



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0038398

(51)⁷ G01N 33/18; C12Q 1/00

(13) B

(21) 1-2020-00210

(22) 13/01/2020

(45) 25/01/2024 430

(43) 25/09/2020 390

(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); Lê Thị Bảo Ngọc (VN).

(54) PHƯƠNG PHÁP XÂY DỰNG DUNG DỊCH CHUẨN CHO CẢM BIẾN SINH HỌC DỰ ĐOÁN NHU CẦU OXY SINH HÓA BOD₅

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ trong nước thải. Dung dịch chuẩn theo sáng chế có thành phần đơn giản bao gồm glucosơ, axit glutamic và chất ức chế hoặc tăng cường được phối trộn theo tỉ lệ thích hợp, nhờ đó cho phép đơn giản hóa thành phần chất chuẩn, giúp hạn chế ô nhiễm sinh học nhưng vẫn giữ được mối tương quan với giá trị BOD ghi nhận được trên hệ với giá trị BOD₅ đo được bằng phương pháp truyền thống ứng dụng trên các loại nước thải.

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ cho các loại nước thải khác nhau và đề xuất công thức chế tạo dung dịch chuẩn cho nước thải ngành chế biến thực phẩm.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

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 dựa vào dung dịch chuẩn với nồng độ BOD₅ đã biết và có thành phần tương tự như mẫu nước thải cần đo.

Tổng quan tài liệu cho thấy, nhiều cảm biến sinh học ứng dụng đo BOD đã được nghiên cứu phát triển và chỉ ra mối liên hệ với giá trị BOD₅ theo phương pháp truyền thống đối với nước thải tổng hợp và nước thải thực. Cho đến hiện tại, đối với phương

pháp truyền thống, dung dịch Glucozo - Axít Glutamic (GGA) thường được sử dụng làm dung dịch chuẩn để xác định BOD₅, hợp chất này cũng được sử dụng rộng rãi để làm dung dịch hiệu chỉnh cảm biến sinh học ứng dụng đo BOD theo Reshetilov và các cộng sự vào năm 2013 [Sách State of the Art in Biosensors-Environmental and Medical Applications]. Năm 2002, Liu và Mattiasson [Tập chí thuộc Water Research số 36, trang 3786-3802] nhận định dung dịch GGA chỉ chứa hai chất nền là nguồn dinh dưỡng tốt nhất cho hầu hết các vi sinh vật, do đó hỗn hợp trên sẽ bị vi sinh tiêu thụ nhanh hơn so với các hợp chất phân hủy sinh học phức tạp có trong nước thải thực. Chính vì vậy, kết quả dự đoán giá trị BOD từ cảm biến sinh học được hiệu chỉnh bằng dung dịch GGA sẽ thấp hơn giá trị BOD₅ thực tế đo bằng phương pháp truyền thống. Tuy nhiên, năm 2017, Zhao và các cộng sự [Tập chí thuộc Enzyme and Microbial Technology số 98, trang 52-57] đã sử dụng dung dịch GGA hiệu chỉnh cho cảm biến sinh học đo BOD và thu được kết quả dự đoán cao hơn so với giá trị BOD₅ thực tế đo bằng phương pháp truyền thống. Nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt này vẫn chưa được các nhà khoa học quan tâm tìm hiểu.

Để cải thiện mối tương quan với giá trị BOD₅, nước thải tổng hợp với thành phần phức tạp hơn đã được phát triển và thử nghiệm thay vì GGA. Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (Organisation for Economic Cooperation and Development – OCED) đã đưa ra công thức nước thải giả lập và hỗn hợp này đã được sử dụng rộng rãi để hiệu chuẩn cho cảm biến sinh học đo BOD. Nhược điểm chính của việc sử dụng nước thải giả lập là quá trình chuẩn bị phức tạp tốn nhiều công sức và thời gian do hỗn hợp này chứa nhiều chất (pepton, chiết xuất thịt bò, urê, NaCl, CaCl₂.2H₂O, MgSO₄.7H₂O, K₂HPO₄) và chúng có thể bị suy giảm nhanh hơn do sự phân hủy của vi sinh so với dung dịch chuẩn GGA.

Năm 1994, Tanaka và các cộng sự [Tập chí Water Science and Technology số 30, trang 215-227] đưa ra dung dịch có thành phần cũng như giá trị BOD₅ tương tự như nước thải thứ cấp được lấy trong các nhà máy xử lý nước thải. Dung dịch này chứa nhiều thành phần phức tạp như chiết xuất thịt bò, pepton, axít nitrohumic, axít tannic, axít lignin sulfenic, natri laureth sunfat, gum arabic và một số loại khoáng. Năm 1999, Chee và các cộng sự [Tập chí Analytica Chimica Acta trang 185-191] công khai hỗn hợp nước thải tổng hợp có thành phần: axít nitrohumic, gum arabic, natri

ligninsulfonat (NaLS), axit tannic, natri dodecylbenzen sulfonat (LAS), NaNO_3 , NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , MgSO_4 , KCl , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , chiết xuất men, MoO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; tuy nhiên, cũng như nước thải giả lập OECD, nhược điểm chung của các mẫu nước này là thành phần cấu tạo phức tạp và dễ bị ô nhiễm sinh học. Hơn nữa, phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn dựa vào thành phần thực tế trong nước thải tốn rất nhiều thời gian, chi phí và công sức.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế này là đề xuất phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD_5 .

Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD_5 áp dụng cho các loại nước thải khác nhau dựa vào đặc tính của vi sinh có trong nước thải thay vì dựa vào thành phần của mẫu nước thải thực. Bên cạnh đó, nhìn chung nước thải thường chứa các thành phần dễ phân hủy sinh học nên dung dịch chuẩn theo sáng chế có thành phần hữu cơ đơn giản là glucozo và axit glutamic phù hợp với bản chất của nước thải; khác biệt ở chỗ dung dịch chuẩn được khảo sát thêm nồng độ các chất bổ sung phù hợp giúp tăng cường (hoặc ức chế) hoạt tính sinh học của vi sinh có trong nước thải. Nhờ đó, thành phần tạo ra dung dịch chuẩn được đơn giản hóa nhưng vẫn giữ được mối tương quan so với giá trị BOD_5 đo bằng phương pháp truyền thống ứng dụng trên các loại nước thải, cụ thể gồm các bước sau:

- a) phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh học đặc trưng chiếm ưu thế trong nước thải;
- b) vận hành cảm biến sinh học đã được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn GGA với mẫu nước thải thực và xác định độ lệch dương (overestimated) hoặc lệch âm (underestimated) của giá trị BOD dự đoán được bằng cảm biến sinh học với giá trị BOD_5 của mẫu nước thải thực này;
- c) lựa chọn thành phần giúp tăng cường (trong trường hợp độ lệch dương) hoặc ức chế (trong trường hợp độ lệch âm) hoạt tính sinh học của dòng vi sinh vật được nhận diện ở bước (a) để bổ sung vào dung dịch chuẩn GGA;

- d) khảo sát hàm lượng chất bổ sung và đánh giá mức độ tăng cường hoặc ức chế của dung dịch chuẩn đã bổ sung thành phần giúp tăng cường hoặc ức chế so với dung dịch GGA ban đầu để đưa ra công thức dung dịch chuẩn mới;
- e) lặp lại các bước b) và d) với dung dịch chuẩn mới thu được từ bước d) cho đến khi giá trị BOD thu được từ cảm biến sinh học được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn mới không khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với giá trị BOD₅.

Sáng chế sẽ được hiểu rõ hơn qua hình vẽ và phần mô tả chi tiết dưới đây tuy nhiên phần mô tả được đề cập đến chỉ mang tính minh họa chứ không mang tính giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 (a) là đồ thị cột với giá trị NaCl ở trục hoành và mức độ tăng cường hoặc mức độ ức chế của vi sinh ở trục tung và Hình 1 (b) là đường chuẩn với giá trị NaCl ở trục hoành và mức độ tăng cường của vi sinh ở trục tung trong ví dụ thực hiện sáng chế 2.

Hình 2 là đồ thị cột với ngày lấy mẫu được thể hiện ở trục hoành và giá trị BOD được thể hiện ở trục tung trong ví dụ thực hiện sáng chế 5 ứng với các phương pháp đo và mẫu nước thải khác nhau.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ áp dụng cho các loại nước thải khác nhau theo sáng chế bao gồm các bước được mô tả chi tiết dưới đây.

Bước a) là bước phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh học đặc trưng chiếm ưu thế trong nước thải.

Việc phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật được nhận diện ở bước a) có hoạt tính sinh học đặc trưng như phân giải tinh bột, phân giải chất đạm, phân giải chất béo và chịu mặn được thực hiện trên môi trường nuôi cấy vi sinh có cho thêm tương ứng 1% casein, 1% tinh bột hòa tan, 1% môi trường Tween 20 (polyethylene glycol sorbitan monolaurate-C₂₆H₅₀O₁₀) và 1-10% NaCl. Mẫu nước thải sau khi được pha

loãng ở các nồng độ thích hợp sẽ được cấy trên các đĩa petri có môi trường đặc trưng như trên. Ở các đĩa trên ở nhiệt độ thích hợp trong một khoảng thời gian nhất định ta sẽ thu được các khuẩn lạc riêng lẻ nhận biết thông qua hình dạng, màu sắc, kích thước, khả năng phân hủy các hợp chất tương ứng của chúng.

Bước b) là bước vận hành cảm biến sinh học đã được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn GGA với mẫu nước thải thực và xác định độ lệch dương (overestimated) hoặc lệch âm (underestimated) của giá trị BOD dự đoán được bằng cảm biến sinh học (ký hiệu là BOD_{bio}) với giá trị BOD_5 đo được bằng phương pháp truyền thống của mẫu nước thải thực này.

Dung dịch chuẩn GGA gồm 2 thành phần là glucozo và axit glutamic, phối trộn với tỉ lệ 1:1, được sử dụng để hiệu chỉnh cảm biến sinh học. Sau đó, vận hành cảm biến sinh học với nước thải thực và dựa vào đường chuẩn thu được sau quá trình hiệu chỉnh để xác định giá trị BOD_{bio} . Cảm biến sinh học hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn GGA sẽ cho độ lệch dương khi $BOD_{bio} > BOD_5$ và ngược lại, cho độ lệch âm khi $BOD_{bio} < BOD_5$.

Bước c) là bước lựa chọn thành phần giúp tăng cường (trong trường hợp độ lệch dương) hoặc ức chế (trong trường hợp độ lệch âm) hoạt tính sinh học của dòng vi sinh vật được nhận diện ở bước a) để bổ sung vào dung dịch chuẩn GGA.

Thành phần bổ sung này sẽ được lựa chọn tùy thuộc vào chủng vi sinh chiếm ưu thế trong nước thải được nhận diện ở bước a). Trong đó, thành phần giúp tăng cường hoạt tính sinh học được đề cập có thể là hợp chất hữu cơ như xenlulozo, tinh bột hoặc hợp chất vô cơ như các loại muối vô cơ hoặc một số ion khoáng.

Bước d) là bước khảo sát hàm lượng chất bổ sung và đánh giá mức độ tăng cường hoặc ức chế của dung dịch chuẩn đã bổ sung thành phần giúp tăng cường hoặc ức chế so với dung dịch GGA ban đầu để đưa ra công thức dung dịch chuẩn mới.

Dung dịch chuẩn GGA được chuẩn bị và chia thành hai phần: Một phần chỉ chứa dung dịch GGA được vận hành trên hệ cảm biến sinh học để ghi nhận giá trị đáp ứng nền (X_0); phần còn lại được cải tiến bằng cách thêm chất bổ sung được lựa chọn ở bước c) với hàm lượng nhất định được vận hành trên hệ để ghi nhận giá trị đáp ứng thực (X_t). Mức độ tăng cường và ức chế của vi sinh bởi chất bổ sung sẽ được tính theo phương trình sau:

$$\text{Mức độ tăng cường} = \frac{X_t - X_0}{X_0} \times 100\%, \%$$

$$\text{Mức độ ức chế} = \frac{X_0 - X_t}{X_0} \times 100\%, \%$$

Dựa vào độ lệch của giá trị BOD_{bio} với giá trị BOD_5 tính toán ở bước b), xác định khối lượng chất bổ sung sao cho mức độ tăng cường hoặc ức chế phù hợp với độ lệch dương hoặc độ lệch âm đã xác định.

Bước e) lặp lại bước b) với dung dịch chuẩn mới thu được từ bước d) và bước d) cho đến khi giá trị BOD thu được từ cảm biến sinh học được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn mới không khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với giá trị BOD_5 .

Sử dụng dung dịch hiệu chuẩn mới để hiệu chỉnh lại cảm biến sinh học và sử dụng cảm biến sinh học đã được hiệu chỉnh để dự đoán giá trị BOD trong nước thải thực. Sau đó, so sánh với giá trị BOD_5 thu nhận được bằng phương pháp truyền thống, từ đó, so sánh sự khác biệt về mặt thống kê giữa giá trị BOD_{bio} và giá trị BOD_5 . Nếu vẫn còn tồn tại độ lệch nhất định giữa hai giá trị ở bước b), tiến hành thay đổi hàm lượng chất tăng cường hoặc ức chế ở bước d) cho đến khi giá trị BOD thu được từ cảm biến sinh học được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn mới không khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với giá trị BOD_5 .

Mô tả chi tiết việc áp dụng phương pháp trên cho nước thải chế biến thực phẩm được trình bày trong phần ví dụ dưới đây. Từ đó, xác định được công thức chế tạo dung dịch chuẩn cho cảm biến sinh học dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD_5 cho nước thải ngành chế biến thực phẩm theo sáng chế gồm ít nhất các thành phần:

(i) dung dịch chứa glucozơ và axit glutamic với tỉ lệ 1:1 được hòa tan trong nước sạch có độ dẫn điện lớn hơn 500 $\mu S/m$ và BOD không lớn hơn 1 mg/L;

(ii) muối vô cơ được thêm vào hỗn hợp (i) ở tỉ lệ thích hợp nhằm tăng cường hoạt tính của vi sinh có trong nước thải thực phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ dưới đây chỉ nhằm minh họa sáng chế theo các phương án ưu tiên mà không làm giới hạn phạm vi yêu cầu bảo hộ.

Ví dụ 1: Phân lập vi sinh, xác định sự hiện diện của chủng vi sinh đặc trưng trong nước thải thực phẩm

Mẫu nước thải chứa vi sinh được lấy từ nước thải nhà máy chế biến thực phẩm sẽ được khuấy trộn với 30 mL dung dịch NaCl 0,85% trong ống nghiệm có nắp đậy có thể tích 50 mL. Dung dịch này sau đó sẽ được pha loãng 10 lần và rút 100 μ L cho vào các đĩa petri chứa môi trường nuôi cấy NA, PDA, Gause I chứa 1% casein, 1% tinh bột hòa tan, 1% Tween 20, 3% NaCl tương ứng cho mỗi nhóm vi sinh có khả năng thủy phân chất đạm, tinh bột, chất béo và khả năng chịu mặn. Các đĩa chứa môi trường nuôi cấy NA, PDA và Gause I được bảo quản ở 30°C trong tối tương ứng ở 48 giờ, 5 ngày, 10 ngày. Quan sát các chủng vi sinh được phân lập thông qua kiểm tra hình thái tế bào, phản ứng nhuộm gram và khả năng phân hủy các hợp chất tương ứng. Kết quả phân lập các chủng vi sinh trong nước thải được thể hiện qua bảng 1, trong đó có sự hiện diện của nhiều chủng vi sinh chịu mặn như *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces*, ...

Bảng 1. Kết quả phân lập và định danh vi sinh vật có trong nước thải chế biến thực phẩm

Phân lập	Hoạt tính sinh học					Định danh
	Chất đạm	Tinh bột	Xenlulozơ	Chất béo	NaCl 3%	
S1	+	+	+	-	+	<i>Streptomyces</i>
B1	+	+	+	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
B2	-	-	-	-	+	<i>Nitrosomonas</i>
B4	-	-	-	-	+	<i>Nitrobacter</i>
B5	+	-	-	-	+	<i>Bacillus cereus</i>

Ví dụ 2: Xác định ảnh hưởng của muối đến hoạt tính sinh học của vi sinh trong nước thải ngành chế biến thực phẩm

Chuẩn bị dung dịch GGA có giá trị BOD₅ là 10 mg/L. Chia dung dịch trên thành hai phần, phần thứ nhất giữ nguyên và vận hành trên hệ cảm biến sinh học để ghi nhận giá trị đáp ứng nền (X_0); phần thứ hai bổ sung lượng NaCl tạo thành các dung dịch có nồng độ từ 0 đến 35 g/L được vận hành trên hệ để ghi nhận ảnh hưởng của nó đến vi sinh thông qua giá trị đáp ứng thực (X_t). Tiến hành đo các mẫu trên hệ cảm biến sinh

học được chế tạo bởi Phạm Thị Thùy Phương và các cộng sự [Tạp chí Environmental Science and Pollution Research số 26, trang 25656-25667, năm 2019]. Cảm biến sinh học này cho phép xác định nhanh và liên tục lượng oxy tiêu thụ bởi vi sinh bằng cách đo giá trị oxy hòa tan trong mẫu trước và sau khi qua ống phản ứng sinh học hay còn gọi là giá trị chênh lệch DO.

Mức độ tăng cường và ức chế của vi sinh bởi dung dịch NaCl sẽ được tính theo phương trình sau:

$$\text{Mức độ tăng cường} = \frac{X_t - X_0}{X_0} \times 100\%, \%$$

$$\text{Mức độ ức chế} = \frac{X_0 - X_t}{X_0} \times 100\%, \%$$

Vẽ đồ thị cột thể hiện mức độ tăng cường hoặc mức độ ức chế của vi sinh đối với các nồng độ NaCl khác nhau (hình 1a) và đồ thị đường chuẩn với mức độ tăng cường (%) ở trục tung và giá trị NaCl (g/L) của mẫu đo ở trục hoành (hình 1b). Kết quả cho thấy dung dịch NaCl có hiệu quả trong việc tăng cường hoạt tính sinh học của vi sinh từ nồng độ 0 đến 10 g/L, trong đó mức độ tăng cường tăng tuyến tính với giá trị NaCl từ 0 đến 5 g/L. Ở giá trị khảo sát cao hơn, hoạt tính sinh học của vi sinh bị ức chế, cụ thể là mức độ ức chế tăng dần theo nồng độ từ 15 đến 35 g NaCl/L.

Ví dụ 3: Xác định hàm lượng NaCl tối ưu thêm vào dung dịch chuẩn nhằm cải thiện mối tương quan giữa giá trị BOD_{bio} và giá trị BOD₅ trên nước thải chế biến thực phẩm

Bước 1: Đo BOD₅ của mẫu nước lấy từ trạm xử lý nước thải nhà máy chế biến thực phẩm. Kết quả đo bằng phương pháp truyền thống cho giá trị BOD₅ là 866 ± 49.94 mg/L.

Bước 2: Chuẩn bị dung dịch GGA chuẩn gốc có giá trị BOD₅ lý thuyết là 200 mg/L và tiến hành pha loãng bằng nước máy cho các giá trị BOD₅ thu được trong khoảng 0; 1,25; 2,5 mg/L. Tiến hành đo các mẫu dung dịch chuẩn và mẫu nước thải trên hệ cảm biến sinh học chế tạo bởi Phạm Thị Thùy Phương và các cộng sự [Tạp chí Environmental Science and Pollution Research số 26, trang 25656-25667, năm 2019] như đã trình bày ở ví dụ 2, dựa vào phương trình đường chuẩn và giá trị chênh lệch DO thu được của mẫu nước thải, dự đoán giá trị BOD_{bio}. Kết quả cho thấy giá trị BOD_{bio} là 1125.72 ± 94.16 mg/L (cao hơn giá trị BOD₅).

Bước 3: Vì dung dịch chuẩn GGA cho kết quả độ lệch dương, tiến hành bổ sung thêm NaCl (đã khảo sát ở ví dụ thực hiện sáng chế 2) vào dung dịch chuẩn giúp tăng cường hoạt tính sinh học của vi sinh có trong nước thải chế biến thực phẩm. Khối lượng NaCl được thêm vào dung dịch GGA chuẩn gốc là 5 mg/L. Kết quả phân tích trên hệ cảm biến sinh học cho giá trị BOD_{bio} là 1077.65 ± 90.05 mg/L (cao hơn giá trị BOD_5).

Bước 4: Lặp lại bước 3 với khối lượng NaCl được thêm vào dung dịch GGA chuẩn gốc là 7 mg/L. Kết quả phân tích trên hệ cảm biến sinh học cho giá trị BOD_{bio} giảm còn 843.40 ± 61.95 mg/L, so sánh với giá trị BOD_5 thu nhận được bằng phương pháp truyền thống, kết quả cho thấy không sự khác biệt về mặt thống kê giữa giá trị BOD_{bio} và giá trị BOD_5 với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Ví dụ 4: Chế tạo dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn được tạo bằng cách cứ mỗi 1 lít nước cất cần 150 mg glucozo và 150 mg axit glutamic đã sấy ở nhiệt độ 103°C đến khối lượng không đổi. Sau đó, bổ sung thêm 7 mg NaCl vào dung dịch trên, khuấy đều và sục khí bão hòa khoảng 30 phút trước khi sử dụng. Dung dịch này được bảo quản ở nhiệt độ phòng. Sau mỗi 6 giờ, kiểm tra nồng độ BOD_5 của dung dịch chuẩn. Kết quả cho thấy nồng độ BOD_5 của mẫu đạt giá trị ổn định trong 30 giờ không có sự khác biệt về mặt thống kê với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

Ví dụ 5: Xác định nồng độ BOD_5 của mẫu nước thải đầu vào và đầu ra của trạm xử lý nước thải nhà máy chế biến thực phẩm dựa vào dung dịch chuẩn GGA-NaCl

Chuẩn bị dung dịch GGA chuẩn gốc (ở ví dụ thực hiện sáng chế 4) và tiến hành pha loãng bằng nước máy cho các giá trị BOD_5 thu được trong khoảng 0; 1,25; 2,5 mg/L. Tiến hành đo các mẫu dung dịch chuẩn và mẫu nước thải trên hệ cảm biến sinh học chế tạo bởi Phạm Thị Thùy Phương và các cộng sự [Tạp chí Environmental Science and Pollution Research số 26, trang 25656-25667, năm 2019] như đã trình bày ở ví dụ 2, dựa vào phương trình đường chuẩn và giá trị chênh lệch DO thu được của mẫu nước thải, dự đoán giá trị BOD_{bio} . Song song với đó, mẫu nước thải cũng được đem đi đo BOD_5 bằng phương pháp truyền thống. Vẽ đồ thị cột với thời gian lấy mẫu được thể hiện ở trục hoành và giá trị BOD được thể hiện ở trục tung như hình 2. Kết

quả cho thấy, trong các mẫu được kiểm tra, giá trị BOD_5 và BOD_{bio} ở hai phương pháp không có sự khác biệt về mặt thống kê với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

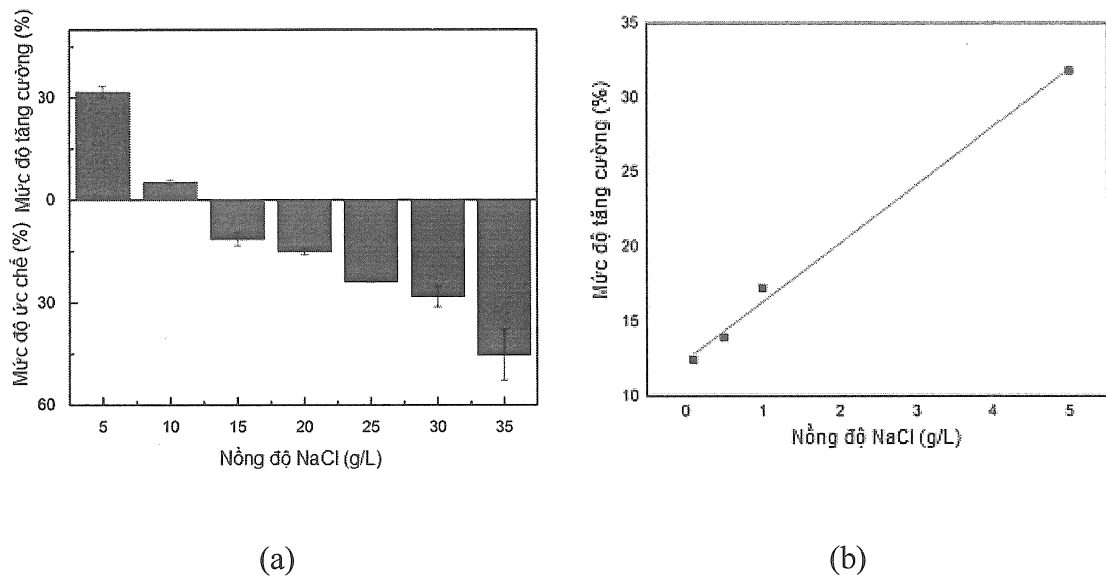
Những lợi ích có thể đạt được

Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD_5 áp dụng cho các loại nước thải khác nhau theo sáng chế cho phép đơn giản hóa thành phần chất chuẩn, hạn chế sự phân hủy sinh học so với các chất chuẩn hiện có. Theo phương pháp này có thể xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học với các đặc tính như: có thành phần đơn giản, có thể sử dụng liên tục trong 30 giờ mà không bị phân hủy sinh học và có thể được sử dụng để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD_5 trong nước thải thực phẩm với độ chính xác cao.

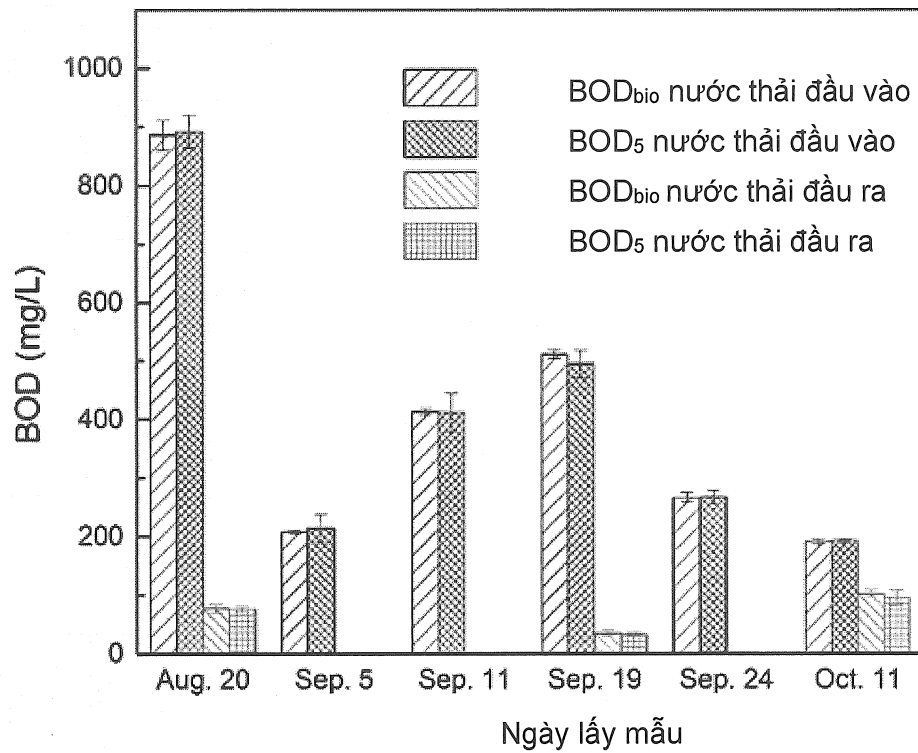
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ bao gồm các bước sau:
 - a) phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật có hoạt tính sinh học đặc trưng chiếm ưu thế trong nước thải;
 - b) vận hành cảm biến sinh học đã được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn glucosơ-axít glutamic (GGA) với mẫu nước thải thực và xác định độ lệch dương (overestimated) hoặc lệch âm (underestimated) của giá trị BOD dự đoán được bằng cảm biến sinh học với giá trị BOD₅ của mẫu nước thải thực này;
 - c) lựa chọn thành phần giúp tăng cường (trong trường hợp độ lệch có giá trị dương) hoặc ức chế (trong trường hợp độ lệch có giá trị âm) hoạt tính sinh học của dòng vi sinh vật được nhận diện ở bước (a) để bổ sung vào dung dịch chuẩn GGA;
 - d) khảo sát hàm lượng chất bổ sung và đánh giá mức độ tăng cường hoặc ức chế của dung dịch chuẩn đã bổ sung thành phần giúp tăng cường hoặc ức chế so với dung dịch GGA ban đầu để đưa ra công thức dung dịch chuẩn mới;
 - e) lặp lại các bước b) và d) với dung dịch chuẩn mới thu được từ bước d) cho đến khi giá trị BOD thu được từ cảm biến sinh học được hiệu chỉnh bằng dung dịch chuẩn mới không khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với giá trị BOD₅.
2. Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ theo điểm 1, trong đó, việc phân lập và nhận diện một số dòng vi sinh vật ở bước (a) có hoạt tính sinh học đặc trưng như phân giải tinh bột, phân giải chất đạm, phân giải chất béo và chịu mặn được thực hiện trên môi trường nuôi cấy vi sinh có cho thêm tương ứng 1% casein, 1% tinh bột hòa tan, 1% môi trường Tween 20 (polyethylen glycol sorbitan monolaurat) và 1-10% NaCl.

3. Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó, nguồn nước thải được đề cập là nước thải của ngành chế biến thực phẩm.
4. Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ theo các điểm bất kỳ từ 1 đến 3, trong đó, thành phần giúp tăng cường hoạt tính sinh học được đề cập là hợp chất hữu cơ như xenlulozo, tinh bột hoặc hợp chất vô cơ như các loại muối vô cơ hoặc ion khoáng.
5. Phương pháp xây dựng dung dịch chuẩn cho hệ cảm biến sinh học sử dụng quần thể vi sinh vật tự nhiên có trong nước thải để dự đoán nhu cầu oxy sinh hóa BOD₅ theo các điểm bất kỳ từ 1 đến 3, trong đó, thành phần gây ức chế hoạt tính sinh học được đề cập là kháng sinh, thuốc bảo vệ thực vật, cặn hoặc ion kim loại nặng như Cu²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺, Ni²⁺, Cr³⁺.



Hình 1



Hình 2