



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

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

(11)



1-0043869

(51)^{2006.01} C02F 1/50; C02F 1/68; C02F 1/66

(13) B

(21) 1-2020-03744

(22) 28/11/2018

(86) PCT/AU2018/051270 28/11/2018

(87) WO 2019/104383 06/06/2019

(30) 2017904797 28/11/2017 AU

(45) 25/03/2025 444

(43) 26/10/2020 391A

(73) NewSouth Innovations Pty Limited (AU)

Rupert Myers Building, Gate 14, Barker Street, UNSW, Sydney, New South Wales
2052, Australia

(72) PASHLEY, Richard Mark (AU); SANCHIS, Adrian Garrido (AU); NINHAM, Barry
(AU).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) PHƯƠNG PHÁP LÀM BẤT HOẠT VI SINH VẬT TRONG DUNG DỊCH NƯỚC

(21) 1-2020-03744

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp, hệ thống và thiết bị để làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước. Phương pháp này bao gồm bước cho bọt khí đi qua dung dịch nước, trong đó khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích và có nhiệt độ ít nhất là 18°C. Hệ thống này bao gồm bộ cấp khí để cung cấp khí chứa ít nhất 10% CO₂ và có nhiệt độ trên 18°C, thiết bị phân phối khí để nhận khí và phân phối khí vào dung dịch nước ở dạng bọt khí. Thiết bị này bao gồm vật liệu thấm khí có bề mặt dòng chảy được tạo kết cấu để dòng dung dịch nước có thể chảy ngang qua bề mặt dòng chảy, khoang được bố trí ở phía đối diện vật liệu thấm khí để cung cấp khí làm bất hoạt vi sinh vật sao cho khí có thể đi qua vật liệu thấm khí và vào dung dịch nước dưới dạng bọt khí.

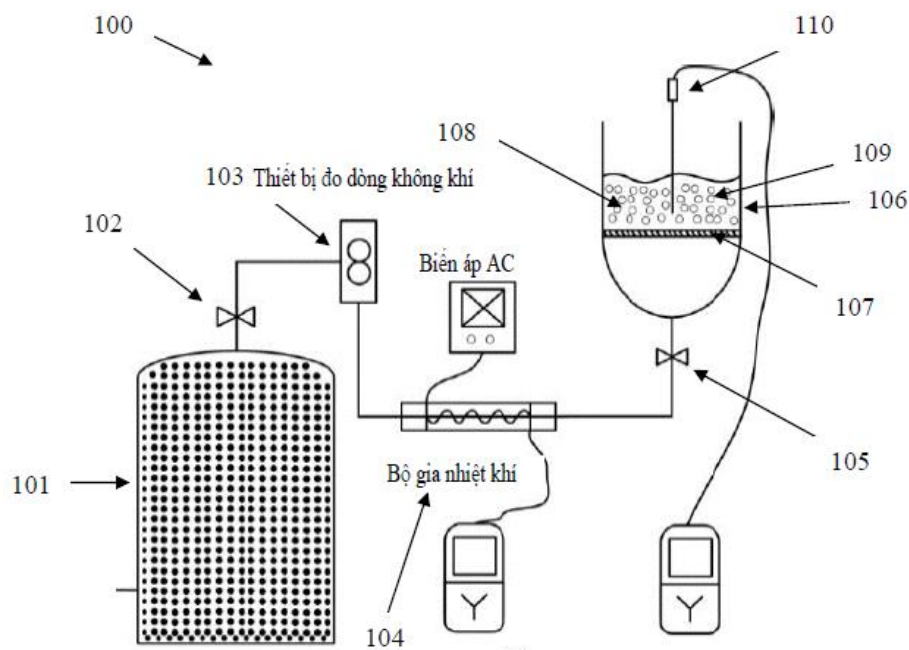


FIG. 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp, hệ thống và thiết bị để làm bất hoạt các vi sinh vật trong dung dịch nước. Phương pháp, hệ thống hoặc thiết bị này có thể được sử dụng để khử trùng dung dịch nước.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việc làm bất hoạt các vi sinh vật, như virus và vi khuẩn, trong dung dịch nước có thể cần thiết trong nhiều trường hợp. Ví dụ, vi sinh vật có mặt trong nước dùng trong sản xuất thực phẩm hoặc dược phẩm có thể làm nhiễm bẩn thực phẩm hoặc dược phẩm và do đó nước này cần được xử lý để bất hoạt vi sinh vật trước khi sử dụng nó. Tương tự, nước thải từ các sử dụng trong nông nghiệp hoặc công nghiệp, hoặc nước thu được từ dòng chảy môi trường, có thể chứa vi sinh vật gây bệnh cần được bất hoạt trước khi nước được sử dụng cho mục đích công nghiệp hoặc nông nghiệp hoặc được sử dụng cho nước uống.

Nước thải từ các hoạt động của con người thường chứa virus đường ruột của người như virus viêm gan và rotavirus và các vi khuẩn như *E. coli*. Nếu nước này được tái sử dụng, ví dụ trong nông nghiệp, nó phải được khử trùng.

Nhiều phương pháp khác nhau để làm bất hoạt virus, vi khuẩn và các vi sinh vật khác trong nước và dung dịch nước là đã biết. Các phương pháp này bao gồm xử lý bằng nhiệt, xử lý bằng hóa chất (ví dụ ozon), chiếu xạ (ví dụ xử lý bằng tia cực tím), xử lý áp suất cao và lọc (ví dụ lọc màng). Nhiều trong số các phương pháp này, đặc biệt là xử lý nhiệt, đòi hỏi nhiều năng lượng. Các công nghệ xử lý hiệu quả hơn về mặt năng lượng là rất cần thiết.

Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) trong các hướng dẫn của họ về chất lượng nước uống đã so sánh các mức bất hoạt bằng nhiệt cho các loại vi khuẩn và virus khác nhau trong chất lỏng nóng. Họ kết luận rằng nhiệt độ trên 60°C sẽ bất hoạt hiệu quả cả virus và vi khuẩn. Khi nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 65°C, việc bất hoạt vi khuẩn sẽ xảy ra nhanh hơn so với bất hoạt virus. Các nghiên cứu này chỉ ra rằng ở nhiệt độ nước 60°C, *E. coli* cần 300 giây để đạt đến tỷ lệ giảm 1,5 log so với 1800 giây đối với

virut như enterovirut, echovirut 6, coxsackievirut B4 và coxsackievirut B5 để đạt đến tỷ lệ giảm 4 log.

Sẽ mong muốn có thể tạo ra phương pháp thay thế để làm bất hoạt virut, vi khuẩn hoặc các vi sinh vật khác trong dung dịch nước. Sẽ là có lợi nếu tạo ra phương pháp mà không cần sử dụng áp suất cao, có thể được tiến hành ở giá thành tương đối thấp và/hoặc không đòi hỏi nhiều năng lượng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất phương pháp làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước, phương pháp này bao gồm bước:

cho bọt khí đi qua dung dịch nước, trong đó khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích và có nhiệt độ bằng ít nhất 18°C khi khí này tiếp xúc lần đầu với dung dịch nước.

Theo một phương án, vi sinh vật là tảo, động vật nguyên sinh, nấm hoặc bào tử. Theo một phương án, vi sinh vật là virut hoặc vi khuẩn. Theo một phương án, dung dịch nước chứa kết hợp của một hoặc nhiều virut và một hoặc nhiều vi khuẩn, và phương pháp được sử dụng để bất hoạt virut và vi khuẩn trong dung dịch nước.

Cụ thể là, bọt khí được cho đi qua dung dịch nước trong khi dung dịch nước được phơi dưới áp suất khí quyển hoặc xấp xỉ áp suất khí quyển. Dung dịch nước có thể, ví dụ, được phơi dưới áp suất nằm trong khoảng từ 0,9 đến 1,5 bar.

Theo một phương án, bọt khí có đường kính nằm trong khoảng từ 0,1 mm đến 7 mm, ví dụ từ 1 mm đến 3 mm.

Theo một phương án, khí chứa từ 50% đến 100% CO₂ theo thể tích. Theo phương án khác, khí chứa từ 10% đến 50% CO₂ theo thể tích.

Theo một phương án, khí có nhiệt độ cao hơn 100°C. Theo phương án khác, khí có nhiệt độ nằm trong khoảng từ 18°C đến 100°C.

Theo một phương án, bọt khí được tạo ra bằng cách cho khí đi qua vật liệu xốp khi tiếp xúc với dung dịch nước, nhờ đó tạo ra bọt khí trên bề mặt của vật liệu khi tiếp xúc với dung dịch nước.

Theo một phương án, bọt khí chiếm từ 10% đến 60% tổng thể tích của thể kết hợp dung dịch nước và bọt khí khi bọt khí đi qua dung dịch nước.

Theo một phương án, nhiệt độ khối của dung dịch nước nằm trong khoảng từ 18°C đến 80°C, ví dụ từ 18°C đến 55°C hoặc từ 18°C đến 50°C.

Theo một phương án, dung dịch nước có nhiệt độ khối nằm trong khoảng từ 18°C đến 55°C, và khí có nhiệt độ cao hơn nhiệt độ khối của dung dịch nước.

Theo một phương án, dung dịch nước chứa chất ức chế sự kết tụ bọt khí. Chất ức chế sự kết tụ bọt khí có thể, ví dụ, được chọn từ nhóm gồm NaCl, sucroza, chất nhũ hóa và chất hoạt động bề mặt.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất hệ thống làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước, hệ thống này bao gồm:

- bộ cấp khí được tạo kết cấu để cung cấp khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích, khí này có nhiệt độ cao hơn ít nhất 18°C;
- thiết bị phân phối khí, thiết bị phân phối khí này được tạo kết cấu để nhận khí cấp và phân phối khí vào dung dịch nước ở dạng bọt khí.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất thiết bị làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước, thiết bị này bao gồm:

- vật liệu thấm khí, vật liệu này có bề mặt dòng chảy ở một phía của nó mà được tạo kết cấu để giúp cho dòng dung dịch nước có thể chảy ngang qua bề mặt dòng chảy,
- khoang được bố trí ở phía đối diện của vật liệu thấm khí để cung cấp khí làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước sao cho khí có thể đi qua vật liệu thấm khí và vào dung dịch nước chảy qua bề mặt dòng chảy dưới dạng bọt khí.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Sáng chế sẽ được mô tả thêm, bằng các ví dụ chỉ nhằm minh họa, với sự tham khảo các hình vẽ đi kèm, trong đó:

Fig. 1 là sơ đồ hệ thống/thiết bị được sử dụng trong các ví dụ để đánh giá tác dụng của việc cho khí N₂, CO₂, Ar, không khí và O₂ đi ở các nhiệt độ khác nhau qua dung dịch nước trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí. Khí được bơm qua bộ gia nhiệt (bộ gia nhiệt bằng điện) mà duy trì nhiệt độ khí chỉ cao hơn bề mặt chất nung kết ở nhiệt độ cụ thể, tùy vào thử nghiệm. Trong các ví dụ được mô tả ở đây, để của thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí được lắp thủy tinh nung kết cỡ lỗ 40-100 μm (loại 2) có

đường kính 135 mm. Cặp nhiệt được sử dụng để đo nhiệt độ của khí trong bộ gia nhiệt khí và nhiệt độ của dung dịch nước trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí.

Fig. 2 là đồ thị phân bố kích thước *E. coli* đối với *E. coli* ATCC 15597 cho 1×10^6 tế bào/ml trong NaCl 0,17M sử dụng DLS ở 25°C (pic (trung bình/diện tích) ở 1601 d.nm).

Fig. 3 là hình ảnh của thiết bị được sử dụng trong các ví dụ trong đó khí đốt được sử dụng làm khí. Hình ảnh này thể hiện ống xả của máy phát (Honda EM2200) được lắp vào van cung cấp dòng khí xả 27 l/phút qua thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí.

Fig. 4 là hình ảnh của các đĩa petri từ thử nghiệm mảng hai lớp đối với virus MS2 từ các mẫu được lấy từ dung dịch NaCl 0,17M trong BCE sau (a) 0, (b) 0,75, (c) 2,25 và (d) 3 phút xử lý với CO₂ có nhiệt độ đầu vào bằng 200°C như được mô tả trong các ví dụ.

Fig. 5 là đồ thị hệ số sống sót của virus MS2 log(PFU\PFU₀) theo thời gian phơi (phút) với sự tạo bọt khí các khí khác nhau (không khí, oxy, nitơ, cacbon dioxit hoặc agon ở nhiệt độ đầu vào bằng 200°C hoặc khí đốt từ máy phát ở 60°C) trong dung dịch NaCl 0,17M.

Fig. 6 là đồ thị hệ số sống sót của *E. coli* log(PFU\PFU₀) theo thời gian phơi (phút) với sự tạo bọt khí các khí khác nhau (không khí, oxy, nitơ, cacbon dioxit hoặc agon ở nhiệt độ đầu vào bằng 150°C, khí đốt từ máy phát ở 58°C, oxy ở 20°C hoặc không khí ở 20°C) trong dung dịch NaCl 0,17M.

Fig. 7 là đồ thị hệ số sống sót của virus MS2 log(PFU\PFU₀) theo thời gian phơi (phút) với sự tạo bọt khí cacbon dioxit ở nhiệt độ đầu vào CO₂ khác nhau (205°C, 150°C, 100°C, 11°C và 20°C) trong dung dịch NaCl 0,17M.

Fig. 8 là đồ thị hệ số sống sót của virus MS2 log(PFU\PFU₀) theo thời gian phơi (phút) với sự tạo bọt khí cacbon dioxit có nhiệt độ đầu vào bằng 22°C ở tốc độ dòng là 27 l/phút hoặc 20 l/phút trong dung dịch NaCl 0,17M.

Fig. 9 là hình vẽ phối cảnh mặt cắt ngang của thiết bị phản ứng dòng liên tục (phương án theo khía cạnh thứ ba) để thực hiện phương pháp theo sáng chế theo cách liên tục dưới dạng dung dịch nước chảy qua thiết bị phản ứng kiểu dòng chảy.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất phương pháp làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước, phương pháp này bao gồm bước:

cho bột khí đi qua dung dịch nước, trong đó khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích và có nhiệt độ là ít nhất 18°C khi khí tiếp xúc lần đầu với dung dịch nước.

Phương pháp này (đôi khi trong bản mô tả được gọi là “phương pháp theo sáng chế”) có thể bất hoạt virus và vi khuẩn lây lan qua nước uống trong dung dịch nước mà không cần đun sôi dung dịch nước hoặc tăng nhiệt độ khối của dung dịch nước đến nhiệt độ lớn hơn khoảng 60°C.

Như được sử dụng trong bản mô tả, “làm bất hoạt vi sinh vật” chỉ việc ức chế hoặc làm giảm khả năng sống của vi sinh vật hoặc làm giảm lượng vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước. Cụ thể, việc làm bất hoạt vi sinh vật sẽ tiêu diệt vi sinh vật sao cho vi sinh vật không còn có khả năng sống.

Bột khí có thể được cho đi qua dung dịch nước trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí.

Thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí (BCE) thường là các vật chứa hình trụ trong đó khí được đưa vào qua thủy tinh frit có lỗ rỗng ở đáy cột tạo ra dòng liên tục của bột khí dâng lên trong pha lỏng [1]. Chúng được sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp sinh học, hóa học và hóa dầu [2]. Trong ngành công nghiệp nước thải, chúng được sử dụng làm thiết bị phản ứng cho quá trình clo hóa, oxy hóa và lên men [3].

BCE có một số ưu điểm so với các hệ thống khác để cho khí tiếp xúc với chất lỏng. Các BCE tạo ra mức tiếp xúc lớn cho các phản ứng hóa học giữa khí và chất lỏng, và sự chuyển nhiệt và khối tốt giữa khí và chất lỏng [1]. Nếu việc ức chế kết tụ bột khí có thể được cảm ứng để kiểm soát kích thước bột khí, các ưu điểm này sẽ cải thiện với diện tích mặt phân giới hiệu quả được tăng cường. Bột khí của nhiều khí kết lại dưới dạng bột khí đi qua dung dịch nước. Việc sử dụng khoảng các chất điện phân mạnh trong BCE sẽ ức chế sự kết tụ bột khí này và cho phép tạo ra bột khí mật độ cao (đường kính 1–3 mm) [4]. Sự ức chế kết tụ bột khí bằng muối cụ thể ở nồng độ sinh lý và nồng độ cao hơn (0,17 M) là hiện tượng đã được nghiên cứu nhiều từ năm 1993 [4]. Cho đến nay nó vẫn chưa được giải thích rõ. Bột khí thường không kết tụ ở nồng độ lớn hơn 0,17

M của NaCl, trong khi bột khí của gần như tất cả các khí đều kết tụ ở dưới nồng độ này (xem phần tham khảo [4] cho kết quả chi tiết). Muối được bổ sung ở NaCl 0,17M sẽ ức chế sự kết tụ bột khí và làm tăng hiệu suất của BCE bằng cách tạo ra diện tích mặt phân giới khí-nước cao hơn [4]. Trong các thử nghiệm được báo cáo trong các ví dụ thực hiện sáng chế, tất cả các nghiên cứu được tiến hành trong dung dịch NaCl 0,17M, mà tạo ra mức độ kết tụ bột khí tương tự đối với nhiều khí khác nhau được sử dụng.

Sự bất hoạt coliform trong phân sử dụng BCE đã được mô tả gần đây bởi Xue *et al* [8]. Trong quy trình được mô tả trong tài liệu này, coliform trong phân được bất hoạt bằng cách sử dụng bột khí nóng (ở 150°C) của không khí và nitơ. Quy trình BCE được sử dụng để bất hoạt coliform trong dung dịch trong khi vẫn duy trì nhiệt độ dung dịch cột tương đối thấp.

Theo ít nhất là các phương án ưu tiên, phương pháp theo sáng chế, sử dụng khí chứa ít nhất 10% cacbon dioxit theo thể tích, tạo ra ưu điểm không ngờ so với quy trình được mô tả trong Xue *et al*. Ví dụ, theo một số phương án, bột khí chứa ít nhất 10% cacbon dioxit theo thể tích là có hiệu quả trong việc làm bất hoạt vi sinh vật, bao gồm virus và vi khuẩn, trong dung dịch nước, ngay cả khi khí có nhiệt độ thấp hơn 150°C, và ngay cả ở nhiệt độ trong phòng (khoảng 22°C). Việc sử dụng khí chứa ít nhất 10% cacbon dioxit theo thể tích do đó tạo ra cơ chế thay thế để làm bất hoạt vi sinh vật tách biệt với sự bất hoạt do nhiệt được mô tả trong Xue *et al*. Kết quả là, có thể cần việc gia nhiệt khí ít hơn bằng cách sử dụng các phương án của phương pháp theo sáng chế. Ngoài ra, theo một số phương án, bột khí chứa ít nhất 10% cacbon dioxit theo thể tích thể hiện sự kết tụ trong dung dịch nước ít hơn so với bột khí của không khí và nhiều khí khác, ngay cả khi không có mặt chất ức chế sự kết tụ bột khí. Do đó, theo một số phương án, không cần thiết phải bao gồm chất ức chế sự kết tụ bột khí trong dung dịch nước để ức chế sự kết tụ của bột khí. Ngược lại, khi sử dụng bột khí của các khí khác, như không khí hoặc nitơ, trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí, chất ức chế sự kết tụ bột khí thường cần được bao gồm trong dung dịch nước để ức chế sự kết tụ của bột khí.

Khi được dùng làm chất lưu siêu tới hạn hoặc ở áp suất cao, cacbon dioxit trước kia đã được sử dụng thành công để bất hoạt vi khuẩn và virus. Các nghiên cứu khác đã so sánh tỷ lệ bất hoạt của nấm men bánh mỳ (*Saccharomyces cerevisiae*) khi sử dụng hệ thống giảm áp do nổ với CO₂, N₂, N₂O và Ar ở các điều kiện áp suất và nhiệt độ cao

khác nhau. Các nghiên cứu này đã phát hiện ra rằng CO₂ và N₂O đạt được tỷ lệ bất hoạt cao hơn so với các khí khác. Điều này là do tính tan của chúng trong nước và do đó là sự hấp thụ bởi các tế bào [17]. Ngược lại với các quy trình được dùng trong các nghiên cứu này [14-17], sáng chế có hiệu quả trong việc làm bất hoạt vi sinh vật mà không cần sử dụng áp suất cao. Không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, được tin rằng hiệu quả của phương pháp theo sáng chế là do, ít nhất một phần, bề mặt tiếp xúc CO₂-chất lỏng lớn được tạo ra bằng cách cho bọt khí đi qua dung dịch nước. Điều này làm tăng lượng cacbon dioxid hòa tan trong dung dịch tạo ra kết quả tương tự với kết quả đạt được bằng cách tăng áp suất trong quy trình cacbon dioxid pha đặc ngay cả khi, trong dung dịch nước được để ở áp suất khí quyển, áp suất vẫn xấp xỉ 1 atm.

Dung dịch nước

Thuật ngữ “dung dịch nước” chỉ chất lỏng trong đó nước là dung môi duy nhất hoặc chiếm ít nhất 50% khối lượng tổng các dung môi trong chất lỏng. Dung dịch nước có thể là một phần nhũ tương hoặc vi nhũ tương, như thành phần chứa nước của nhũ tương hoặc vi nhũ tương dầu/nước. Dung dịch nước có thể chứa nước và đồng dung môi có thể trộn lẫn với nước, như metanol hoặc etanol, với điều kiện là nước chứa ít nhất 50% khối lượng các dung môi có mặt. Theo một số phương án, nước chứa ít nhất 80%, ví dụ 80% đến 100%, 90% đến 100%, 98% đến 100%, 99% đến 100%, 80% đến 99% hoặc 90% đến 99%, khối lượng các dung môi trong dung dịch nước.

Dung dịch nước, có thể, ví dụ, là nước chứa vi sinh vật cần được xử lý để tạo ra nước uống. Ví dụ, sáng chế có thể được dùng để xử lý nước từ dòng chảy môi trường, như sông hoặc hồ, chứa vi sinh vật gây bệnh tiềm ẩn để giảm lượng vi sinh vật đến mức thấp phù hợp mà nước là thích hợp để sử dụng làm nước uống cho người hoặc thích hợp để sử dụng trong nông nghiệp.

Theo một số phương án, dung dịch nước là nước thải từ hoạt động sử dụng trong nông nghiệp chứa virus, vi khuẩn và/hoặc các vi sinh vật khác, và nước được xử lý để bất hoạt virus, vi khuẩn và/hoặc các vi sinh vật khác trước khi tái sử dụng nước cho hoạt động nông nghiệp tiếp theo hoặc trước khi cho thoát nước vào môi trường.

Theo các phương án khác, dung dịch nước có thể là môi trường nuôi cấy từ quá trình lên men hoặc thiết bị phản ứng sinh học chứa vi khuẩn dùng để sản xuất các protein. Một vấn đề với các quy trình lên men thông thường sử dụng vi khuẩn để sản xuất protein

là làm cách nào để vừa dùng sự sinh trưởng của vi khuẩn lại vẫn tách được protein mong muốn. Việc tách các protein mong muốn có thể là khó khăn trong một số trường hợp, ví dụ, đối với các protein kỵ nước hoàn toàn hoặc một phần mà có xu hướng “kết thành cục” với nhau bên trong các tế bào được giữ lại với nhau bằng “lực kỵ nước”. Theo một số phương pháp trước đây, các protein được tách và chiết bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt cation chuỗi đơn phá hủy màng tế bào bằng tác dụng tẩy rửa. Sau đó, chất hoạt động bề mặt cation bọc protein kỵ nước, và tách các cục kết tụ thành các đơn vị phân tử riêng rẽ theo yêu cầu, bằng lực đẩy tĩnh điện giữa chúng, sau đó tích điện bởi lớp phủ chất hoạt động bề mặt cation của chúng. Tuy nhiên, chất hoạt động bề mặt sau đó cần được loại bỏ khỏi protein, ví dụ bằng cách cho chất hoạt động bề mặt và protein đi qua cột trao đổi ion, mà có thể là tốn kém. Phương pháp theo sáng chế đề xuất cách thay thế để tiêu diệt vi khuẩn. Ngoài ra, trong trường hợp các protein kỵ nước, việc khử khí hệ thống có thể được sử dụng để tách các protein kỵ nước.

Nước có nhiệt độ bay hơi cao. Nhiệt bay hơi (còn được đề cập đến là entanpy hóa hơi hoặc nhiệt hóa hơi) là sự thay đổi entanpy cần để chuyển một lượng chất xác định từ dạng lỏng thành dạng khí ở áp suất xác định. Đối với chất lỏng có nhiệt bay hơi cao, cần nhiều nhiệt để hóa hơi lượng chất lỏng xác định hơn so với chất lỏng có nhiệt bay hơi thấp. Do nhiệt bay hơi của nước cao, việc cho khí, đặc biệt là khi khí được sử dụng có độ ẩm thấp, đi qua dung dịch nước thường sẽ ít gây ra việc làm nóng khối chất lỏng hơn (do hơi được giữ lại bởi bọt khí) so với chất lỏng có nhiệt bay hơi thấp.

Theo một số phương án, nhiệt độ khối của dung dịch nước trong khi bọt khí của khí được cho đi qua dung dịch nước là từ 18°C đến 80°C, ví dụ từ 18°C đến 60°C, từ 18°C đến 55°C, từ 18°C đến 50°C, từ 20°C đến 80°C, từ 20°C đến 60°C, từ 20°C đến 55°C hoặc từ 20°C đến 50°C. Nhiệt độ khối của chất lỏng là nhiệt độ của chất lỏng cách xa bề mặt, ví dụ bề mặt của vật chứa chứa chất lỏng hoặc bề mặt của bọt khí đi qua chất lỏng. Trong phương pháp theo sáng chế, nhiệt độ khối của dung dịch nước có thể được xác định bằng cách đo nhiệt độ của dung dịch nước ở một điểm cách xa bề mặt. Vì bọt khí đi qua dung dịch nước trong phương pháp theo sáng chế gây ra sự trộn nhanh dung dịch nước, nhiệt độ khối của dung dịch nước thường có thể được xác định bằng một phép đo nhiệt độ của dung dịch nước sử dụng nhiệt kế thông thường hoặc thiết bị khác để đo nhiệt độ của chất lỏng. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ có thể lựa chọn phương pháp thích hợp để xác định nhiệt độ khối của dung dịch nước tính đến các

yếu tố như, ví dụ, phương pháp được sử dụng để cho bọt khí đi qua dung dịch nước và bình được sử dụng để chứa dung dịch nước, v.v.

Theo một số phương án, nhiệt độ khối của dung dịch nước trước khi cho bọt khí của khí đi qua dung dịch nước là từ 10°C đến 80°C, ví dụ từ 10°C đến 30°C, từ 10°C đến 50°C, từ 18°C đến 80°C, từ 18°C đến 60°C, từ 18°C đến 55°C hoặc từ 18°C đến 50°C. Theo một số phương án, nhiệt độ khối của dung dịch nước có thể thay đổi (tăng hoặc giảm tùy vào khí hoặc hỗn hợp khí cụ thể, và nhiệt độ tương đối của khí và dung dịch nước) khi bọt khí của khí được cho đi qua dung dịch nước.

Chất ức chế sự kết tụ bọt khí có thể được bao gồm trong dung dịch nước. Theo đó, theo một số phương án, dung dịch nước chứa chất ức chế sự kết tụ bọt khí. Theo một số phương án, phương pháp bao gồm bước bổ sung chất ức chế sự kết tụ bọt khí vào dung dịch nước trước bước cho bọt khí của khí đi qua dung dịch nước. Theo các phương án khác, dung dịch nước không chứa chất ức chế sự kết tụ bọt khí, không chứa chất ức chế sự kết tụ bọt khí bổ sung, hoặc không chứa lượng đáng kể chất ức chế sự kết tụ bọt khí hoặc chất ức chế sự kết tụ bọt khí bổ sung.

Như được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “chất ức chế sự kết tụ bọt khí” chỉ chất bất kỳ mà, khi có mặt trong dung dịch nước ở nồng độ cao hơn nồng độ nhất định, sẽ ức chế bọt khí kết tụ trong dung dịch nước. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định xem liệu một chất có phải là chất ức chế sự kết tụ bọt khí hay không. Ví dụ, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể xác định xem liệu một chất có phải là chất ức chế sự kết tụ bọt khí hay không bằng cách bổ sung chất này ở các nồng độ khác nhau vào mẫu dung dịch nước và quan sát bằng mắt tác dụng của chất này đến sự kết tụ của bọt khí, ví dụ bọt khí của không khí, được cho đi qua dung dịch nước. Ví dụ về chất ức chế sự kết tụ bọt khí bao gồm các muối nhất định, ví dụ MgCl_2 , MgSO_4 , NaCl , NaBr , NaNO_3 , Na_2SO_4 , CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KCl , KBr , KNO_3 , NH_4Br , NH_4NO_3 , CsBr , LiCl , LiNO_3 , LiSO_4 , và các đường khác nhau, ví dụ sucroza. Các chất ức chế sự kết tụ bọt khí khác bao gồm chất nhũ hóa và chất hoạt động bề mặt. Theo một số phương án, dung dịch nước là hoặc gồm nước thải, mà có thể đã chứa một hoặc nhiều chất ức chế sự kết tụ bọt khí. Theo một số phương án, nước thải chứa lipid, chất hoạt động bề mặt và/hoặc polyme sinh học.

Bọt khí của khí chứa ít nhất 10% cacbon dioxit theo thể tích thể hiện ít kết tụ

trong dung dịch nước hơn so với bọt khí của không khí, nitơ và nhiều khí khác. Theo đó, trong phương pháp theo sáng chế, không nhất thiết phải bao gồm chất ức chế sự kết tụ bọt khí trong dung dịch nước. Tuy nhiên, theo một số phương án, chất ức chế sự kết tụ bọt khí có thể được bổ sung vào dung dịch nước để ức chế sự kết tụ của bọt khí. Theo các phương án như vậy, chất ức chế sự kết tụ bọt khí thường được bao gồm trong dung dịch nước với lượng có hiệu quả để ức chế bọt khí của khí không kết tụ trong dung dịch nước.

Theo một số phương án, chất ức chế sự kết tụ bọt khí là chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa. Chất hoạt động bề mặt có thể, ví dụ, là chất hoạt động bề mặt không ion, chất hoạt động bề mặt cation, chất hoạt động bề mặt anion (ví dụ xà phòng thông thường), hoặc chất hoạt động bề mặt lưỡng tính. Chất hoạt động bề mặt không ion bao gồm monododexyl octaetylen glycol. Chất hoạt động bề mặt cation bao gồm xetylpýridin clorua. Chất hoạt động bề mặt anion bao gồm natri dodexyl sulphat. Ví dụ về chất nhũ hóa bao gồm lipit, protein và chất béo mà đóng vai trò là chất nhũ hóa. Một số polyme cũng đóng vai trò là chất nhũ hóa, như, ví dụ, natri carboxymetyl xenluloza, methyl xenluloza và polyoxyetylen stearat.

Bọt khí

Phương pháp theo sáng chế bao gồm bước cho bọt khí của khí đi qua dung dịch nước. Khí chứa ít nhất 10% cacbon dioxit theo thể tích. Do đó, khí chứa từ 10% đến 100% cacbon dioxit theo thể tích.

Như người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ biết, lượng tương đối của các thành phần của khí trong bọt khí có thể thay đổi khi bọt khí đi qua dung dịch nước. Ví dụ, khi khí gồm hỗn hợp các khí, một hoặc nhiều trong số các khí này có thể dễ dàng hòa tan trong dung dịch nước hơn các khí khác. Ví dụ khác là, khi bọt khí đi qua dung dịch nước, nước hoặc các thành phần khác của dung dịch nước có thể được làm bay hơi và được kết hợp vào khí trong bọt khí. Trừ khi được quy định khác, việc đề cập trong bản mô tả đến lượng thành phần của khí (ví dụ, phần trăm theo thể tích của CO₂ trong khí), là đề cập đến lượng thành phần trong khí khi khí lần đầu tiếp xúc với dung dịch nước để tạo thành bọt khí trong dung dịch nước. Khí khi lần đầu tiếp xúc với dung dịch nước đôi khi trong bản mô tả được gọi là khí đầu vào.

Như người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này cũng sẽ biết, nhiệt độ của khí

trong bọt khí có thể thay đổi khi bọt khí đi qua dung dịch nước. Trừ khi được quy định khác, việc đề cập trong bản mô tả đến nhiệt độ của khí là đề cập đến nhiệt độ của khí khi lần đầu tiếp xúc với dung dịch nước, tức là, nhiệt độ khí đầu vào.

Theo một số phương án, khí chứa từ 50% đến 100%, ví dụ từ 80% đến 99%, cacbon dioxit theo thể tích.

Theo một số phương án, khí chứa từ 10% đến 98%, ví dụ 10% đến 90%, 10% đến 80%, 10% đến 50%, hoặc 10% đến 20%, cacbon dioxit theo thể tích. Theo một số phương án, khí chứa từ 15% đến 100%, hoặc từ 20% đến 100%, cacbon dioxit theo thể tích.

Cacbon dioxit, là khí nhà kính được cho là chịu trách nhiệm gây ra hiện tượng ấm lên toàn cầu. Nhiều ngành công nghiệp như chôn lấp, nhà máy khí sinh học và nhà máy điện than, thải ra lượng lớn CO₂. Sáng chế có ưu điểm là tạo ra phương pháp để sử dụng khí chứa CO₂ được tạo ra bởi các ngành công nghiệp này.

Nhiệt độ của khí khi tiếp xúc lần đầu với dung dịch nước là ít nhất 18°C.

Theo một số phương án, nhiệt độ của khí khi tiếp xúc lần đầu với dung dịch nước là cao hơn nhiệt độ khối của dung dịch nước. Theo một số phương án, dung dịch nước có nhiệt độ khối nằm trong khoảng từ 18°C đến 55°C, và khí có nhiệt độ cao hơn nhiệt độ khối của dung dịch nước.

Theo một số phương án, nhiệt độ của khí là ít nhất 50°C, ví dụ ít nhất 55°C, ít nhất 60°C hoặc ít nhất 100°C. Theo một số phương án, nhiệt độ của khí là từ 50°C đến 1000°C, 50°C đến 500°C, 50°C đến 400°C, 50°C đến 300°C, 50°C đến 200°C, 50°C đến 150°C, 55°C đến 1000°C, 55°C đến 500°C, 55°C đến 400°C, 55°C đến 300°C, 55°C đến 200°C, 55°C đến 150°C, 60°C đến 1000°C, 60°C đến 500°C, 60°C đến 400°C, 60°C đến 300°C, 60°C đến 200°C hoặc 60°C đến 150°C. Theo một số phương án, nhiệt độ của khí là ít nhất 100°C, ví dụ từ 100°C đến 1000°C, 100°C đến 500°C, 100°C đến 400°C, 100°C đến 300°C, 100°C đến 200°C, 150°C đến 1000°C, 150°C đến 500°C, 150°C đến 400°C, 150°C đến 300°C, 150°C đến 200°C, hoặc 100°C đến 150°C.

Khi bọt khí có nhiệt độ cao hơn nhiệt độ khối của dung dịch nước được đưa vào và được cho đi qua dung dịch nước, lớp bề mặt nóng tạm thời có thể được tạo ra quanh mỗi bọt khí. Ví dụ, khi bọt khí của khí có nhiệt độ cao hơn 100°C được đưa vào và được

cho đi qua dung dịch nước có nhiệt độ khối thấp hơn 100°C , lớp bề mặt nóng tạm thời được tạo ra quanh mỗi bọt khí. Lớp bề mặt nóng tạm thời này có nhiệt độ cao hơn nhiệt độ khối của dung dịch nước. Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, được tin rằng, khi khí có nhiệt độ là 100°C hoặc cao hơn, tương tác của vi sinh vật với lớp bề mặt nóng tạm thời này và chính các bọt khí của khí đã được gia nhiệt đó dẫn đến sự bất hoạt vi sinh vật, ngay cả khi nhiệt độ khối của dung dịch nước thấp hơn nhiệt độ sẽ làm bất hoạt vi sinh vật.

Khi bọt khí đi qua dung dịch nước, lớp bề mặt nóng tạm thời gây ra sự bay hơi của một ít dung dịch nước mà được bắt bởi bọt khí. Điều này dẫn đến việc làm nguội bọt khí khi nó đi qua dung dịch nước và, khi khí bọt khí đi qua dung dịch nước, nhiệt độ và phạm vi của lớp bề mặt nóng tạm thời giảm. Do đó, phạm vi bọt khí có thể bắt được dung dịch nước đã bay hơi tác động đến phạm vi khí làm tăng nhiệt độ khối của dung dịch nước khi bọt khí đi qua dung dịch nước. Khi khí có độ ẩm thấp, sự bay hơi lớn hơn của dung dịch nước có thể xuất hiện dẫn đến nhiều nhiệt năng được sử dụng để hóa hơi hơn sẽ xuất hiện khi khí có hàm lượng nước ban đầu cao hơn. Do sự bay hơi của một ít dung dịch nước khi bọt khí đi qua dung dịch nước, bọt khí có thể được cho đi qua dung dịch nước mà không có sự tăng cơ bản nhiệt độ khối của dung dịch nước. Sáng chế do đó tạo ra phương pháp mà có thể được sử dụng để bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước mà không cần gia nhiệt khối dung dịch đến nhiệt độ có hiệu quả bất hoạt vi sinh vật.

Theo một số phương án, khí khi lần đầu tiếp xúc với dung dịch nước (nghĩa là khí đầu vào) có độ ẩm tương đối thấp. Theo một số phương án, độ ẩm tương đối của khí thấp hơn 50%, ví dụ thấp hơn 40%, thấp hơn 25%, thấp hơn 20% hoặc thấp hơn 10%. Khí có độ ẩm tương đối thấp có thể dễ dàng hấp thụ hơi nước từ dung dịch nước và do đó sẽ dẫn đến sự gia nhiệt khối chất lỏng ít hơn so với khí có độ ẩm tương đối cao.

Theo một số phương án, dung dịch nước chứa chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa. Như được nêu ở trên, chất hoạt động bề mặt có thể đóng vai trò làm chất ức chế sự kết tụ bọt khí. Sự có mặt của chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa trong dung dịch nước cũng có thể làm tăng tỷ lệ bất hoạt vi sinh vật, đặc biệt là khi khí đầu vào có nhiệt độ cao hơn 100°C . Chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa tạo thành lớp phủ quanh bọt khí. Do sự có mặt của chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa ở lớp bề mặt

của bọt khí, nhiệt độ sôi của lớp bề mặt của bọt khí là cao hơn lớp bề mặt bao quanh bọt khí được hình thành khi không có mặt chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa. Kết quả là, lớp bề mặt nóng tạm thời của bọt khí có thể đạt đến nhiệt độ cao hơn so với trong bọt khí được hình thành khi không có mặt chất hoạt động bề mặt hoặc chất nhũ hóa. Việc phơi vi sinh vật dưới lớp bề mặt nóng tạm thời có nhiệt độ cao hơn có thể tăng tỷ lệ bất hoạt vi sinh vật.

Bất ngờ là, khi nhiệt độ của khí thấp hơn 100°C , ví dụ từ khoảng 22°C đến 50°C , phương pháp theo sáng chế có thể vẫn có hiệu quả làm bất hoạt một hoặc nhiều vi sinh vật trong dung dịch nước. Không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, được tin rằng điều này là do bề mặt tiếp xúc CO_2 -chất lỏng lớn được tạo ra bằng cách cho bọt khí đi qua dung dịch nước. Điều này làm tăng lượng cacbon dioxit hòa tan trong dung dịch giả định là tạo ra tác dụng tương tự với tác dụng có thể đạt được bằng cách tăng áp suất trong các quy trình cacbon dioxit pha đặc, thậm chí, khi phương pháp theo sáng chế được tiến hành trong dung dịch nước được đặt dưới áp suất khí quyển, áp suất vẫn xấp xỉ 1 atm. Do đó, theo một số phương án, nhiệt độ của khí thấp hơn khoảng 100°C , ví dụ từ 18°C đến 100°C hoặc từ 22°C đến 100°C . Theo một số phương án, nhiệt độ của khí là từ 18°C đến 50°C hoặc từ 22°C đến 50°C .

Theo một số phương án, khí đầu vào có thể là khí đốt được tạo thành bởi việc đốt nhiên liệu chứa cacbon, như đốt metan, khí tự nhiên, dầu hỏa, than đá, than cốc, than củi, gỗ, khí sinh học, sinh khối hoặc etanol, trong không khí hoặc môi trường khí quyển khác chứa oxy. Theo một số phương án, khí đốt là khí xả của động cơ đốt trong. Khí đốt được tạo ra bởi việc đốt nhiên liệu chứa cacbon trong không khí bao gồm hỗn hợp các khí. Khí tạo thành bởi việc đốt nhiên liệu chứa cacbon trong không khí bao gồm cacbon dioxit và các sản phẩm đốt khác cũng như nitơ và argon (từ không khí). Các sản phẩm đốt khác thường bao gồm nước, cũng như lượng nhỏ các khí khác như CO , H_2 , SO_2 và nitơ oxit.

Khí đốt có thể được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế mà không cần xử lý tiếp. Tốt hơn là, khí đốt có thể được sử dụng ngay sau khi đốt trong khi khí có nhiệt độ tăng từ quy trình đốt.

Việc sử dụng khí đốt trong phương pháp theo sáng chế đem lại một vài ưu điểm. Thứ nhất, phương pháp theo sáng chế đề xuất việc sử dụng khí đốt mà theo cách khác

thường sẽ được xử lý dưới dạng sản phẩm thải loại. Khí đốt có thể có nhiệt độ tăng mà có thể góp phần làm bất hoạt vi sinh vật khi bọt khí đi qua dung dịch nước. Hơn nữa, các khí vi lượng, như CO, H₂, SO₂ và nitơ oxit, có mặt trong khí đốt bản thân chúng có thể có các tác dụng diệt sinh vật góp phần làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước. Hơn nữa, sự có mặt của hơi nước trong khí đốt làm giảm tác dụng làm nguội do bay hơi của cột bọt khí, cho phép khí đốt gia nhiệt dung dịch nước đến mức lớn hơn so với một khí khác có lượng hơi nước thấp hơn.

Khi dung dịch nước được đặt dưới áp suất khí quyển, bọt khí có thể, ví dụ, được đưa vào dung dịch nước bằng cách sử dụng đầu vào khí có áp suất trong khoảng ngay trên áp suất khí quyển, ví dụ trong khoảng từ 1 đến 1,5 atm.

Theo một số phương án, bọt khí được tạo thành bằng cách cho khí đi qua vật liệu xốp, ví dụ thủy tinh xốp nung kết, khi tiếp xúc với dung dịch nước, nhờ đó tạo ra bọt khí trên bề mặt của vật liệu khi tiếp xúc với dung dịch nước. Khi nhiều khí hơn được cho đi qua vật liệu xốp, bọt khí được giải phóng từ bề mặt của vật liệu và dâng lên qua dung dịch nước. Tốt hơn là, nhiệt độ của khí có thể được điều chỉnh trước khi nó tiếp xúc với vật liệu xốp, nhờ đó tạo ra phương thức kiểm soát nhiệt độ khí khi nó tiếp xúc với dung dịch nước. Theo một số phương án, vật liệu xốp là vật liệu nung kết (ví dụ thủy tinh nung kết, vụn thủy tinh hoặc kim loại nung kết như thép không gỉ nung kết) hoặc gốm xốp (ví dụ gốm sét nung). Theo một số phương án, vật liệu xốp có kích thước lỗ nằm trong khoảng từ 1 đến 1000 μm (ví dụ từ 10 đến 500 μm , từ 20 đến 200 μm , từ 40 đến 100 μm , từ 50 đến 80 μm), đặc biệt là từ 40 đến 100 μm . Như sẽ được hiểu, người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này có thể thao tác với kích thước bọt khí bằng cách thay đổi các thông số khác nhau, như kích thước lỗ của vật liệu xốp, độ nhớt của dung dịch nước, sức căng bề mặt của dung dịch nước, tốc độ dòng khí và/hoặc áp suất khí.

Thông thường, bọt khí của khí được cho đi qua dung dịch nước bằng cách cho khí đi qua vật liệu xốp ở dưới đáy của bình hoặc cấu trúc chứa dung dịch nước để tạo ra bọt khí của khí mà sẽ dâng lên qua dung dịch nước.

Do đó, theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước, phương pháp bao gồm bước:

cho khí đi qua vật liệu xốp khi tiếp xúc với dung dịch nước để tạo thành bọt khí của khí trong dung dịch nước, và cho phép bọt khí dâng lên qua dung dịch nước,

trong đó khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích và có nhiệt độ ít nhất là 18°C khi khí tiếp xúc lần đầu với dung dịch nước.

Theo một số phương án, phương pháp được thực hiện trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí (đôi khi được gọi là thiết bị phản ứng cột bọt khí). Thiết bị phản ứng cột bọt khí thường gồm một hoặc nhiều cột hình trụ được bố trí thẳng đứng. Cột bọt khí được tạo kết cấu sao cho khí, ở dạng bọt khí, được đưa vào phần bên dưới của cột và dâng lên qua pha lỏng. Khí thoát ra từ bề mặt trên cùng của pha lỏng có thể được giữ lại. Khí bị giữ lại có thể được tuần hoàn trở lại thiết bị phản ứng cột bọt khí, được gia nhiệt lại và đưa trở lại lần nữa về đáy của cột.

Tốt hơn là, bọt khí có đường kính nằm trong khoảng từ 0,1 mm đến 7 mm, ví dụ 0,1 mm đến 7 mm, 0,1 mm đến 6 mm, 0,1 mm đến 5 mm, 0,1 mm đến 4 mm, 0,1 mm đến 3 mm, 0,1 mm đến 2 mm, 0,1 mm đến 1 mm, 0,5 mm đến 7 mm, 0,5 mm đến 6 mm, 0,5 mm đến 5 mm, 0,5 mm đến 4 mm, 0,5 mm đến 3 mm, 0,5 mm đến 2 mm, 0,5 mm đến 1 mm, 1 mm đến 7 mm, 1 mm đến 6 mm, 1 mm đến 5 mm, 1 mm đến 4 mm, 1 mm đến 3 mm, 1 mm đến 2 mm, 2 mm đến 7 mm, 2 mm đến 6 mm, 2 mm đến 5 mm, 2 mm đến 4 mm hoặc 2 mm đến 3 mm. Bọt khí tốt hơn là được cho đi qua dung dịch nước ở mật độ cao. Thông thường, dung dịch nước trở nên đục do việc đi qua của bọt khí ở mật độ cao. Theo một số phương án, bọt khí chiếm từ 10 đến 60% (ví dụ từ 20 đến 60%, từ 30 đến 60%, từ 40 đến 60%, từ 50 đến 60%, từ 10 đến 50%, từ 20 đến 50%, từ 25% đến 55%, từ 30 đến 50%, từ 40 đến 50%, từ 10 đến 40%, từ 20 đến 40%, từ 30 đến 40%, từ 10 đến 30%, từ 20 đến 30% hoặc từ 10 đến 20%) tổng thể tích của thể kết hợp dung dịch nước và bọt khí khi bọt khí đi qua dung dịch nước.

Khi sử dụng BCE được đặt dưới áp suất khí quyển, bọt khí có áp suất trong cột thường bằng khoảng 1 atm cộng với áp suất thủy tĩnh của chất lỏng trong cột. Khi chúng rời khỏi cột, áp suất của chúng sẽ hạ xuống 1 atm. Bọt khí khô đi vào đáy của cột sẽ nhanh chóng hấp thụ mật độ hơi của nước tương ứng với nhiệt độ của chất lỏng trong cột.

Bọt khí có thể, ví dụ, được cho đi qua dung dịch nước hoặc theo cách liên tục hoặc theo cách gián đoạn. Tốt hơn là, bọt khí được cho đi qua dung dịch nước theo dòng liên tục. Theo các phương án như vậy, bọt khí thường chiếm từ 10 đến 60% tổng thể tích của thể kết hợp dung dịch nước và bọt khí, khi bọt khí đi qua dung dịch nước.

Theo một số phương án, bọt khí được cho đi qua dung dịch nước theo dòng liên tục trong một khoảng thời gian dài hơn khoảng 30 giây, ví dụ trong khoảng thời gian dài hơn khoảng 1 phút. Theo một số phương án, bọt khí được cho đi qua dung dịch nước theo dòng liên tục trong một khoảng thời gian từ 30 giây đến 90 phút, từ 1 phút đến 90 phút, từ 1 phút đến 30 phút, từ 1 phút đến 10 phút, từ 2 phút đến 30 phút hoặc từ 5 phút đến 30 phút.

Theo một số phương án, bọt khí được cho đi qua dung dịch nước ở tốc độ lớn hơn 0,1 lít khí với mỗi lít dung dịch nước trong mỗi phút, ví dụ, từ 0,1 đến 1000, 1 đến 1000, 10 đến 1000 hoặc 10 đến 100 lít khí với mỗi lít dung dịch nước trong mỗi phút.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất hệ thống làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước, hệ thống này bao gồm:

- bộ cấp khí được tạo kết cấu để cung cấp khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích, khí này có nhiệt độ cao hơn ít nhất là 18°C;
- thiết bị phân phối khí, thiết bị phân phối khí được tạo kết cấu để nhận khí cấp và phân phối khí này vào dung dịch nước ở dạng bọt khí.

Các đặc điểm được mô tả liên quan đến khía cạnh thứ nhất có thể cũng được áp dụng cho khía cạnh thứ hai.

Theo một số phương án cụ thể, thiết bị phân phối khí là thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí hoặc thiết bị phản ứng cột bọt khí. Theo một số phương án cụ thể, thiết bị phân phối khí là dây các thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí hoặc thiết bị phản ứng cột bọt khí. Theo một số phương án cụ thể, dây này chứa từ 2 đến 200 BCE, ví dụ từ 5 đến 100 BCE.

Theo một số phương án cụ thể, nguồn cấp khí bao gồm bộ gia nhiệt để gia nhiệt nguồn khí hoặc khí đầu vào để từ đó tạo thành khí có nhiệt độ cao hơn ít nhất 18°C.

Theo một số phương án cụ thể, bộ cấp khí còn bao gồm nguồn khí. Nguồn khí có thể được làm cho phù hợp để cung cấp khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích. Theo một số phương án cụ thể, nguồn khí có thể là sản phẩm có bán trên thị trường, ví dụ, CO₂ trong bình nén (ví dụ, có sẵn từ BOC Gas Australia). Theo một số phương án cụ thể, CO₂ có thể được trộn với một hoặc nhiều khí khác (ví dụ N₂, O₂, Ar) để thu được tỷ lệ mong muốn (ví dụ theo thể tích hoặc áp suất từng phần) của CO₂. Theo một số phương

án, CO₂ có thể được tạo ra tại chỗ, ví dụ, bằng phản ứng hóa học, bao gồm đốt cháy. Theo một số phương án cụ thể, nguồn khí là khí đốt được tạo ra bằng cách đốt cháy nhiên liệu chứa cacbon, đặc biệt là nhiên liệu được đốt trong động cơ đốt trong.

Fig. 1 là sơ đồ mô tả phương án của hệ thống theo khía cạnh thứ hai của sáng chế. Hệ thống 100 bao gồm bộ cấp khí chứa nguồn khí 101 (mà tạo ra khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích) nối chất lưu với van thứ nhất 102, thiết bị đo dòng không khí 103, bộ gia nhiệt khí 104, và van thứ hai 105. Bộ gia nhiệt 104 có thể được sử dụng để đảm bảo rằng nhiệt độ của khí đến thiết bị phân phối khí là cao hơn khoảng 18°C. Theo một số phương án, bộ gia nhiệt 104 được sử dụng để gia nhiệt khí đến nhiệt độ mong muốn. Bộ cấp khí được tạo kết cấu để cung cấp khí cho thiết bị phân phối khí. Theo phương án này, thiết bị phân phối khí bao gồm thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí 106 mà bản thân nó gồm vật liệu xốp ở dạng thủy tinh nung kết 107 và phần được tạo kết cấu để giữ chất lỏng. Khi sử dụng, thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí 106 chứa dung dịch nước chứa vi sinh vật 108. Thiết bị phân phối khí phân phối khí đã gia nhiệt vào dung dịch nước 108 thông qua thủy tinh nung kết 107. Khi khí được phân phối vào dung dịch 108, nó tạo thành bọt khí 109 của khí này, mà sẽ dâng lên qua dung dịch 108, nhờ đó làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch 108 này. Phương án này còn bao gồm cặp nhiệt 110 được sử dụng để đo nhiệt độ của khối dung dịch 108.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất thiết bị làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước, thiết bị này bao gồm:

- vật liệu thấm khí, vật liệu này có bề mặt dòng chảy ở một phía của nó được tạo kết cấu để làm cho dòng dung dịch nước có thể đi ngang qua bề mặt dòng chảy,
- khoang được bố trí ở phía đối diện của vật liệu thấm khí để cung cấp khí làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước sao cho khí có thể đi qua vật liệu thấm khí và vào dung dịch nước đi ngang qua bề mặt dòng chảy dưới dạng bọt khí.

Các dấu hiệu được mô tả liên quan đến khía cạnh thứ nhất cũng có thể áp dụng cho khía cạnh thứ ba.

Thường, khí làm bất hoạt vi sinh vật có mặt trong dung dịch nước là khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích và có nhiệt độ ít nhất là 18°C.

Theo một số phương án cụ thể, dòng dung dịch nước được thực hiện nhờ trọng

lực. Theo một số phương án cụ thể, dòng dung dịch nước được thực hiện nhờ bơm.

Theo một số phương án cụ thể, thiết bị bao gồm bộ phận gia nhiệt được bố trí để gia nhiệt khí trước khi tiếp xúc với vật liệu thấm khí. Theo một số phương án cụ thể, bộ phận gia nhiệt được đặt bên trong khoang. Theo một số phương án cụ thể, bộ phận gia nhiệt được bố trí bên trong hoặc gần đầu vào của khoang để gia nhiệt khí đến khi nó đi vào khoang. Theo một số phương án cụ thể, thành khoang được gia nhiệt. Theo một số phương án cụ thể, thiết bị trao đổi nhiệt được sử dụng để gia nhiệt khí đến.

Theo một số phương án cụ thể, bề mặt dòng chảy ở dạng kênh dẫn. Theo một số phương án cụ thể, bề mặt dòng chảy là một phần của ống dẫn hoặc đường ống. Theo một số phương án cụ thể, dòng đi ngang qua bề mặt dòng chảy bao gồm dòng dung dịch nước từ vùng thứ nhất của bề mặt đến vùng thứ hai của bề mặt.

Theo một số phương án cụ thể, bề mặt dòng chảy được tạo kết cấu sao cho bọt khí đi qua dung dịch nước theo hướng ngang với hướng của dòng dung dịch nước khi nó đi ngang qua bề mặt dòng chảy. Theo một số phương án cụ thể, bọt khí dâng lên trong dung dịch nước trong khi dung dịch nước đi theo hướng gần như nằm ngang (ví dụ từ khoảng 0° đến khoảng 20° , từ khoảng 0° đến khoảng 10° , hoặc từ khoảng 0° đến khoảng 5°).

Theo một số phương án cụ thể, vật liệu thấm khí được chọn sao cho bọt khí đi vào dung dịch nước có đường kính từ khoảng 0,1 mm đến khoảng 7 mm khi dung dịch nước được đặt dưới áp suất khoảng 0,9 đến 1,5 bar. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ hiểu rằng, điều này có thể đạt được bằng cách lựa chọn vật liệu thấm nước có độ xốp thích hợp, hoạt động ở áp suất hoặc khoảng áp suất cụ thể.

Theo một số phương án cụ thể, thiết bị bao gồm nắp đậy được bố trí để bắt giữ khí khi nó thoát ra ngoài dung dịch nước.

Phương pháp theo sáng chế có thể được tiến hành theo cách liên tục khi dung dịch nước đi giữa hai vị trí (ví dụ khi dung dịch nước đi qua kênh dẫn), ví dụ, sử dụng thiết bị theo khía cạnh thứ ba. Fig. 9 là hình vẽ phối cảnh của tiết diện ngang của thiết bị phản ứng kiểu dòng chảy liên tục, có thể được sử dụng để thực hiện phương pháp theo sáng chế khi dung dịch nước đi qua thiết bị phản ứng kiểu dòng chảy này. Như được thể hiện khái quát trên Fig. 9, khí (ví dụ, khí CO_2 hoặc khí đốt) được đưa qua đầu

vào đến khoang. Tùy ý, bộ gia nhiệt trong khoang được sử dụng để gia nhiệt khí. Sau đó, khí đi qua cấu trúc xốp, ví dụ được tạo thành bởi gốm xốp, như gốm sét nung, đến kênh dẫn nằm trong cấu trúc xốp này mà dung dịch nước sẽ đi qua đó. Bọt khí của khí sau đó dâng lên qua dung dịch nước, làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước khi dung dịch nước đi dọc theo kênh dẫn.

Chi tiết hơn, Fig. 9 là sơ đồ mô tả phương án về thiết bị theo khía cạnh thứ ba của sáng chế. Thiết bị 200 bao gồm đầu vào 201 để nhận khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích. Khí đi qua bộ gia nhiệt 202 khi nó đi vào khoang 203. Theo các phương án khác, khoang 203 tự nó có thể được gia nhiệt. Khi sử dụng, khoang 203 sẽ được điền đầy khí đã được gia nhiệt. Khí đã được gia nhiệt được ép, dưới áp suất dương, qua vật liệu thấm khí, ở dạng gốm sét nung 204 (vật liệu xốp; sự chuyển động của khí được chỉ ra bởi mũi tên 206) qua bề mặt dòng chảy 205 và vào dung dịch nước 207. Theo phương án này, bề mặt dòng chảy ở dạng kênh dẫn. Khí dâng lên từ bề mặt dòng chảy 205 ở dạng bọt khí đã được gia nhiệt 208 mà dâng lên qua dung dịch nước. Dung dịch nước 207 đi ngang qua bề mặt dòng chảy theo hướng gần như nằm ngang dưới tác động của trọng lực, trong khi bọt khí 208 dâng lên thường là theo hướng thẳng đứng qua dung dịch nước 207, nổi lên trên bề mặt của dung dịch. Theo một số phương án, khí nổi lên được giữ lại bởi nắp đáy được đặt trên đỉnh của dung dịch nước, tùy ý tạo ra lớp cản tựa vào cấu trúc đỡ không xốp 209 và 210 giữ vật liệu xốp 204 (mà có thể tạo thành một phần của khoang). Theo một số phương án, cấu trúc đỡ 209 có thể tháo rời.

Vi sinh vật

Thông thường, vi sinh vật là vi khuẩn, ví dụ *E. coli*, hoặc virus. Tuy nhiên, phương pháp theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để bất hoạt các vi sinh vật khác, như tảo, động vật nguyên sinh, nấm hoặc bào tử.

Theo một số phương án, vi sinh vật là vi khuẩn được chọn từ *E. coli*, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholera*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Mycobacterium marinum*, loài gây bệnh lỵ như *Shigella dysenteriae*, loài thuộc chi *Legionella* như *Legionella pneumophila*, loài thuộc chi *Leptospira*, hoặc *Salmonella typhi*.

Theo một số phương án, vi sinh vật là virus được chọn từ Coronavirut, virus viêm gan A, virus bại liệt, hoặc Polyomavirut.

Theo một số phương án, vi sinh vật là động vật nguyên sinh, như *Cryptosporidium parvum* hoặc động vật nguyên sinh gây bệnh khác.

Theo một số phương án, sự bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước là ở mức giảm ít nhất 1 log, ví dụ, giảm từ 1 đến 4 log, giảm từ 1 đến 3 log, giảm từ 1 đến 2 log, giảm từ 1 đến 1,5 log, giảm từ 1,5 đến 4 log, giảm từ 1,5 đến 3 log, giảm từ 1,5 đến 2 log, giảm từ 2 đến 4 log, giảm từ 2 đến 3 log). Các mức giảm này là so với lượng vi sinh vật ban đầu trong dung dịch ban đầu (nghĩa là, trước khi tiếp xúc với khí). Theo một số phương án cụ thể, sự bất hoạt vi sinh vật này đạt được trong thời gian dưới 90 phút, ví dụ, từ 30 giây đến 90 phút, từ 30 giây đến 90 phút, từ 30 giây đến 30 phút, từ 30 giây đến 10 phút, từ 30 giây đến 5 phút, từ 1 phút đến 90 phút, từ 1 phút đến 30 phút, từ 1 phút đến 10 phút, từ 1 phút đến 5 phút, từ 2 phút đến 30 phút hoặc từ 5 phút đến 30 phút.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các phương án khác nhau của sáng chế được mô tả dưới đây với sự tham khảo các ví dụ không làm giới hạn.

Hệ virus và vi khuẩn xử lý nước mẫu

Virus MS2

Thực khuẩn thể MS2 (ATCC 15597-B1) [12, 13] được chọn làm virus mẫu để đánh giá hiệu quả của phương pháp bất hoạt virus. MS2 thường được định lượng bằng cách đếm đơn vị gây nhiễm thông qua thử nghiệm mảng tiêu chuẩn mà thường được sử dụng để phát hiện MS2 trong nước uống và nước thải đã được xử lý [20].

MS2 được sử dụng làm đại diện cho virus đường ruột vì nó bị bất hoạt chỉ ở nhiệt độ cao hơn 60°C, chịu độ mặn cao và bị tổn thương chỉ với pH thấp. Điều này có nghĩa là nó có khả năng chịu đựng cao đối với sức ép môi trường [21].

Theo [22], MS2 là thành viên thực khuẩn thể của nhóm I. Toàn bộ bộ gen của nó đã được đọc trình tự. Nó là phân tử ARN sợi đơn, chiều dương gồm 3569 nucleotit và nó có cấu trúc hai mươi mặt. Virus này có bán kính thủy động lực bằng khoảng 13 nm [22].

Phân tích sự bất hoạt virus được tiến hành bằng cách sử dụng kỹ thuật Double Layer Plaque Assay tối ưu được mô tả trong Cormier *et al* [23], giúp phát hiện chỉ virus gây nhiễm bằng cách sử dụng *E. coli* làm vật chủ của chúng.

Vi khuẩn Coliform

Escherichia coli là vi khuẩn gram âm có hình que trụ thẳng, đường kính 1,1-1,5 μm và chiều dài 2,0-6,0 μm [24]. Nó được tìm thấy trong đường dạ dày ruột của động vật và con người. Các chủng của *E. coli* có thể không gây hại hoặc có thể gây bệnh cho vật chủ. Do sự lây nhiễm ở phân, chúng có thể được tìm thấy trong nước và đất. Do đó, sự có mặt của nó trong nước thường được sử dụng làm chỉ báo để giám sát chất lượng nước [25].

Nhiều nghiên cứu sử dụng *Escherichia coli* C-3000 (ATCC15597) làm mẫu đại diện đo vi khuẩn trong nước [26, 27]. *Escherichia coli* C-3000 (ATCC15597) là vi sinh vật có mức an toàn sinh học số 1 [11] và có thể được sử dụng làm vật chủ của virus MS2 [28]. Đó là lý do nó được chọn cho công việc này. Sự phân bố kích thước đối với chủng *E. coli* (ATCC 15597) được đo trong dung dịch nền NaCl 0,17 M, và thu được kích thước đỉnh ở 1600 nm (kết quả được thể hiện trên Fig. 2). Giá trị này khớp với các thông số đo trong tài liệu là đường kính 1100-1500 nm và chiều dài 2000-6000 nm [24] đối với dạng hình que trụ.

Spinks *et al.* [29] đã chứng minh rằng vi khuẩn gây bệnh bị bất hoạt ở khoảng nhiệt độ từ 55°C đến 65°C. Các nghiên cứu khác cho thấy rằng *E. coli* thể hiện dấu hiệu bất hoạt do nhiệt đầu tiên ở nhiệt độ trên 55°C, đạt được tỷ lệ bất hoạt cao ở 60°C [30]. Điều này được mong đợi vì các phospholipid màng có sự chuyển tiếp pha và mất trạng thái có trật tự của chúng ở nhiệt độ này.

Vật liệu và phương pháp

Dung dịch thử nghiệm

Dung dịch điện phân được chuẩn bị và được khử trùng bằng nồi hấp trong Aesculap 420 ở áp suất 15 psi, và nhiệt độ 121-124°C trong 15 phút [31].

Thường, dung dịch sử dụng gồm NaCl 0,17 M (độ tinh khiết $\geq 99\%$, thu được từ Sigma-Aldrich) trong 300 ml nước Milli-Q.

Tabor *et al* [32] nhận thấy rằng sự kết tụ bọt khí trong nước phụ thuộc vào loại khí và pH. Theo Tabor *et al*, được quan sát thấy rằng bọt khí CO₂ không kết tụ, trong khi các khí khác như Ar, N₂ và không khí có kết tụ. Vì lý do này, dung dịch NaCl 0,17 M được sử dụng trong các thử nghiệm được mô tả dưới đây để đảm bảo rằng sự kết tụ

bọt khí là tương tự với tất cả các khí được nghiên cứu, loại trừ biến số trùng hợp có thể có. Trong các thử nghiệm này, NaCl (0,17 M) được sử dụng để làm giảm kích thước bọt khí và ức chế sự kết tụ, nhưng nước thải thường chứa lipid, chất hoạt động bề mặt và polyme sinh học, mà ngay cả ở mức thấp vẫn có thể làm ổn định bọt khí và giảm kích thước bọt khí.

Virus MS2 chịu độ mặn cao và ổn định khi có mặt 1 đến 2 M NaCl [33]. Các nghiên cứu trước đây [5, 8 và 9] đã chỉ ra rằng dung dịch NaCl 0,17M không làm bất hoạt *E. coli*. Vì vậy, nồng độ của NaCl không phải là một yếu tố trong sự bất hoạt virus hoặc vi khuẩn.

Chuẩn bị môi trường cho các thử nghiệm virus

Kỹ thuật Double Layer Plaque Assay tối ưu hóa cụ thể như được mô tả trong Cormier *et al* [23] được sử dụng để đánh giá nồng độ của virus MS2 hoạt động. Phương pháp phân tích mảng thường được sử dụng để phát hiện MS2 trong nước uống, nước thải và nước biển đã được xử lý. Chất lượng nước được đánh giá dựa vào khả năng tiêu diệt vi khuẩn vật chủ của thực khuẩn thể và cho phép các thực khuẩn thể sinh sôi trong mầm tế bào chủ vi khuẩn hợp đồng được cố định trong lớp thạch [23, 28, 34, 35].

Môi trường này không có bán trên thị trường, vì vậy trước mỗi thử nghiệm, 1,5 L được chuẩn bị từ hai dung dịch (A và B). Để chuẩn bị dung dịch A, 15 g trypton, 1,5 g chất chiết nấm men, 12 g NaCl và 1425 ml nước Milli-Q được sử dụng. Giá trị pH bằng 6,9 được đo bằng máy đo pH Thermos Scientific Orion Star A214. Dung dịch này được phân bố vô trùng vào 3 bình với các lượng thạch khác nhau (1% đối với thạch đáy, 0,5% đối với thạch đỉnh và không có thạch ở giữa), thạch được sử dụng trong các thử nghiệm là loại sinh học phân tử từ Sigma-Aldrich. Các dung dịch này được gia nhiệt đến sôi để hòa tan thạch và khử trùng bằng nồi hấp trong Aesculap 420 ở áp suất 15 psi, và nhiệt độ 121-124°C, trong 15 phút.

Dung dịch B cải thiện khả năng nhìn rõ virus. Dung dịch này được điều chế bằng cách bổ sung 1,5 g glucoza, 0,441 g CaCl₂ và 0,015 g thiamin vào 75 ml nước Milli-Q và được lọc qua dụng cụ lọc 0,22 µm để khử trùng và sau đó được bổ sung vô trùng vào mỗi trong số 3 dung dịch A, khi chúng được làm nguội đến 50°C.

Thạch đáy được rót vào các đĩa petri 100 mm x 15 mm và được sấy khô quanh

đèn đốt Bunsen, để duy trì độ vô trùng môi trường cục bộ, cho đến khi thạch không quá khô hoặc quá ẩm [34].

Chuẩn bị môi trường cho các thử nghiệm *E. coli*

Phương pháp thử nghiệm mảng thường được sử dụng để phát hiện *E. coli* trong nước uống, nước thải và nước biển đã được xử lý. Chất lượng nước được đánh giá dựa vào khả năng sinh sôi trong lớp thạch của vi khuẩn [26, 34].

Đối với mỗi thử nghiệm, 1 L được chuẩn bị từ hai dung dịch (A và B). Để chuẩn bị dung dịch A, 13 g trypton, 1 g chất chiết nấm men, 6 g NaCl và 1000 ml nước Milli-Q được sử dụng. Giá trị pH bằng 6,9 được đo bằng máy đo pH Thermos Scientific Orion Star A214. Dung dịch này được phân bố vô trùng vào 2 bình với các lượng thạch khác nhau (1,41% thạch và không có thạch ở lớp giữa), thạch được sử dụng trong các thử nghiệm là loại sinh học phân tử từ Sigma-Aldrich. Các dung dịch này được gia nhiệt đến sôi để hòa tan thạch và khử trùng bằng nồi hấp trong Aesculap 420 ở áp suất 15 psi, và nhiệt độ 121-124°C, trong 15 phút.

Dung dịch B cải thiện sự sinh trưởng của vi khuẩn. Dung dịch này được điều chế bằng cách bổ sung 1 g glucoza và 0,010 g thiamin vào 50 ml nước Milli-Q và lọc qua dụng cụ lọc 0,22µm để khử trùng và sau đó được bổ sung vô trùng vào mỗi trong số 2 dung dịch A, khi chúng được làm nguội đến 50°C.

Dung dịch thạch 1,41% được rót vào đĩa petri 100 mm x 15 mm và sấy khô quanh đèn đốt Bunsen, để duy trì độ vô trùng môi trường cục bộ, cho đến khi thạch không quá khô hoặc quá ẩm [34].

Chủng vi khuẩn

Escherichia coli C-3000 (ATCC15597) được sử dụng làm mẫu đại diện để đo vi khuẩn trong nước [26, 27] đối với các thử nghiệm bất hoạt *E. coli* và cả với các thử nghiệm virus như virus vật chủ MS2 [28]. Kích thước và điện thế zeta của *E. coli* được đo trong dung dịch NaCl 0,17 M với các bọt khí của các khí khác nhau sử dụng dụng cụ xêri Malvern Zetasizer nano.

Đối với thử nghiệm mảng thành công, *Escherichia coli* C-3000 (ATCC 15597) phải ở pha sinh trưởng số mũ. Điều này đạt được bằng cách phát triển hai giống cấy vi khuẩn riêng rẽ: giống cấy qua đêm và giống cấy pha log [28, 31, 35]. Giống cấy qua

đêm được phát triển trong 10 ml môi trường không chứa thạch ở 37°C trong 18 – 20 giờ trong tủ nuôi kỹ thuật số Labtech, model LIB-030M, trong khi lắc ở 110 vòng/phút với máy lắc quỹ đạo PSU-10i. Giống cấy qua đêm dẫn đến số lượng vi khuẩn cao trong môi trường nuôi cấy và giống cấy này được sử dụng làm tiêu chuẩn tham chiếu.

Để bắt đầu nuôi cấy *E. coli* pha log, 1 ml giống cấy qua đêm được chuyển vào 25- 30 ml nước thịt không chứa thạch và được ủ trong 3 giờ ở 37°C, có lắc nhẹ ở tốc độ 110 vòng/phút. Để ngăn chặn sự giảm vi khuẩn (F-pill) bởi các tế bào, chúng sau đó được làm lạnh nhanh trong tủ lạnh, ở 5°C. Sau đó, phổ kế UV-VIS, UVmini-1240, được sử dụng để đo mật độ quang (OD) của giống cấy *E. coli* pha log. Giá trị đọc được OD ở 520nm nằm trong khoảng từ 0,8 đến 1,1 chỉ ra rằng giống cấy có thể được sử dụng trong thử nghiệm mảng cho thử nghiệm virus và làm tiêu chuẩn cho các thử nghiệm *E. coli*.

Chủng virus

Lọ sấy đông chứa thực khuẩn thể MS2 nhận được từ American Type Culture Collection. Thực khuẩn thể MS2 (ATCC 15597-B1) được sao chép sử dụng *Escherichia coli* C-3000 (ATCC 15597) theo tiêu chuẩn quốc tế ISO 10705-1 [31] và Sổ tay hướng dẫn khử trùng bằng tia cực tím (Ultraviolet disinfection guidance manual) của Cục Bảo vệ môi sinh Hoa Kỳ (United States Environmental Protection Agency) [36]. Điện thế zeta của virus MS2 trong dung dịch NaCl 0,17 M với các bọt khí khác nhau được đo bằng cách sử dụng dụng cụ xêri Malvern Zetasizer nano.

Pha loãng virus và vi khuẩn

Nồng độ của thực khuẩn thể MS2 và *E. coli* được tính bằng cách bổ sung 1,0 ml môi trường không chứa thạch vào lọ và pha loãng 10 lần theo dãy 12 lần bằng cách cho 0,50 ml thực khuẩn thể và *E. coli* (trong thử nghiệm tách) vào các ống chứa 4,50 ml môi trường không chứa thạch [35]. 0,1 ml phần pha loãng từ 10^{-6} đến 10^{-12} được cấy điểm trên bề mặt 14 đĩa petri và tạo vết bằng que cấy trải.

Sau khi ủ qua đêm, 18 - 24 giờ ở 37°C, các mảng riêng rẽ có thể đếm được và nồng độ của thực khuẩn thể MS2 và *E. coli* được tính bằng cách sử dụng phương trình:

Huyền phù tăng vọt chưa pha loãng theo $\text{PFU} / \text{mL} = (\text{PFU1} + \text{PFU2} \dots \text{PFUn}) / (\text{V1} + \text{V2} \dots \text{Vn})$

Ở đây, PFU là số đơn vị tạo mảng từ đĩa, Vn là thể tích (theo mL) của mỗi mẫu

chưa pha loãng được bổ sung vào các đĩa chứa các mảng đếm được và n là số đếm được có thể sử dụng.

Quy trình của thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí

Fig. 1 thể hiện sơ đồ của hệ thống/thiết bị được sử dụng để đánh giá tác dụng của việc cho các khí N_2 , CO_2 , Ar, không khí và O_2 ở các nhiệt độ khác nhau đi qua dung dịch nước trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí. Khí được bơm qua bộ gia nhiệt bằng điện mà duy trì nhiệt độ khí chỉ cao hơn bề mặt nung kết ở đế của thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí ở nhiệt độ cụ thể, tùy vào thử nghiệm. Đế của thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí được làm khớp với thủy tinh nung kết kích thước lỗ 40-100 μm (loại 2) có đường kính 135 mm.

Khi dung dịch nước được rót vào cột, nhiệt độ của dung dịch được đo bằng cặp nhiệt ở tâm của dung dịch trong cột. Khí sau đó được cho đi qua lớp nung kết vào 300 ml dung dịch để bất hoạt virus MS2 hoặc *E. coli* (trong các thử nghiệm riêng biệt).

Khi sử dụng khí đốt, thiết bị làm bay hơi dạng cột bột khí tương tự với thiết bị được sử dụng trong các thử nghiệm khác được sử dụng với ống xả của máy phát (Honda EM2200) gắn với van tạo ra dòng khí xả 27 l/phút qua cột bột khí (được thể hiện trên Fig. 3).

Thử nghiệm diệt khuẩn

Thử nghiệm được thực hiện sử dụng dung dịch NaCl 0,17 M (nhiệt độ ban đầu là 22,5°C), với khí đầu vào gồm CO_2 , argon, nitơ, không khí, oxy và hỗn hợp khí đốt, ở nhiệt độ bằng 150°C đối với CO_2 , argon, nitơ, không khí và oxy, 58°C đối với khí đốt và 20°C đối với oxy và không khí cho các thử nghiệm *E. coli*, và 200°C đối với CO_2 , argon, nitơ, không khí và oxy và 60°C đối với khí đốt cho các thử nghiệm virus MS2, trong BCE, và, để so sánh, trong bể nước 22,5°C và pH=4,2. Các thử nghiệm thêm cũng được thực hiện sử dụng virus MS2 trong dung dịch NaCl 0,17 M (nhiệt độ ban đầu bằng khoảng 22°C) trong BCE, với khí CO_2 ở các nhiệt độ đầu vào khác nhau (205°C, 150°C, 100°C, 11°C và 20°C) và với khí CO_2 có nhiệt độ đầu vào bằng 22°C ở các tốc độ dòng khác nhau (27 l/phút và 20 l/phút).

Đếm khả năng sống sót của thực khuẩn thể và *E. coli* được thực hiện bằng phương pháp thử nghiệm mảng [23, 34, 35].

Khi dung dịch với nồng độ đã biết của thực khuẩn thể coli (coliphage) và *E. coli* được tạo ra, các thử nghiệm được thực hiện để nghiên cứu sự bất hoạt của coliphage với các khí khác nhau và nhiệt độ khí đầu vào khác nhau. 1,3 ml mẫu được gom từ 10 đến 15 mm trên vùng trung tâm của lớp nung kết mỗi 6 phút trong 36 phút cho các thử nghiệm virus và mỗi 2 phút cho các thử nghiệm *E. coli*. 0,07 ml mỗi mẫu được cấy điểm ba lần theo kỹ thuật thử nghiệm mảng lớp kép [36].

Để đánh giá hiệu quả của pH dung dịch đến sự bất hoạt của thử nghiệm thực khuẩn thể MS2 và *E. coli*, các thí nghiệm so sánh sử dụng dung dịch NaCl 0,17 M ở pH=4,1, được tiến hành trong cốc tách có mỏ, trong bể nước. Trong suốt các thử nghiệm này, mẫu được lấy đều đặn từ cốc có mỏ và được phân tích như trước.

Phân tích dữ liệu

Đếm mảng được thực hiện cho tất cả 18 - 21 đĩa của mỗi trong số các thử nghiệm. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của mỗi trong số các mẫu có ba bản sử dụng hệ số sống sót của virus hoặc vi khuẩn: $\text{Log}_{10}(\text{PFU}/\text{PFU}_0)$, trong đó PFU_0 là số lượng PFU ban đầu của mỗi mẫu và PFU là PFU của mỗi mẫu sau một thời gian phơi theo phút. Khi được lập đồ thị, sự phân bố đa thức bậc hai được áp dụng để làm khớp các đường cong về khả năng sống sót [21].

Kết quả và thảo luận

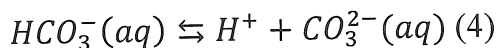
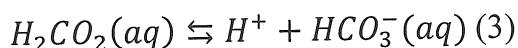
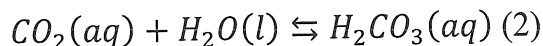
Một số kết quả điển hình được thể hiện trên Fig. 4 mà cho thấy các hình ảnh của đĩa petri được sử dụng trong kỹ thuật thử nghiệm mảng lớp kép đối với sự bất hoạt virus MS2 trong dung dịch nước NaCl 0,17 M ở nhiệt độ đầu vào CO₂ 200°C sau (a) 0, (b) 0,75, (c) 2,25 và (d) 3 phút xử lý trong BCE. Mức bất hoạt tổng bằng 295 PFU/đĩa với mỗi mẫu đạt được chỉ trong 3,5 phút sử dụng tổng lượng nhiệt đầu vào chỉ là 0,02 kJ/ml (nhiệt độ của dung dịch ở cuối thử nghiệm là 46,5°C).

1. Tác dụng của pH đến sự bất hoạt virus và vi khuẩn khi sục khí CO₂ trong dung dịch nước

Khi sử dụng khí CO₂ trong cột bọt khí, pH của nước giảm từ 5,9 đến 4,2 trong ngắn hơn 45 giây.

Khi CO₂ hòa tan trong nước, 99% ở lại dưới dạng khí phân tử hòa tan và ít hơn 1% dưới dạng axit cacbonic (H₂CO₃). Điều này làm giảm pH của nước đến khoảng 4

(phương trình 2). Axit cacbonic phân ly thành ion bicacbonat (HCO_3^-) và ion cacbonat (CO_3^{2-}) (xem các phương trình 3 và 4) [37].



Để xác định xem sự giảm pH, do CO_2 hòa tan (các phương trình 1, 2, 3 và 4), có liên quan đến tác dụng khử khuẩn của nó hay không, hai thử nghiệm với axit cacbonic (H_2CO_3) ở pH=4,2 được thực hiện trong cốc có mỏ được khuấy liên tục, một thử nghiệm cho virus và thử nghiệm còn lại cho vi khuẩn.

Axit cacbonic (H_2CO_3) được tạo ra bằng cách sục khí CO_2 tinh khiết 27 l/phút qua dung dịch NaCl 0,17 M trong 10 phút ở 22°C. Sau khi sục khí, dung dịch được khuấy liên tục trong cốc có mỏ và mẫu được lấy 3 phút một lần, pH là 4,2 và quan sát thấy mức giảm virus theo log chỉ là 0,002. Đối với *E. coli*, chỉ quan sát thấy sự giảm 0,08-log, gợi ý rằng pH thấp có hiệu quả bất hoạt yếu đối với *E. coli* và không có hiệu quả đối với virus. Một số tác giả mô tả hiệu quả bất hoạt yếu ở pH thấp đối với tế bào vi khuẩn, vì màng tế bào ngăn không cho các proton thấm qua nhưng độ pH thấp lại làm cho màng dễ thấm hơn với các chất khác như CO_2 do sự biến đổi hóa học ở lớp kép phospholipit của màng [38, 39]. Cheng *et al* [14] đã quan sát thấy gần như không có sự thay đổi khả năng bất hoạt nào ở các điều kiện pH khác nhau (pH=4, 4,5, 5 và 5,5) với 3 virus khác nhau (MS2, Q β và ϕ X174). Họ tin rằng các ion H^+ không thể đi vào capsit dễ dàng như phân tử CO_2 .

Do đó, pH giảm không được xem là chịu trách nhiệm cho hiệu quả bất hoạt cao đối với virus và vi khuẩn mà đã được quan sát thấy khi sục khí CO_2 vào BCE.

2. Hiệu quả của các khí khác nhau đến sự bất hoạt virus và vi khuẩn

Trong các thử nghiệm này, tỷ lệ bất hoạt virus MS2 (ATCC 15597-B1) và *E. coli* (ATCC 15597) được xác định khi sục không khí đầu vào ở 200°C (đối với virus) và 150°C (đối với *E. coli*) trong thiết bị làm bay hơi dạng cột bọt khí qua dung dịch NaCl 0,17M. Cùng một thử nghiệm được tiến hành với các khí khác nhau có mặt trong không

khí (nitơ, oxy, CO₂ và argon). 99% không khí là hỗn hợp của khí nitơ và oxy, 1% còn lại chứa argon và CO₂ (trong số các khí khác).

Cuối cùng, khí đốt từ máy phát ở khoảng 60°C được sử dụng để bất hoạt trước tiên là virus MS2 và sau đó là *E. coli* (nhiệt độ của các khí đốt trong thử nghiệm virus MS2 là 60°C và trong thử nghiệm *E. coli* là 58°C).

Kết quả của các thử nghiệm này được thể hiện trên Fig. 5 và 6.

Tỷ lệ bất hoạt virus MS2 bằng khí ở 200°C được thấy là hoàn toàn tương tự, ngoại trừ với CO₂ và khí đốt. Khi làm bất hoạt *E. coli* bằng khí ở 150°C, oxy tạo ra tỷ lệ bất hoạt cao nhất, theo sau là CO₂ và khí đốt.

Khi sục khí CO₂, Ar, N₂ và không khí qua nước trong các nghiên cứu trước đây [32] [17] được chứng minh rằng CO₂ hoạt động khác với phần còn lại do tính tan trong nước của nó, các thay đổi về pH và điện thế zeta của bọt khí của nó.

Enomoto *et al.* [17] nhận thấy rằng khi sử dụng hệ thống phân hủy gây nổ, khí có độ hòa tan cao trong nước, như CO₂ và N₂O, đạt được tỷ lệ bất hoạt cao hơn của *Saccharomyces cerevisiae* so với khi sử dụng các khí khác, như Ar hoặc N₂, mà tan ít hơn trong nước. Tabor *et al* [32] chứng minh rằng CO₂ ngăn sự kết tụ bọt khí tốt hơn nhiều so với các khí khác. Việc ức chế sự kết tụ bọt khí là yếu tố rất quan trọng trong đặc tính thể hiện của BCE vì nó làm tăng diện tích mặt phân giới khí/nước, đây là lý do vì sao tất cả các thử nghiệm đều được thực hiện trong dung dịch NaCl 0,17 M [4], để đảm bảo rằng tất cả các khí thể hiện mức độ ức chế sự kết tụ bọt khí trong dung dịch cột tương tự nhau.

Cacbon dioxid có tính tan nước cao, tạo ra độ lớn điện thế Zeta của coliform và virus thấp hơn và giá trị pH thấp hơn (xem bảng 1) so với phần còn lại của các khí được sử dụng trong các thử nghiệm này.

Tính tan ở 52°C (đối với virus) và 43°C (đối với *E. coli*) của các khí khác nhau được sử dụng thu được từ các giá trị theo tài liệu (<http://www.engineeringtoolbox.com>). Giá trị pH được đo trong các thử nghiệm và giá trị điện thế Zeta được đo trong các thử nghiệm ở nồng độ virus bằng 10⁸ với mỗi ml và nồng độ *E. coli* bằng 10⁷ với mỗi ml.

Khí	Tính tan *	Giá trị điện thế Zeta	pH	Cp (Kj/(kgK))	Nhiệt độ nước, °C	Độ dày lớp nước gia nhiệt z (nm)	Nhiệt độ trung bình của lớp, °C
Escherichia coli C-3000 (ATCC15597) với các khí ở 150°C							
Oxy	0,030	-11,8	6,1	0,92	45,2	38,6	72,6
Nitơ	0,014	-12,2	5,7	1,04	43,4	37	71,7
Cacbon dioxid	0,950	-9,4	4,0	0,84	43,3	30	71,7
Agon	0,040	-12,4	6,0	0,52	38,6	24,3	69,3
Không khí	0,017	-12,5	5,7	1,01	44,7	38,1	72,4
Khí đốt		-9,1	4,1		39,5		
Thực khuẩn thể MS2 (ATCC 15597-B1) với các khí ở 200°C							
Oxy	0,027	-12,6	6	0,92	49,5	83,8	74,8
Nitơ	0,013	-10,8	5,6	1,04	53,7	90,5	76,9
Cacbon dioxid	0,800	-6,2	4,0	0,84	46,5	99,9	73,2
Agon	0,035	-12,2	6,0	0,52	46	55,3	73
Không khí	0,016	-14,3	5,8	1,01	52	87,2	76
Khí đốt		-5,1	4,1		30		

* Tính tan của các khí trong nước ở 43°C đối với E. coli và 52°C đối với virut. Số g khí hòa tan trong 1kg nước ở 1 atm.

Bảng 1: Tính tan, điện thế Zeta của vi sinh vật, pH, nhiệt dung, nhiệt độ nước ở cuối thử nghiệm, độ dày của lớp được gia nhiệt quanh bọt khí và nhiệt độ trung bình của lớp này đối với các khí trong nghiên cứu với virut và vi khuẩn

“Nhiệt độ nước” được đề cập trong bảng 1 là nhiệt độ của dung dịch nước ở cuối thử nghiệm (đối với thử nghiệm *E. coli*, nhiệt độ này là sau 10 phút với tất cả các khí, và đối với thử nghiệm virut nhiệt độ này là 37,5 phút với tất cả các khí ngoại trừ cacbon dioxit khí và khí đốt và sau 4 phút với khí cacbon dioxit và khí đốt). Đối với tất cả các thử nghiệm, ngoại trừ thử nghiệm virut sử dụng khí cacbon dioxit hoặc khí đốt, nhiệt độ ở cuối thử nghiệm là nhiệt độ dung dịch cân bằng (tức là, nhiệt độ được giữ không đổi ở nhiệt độ này khi nhiều bọt khí khác nữa được cho đi qua dung dịch). Trong các thử nghiệm này, dung dịch nước thường đạt đến nhiệt độ dung dịch cân bằng sau khoảng 5 phút. Nhiệt độ trung bình của lớp được gia nhiệt quanh bọt khí của khí được báo cáo trong bảng 1 được tính như được thảo luận dưới đây dựa vào nhiệt độ nước được báo cáo trong bảng 1.

Trong bảng 1 (phần virut), CO₂ thể hiện nhiệt độ thấp hơn ở cuối thử nghiệm, chỉ 46,5°C, so với mong đợi từ các điều kiện trạng thái ổn định, theo nhiệt dung của nó.

Điều này là do thực tế là chỉ nhiệt độ trung bình của nước sau 4 phút được sử dụng, vì đây là thời gian cần để đạt được tác dụng bất hoạt virus tổng, khi sử dụng CO₂. Với các khí oxy, nitơ, argon và không khí, nhiệt độ trung bình sau 37,5 phút được sử dụng, vì đây là thời gian cần để đạt được sự bất hoạt virus 1,5 log. Với vi khuẩn, nhiệt độ trung bình thu được sau 10 phút, là thời gian cần để đạt được trung bình 1,5 log mức bất hoạt *E. coli*.

Nhiệt độ và độ dày của lớp nước nóng quanh bề mặt của bột khí đường kính 1 mm có thể được ước lượng sơ bộ cho nhiệt độ khí đầu vào lớn hơn 100°C sử dụng các công thức (5), (6) và (7) được mô tả dưới đây.

Nhiệt độ của lớp nước nóng quanh bề mặt của bột khí đường kính 1 mm có thể được ước lượng sơ bộ bởi công thức:

$$T_1 = \frac{100 + T_c}{2} \quad (5)$$

trong đó T_1 (°C) là nhiệt độ trung bình (tạm thời) của lớp nước nóng xung quanh bột khí và T_c (°C) là nhiệt độ của dung dịch trong BCE, giả sử rằng bột khí nóng được làm nguội từ nhiệt độ đầu vào đến 100°C.

Độ dày của lớp được gia nhiệt, tạm thời có thể được ước lượng bằng cách làm cân bằng nhiệt được cấp bởi bột khí làm nguội với nhiệt cần để tăng màng đến nhiệt độ trung bình này.

Do đó, thể tích của màng V được xác định bởi:

$$V = 4\pi r^2 z \quad (6)$$

trong đó V là thể tích của lớp có độ dày z quanh bột khí khi $r \gg z$.

Sự cân bằng nhiệt năng do đó được xác định bởi:

$$C_p \Delta T V = C_{nước} \Delta t 4 \pi r^2 \rho_w z \quad (7)$$

trong đó C_p , $C_{nước}$ lần lượt là nhiệt dung của khí và nước, ρ_w là mật độ khối của nước chất lỏng, ΔT là giá trị làm nguội của bột khí không khí và Δt là sự tăng nhiệt độ tạm thời trong lớp nước.

Trong thực tiễn, có thể mong đợi rằng gần một nửa lượng nhiệt được cung cấp bởi bột khí làm nguội sẽ được sử dụng để làm bay hơi nước thành bột khí CO₂ và do đó

độ dày màng được ước lượng sơ bộ đã được tính sẽ chia đôi.

Kết quả tiêu biểu từ việc tính toán này được đưa ra trong bảng 1.

3. Sự bất hoạt virus MS2 với các khí khác nhau ở 200°C

Cơ chế bất hoạt bằng nhiệt

Khi nhiệt độ khí đầu vào là 200°C, các va chạm giữa lớp nóng tạm thời quanh bọt khí nóng sinh ra và virus MS2 có thể làm bất hoạt virus. Virus MS2 bị bất hoạt nhanh chóng ở các nhiệt độ cao hơn 60°C [21, 40], vì vậy bọt khí nóng sẽ làm bất hoạt virus một cách hiệu quả nếu nhiệt độ của lớp nóng quanh bọt khí cao hơn 60°C. Được chỉ ra trước đây (Garrido et al [7]) rằng virus MS2 có thể bị bất hoạt bởi sự trao đổi nhiệt với bọt khí của không khí nóng ở 150°C trong quá trình va chạm trong BCE. Cơ chế này có vẻ liên quan đến việc virus và bọt khí đạt được sự va chạm mật thiết như thế nào. Trong các thử nghiệm trước kia, các hệ số sống sót của virus MS2 được kiểm tra và có tương quan với các lực tương tác bề mặt giữa virus và bọt khí. Kết quả được báo cáo chỉ ra rằng ở 150°C, các chất điện phân bổ sung có thể kiểm soát lực bề mặt giữa virus và bề mặt nóng của bọt khí và vì vậy ảnh hưởng đến tỷ lệ bất hoạt.

Các hệ số sống sót của virus MS2 đối với một số khí khác nhau ở 200°C và khi đốt ở 60°C được so sánh sử dụng quy trình BCE và kết quả được thể hiện trên Fig. 5. Không khí, oxy, nitơ và argon với nhiệt độ khí đầu vào là 200°C được thấy là có tỷ lệ bất hoạt virus rất tương tự nhau, với mức giảm nằm trong khoảng từ 1,33 đến 1,67 – log sau 37,5 phút xử lý. Khi bọt khí nóng hình thành trên bề mặt của lớp nung kết, lớp nước mỏng đã gia nhiệt được hình thành tạm thời quanh bề mặt của bọt khí và lớp mỏng này có nhiệt độ trung bình tương tự, với các giá trị từ 73°C đến 76,9°C, và độ dày, với các giá trị nằm trong khoảng từ 55 đến 91 nm, với 4 loại khí này (xem bảng 1). Không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, được tin các va chạm giữa lớp nóng tạm thời quanh bọt khí nóng sinh ra và virus MS2 là cơ chế cơ bản của sự bất hoạt virus với 4 loại khí này.

Cơ chế bất hoạt bằng CO₂

Bằng cách so sánh, khí CO₂ (100% CO₂) và khí đốt (có 12,5 đến 14% CO₂ theo sổ tay ‘Combustion Fundamentals’ Chapter 2 [41]) ở nhiệt độ lần lượt là 200°C và 60°C, được sử dụng trong thử nghiệm, sự va chạm giữa virus và lớp nước nóng quanh bọt khí CO₂ nóng có vẻ không phải là cơ chế duy nhất gây ra tỷ lệ bất hoạt nhanh virus, bằng

2,2 log đối với khí đốt và 2,7 log đối với CO₂ tinh khiết, trong chỉ 3,5 phút (xem Fig. 4 và 5), được quan sát thấy trong các nghiên cứu này.

Khi sử dụng khí đốt, các sản phẩm đốt cháy khác ngoài CO₂, H₂O và N₂ có thể có mặt do các thành phần thứ yếu và các tạp chất trong nhiên liệu và tỷ lệ nhiên liệu/không khí khác nhau. Các khí này thường bao gồm: cacbon monoxit (CO), hydro (H₂), lưu huỳnh oxit (SO₂) và mono-nitơ oxit (NO_x) như NO và NO₂ [41]. Sự có mặt của các khí này ở lượng rất nhỏ có thể giải thích các kết quả tương tự thu được khi sử dụng CO₂ tinh khiết ở 200°C và khí đốt chỉ được sử dụng ở nhiệt độ đầu vào 60°C. Ví dụ, Richard F. *et al* [42] đã nghiên cứu các đặc tính bất hoạt virus của SO₂ và tính tan trong nước cao của nó.

Francis *et al.* [43] đã nghiên cứu nhiệt ẩn hóa hơi trong BCE với các dung dịch nước muối khác nhau và ước tính cho nhiệt độ khí đầu vào nitơ khô là 60°C, nhiệt độ cân bằng là 22°C. Tuy nhiên, các khí đốt đã được làm bão hòa nước và do đó nhiệt không được sử dụng để làm bay hơi nước thành bọt khí; điều này giải thích vì sao khi nhiệt độ đầu vào khí đốt chỉ là 60°C, nhiệt độ cân bằng của nước vẫn cao ở 39,5°C, hơn là 22°C, được mong đợi nếu khí được sấy khô. Do đó nếu nhiều nhiệt trong bọt khí nóng được sử dụng để làm bay hơi nước, nhiệt độ khí đầu vào 60°C cũng có thể có hiệu quả làm bất hoạt virus bằng cách tăng nhiệt độ khối của dung dịch nước.

Khi khí CO₂ được sục khí qua vùng nung kết, bề mặt tiếp xúc CO₂-chất lỏng lớn liên tục được tạo ra. Điều này làm tăng lượng CO₂ hòa tan trong dung dịch tạo ra tác dụng tương tự với tác dụng có thể đạt được bằng cách tăng áp suất trong quy trình cacbon dioxit pha dày đặc (DPCD) ngay cả khi ở trong cột bọt khí áp suất vẫn xấp xỉ 1 atm. Nhiều tác giả đã chứng minh sự bất hoạt vi sinh vật khi sử dụng CO₂ được nén [14-16]. Cơ chế dùng để giải thích tác dụng làm bất hoạt như vậy liên quan đến tính tan trong nước cao của nó.

Cheng *et al* [14] đề xuất cơ chế bất hoạt các thực khuẩn thể MS2 và Qβ dựa vào sự thẩm qua của CO₂ bên trong capsit dưới áp suất cao và sự trương nở sau đó khi được khử áp, dẫn đến phá hủy capsit. Liên kết CO₂-protein cũng có thể phá hủy capsit làm bất hoạt virus.

4. Kết quả bất hoạt E. coli (ATCC 15597) với các khí ở nhiệt độ 150°C

Cơ chế bất hoạt bằng nhiệt

Khi làm bất hoạt *E. coli* (ATCC 15597) với không khí và nitơ ở nhiệt độ đầu vào là 150°C trong BCE, thu được các kết quả bất hoạt *E. coli* tương tự (Fig. 6) với các kết quả được báo cáo bởi Shahid *et al* [9], khi sử dụng các mẫu nước hồ tự nhiên. Các va chạm giữa các lớp nóng tạm thời bao quanh các bọt khí sinh ra và chính bản thân các bọt khí nóng với các coliform được cho là cơ chế căn bản để bất hoạt coliform trong hoạt động của chúng [8]. Điều này cũng được cho là cơ chế bất hoạt coliform căn bản trong hoạt động hiện tại khi sử dụng các khí nóng N₂, Ar, và không khí. Tuy nhiên, như được thể hiện bởi các kết quả được báo cáo ở đây, khi sử dụng CO₂ hoặc khí đốt, đây không phải là cơ chế bất hoạt coliform duy nhất.

Khi sục khí trong thời gian 10 phút, các hệ số sống sót của *E. coli* đối với không khí, oxy, nitơ, CO₂ và argon có nhiệt độ đầu vào là 150°C, khí đốt có nhiệt độ đầu vào là 58°C và oxy và không khí có nhiệt độ đầu vào là 20°C, được so sánh và các kết quả được thể hiện trên Fig. 6. Ở nhiệt độ 150°C, không khí và nitơ thể hiện tỷ lệ bất hoạt *E. coli* rất tương tự nhau sau 10 phút xử lý lần lượt với mức giảm 1,43 và 1,74 log. Không phát hiện ra sự bất hoạt nào với không khí ở nhiệt độ 20°C với mức giảm chỉ là 0,03 log. Argon thể hiện tỷ lệ bất hoạt thấp hơn với mức giảm chỉ là 0,40 log sau 10 phút, có thể là do nhiệt dung thấp của nó, chỉ bằng 0,52 kJ/kgK, nhiệt dung này bằng một nửa nhiệt dung của nitơ và không khí (Bảng 1). Đối với 3 khí này, khi bọt khí nóng tạo thành trên bề mặt của lớp nung kết, một lớp mỏng chứa nước đã gia nhiệt được tạo ra quanh bề mặt của các bọt khí và lớp mỏng này có nhiệt độ trung bình tương tự, với các giá trị từ 69,3°C đến 72,4°C (Bảng 1). *E. coli* được bất hoạt nhanh ở nhiệt độ trên 60°C [29], vì vậy các bọt khí nóng sẽ bất hoạt *E. coli* một cách có hiệu quả nếu nhiệt độ của lớp nóng quanh các bọt khí này cao hơn 60°C, do đó khi sục khí không khí ở nhiệt độ 20°C thì không quan sát thấy sự bất hoạt *E. coli* nào (mức giảm 0,03 log), củng cố cho giả thuyết va chạm nhiệt và thiết lập đường cơ sở.

Cơ chế bất hoạt bằng CO₂

Với CO₂ (100% CO₂) và khí đốt (với từ 12,5 đến 14% CO₂ theo tài liệu giáo khoa ‘Combustion Fundamentals’ chương 2 [41]) lần lượt ở nhiệt độ 150°C và 58°C, va chạm giữa *E. coli* và các bọt khí CO₂ nóng có vẻ như không phải là cơ chế duy nhất giải thích cho tỷ lệ bất hoạt cao hơn, bằng 2,63 log đối với khí đốt và 2,84 log đối với CO₂ tinh

khiết, sau 10 phút (xem Fig. 6).

Các cơ chế khác nhau được đề xuất để giải thích cho tác dụng kháng khuẩn của CO₂ hòa tan. Trong chương 4 của tài liệu ‘Dense Phase Carbon Dioxide’ [38], Osman mô tả rất chi tiết các bước khác nhau của cơ chế bất hoạt vi khuẩn với CO₂ nén. Khi CO₂ nén trước tiên hòa tan vào dung dịch, độ pH của nó giảm. Việc axit hóa này của dung dịch làm tăng khả năng CO₂ thấm qua màng tế bào. Sau đó, CO₂ bên trong tế bào sẽ gây ra sự giảm độ pH nội bào mà vượt quá khả năng đệm của tế bào, dẫn đến sự bất hoạt tế bào [38, 39]. Tuy nhiên, cũng có khả năng là các ion bicarbonat liên kết với các nhóm đầu lipid, làm thay đổi sự hydrat hóa và độ cong nhóm đầu của chúng, cấu trúc lõi và do đó là cả khả năng sống của chúng.

Khi sử dụng khí đốt, có thể có mặt các sản phẩm đốt khác ngoài CO₂, H₂O và N₂ do các thành phần thứ yếu và các tạp chất trong nhiên liệu và tỷ lệ nhiên liệu/không khí khác nhau. Các khí này thường là: cacbon monoxit (CO), hydro (H₂), oxit lưu huỳnh (SO₂) và mono-nitơ oxit (NO_x) như NO và NO₂ [41]. Sự có mặt của các khí này ở các lượng rất nhỏ cũng có thể góp phần làm bất hoạt vi khuẩn.

Cơ chế oxy hóa/đốt

Bọt khí oxy nóng ở nhiệt độ 150°C trong BCE với dung dịch NaCl 0,17M chứa *E. coli* mang lại các kết quả bất hoạt tốt nhất, với mức giảm 2,90 log sau chỉ 3,5 phút (Fig. 6). Oxy nóng tinh khiết có thể oxy hóa và đốt cháy *E. coli* nhờ tiếp xúc trực tiếp hoặc thông qua các loại oxy phản ứng sinh ra ở nhiệt độ 150°C. Được biết rằng các tính chất oxy hóa của H₂O₂ có thể làm bất hoạt *E. coli*, và tác dụng bất hoạt này gia tăng cùng với nồng độ của H₂O₂ [43]. Protein, lipid và axit nucleic cũng có thể được oxy hóa bằng các loại oxy hoạt tính từ quá trình khử không hoàn toàn O₂ trong khi hô hấp [44]. *E. coli* có hình dạng que trụ thẳng đường kính từ 1,1 đến 1,5µm và chiều dài từ 2,0 đến 6,0µm [24] so với kích thước của bọt khí là từ 1 đến 3mm, và vì vậy các tế bào này có thể dễ dàng thấm qua lớp nước mỏng đã gia nhiệt quanh bọt khí oxy (Bảng 1) và tiếp xúc trực tiếp với oxy nóng.

Bằng cách so sánh, các kết quả thu được đối với *E. coli* bằng cách sử dụng oxy nóng (ở nhiệt độ 150°C) làm khí đầu vào được thấy là có hiệu quả hơn nhiều so với đối với virus MS2 (với nhiệt độ đầu vào là 200°C), mà có bán kính thủy động lực nhỏ hơn nhiều là khoảng 13nm [22]. Vì vậy, độ tan thấp của oxy trong nước (Bảng 1), thời gian

bất hoạt của virus (37 phút) so với *E. coli* (10 phút) và mức giảm *E. coli* 0,65 log khi sử dụng oxy ở nhiệt độ khí đầu vào 150°C (Fig. 6), củng cố cho giả thuyết oxy hóa/đốt *E. coli* bằng cách tiếp xúc trực tiếp với pha khí, điều này không thể xảy ra đối với virus có kích thước nhỏ hơn nhiều.

5. So sánh các cơ chế bất hoạt bằng nhiệt đối với *E. coli* và virus

Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organisation-WHO) trong tài liệu hướng dẫn của họ về chất lượng nước uống [40] đã so sánh tỷ lệ bất hoạt bằng nhiệt đối với các loại vi khuẩn và virus khác nhau trong chất lỏng nóng. Họ kết luận rằng các nhiệt độ trên 60°C bất hoạt một cách hiệu quả cả virus và vi khuẩn. Khi nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 65°C, sự bất hoạt vi khuẩn diễn ra nhanh hơn so với sự bất hoạt virus. Các nghiên cứu này cho thấy rằng ở nhiệt độ nước 60°C, *E. coli* cần 300 giây để đạt mức giảm 1,5 log so với 1800 giây đối với virus như enterovirus, echovirus 6, coxsackievirus B4, coxsackievirus B5 để đạt mức giảm 4 log [40].

Trong các thử nghiệm của các tác giả sáng chế, *E. coli* đạt mức bất hoạt 1,5 log trong vòng 10 phút (Fig. 6) khi sục khí nitơ hoặc không khí ở nhiệt độ 150°C (khi nhiệt độ dung dịch ở thời điểm 10 phút là 43°C đối với nitơ và 45°C đối với không khí) và virus MS2 đạt mức bất hoạt từ 1 đến 1,5 log sau khoảng từ 15 đến 37 phút với không khí, oxy hoặc nitơ ở nhiệt độ 200°C (nhiệt độ dung dịch ở thời điểm 37,5 phút là 52°C đối với không khí, 50°C đối với oxy và 54°C đối với nitơ) (Fig. 5). Tuy nhiên, *E. coli* đạt mức bất hoạt 2,6 log trong vòng 10 phút (Fig. 6) khi sục khí CO₂ ở nhiệt độ 150°C hoặc khí đốt ở nhiệt độ 58°C (khi nhiệt độ dung dịch ở thời điểm 10 phút là 43°C đối với CO₂ và 40°C đối với khí đốt) và virus MS2 đạt mức bất hoạt 2,0 log trong vòng 5 phút với CO₂ ở nhiệt độ 200°C hoặc khí đốt ở nhiệt độ 60°C (nhiệt độ dung dịch ở thời điểm 4 phút là 47°C đối với CO₂ và 30°C đối với khí đốt) (Fig. 5). Được đề xuất rằng, trong quy trình sử dụng khí có nhiệt độ đầu vào cao hơn khoảng 100°C, virus và vi khuẩn được bất hoạt khi chúng va chạm với các bọt khí đã gia nhiệt, với lớp nước nóng quanh các bọt khí nóng hoặc khí nóng trong các bọt khí. Các kết quả này nhất quán với số liệu của WHO về sự bất hoạt vi khuẩn nhanh hơn đối với virus, ở nhiệt độ nước tương tự. Tuy nhiên, hiện tượng này được gia tăng một cách đáng kể và đáng ngạc nhiên khi sử dụng BCE với khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích.

6. Tác dụng của nhiệt độ bọt khí CO₂ đến sự bất hoạt virus

Các thử nghiệm khác được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị được mô tả trên Fig. 1, sử dụng khí CO₂ có nhiệt độ đầu vào là 205°C, 150°C, 100°C, 11°C hoặc 20°C. Các kết quả được thể hiện trên Fig. 7. Dung dịch nước có nhiệt độ bằng khoảng nhiệt độ trong phòng (khoảng 22°C) khi bắt đầu quy trình, và nhiệt độ dung dịch được báo cáo trên Fig. 7 là nhiệt độ khi kết thúc thử nghiệm bằng cách sử dụng khí thích hợp (ví dụ, sau 6 phút đối với CO₂ có nhiệt độ đầu vào là 100°C, nhiệt độ khối của dung dịch nước là 34°C).

Đối với khí có nhiệt độ đầu vào là 100°C hoặc cao hơn, khi các bọt khí nóng tạo thành trên bề mặt của lớp nung kết, lớp mỏng chứa nước đã gia nhiệt được tạo ra quanh bề mặt của các bọt khí. Độ dày và nhiệt độ của lớp mỏng tạm thời này có thể là các tham số quan trọng trong quá trình bất hoạt virus. Không mong muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết, tin rằng các va chạm giữa các bọt khí nóng này và các coliform có khả năng làm bất hoạt các coliform. Cũng được tin rằng, cơ chế tương tự cũng có hiệu quả bất hoạt virus, khi virus này tiến đến đủ gần bề mặt của các bọt khí trong lớp nước nóng.

Khi các bọt khí CO₂ ở nhiệt độ trong phòng được tạo ra, đạt được mức giảm virus 1 log chỉ trong 10 phút (Fig. 7 và Fig. 8). Ở các nhiệt độ khí đầu vào cao hơn, sự bất hoạt virus cũng tăng với mức giảm 2,3 log sau 7 phút ở nhiệt độ CO₂ đầu vào 150°C và mức giảm 3 log ở nhiệt độ 200°C sau 3 phút (Fig. 7).

Isenschmid *et al.*, 1995 [45] tin rằng, ở nhiệt độ dung dịch trên 18°C, nồng độ của CO₂ nén, hòa tan là tham số then chốt đối với sự chết tế bào. Điều này có thể giải thích nguyên nhân tại sao không có tác dụng bất hoạt bằng CO₂ nào được đánh giá cao, với mức giảm chỉ 0,1 log, sau 6,5 phút ở nhiệt độ cột CO₂ 9°C, với nhiệt độ đầu vào 11°C (Fig. 7). Nếu nhiệt độ dung dịch tăng cao hơn 18°C, trong lớp quanh các bọt khí hoặc ở nhiệt độ khối của dung dịch, khả năng CO₂ thẩm qua capsit gia tăng với tác dụng của CO₂ đến sự bất hoạt virus MS2 sau đó. Ở nhiệt độ đầu vào khí CO₂ cao hơn khoảng 100°C, rõ ràng gây ra sự bất hoạt virus bởi sự kết hợp của tác dụng bất hoạt bằng CO₂ này và các tác dụng nhiệt của các va chạm giữa virus với các bọt khí nóng.

7. Tác dụng của tốc độ dòng khí đến sự bất hoạt virus khi sử dụng CO₂

Fig. 8 so sánh tác dụng bất hoạt virus khi sử dụng 2 tốc độ dòng CO₂ khác nhau ở nhiệt độ 22°C trong 10 phút vận hành. Dựa vào các kết quả này, rõ ràng thấy rằng, mặc dù đầu tiên tốc độ dòng khí CO₂ 27l/phút làm bất hoạt virus hiệu quả hơn so với khi

sử dụng tốc độ dòng 20l/phút, tỷ lệ gần như nhân đôi sau 2 phút với mức giảm 0,35 log và mức giảm 0,62 log, nhưng khi thời gian đạt đến 10 phút, thì cả hai tỷ lệ bất hoạt trở nên gần như giống hệt, ở mức giảm khoảng 1 log.

Kết luận

Việc sục khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích qua chất lỏng chứa nước, ở áp suất khí quyển, có thể được sử dụng để làm bất hoạt một cách hiệu quả các tác nhân gây bệnh lây lan qua nước uống điển hình (bao gồm virus và vi khuẩn), có vẻ là thông qua hai cơ chế khác nhau tùy thuộc vào nhiệt độ của khí đầu vào.

Cơ chế bất hoạt bằng nhiệt là dựa trên sự truyền nhiệt giữa bọt khí nóng và các tác nhân gây bệnh trong khi va chạm. Cơ chế này được tin là có hiệu quả khi khí này có nhiệt độ cao hơn khoảng 100°C.

Với các khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích, cơ chế bất hoạt thứ hai có vẻ có hiệu quả, cơ chế này có vẻ là dựa trên khả năng các phân tử CO₂ thấm qua màng vi khuẩn và capsit virus. Việc sục khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích tạo ra mật độ khí CO₂ cao ở áp suất khí quyển mà có thể được sử dụng một cách hiệu quả để bất hoạt virus và vi khuẩn trong nước, khi các khí khác như không khí, nitơ và argon chỉ đem lại tác dụng bất hoạt hạn chế. Sự giảm độ pH do sục khí CO₂ được thấy là không chịu trách nhiệm cho tác dụng bất hoạt virus và vi khuẩn cao đạt được nhờ sử dụng phương pháp sục khí CO₂. Có khả năng là việc cho bọt khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích đi qua dung dịch nước tạo ra diện tích mặt phân giới chất lỏng-khí cao và có tính tan CO₂ trong nước cao, điều này đóng vai trò quan trọng trong sự bất hoạt virus và vi khuẩn. Cơ chế này có hiệu quả khi khí có nhiệt độ bằng 18°C hoặc cao hơn.

Cần hiểu rằng, nếu bất kỳ tài liệu kỹ thuật công bố nào được đề cập đến ở đây, thì việc viện dẫn đó không tạo nên sự thừa nhận rằng công bố này đem lại một phân kiến thức tổng quát chung trong lĩnh vực kỹ thuật này, ở Úc hoặc bất kỳ quốc gia nào khác.

Trong các điểm yêu cầu bảo hộ dưới đây và trong phần mô tả ở trên của sáng chế, ngoại trừ ngữ cảnh yêu cầu khác đi do ngôn ngữ diễn đạt hoặc ngụ ý cần thiết, thì từ “chứa” hoặc các biến thể của từ này như “bao gồm” được sử dụng theo nghĩa bao gồm, tức là để định rõ sự có mặt của các đặc điểm được nêu nhưng không loại trừ sự có mặt hoặc bổ sung của các đặc điểm khác theo các phương án khác nhau của sáng chế.

TÀI LIỆU VIỆN DẪN

1. Kantarci N, Borak F, Ulgen KO: Bubble column reactors. *Process Biochemistry* 2005, 40(7):2263-2283.
2. Shah YT, Kelkar BG, Godbole SP, Deckwer WD: Design parameters estimations for bubble column reactors. *AIChE Journal* 1982, 28(3):353-379.
3. Degaleesan S, Dudukovic M, Pan Y: Experimental study of gas-induced liquid-flow structures in bubble columns. *AIChE Journal* 2001, 47(9):1913-1931.
4. Craig VSJ, Ninham BW, Pashley RM: Effect of electrolytes on bubble coalescence. *Nature* 1993, 364(6435):317-319.
5. Shahid M, Pashley RM, Mohklesur RAFM: Use of a high density, low temperature, bubble column for thermally efficient water sterilization. *Desalination and Water Treatment* 2013, 52(22-24):4444-4452.
6. Deckwer WD: On the mechanism of heat transfer in bubble column reactors. *Chemical Engineering Science* 1980, 35(6):1341-1346.
7. Garrido A, Pashley RM, Ninham BW: Low temperature MS2 (ATCC15597-B1) virus inactivation using a hot bubble column evaporator (HBCE). *Colloids Surf B Biointerfaces* 2016, 151:1-10.
8. Xue X, Pashley RM: A study of low temperature inactivation of fecal coliforms in electrolyte solutions using hot air bubbles. *Desalination and Water Treatment* 2015:1-11.
9. Shahid M: A study of the bubble column evaporator method for improved sterilization. *Journal of Water Process Engineering* 2015, 8:e1-e6.
10. Pierandrea Lo N, Barry WN, Antonella Lo N, Giovanna P, Laura F, Piero B: Specific ion effects on the growth rates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Physical Biology* 2005, 2(1):1.
11. ATCC: Product Sheet *Escherichia coli* (ATCC 15597). In. Edited by ATCC; 2015.
12. Hrynyszyn A, Skonieczna M, Wiszniowski J: Methods for Detection of Viruses in Water and Wastewater. *Advances in Microbiology* 2013, 03(05):442-449.
13. WHO -Geneva C, World Health Organization: Evaluating household water treatment options: Health-based targets and microbiological performance specifications. Geneva, Switzerland; 2011.

14. Cheng X, Imai T, Teeka J, Hirose M, Higuchi T, Sekine M: Inactivation of bacteriophages by high levels of dissolved CO₂. *Environ Technol* 2013, 34(1-4):539-544.
15. Garcia-Gonzalez L, Geeraerd AH, Spilimbergo S, Elst K, Van Ginneken L, Debevere J, Van Impe JF, Devlieghere F: High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future. *Int J Food Microbiol* 2007, 117(1):1-28.
16. Vo HT, Imai T, Ho TT, Sekine M, Kanno A, Higuchi T, Yamamoto K, Yamamoto H: Inactivation effect of pressurized carbon dioxide on bacteriophage Q β and Φ X174 as a novel disinfectant for water treatment. *Journal of Environmental Sciences* 2014, 26(6):1301-1306.
17. Enomoto A, Nakamura K, Nagai K, Hashimoto T, Hakoda M: Inactivation of Food Microorganisms by High-pressure Carbon Dioxide Treatment with or without Explosive Decompression. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 1997, 61(7):1133-1137.
18. Lucas MS, Peres JA, Li Puma G: Treatment of winery wastewater by ozone-based advanced oxidation processes (O₃, O₃/UV and O₃/UV/H₂O₂) in a pilot-scale bubble column reactor and process economics. *Separation and Purification Technology* 2010, 72(3):235-241.
19. Raffellini S, Guerrero S, Alzamora SM: EFFECT OF HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION AND pH ON INACTIVATION KINETICS OF ESCHERICHIA COLI. *Journal of Food Safety* 2008, 28(4):514-533.
20. Agranovski IE, Safatov AS, Borodulin AI, Pyankov OV, Petrishchenko VA, Sergeev AN, Agafonov AP, Ignatiev GM, Sergeev AA, Agranovski V: Inactivation of viruses in bubbling processes utilized for personal bioaerosol monitoring. *Appl Environ Microbiol* 2004, 70(12):6963-6967.
21. Seo K, Lee, J. E., Lim, M. Y., Ko, G.: Effect of temperature, pH, and NaCl on the inactivation kinetics of murine norovirus. *J Food Prot* 2012, 75(3):533-540.
22. Valegard K, Liljas L, Fridborg K, Unge T: The three-dimensional structure of the bacterial virus MS2. *Nature* 1990, 345(6270):36-41.
23. Cormier J, Janes M: A double layer plaque assay using spread plate technique for enumeration of bacteriophage MS2. *J Virol Methods* 2014, 196:86-92.

24. Scheutz F, Strockbine NA: *Escherichia*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons, Ltd; 2015.
25. Welch RA: The Genus *Escherichia*. In: *The Prokaryotes: Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*. Edited by Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E. New York, NY: Springer New York; 2006: 60-71.
26. Yang X: Introduction. In: *A Study on Antimicrobial Effects of Nanosilver for Drinking Water Disinfection*. Singapore: Springer Singapore; 2017: 1-12.
27. Gaska I, Bilenko O, Smetona S, Bilenko Y, Gaska R, Shur M: Deep UV LEDs for Public Health Applications. *International Journal of High Speed Electronics and Systems* 2014, 23(03n04):1450018.
28. ATCC: Product Information Sheet for ATCC 15597-B1. In. Edited by (ATCC) ATCC: ATCC; 2005: 2.
29. Spinks AT, Dunstan RH, Harrison T, Coombes P, Kuczera G: Thermal inactivation of water-borne pathogenic and indicator bacteria at sub-boiling temperatures. *Water Research* 2006, 40(6):1326-1332.
30. McGuigan, Joyce, Conroy, Gillespie, Elmore M: Solar disinfection of drinking water contained in transparent plastic bottles: characterizing the bacterial inactivation process. *Journal of Applied Microbiology* 1998, 84(6):1138-1148.
31. 10705-1 I: Water quality - Detection and enumeration of bacteriophages- Part 1. In: *ISO 10705-1*. ISO: International Organization for Standardization; 1995.
32. Tabor RF, Chan DY, Grieser F, Dagastine RR: Anomalous stability of carbon dioxide in pH-controlled bubble coalescence. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011, 50(15):3454-3456.
33. Furiga A, Pierre G, Glories M, Aimar P, Roques C, Causserand C, Berge M: Effects of ionic strength on bacteriophage MS2 behavior and their implications for the assessment of virus retention by ultrafiltration membranes. *Appl Environ Microbiol* 2011, 77(1):229-236.
34. Clokie MRJ, Kropinski AM: Enumeration of Bacteriophages by Double Agar Overlay Plaque Assay. In: *Bacteriophages*. Edited by Leicester Uo, vol. 501. Humana Press; 2009.
35. ATCC: Method 1602: Male-specific (F+) and Somatic Coliphage in Water by Single Agar Layer (SAL). In. Edited by Water. USEPAOo; 2001: 30.

36. Agency USEP: Preparing and Assaying Challenge Microorganismos. In.; 2006: 267- 277.
37. Knoche W: Chemical Reactions of CO₂ in Water. In: *Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide: Symposium Held at the University of Regensburg (FRG) April 17–20, 1979*. Edited by Bauer C, Gros G, Bartels H. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1980: 3-11.
38. Erkmén O: Effects of Dense Phase Carbon Dioxide on Vegetative Cells. In: *Dense Phase Carbon Dioxide*. Wiley-Blackwell; 2012: 67-97.
39. Lin HM, Yang Z, Chen LF: Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* by supercritical and subcritical carbon dioxide. *Biotechnology Progress* 1992, 8(5):458-461.
40. WHO -Geneva C, World Health Organization: Guidelines for drinking-water quality. In. Edited by Organization WH, vol. 1; 2007: 38.
41. Richard C. Flagan JHS: Fundamentals of air pollution engineering. Chapter 2 Combustion fundamentals. In., vol. Chapter 2. California Institute of Technology: Prentice-Hall, Inc.: 59 - 166.
42. Richard F. Berendt ELD, Henry J. Hearn: Virucidal Properties of Light and SO₂ I. Effect on Aerosolized Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus *Experimental Biology and Medicine* 1972, 139(1).
43. Imlay JA, Linn S: Bimodal pattern of killing of DNA-repair-defective or anoxically grown *Escherichia coli* by hydrogen peroxide. *Journal of Bacteriology* 1986, 166(2):519-527.
44. Fridovich I: The biology of oxygen radicals. *Science* 1978, 201(4359):875-880.
45. A. Isenschmid IWM, U. von Stockar The influence of pressure and temperature of compressed CO₂, . *Journal of Biotechnology* 1995, 39:229-237

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp làm bất hoạt vi sinh vật trong dung dịch nước, phương pháp này bao gồm bước:

cho bọt khí của khí đi qua dung dịch nước, trong đó khí chứa ít nhất 10% CO₂ theo thể tích và có nhiệt độ ít nhất là 18°C khi khí bắt đầu đi qua dung dịch nước,

trong đó dung dịch nước được đặt dưới áp suất nằm trong khoảng từ 0,9 đến 1,5 bar và bọt khí có đường kính nằm trong khoảng từ 0,1 mm đến 7 mm.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật là tảo, động vật nguyên sinh, nấm, bào tử, virus hoặc vi khuẩn.
3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó vi sinh vật là virus hoặc vi khuẩn.
4. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bọt khí được cho đi qua dung dịch nước trong khi dung dịch nước được đặt dưới áp suất khí quyển.
5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khí chứa từ 50% đến 100% CO₂ theo thể tích.
6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khí chứa từ 10% đến 50% CO₂ theo thể tích.
7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khí có nhiệt độ cao hơn 100°C.
8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó khí có nhiệt độ nằm trong khoảng từ 18°C đến 100°C.
9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bọt khí được tạo thành bằng cách cho khí đi qua vật liệu xốp khi tiếp xúc với dung dịch nước.
10. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bọt khí chiếm từ 10% đến 60% tổng thể tích của thể kết hợp dung dịch nước và bọt khí khi bọt khí đi qua dung dịch nước.
11. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dung dịch nước có nhiệt độ khối nằm trong khoảng từ 18°C đến 80°C.
12. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dung dịch nước có nhiệt độ khối nằm trong khoảng từ 18°C đến 55°C, và trong đó khí có nhiệt độ cao hơn nhiệt độ khối của dung dịch nước.

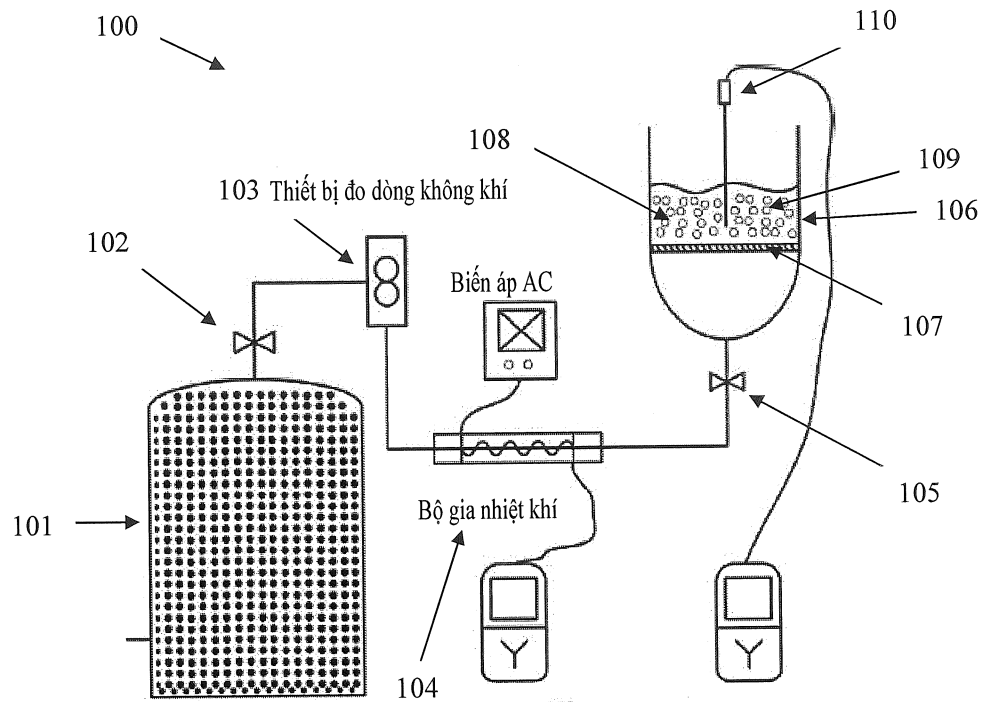


FIG. 1

Sự phân bố kích thước theo mật độ

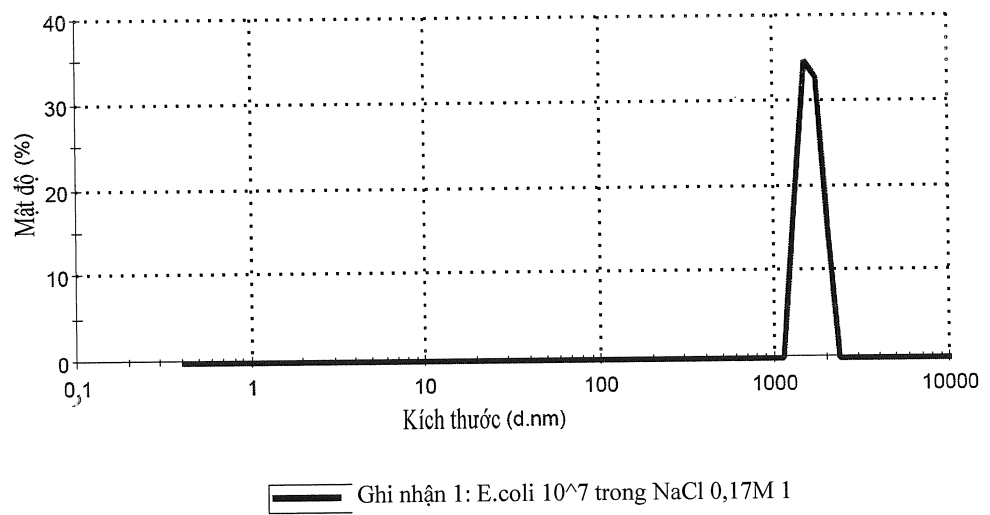


FIG. 2

- 2/7 -

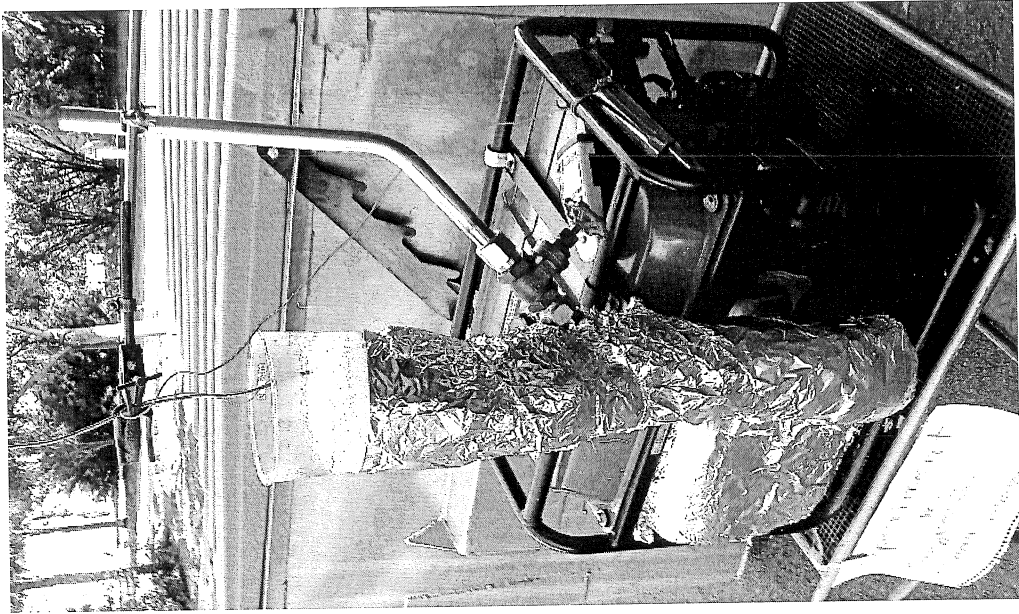


FIG. 3

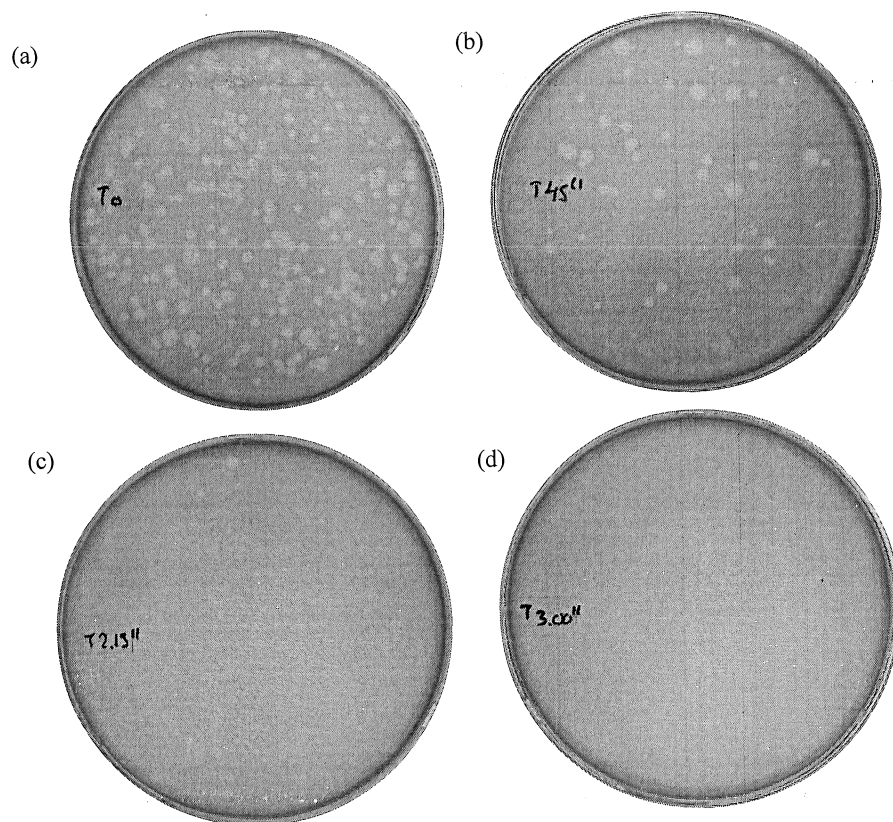
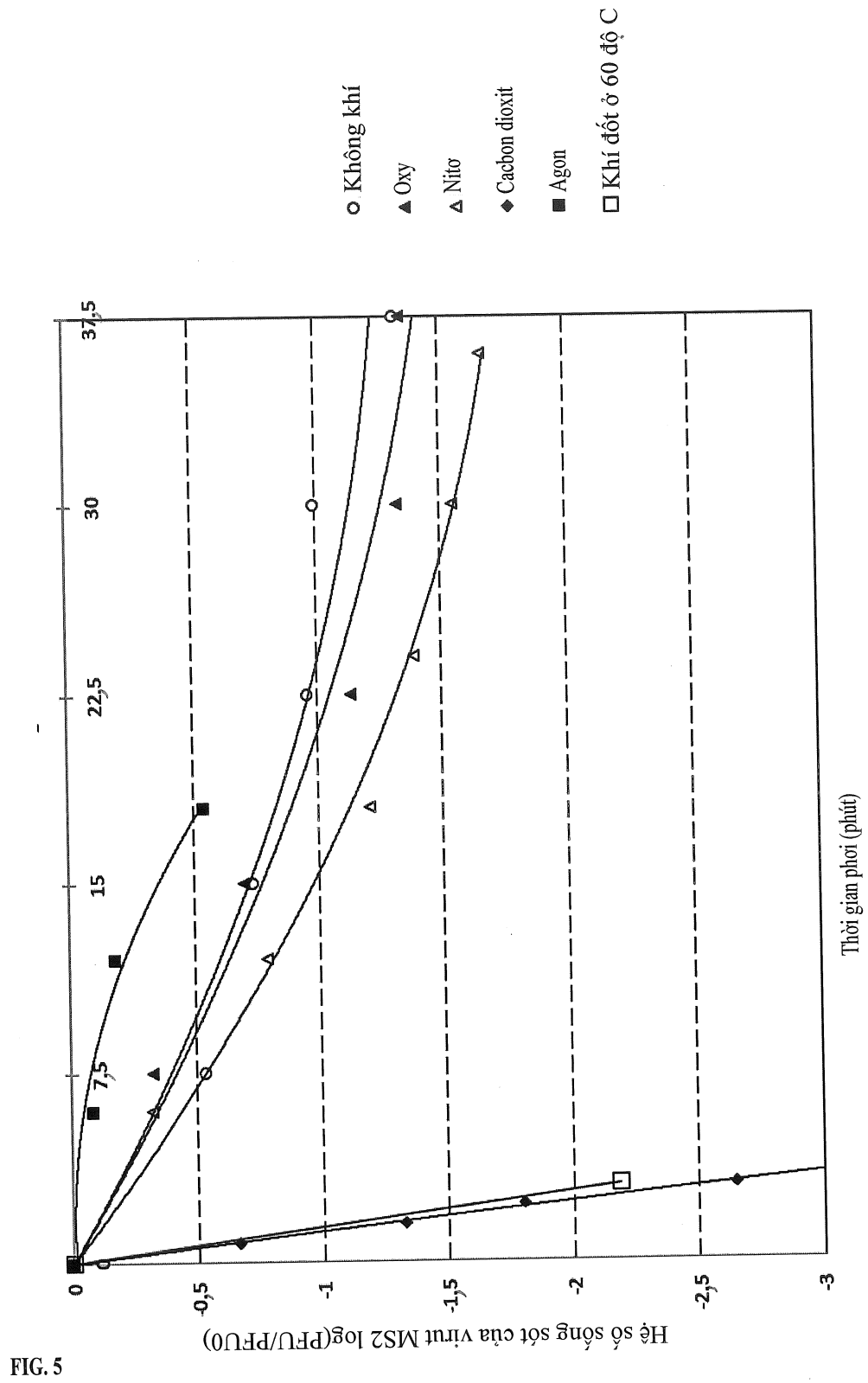


FIG. 4

- 3/7 -



- 4/7 -

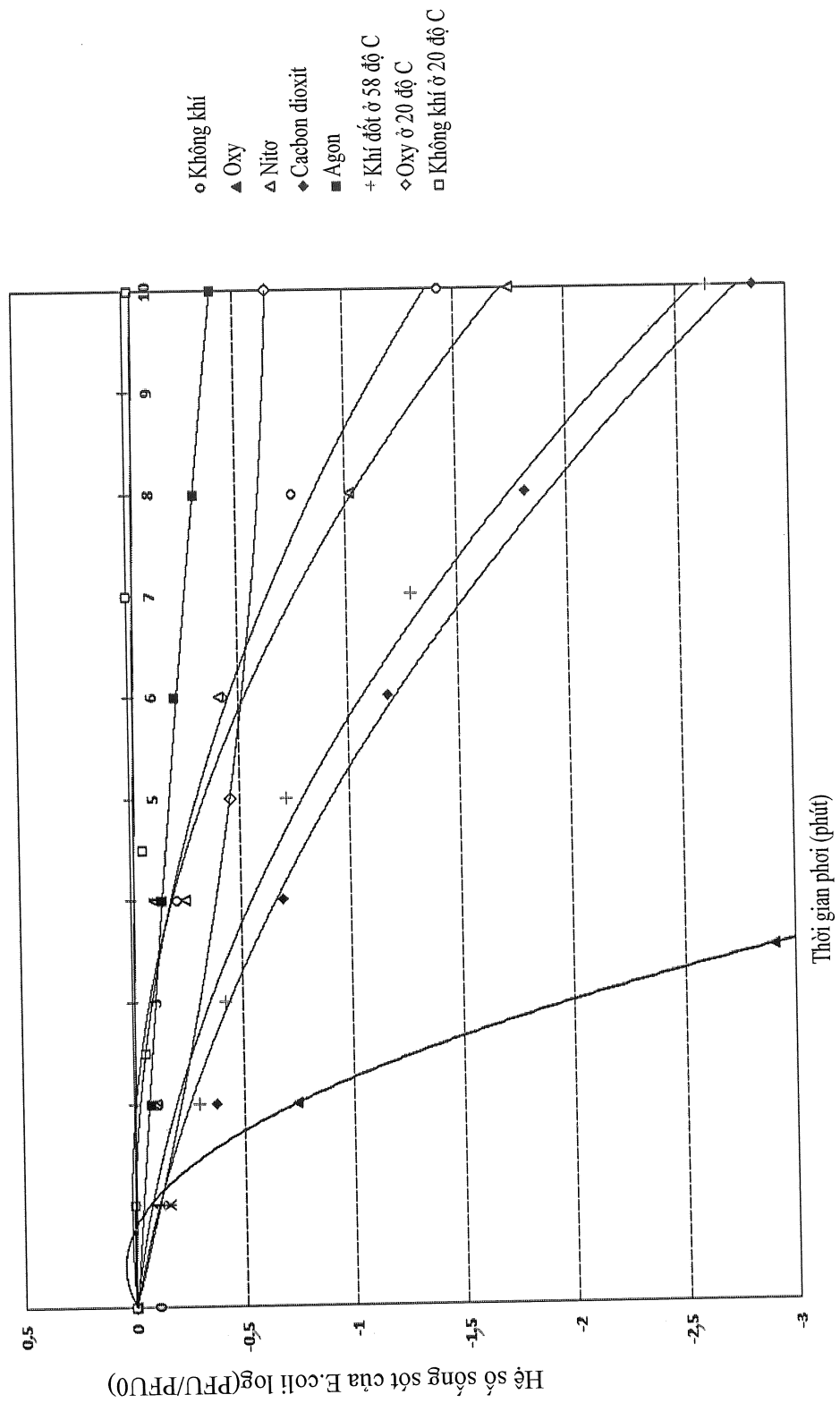


FIG. 6

- 5/7 -

Sự bất hoạt MS2 với CO₂ khác nhau ở các nhiệt độ khác nhau trong NaCl 0,17M

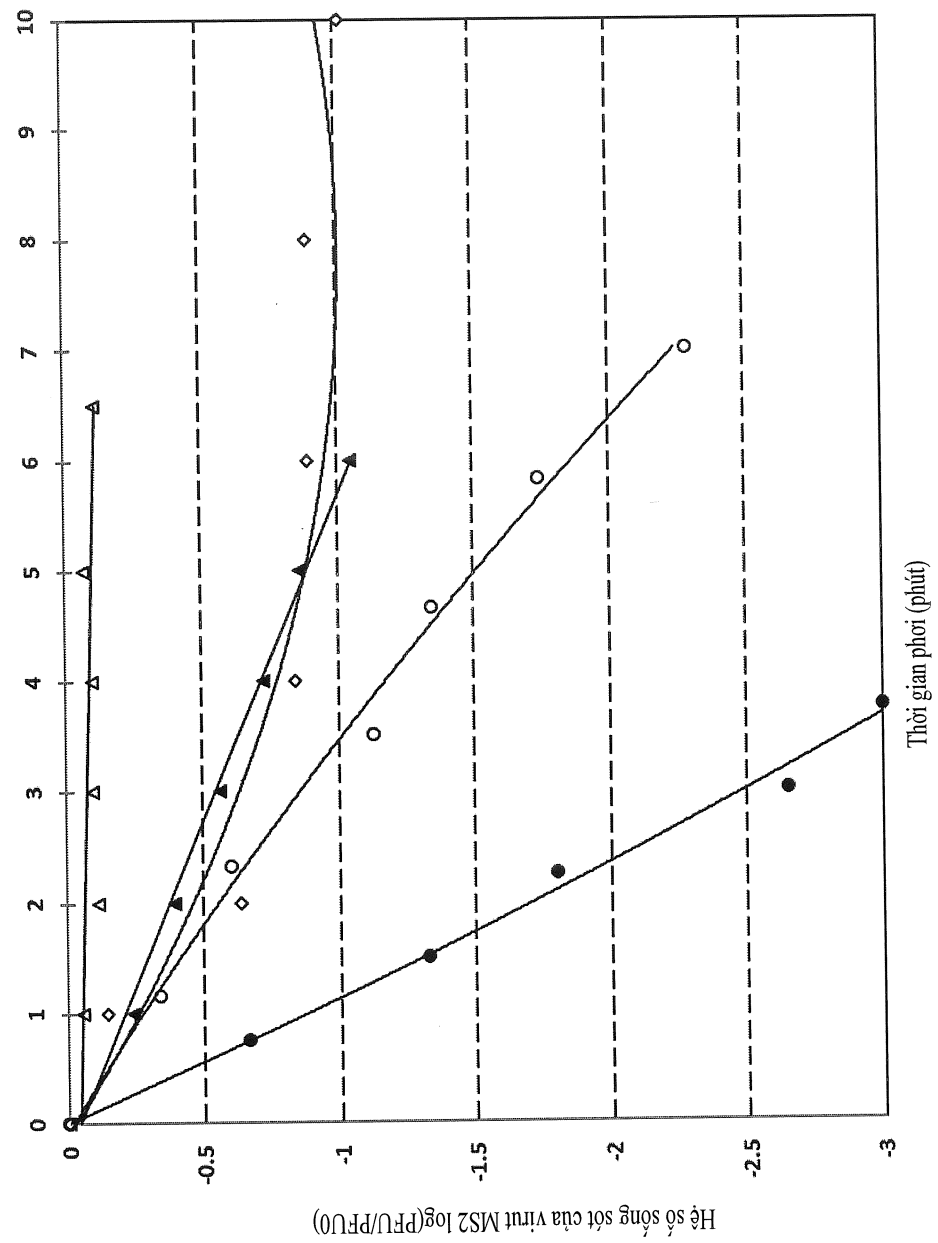


FIG. 7

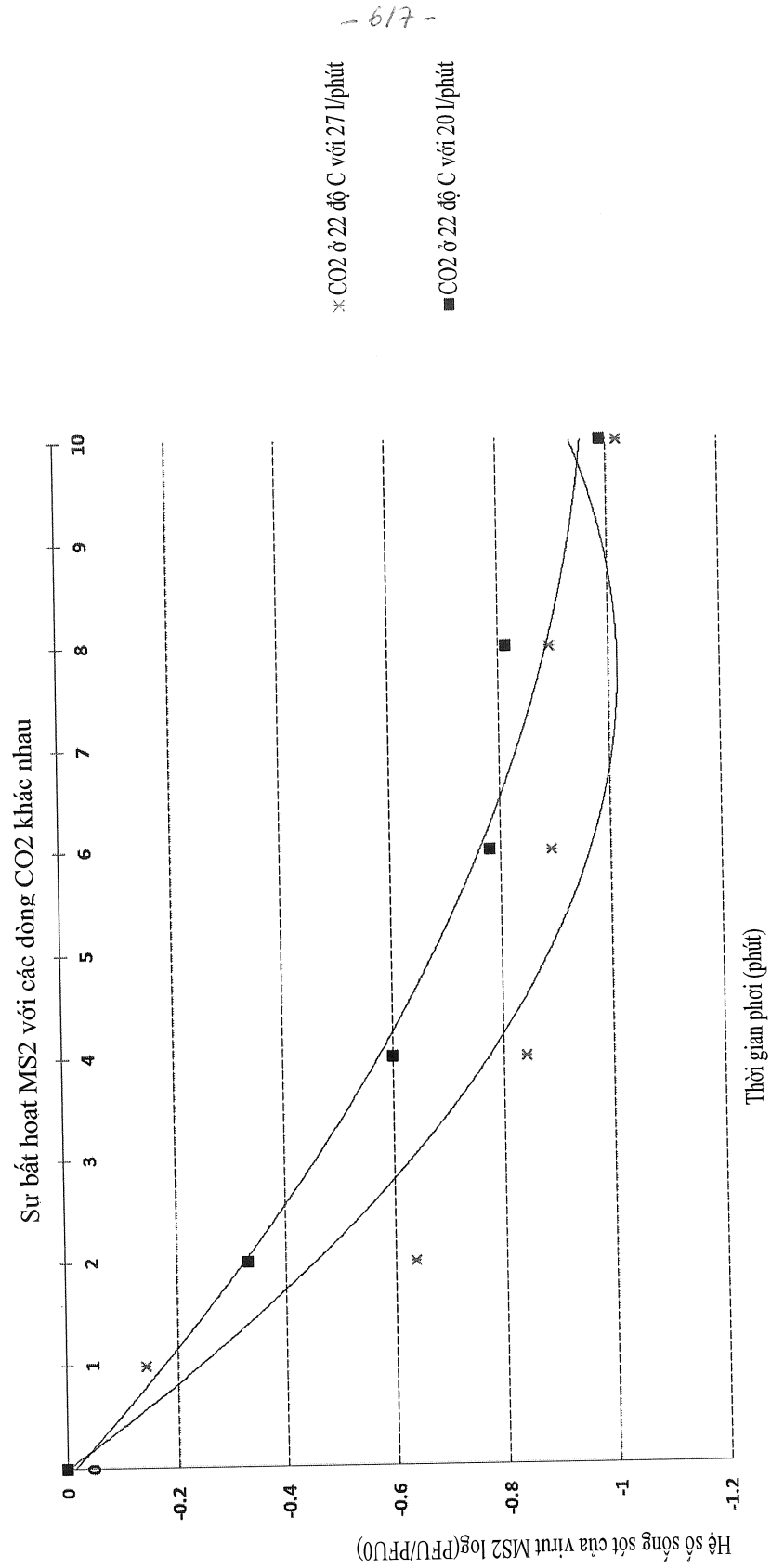


FIG. 8

- 7/7 -

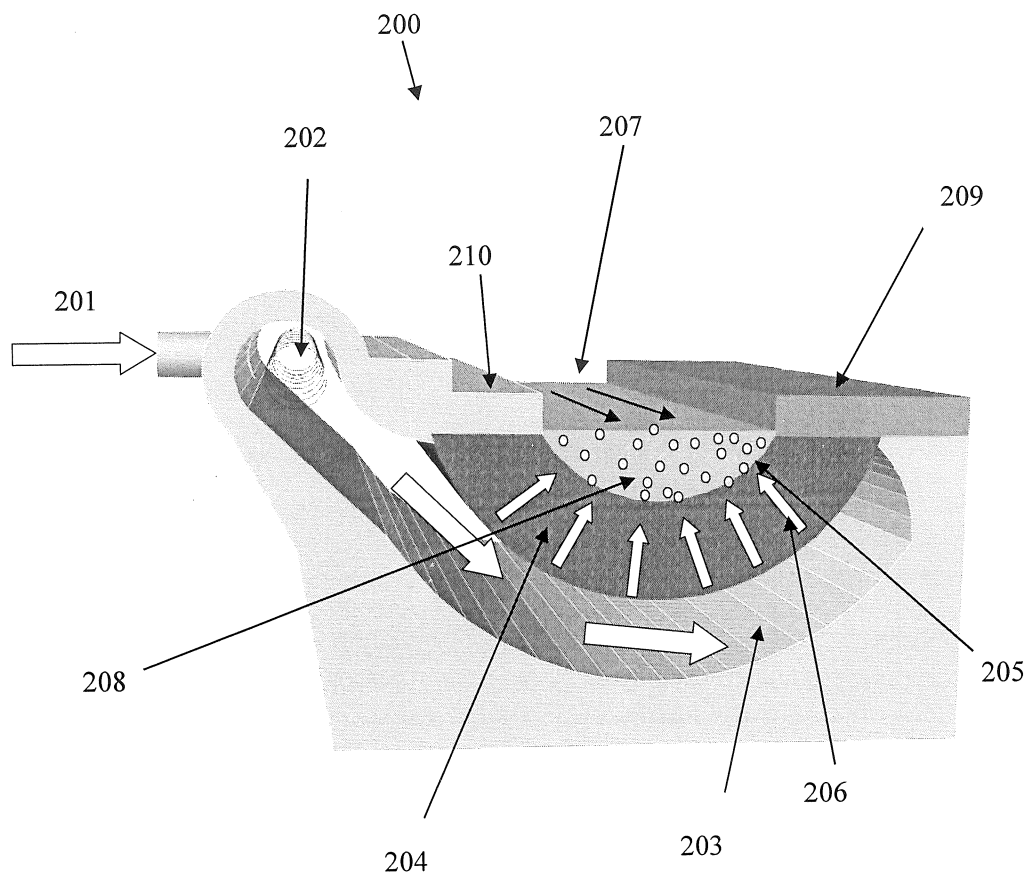


FIG. 9