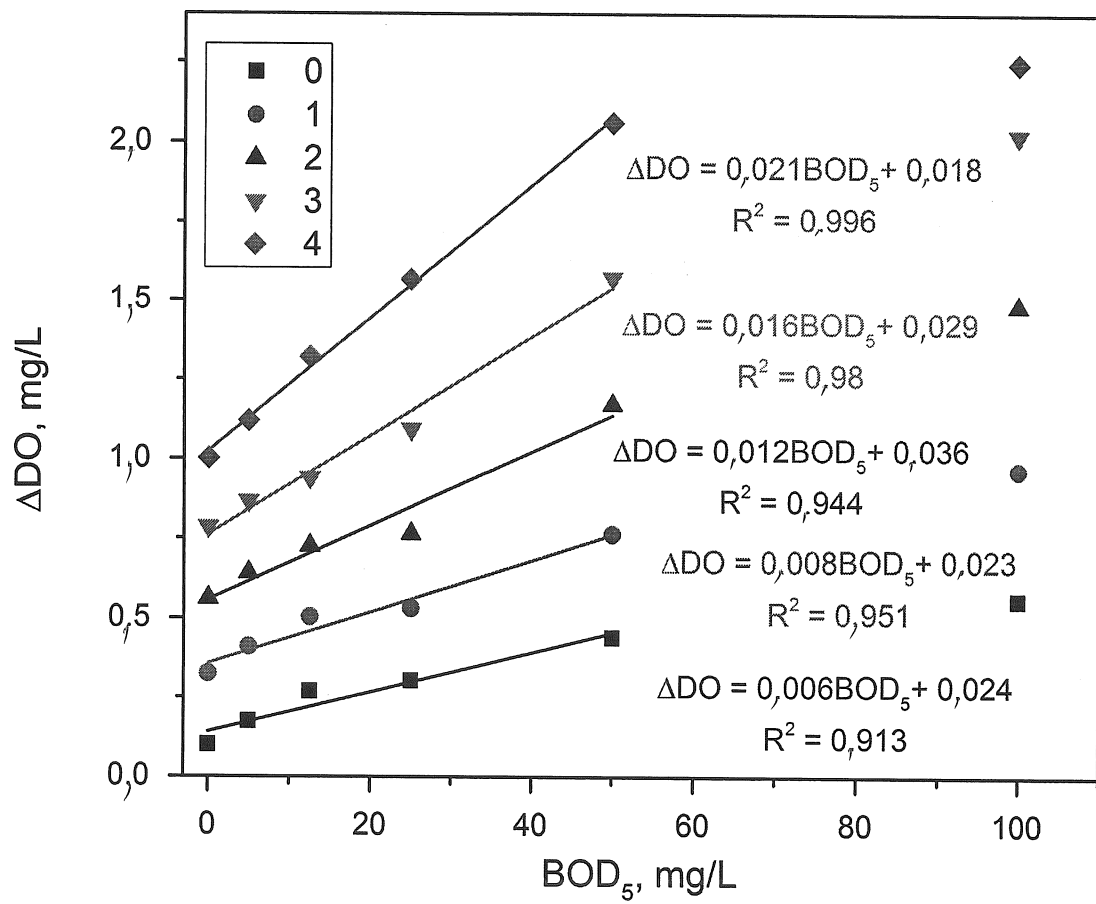
c) ổn định hoạt tính của ống phản ứng sinh học bằng cách bằng cách sau mỗi khoảng thời gian cố định vi sinh vật lên giá thể, tiến hành bơm dung dịch glucoza-axit glutamic (GGA) có giá trị BOD₅ là 25 mg/L được bão hòa oxy qua ống phản ứng và xác định giá trị nhu cầu oxy hóa (DO) bằng cách đo nồng độ oxy hòa tan trước và sau khi bơm dung dịch GGA này qua ống phản ứng sinh học, lặp lại quá trình cố định vi sinh vật lên giá thể đến khi thu được giá trị DO giữa hai lần đo liên tiếp không đổi, thu được ống phản ứng sinh học để xác định nhu cầu sinh hóa BOD₅ với hoạt tính ổn định.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó thời gian định kỳ để xác định giá trị DO của ống phản ứng sinh học là 6 giờ và giá trị DO của ống phản ứng sinh học được xác định thông qua sự chênh lệch về nồng độ oxy hòa tan của dung dịch GGA tại đầu vào và đầu ra của ống phản ứng sinh học được uốn cong hình chữ U này.

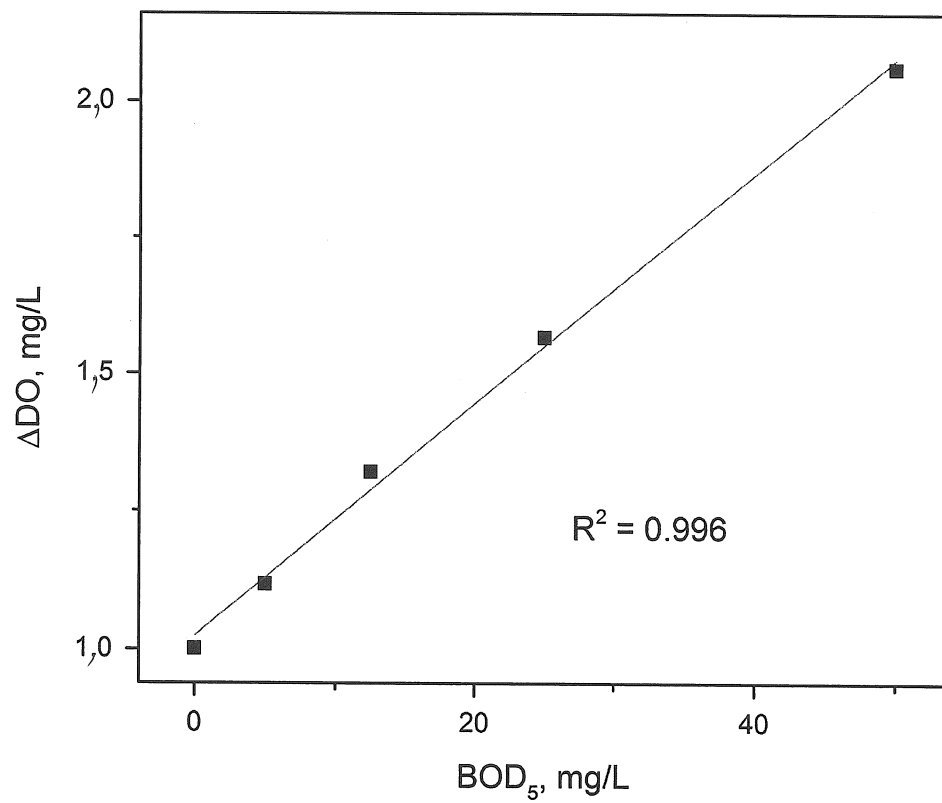
HÌNH 1



HÌNH 2



HÌNH 3



HÌNH 4

