



(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)



1-0048693

(51)^{2021.01} C12Q 1/18

(13) B

(21) 1-2022-05931

(22) 16/09/2022

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/11/2022 416A

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

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

(54) PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH ĐỘ ĐỘC CỦA NƯỚC THẢI BẰNG THIẾT BỊ CẢM BIẾN SINH HỌC KẾT NỐI VỚI CẢM BIẾN CO₂

(21) 1-2022-05931

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng thiết bị phản ứng sinh học kết nối với cảm biến CO₂. Phương pháp sử dụng vi sinh vật trong môi trường tự nhiên được cố định trên giá thể trơ, có độ rỗng cao giữ vi sinh tốt, nhờ đó quy trình cố định vi sinh vật đơn giản dựa vào cơ chế hấp phụ, không tốn nhiều thời gian thực hiện, đồng thời chi phí thấp. Bên cạnh đó, lượng khí CO₂ sinh ra trong quá trình phân hủy sinh học được đo theo xung, cụ thể là đóng buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định để tăng nồng độ CO₂ trong pha khí nhằm tăng độ nhạy của phép đo, sau đó mở buồng phản ứng sinh học để đuổi lượng khí CO₂ này qua thiết bị đo CO₂ đồng thời cung cấp lại một lượng O₂ để bù lượng O₂ đã bị vi sinh tiêu thụ.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng thiết bị phản ứng sinh học kết nối với cảm biến CO₂.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các hoạt động xả thải từ sản xuất công nghiệp không được quan trắc kịp thời là nguyên nhân chính dẫn đến ô nhiễm nguồn nước. Sự hiện diện của các nguyên tố hoặc hợp chất độc hại trong nước dẫn đến nhiều vấn đề môi trường, kinh tế và là một mối đe dọa đến sức khỏe con người. Hiện nay, việc kiểm soát chất lượng nước được thực hiện thông qua các bộ tiêu chuẩn, quy chuẩn liên quan bằng các phương pháp phân tích hóa học. Các phương pháp này sử dụng các thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), khối phổ plasma cảm ứng (ICP - MS), phương pháp sắc kí... cho phép định danh từng hợp chất cụ thể với độ nhạy cao. Ngoài việc đòi hỏi trình độ kỹ thuật, máy móc, trang thiết bị hiện đại tốn kém, những phương pháp này chỉ có khả năng cung cấp đánh giá định lượng cho một chất ô nhiễm riêng lẻ, tùy vào đặc trưng của từng nguồn thải, nên chưa đem lại cái nhìn bao quát về đánh giá chất lượng nước ở nguồn tiếp nhận.. Do đó, để có cái nhìn tổng quan hơn hiện nay người ta hướng tới phương pháp đánh giá định tính dựa vào độc tính. Đây là phương pháp đánh giá chất lượng nước dựa vào chỉ thị sinh học, thường được thực hiện trên các loại tảo, bèo, cá ngựa vằn (TCVN 10806:2015), vi giáp xác *Daphia magna* (ISO 6341:2012),... Mặc dù có một số phương pháp được tiêu chuẩn hóa nhưng những phương pháp này thường có độ nhạy thấp, thời gian phản hồi chậm.

Để cải thiện độ nhạy, một số phương pháp liên quan tới đo sự phát quang của vi khuẩn hoặc nấm men được đề xuất. Theo đó, vi khuẩn *Vibrio fischeri* (TCVN 6831:2010) được sử dụng để đánh giá độc tính, tuy nhiên đây là loại vi khuẩn nước mặn, không phù hợp đánh giá trong môi trường nước ngọt. Ngoài ra, Linlin Gong và các cộng sự vào năm 2020 [Tập chí bioRxiv, số 2020.01.07.898106] đã mô tả cảm biến sinh học dựa vào hiệu ứng ức chế sự trao đổi chất của các chất độc để cung cấp khả năng phát hiện và mức độ độc hại đối với tế bào nấm men *Saccharomyces cerevisiae* đo quang ở bước sóng 600 nm. Nhìn chung các phương pháp này đều yêu cầu thiết bị đo quang dẫn đến chi phí lắp đặt và vận hành cao.

Tổng quan tài liệu cho thấy, cảm biến điện hóa vi sinh vật đang được quan tâm và phát triển để khắc phục vấn đề chi phí. Theo đó, sáng chế CN101261242 đã đề xuất phương pháp sử dụng cảm biến điện hóa vi sinh vật để xác định độc tính trong nước. Điện cực vi sinh vật được tạo ra bằng cách cố định các mầm vi sinh vật chuẩn bị trước đó qua băng diprosipia và giữ lạnh ở 4°C từ 24 đến 48 giờ trước khi sử dụng. Phương pháp này giúp cải thiện hơn về độ nhạy và độ lặp lại, đồng thời được đánh giá là dễ vận hành, có thể tái sử dụng do đó giảm phần lớn chi phí thiết bị. Tuy nhiên phương pháp này cho thấy quy trình chuẩn bị mầm vi sinh vật phức tạp và tốn nhiều thời gian. Gần đây, một bộ cảm biến sinh học phát hiện chất gây ô nhiễm dạng pin nhiên liệu vi sinh vật được đề xuất trong sáng chế WO2022104453, phương pháp này cho thấy khả năng giám sát liên tục từ đó đưa ra cảnh báo sớm chất độc trong nước. Tương tự, MinXu và các cộng sự vào năm 2021 [Tập chí Chemosphere, số 270 trang 129455] cũng đề xuất cảm biến pin nhiên liệu vi sinh vật như một thiết bị cảnh báo sớm trước cú sốc của Pb(II), tuy nhiên các phương pháp này không thể đánh giá được mức độ ức chế cụ thể.

Năm 2015, Federico Figueredo và các cộng sự đã đưa ra phương pháp sử dụng điện cực CO₂ để định lượng khả năng sản xuất CO₂ của vi khuẩn *Pseudomonas putida* KT2440 [Tập chí Environmental Monitoring and Assessment số 187, trang 1 – 13]. Khí CO₂ tạo ra trong môi trường nước mục tiêu được đo liên tục với điện cực điện thế. Phương pháp này có thể giám sát phản hồi của vi khuẩn theo thời gian khi tiếp xúc độc chất và cũng có thể tính ra EC50 dựa vào khả năng sản xuất CO₂, tuy nhiên không ghi nhận được mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ kim loại và mức độ ức chế.

Một nhược điểm chung của các phương pháp điện hóa là bộ phận điện cực phải tiếp xúc liên tục với nước thải chứa thành phần chưa xác định, điều đó có thể là một yếu tố gây nhiễu khi đối tượng hướng tới là nước thải thực.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế này là đề xuất một phương pháp xác định nồng độ mẫu gây ức chế 50% khả năng phân hủy cơ chất của vi sinh vật (IC₅₀), giảm thời gian phân tích so với phương pháp thử nghiệm sinh học, tiết kiệm chi phí so với các phương pháp đo quang và có thể định lượng được nồng độ mẫu gây ức chế vi sinh vật đồng thời hạn chế yếu tố gây nhiễu khi tránh sự tiếp xúc trực tiếp của bộ phận cảm biến CO₂ với nước thải mục tiêu so với phương pháp điện hóa.

Theo sáng chế, phương pháp xác định nồng độ mẫu gây ức chế 50% khả năng phân hủy cơ chất của vi sinh vật bằng thiết bị phản ứng sinh học kết nối với cảm biến CO₂ sử dụng vi sinh vật được cố định trên giá thể trơ, có độ rỗng cao giữ vi sinh tốt, nhờ đó quy trình cố định vi sinh vật đơn giản dựa vào cơ chế hấp phụ, không tốn nhiều thời gian thực hiện, đồng thời chi phí thấp. Bên cạnh đó, lượng khí CO₂ sinh ra trong quá trình phân hủy sinh học được đo theo xung, cụ thể là đóng buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định để tăng nồng độ CO₂ trong pha khí nhằm tăng độ nhạy của phép đo, sau đó mở buồng phản ứng sinh học để đuổi lượng khí CO₂ này qua thiết bị đo CO₂ đồng thời cung cấp lại một lượng O₂ để bù lượng O₂ đã bị vi sinh tiêu thụ.

Theo sáng chế, phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng thiết bị phản ứng sinh học kết nối với cảm biến CO₂ bao gồm các bước:

- (a) cho giá thể chứa vi sinh vật và nước khoáng vào buồng phản ứng sinh học và khuấy;
- (b) cho khí oxy qua buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_1 để bão hòa oxy trong nước khoáng;
- (c) xác định lượng khí CO₂ nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với nước khoáng gồm các bước sau:

- i) đóng kín buồng phản ứng trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy qua thiết bị đo CO₂ để xác định giá trị nền;

- ii) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO₂ sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước i) qua thiết bị đo CO₂ nhằm xác định lượng CO₂ sinh ra;

- iii) lặp lại bước i) và ii) cho đến khi lượng khí CO₂ sinh ra trong ba lần đo liên tiếp lệch không quá 5%; và

- iv) tính lượng khí CO₂ nền C_b bằng cách lấy giá trị trung bình của ba lần đo cuối;

- (d) bơm một lượng cơ chất đã biết giá trị tổng cacbon hữu cơ ban đầu TOC₀ vào buồng phản ứng sinh học và xác định lượng khí CO₂ sinh ra từ hoạt động phân hủy cơ chất của vi sinh vật gồm các bước sau:

- v) đóng kín buồng phản ứng trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy qua thiết bị đo CO₂ để xác định giá trị nền;

vi) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước v) qua thiết bị đo CO_2 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra trong lần đo thứ i $[\text{C}_c]_i$ với $i = 1, 2, 3, \dots$;

vii) tính giá trị tổng cacbon hữu cơ còn trong dung dịch tại lần đo thứ i $t_i = t_{i-1} + t_2 + t_3$ TOC_i bằng công thức $\text{TOC}_i = \text{TOC}_{i-1} - [\text{C}_c]_i - \text{C}_b$

viii) lặp lại bước v), vi) và vii) ít nhất 5 lần để xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_c ;

(e) rút sạch mẫu dung dịch trong buồng phản ứng và rửa giá thể chứa vi sinh ít nhất 03 lần bằng nước cất;

(f) cho một lượng cố định nước khoáng V_b vào lại buồng phản ứng sinh học và lặp lại bước b) và c);

(g) bơm một lượng cố định mẫu nước cần xác định độ độc V_{tox} vào buồng phản ứng sinh học và xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất gồm các bước sau:

ix) đóng kín buồng phản ứng trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy qua thiết bị đo CO_2 để xác định giá trị nền;

x) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước ix) qua thiết bị đo CO_2 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra;

xi) lặp lại bước ix) và x) và xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất C_{tox} ở lần đo thứ hai;

(h) lặp lại bước d) trong đó $\text{TOC}_i = \text{TOC}_{i-1} - [\text{C}_c]_i - \text{C}_{\text{tox}}$ và xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_{tox} ;

(k) xác định khối lượng riêng của mẫu nước cần đo độ độc ρ_{tox} tính phần trăm ức chế hô hấp của mẫu đo ở nồng độ $\rho_{\text{tox}} \times V_{\text{tox}} / (V_b + V_{\text{tox}})$ bằng công thức $I (\%) = (k_c - k_{\text{tox}}) / k_c \times 100\%$ từ đó nội suy ra giá trị IC_{50} hoặc lặp lại các bước từ e) đến k) với hệ số pha loãng thấp hơn bằng cách tăng V_{tox} hoặc giảm V_b nếu giá trị I tối đa thu được thấp hơn 50%.

Vi sinh được sử dụng trong buồng phản ứng ở dạng cố định lên giá thể trơ, xếp để hạn chế thất thoát vi sinh vật trong quá trình rửa giá thể.

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

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ quy trình công nghệ của phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng thiết bị phản ứng sinh học kết nối với cảm biến CO₂.

Hình 2 là tín hiệu CO₂ thu được khi tiêm 0,2 mL khí CO₂ tinh khiết vào buồng phản ứng sinh học trong ví dụ thực hiện sáng chế 1.

Hình 3 là đồ thị đường chuẩn với diện tích pic ở trục hoành và thể tích khí CO₂ tinh khiết ở trục tung trong ví dụ thực hiện sáng chế 1.

Hình 4 (a) là đồ thị tín hiệu CO₂ thu được khi tiêm mẫu cơ chất vào buồng phản ứng sinh học đang chứa khoáng và hình 4 (b) là đồ thị tín hiệu CO₂ thu được khi tiêm mẫu cơ chất vào buồng phản ứng sinh học chứa Cr(VI) 15 ppm trong ví dụ thực hiện sáng chế 1.

Hình 5 là đồ thị thể hiện phương trình động lực học bậc 2 khi vận hành cảm biến sinh học với mẫu cơ chất trên nền nước khoáng và nền chứa Cr(VI) 15 ppm trong ví dụ thực hiện sáng chế 2.

Hình 6 là đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa nồng độ độc chất Cr(VI) và mức độ ức chế trong ví dụ thực hiện sáng chế 2.

Mô tả chi tiết để thực hiện sáng chế

Theo hình 1, phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng cách xác định IC₅₀ bao gồm các bước sau:

Bước (a) cho giá thể **4.1** đã được cố định vi sinh vật, mẫu trắng và cá từ **4.3** vào buồng phản ứng sinh học **4**, đặt buồng phản ứng sinh học lên máy khuấy từ **4.4** và điều chỉnh tốc độ khuấy phù hợp.

Bước (b) mở van bình khí oxy **1**, điều chỉnh tốc độ khí bằng bộ điều khiển lưu lượng khí **2**. Khí oxy được cho qua cụm van **3** nhờ bộ điều khiển van tự động **3.1** mở van dẫn O₂ qua ống dẫn buồng phản ứng **3.3** vào buồng phản ứng sinh học **4** trong một khoảng thời gian cố định t₁ để bão hòa oxy trong nước khoáng và điền đầy oxy vào khoảng không của buồng phản ứng sinh học **4**.

Bước (c) xác định lượng khí CO₂ nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với nước khoáng theo các bước như sau:

- i) đóng kín buồng phản ứng 4 trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy từ bình khí 1 qua đường khí nối tắt 3.2 đến thiết bị đo CO₂ 5 để xác định giá trị nền;
- ii) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học 4 trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO₂ sinh ra trong giai đoạn nhốt ở bước i) qua thiết bị đo CO₂ 5 nhằm xác định lượng CO₂ sinh ra; trong đó các thời gian t_2, t_3 được điều chỉnh bằng bộ điều khiển van tự động 3.1;
- iii) lặp lại bước i) và ii) cho đến khi lượng khí CO₂ sinh ra trong ba lần đo liên tiếp lệch không quá 5%; và
- iv) tính lượng khí CO₂ nền C_b bằng cách lấy giá trị trung bình của ba lần đo cuối.

Bước (d) bơm một lượng cơ chất đã biết giá trị tổng cacbon hữu cơ ban đầu TOC₀ vào buồng phản ứng sinh học 4 và xác định lượng khí CO₂ sinh ra từ hoạt động phân hủy cacbon hữu cơ hòa tan của vi sinh, quy trình thực hiện gồm các bước sau:

- v) đóng kín buồng phản ứng 4 trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy từ bình khí 1 qua đường khí nối tắt 3.2 đến thiết bị đo CO₂ 5 để xác định giá trị nền;
- vi) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học 4 trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO₂ sinh ra trong giai đoạn nhốt ở bước v) qua thiết bị đo CO₂ 5 nhằm xác định lượng CO₂ sinh ra trong lần đo thứ $[C_c]_i$ với $i = 1, 2, 3, \dots$;
- vii) tính giá trị tổng cacbon hữu cơ còn trong dung dịch tại lần đo thứ i $t_i = t_{i-1} + t_2 + t_3$ TOC_i bằng công thức $TOC_i = TOC_{i-1} - [C_c]_i - C_b$;
- viii) lặp lại bước v), vi) và vii) ít nhất 5 lần để xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_c ;

Bước (e) rút sạch mẫu dung dịch trong buồng phản ứng 4 và rửa giá thể chứa vi sinh vật 4.1 và cá từ 4.3 ít nhất 03 lần bằng nước cất;

Bước (f) cho một lượng cố định khoáng V_b vào buồng phản ứng sinh học 4 và lặp lại bước b) và c)

Bước (g) bơm một lượng cố định mẫu nước cần xác định độ độc V_{tox} vào buồng phản ứng sinh học 4 và xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất gồm các bước sau:

- ix) đóng kín buồng phản ứng 4 trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy từ bình khí 1 qua đường khí nối tắt 3.2 đến thiết bị đo CO_2 5 để xác định giá trị nền;
- x) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học 4 trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước ix) qua thiết bị đo CO_2 5 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra;
- xi) lặp lại bước ix) và x) và xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất C_{tox} ở lần đo thứ hai;

Bước (h) lặp lại bước d) trong đó $TOC_i = TOC_{i-1} - [C_c]_i - C_{tox}$ và xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_{tox} ;

Bước (k) xác định khối lượng riêng của mẫu nước cần đo độ độc ρ_{tox} từ đó tính phần trăm ức chế hô hấp của mẫu đo ở nồng độ $\rho_{tox} \times V_{tox} / (V_b + V_{tox})$ bằng công thức $I (\%) = (k_c - k_{tox}) / k_c \times 100\%$ từ đó nội suy ra giá trị IC_{50} hoặc lặp lại các bước từ e) đến k) với hệ số pha loãng thấp hơn bằng cách tăng V_{tox} hoặc giảm V_b nếu giá trị I tối đa thu được thấp hơn 50%.

Trong đó, các tín hiệu CO_2 ghi nhận được trên thiết bị đo sẽ được truyền qua bộ giao tiếp máy tính 6 và hiển thị kết quả trên màn hình 7.

Ví dụ thực hiện sáng chế

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

Ví dụ 1: Xây dựng đường chuẩn xác định hàm lượng CO_2

Cài đặt bộ điều khiển van tự động cho mở van qua buồng sinh học liên tục, sau đó cho khí O_2 tinh khiết qua buồng phản ứng sinh học với tốc độ 40 mL/phút để đuổi khí CO_2 có trong không khí ra khỏi buồng và ghi nhận giá trị nền. Khi giá trị nền ổn định, tiêm CO_2 tinh khiết bằng ống tiêm 1 mL lần lượt ở các giá trị thể tích chính xác là 0,1; 0,2 và 0,3 mL vào buồng phản ứng. Lượng khí CO_2 này sẽ được khí O_2 (hoạt động như khí mang) đuổi đến thiết bị đo CO_2 hình thành nên pic tín hiệu như hình 2. Tiến hành tính diện tích pic bằng các phần mềm tính toán như origin và vẽ đồ thị điểm thể hiện mối tương quan giữa diện tích pic thể hiện ở trục hoành và thể tích khí CO_2 tinh khiết tiêm vào thể hiện ở trục tung. Kết quả

như hình 3 cho thấy diện tích pic có mối tương quan tuyến tính với thể tích khí CO₂ với hệ số tương quan $R^2 = 0,9987$.

Ví dụ 2: Xác định độ độc của Cr(VI) gây ra sự ức chế 50% khả năng phân hủy cơ chất của vi sinh vật (IC₅₀) ở $t_2 = 5$ phút

Cho 1 g hỗn hợp bùn chứa vi sinh vật lơ lửng được cố định lên giá thể xơ dừa bằng phương pháp hấp phụ trong 2 giờ, 5 mL nước khoáng và cá từ vào buồng phản ứng sinh học, đặt buồng phản ứng lên máy khuấy từ, cài đặt tốc độ khuấy 300 vòng/phút. Mở van bình khí oxy, điều chỉnh tốc độ oxy qua buồng phản ứng là 40 mL/phút trong 15 phút để bão hòa oxy trong mẫu trắng và điền đầy oxy vào khoảng không của buồng phản ứng. Tiếp theo, thực hiện các bước xác định lượng khí CO₂ nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với nước khoáng gồm các bước sau:

Bước 1: Đóng kín buồng phản ứng trong khoảng thời gian $t_2 = 05$ phút, đồng thời cho khí oxy qua trực tiếp thiết bị đo CO₂ để xác định giá trị nền;

Bước 2: Cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong khoảng thời gian $t_3 = 03$ phút để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO₂ sinh ra trong giai đoạn nhốt ở bước 1 qua thiết bị đo CO₂ nhằm xác định lượng CO₂ sinh ra;

Bước 3: Lặp lại bước 1 và bước 2 cho đến khi lượng khí CO₂ sinh ra trong ba lần đo liên tiếp lệch không quá 5%;

Bước 4: Tính lượng khí CO₂ nền C_b bằng cách lấy giá trị trung bình của ba lần đo cuối

Sau khi đo lượng khí CO₂ nền sinh ra từ hoạt động vi sinh của mẫu khoáng, tiến hành bơm các thể tích chính xác 0,2 mL hỗn hợp chứa 187,5 mg/L glucosơ và 187,5 mg/L axit glutamic (GGA) vào buồng phản ứng sinh học, dung dịch này có tổng cacbon hữu cơ là 2,5233 μmol và xác định lượng khí CO₂ từ hoạt động phân hủy cơ chất của vi sinh vật. Quy trình thực hiện như sau:

Bước 1: Đóng kín buồng phản ứng trong 05 phút, đồng thời cho khí oxy qua trực tiếp thiết bị đo CO₂ để xác định giá trị nền;

Bước 2: Cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong 03 phút để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO₂ sinh ra trong giai đoạn nhốt ở bước 1 qua thiết bị đo CO₂ nhằm xác định lượng CO₂ sinh ra trong lần đo thứ i $[C_c]_i$ với $i = 1, 2, 3, \dots$;

Bước 3: tính giá trị tổng cacbon hữu cơ còn trong dung dịch tại lần đo thứ i $t_i = t_{i-1} + t_2 + t_3$ TOC _{i} bằng công thức $\text{TOC}_i = \text{TOC}_{i-1} - [C_c]_i - C_b$

Bước 4: Lặp lại bước 1, bước 2 và bước 3 ít nhất 5 lần để xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_c ;

Tiếp theo, rút sạch mẫu dung dịch trong buồng phản ứng và rửa giá thể xơ dừa chứa vi sinh ít nhất 03 lần bằng nước cất. Cho 4,5 mL nước khoáng vào buồng phản ứng sinh học và lặp lại bước bước 2 và bước 3 trong giai đoạn xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với nước khoáng. Sau đó bơm 0,5 mL dung dịch Cr(VI) 150 ppm vào buồng phản ứng sinh học, lúc này nồng độ Cr(VI) trong buồng là 15 ppm, xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất gồm các bước sau:

Bước 1: Đóng kín buồng phản ứng trong khoảng thời gian $t_2 = 05$ phút, đồng thời cho khí oxy qua trực tiếp thiết bị đo CO_2 để xác định giá trị nền;

Bước 2: Cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong khoảng thời gian $t_3 = 03$ phút để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đo lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước 1 qua thiết bị đo CO_2 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra;

Bước 3: Lặp lại bước 1 và 2 để xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh vật với mẫu nước chứa Cr(VI) 15 ppm ở lần đo thứ hai;

Lặp lại quy trình tiêm 0,2 mL GGA vào buồng phản ứng, trong đó $\text{TOC}_i = \text{TOC}_{i-1} - [\text{C}_c]_i - \text{C}_{\text{tox}}$ và xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_{tox} ; Tính phần trăm ức chế hô hấp của mẫu Cr(VI) ở nồng độ 50 ppm bằng công thức $I(\%) = (k_c - k_{\text{tox}})/k_c \times 100\%$.

Kết quả thu được trên máy tính sẽ có dạng như hình 4, với hình 4 (a) là đồ thị tín hiệu CO_2 thu được khi tiêm 0,2 mL GGA vào buồng phản ứng sinh học đang chứa khoáng và hình 4 (b) là đồ thị tín hiệu CO_2 thu được khi tiêm mẫu 0,2 mL GGA vào buồng phản ứng sinh học đang chứa Cr(VI) 15 ppm. Vẽ đồ thị điểm thể hiện xu hướng động lực học bậc 2 của hai giai đoạn trên theo thời gian như hình 5 từ đó suy ra $I(\%) = 51,28\%$.

Thực hiện tương tự Cr(VI) ở các nồng độ 1, 5, 10, 20 và 25 ppm với các buồng phản ứng khác nhau, từ đó nội suy ra giá trị $\text{IC}_{50} = 13,63$ ppm. Vẽ đồ thị điểm với mức độ ức chế đo được ở trục tung và nồng độ Cr(VI) ở trục hoành như hình 6. Có thể thấy, nồng độ Cr(VI) có mối quan hệ tuyến tính với mức độ ức chế thu được qua phương trình $y = 3,7014x$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,9937$.

Ví dụ 3: Khảo sát ảnh hưởng của thời gian đóng buồng t_2 đến độ nhạy của cảm biến

Thực hiện khảo sát mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ Cr(VI) và mức độ ức chế với thời gian $t_2 = 10$ phút, quy trình thực hiện như ví dụ 2, từ đó nội suy ra giá trị $IC_{50} = 40,4$ ppm. Vẽ đồ thị điểm với mức độ ức chế đo được ở trực tung và nồng độ Cr(VI) ở trục hoành như hình 7. Có thể thấy, nồng độ Cr(VI) có mối quan hệ tuyến tính với mức độ ức chế thu được qua phương trình $y = 1,2348x$ với hệ số tương quan $R^2 = 0,9951$.

Độ nhạy của cảm biến thể hiện qua hệ số góc a của phương trình tuyến tính giữa nồng độ Cr(VI) và mức độ ức chế. Kết quả cho thấy thời gian $t_2 = 10$ phút với $a = 1,2348$ cho độ nhạy cảm biến thấp hơn thời gian $t_2 = 5$ phút với $a = 3,7014$ (ví dụ 2).

Những lợi ích có thể đạt được

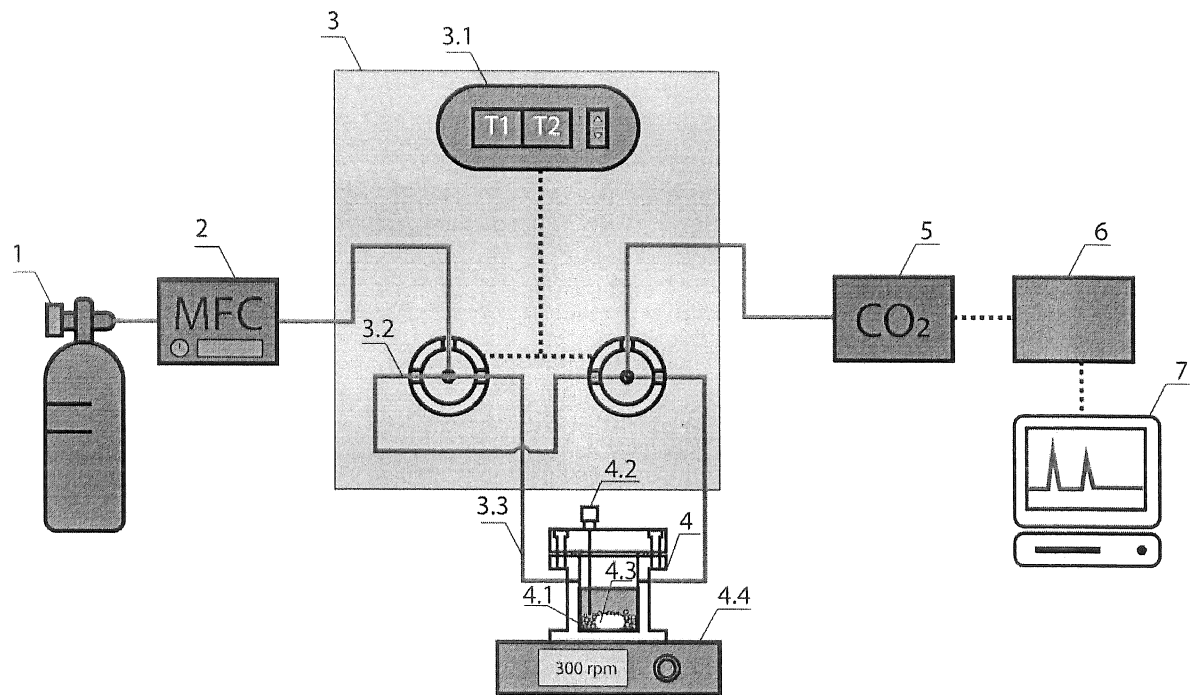
Phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng thiết bị phản ứng sinh học kết nối với cảm biến CO_2 theo sáng chế cho phép rút ngắn thời gian phân tích so với các phương pháp thử nghiệm sinh học truyền thống. Đây là phương pháp vận hành đơn giản, sử dụng cảm biến CO_2 tránh sự tiếp xúc trực tiếp giữa điện cực và mẫu nước phân tích, nhờ đó cho thấy mối quan hệ tuyến tính cao giữa nồng độ độc chất và mức độ ức chế vi sinh vật.

YÊU CẦU BẢO HỘ

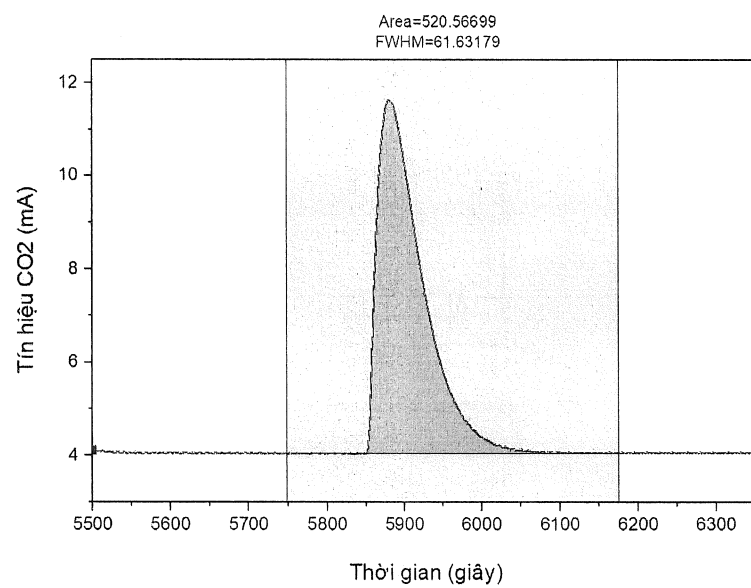
1. Phương pháp xác định độ độc của nước thải bằng cách xác định nồng độ mẫu gây ra sự ức chế 50% khả năng phân hủy cơ chất của vi sinh vật (IC_{50}) bao gồm các bước như sau:
 - (a) cho giá thể chứa vi sinh vật và nước khoáng vào buồng phản ứng sinh học và khuấy;
 - (b) cho khí oxy qua buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_1 để bão hòa oxy trong nước khoáng;
 - (c) xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với nước khoáng gồm các bước sau:
 - i) đóng kín buồng phản ứng trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy qua thiết bị đo CO_2 để xác định giá trị nền;
 - ii) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước i) qua thiết bị đo CO_2 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra;
 - iii) lặp lại bước i) và ii) cho đến khi lượng khí CO_2 sinh ra trong ba lần đo liên tiếp lệch không quá 5%; và
 - iv) tính lượng khí CO_2 nền C_b bằng cách lấy giá trị trung bình của ba lần đo cuối;
 - (d) bơm một lượng cơ chất đã biết giá trị tổng cacbon hữu cơ ban đầu TOC_0 vào buồng phản ứng sinh học và xác định lượng khí CO_2 sinh ra từ hoạt động phân hủy cơ chất của vi sinh vật gồm các bước sau:
 - v) đóng kín buồng phản ứng trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy qua thiết bị đo CO_2 để xác định giá trị nền;
 - vi) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước v) qua thiết bị đo CO_2 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra trong lần đo thứ i $[C_c]_i$ với $i = 1, 2, 3, \dots$;
 - vii) tính giá trị tổng cacbon hữu cơ còn trong dung dịch tại lần đo thứ i $t_i = t_{i-1} + t_2 + t_3$ TOC_i bằng công thức $TOC_i = TOC_{i-1} - [C_c]_i - C_b$

- viii) lặp lại bước v), vi) và vii) ít nhất 5 lần để xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_c ;
- (e) rút sạch mẫu dung dịch trong buồng phản ứng và rửa giá thể chứa vi sinh ít nhất 03 lần bằng nước cất;
- (f) cho một lượng cố định nước khoáng V_b vào lại buồng phản ứng sinh học và lặp lại bước b) và c);
- (g) bơm một lượng cố định mẫu nước cần xác định độ độc V_{tox} vào buồng phản ứng sinh học và xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất gồm các bước sau:
- ix) đóng kín buồng phản ứng trong một khoảng thời gian cố định t_2 , đồng thời cho khí oxy qua thiết bị đo CO_2 để xác định giá trị nền;
- x) cho khí oxy qua lại buồng phản ứng sinh học trong một khoảng thời gian cố định t_3 để bù lại lượng oxy tiêu thụ và đuổi lượng khí CO_2 sinh ra trong giai đoạn nhất ở bước ix) qua thiết bị đo CO_2 nhằm xác định lượng CO_2 sinh ra;
- xi) lặp lại bước ix) và x) và xác định lượng khí CO_2 nền sinh ra từ hoạt động của vi sinh với mẫu nước chứa độc chất C_{tox} ở lần đo thứ hai;
- (h) lặp lại bước d) trong đó $TOC_i = TOC_{i-1} - [C_c]_i - C_{tox}$ và xác định giá trị hằng số tốc độ phản ứng k_{tox} ;
- (k) xác định khối lượng riêng của mẫu nước cần đo độ độc ρ_{tox} tính phần trăm ức chế hô hấp của mẫu đo ở nồng độ $\rho_{tox} \times V_{tox} / (V_b + V_{tox})$ bằng công thức $I (\%) = (k_c - k_{tox}) / k_c \times 100\%$ từ đó nội suy ra giá trị IC_{50} hoặc lặp lại các bước từ e) đến k) với hệ số pha loãng thấp hơn bằng cách tăng V_{tox} hoặc giảm V_b nếu giá trị I tối đa thu được thấp hơn 50%.
2. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm 1, trong đó thiết bị đo CO_2 là cảm biến CO_2 sử dụng công nghệ cận hồng ngoại, có ngưỡng đo từ 0 đến 5000 ppm.
 3. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó thời gian t_3 lớn hơn thời gian đuổi sạch lượng khí CO_2 tích tụ trong buồng phản ứng sinh học được tính bằng cách chia tổng thể tích phần không gian khí trong buồng phản ứng sinh học và đường ống dẫn khí đến thiết bị đo CO_2 cho lưu lượng dòng khí oxy đuổi qua buồng phản ứng sinh học.

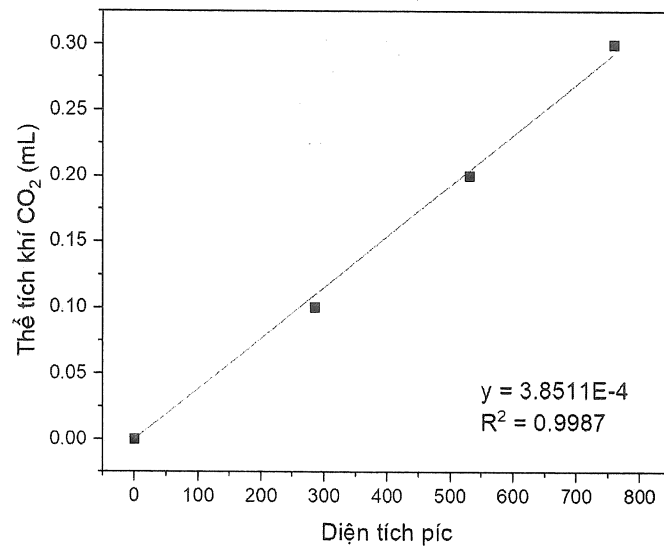
4. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó thời gian t_2 được chọn sao cho chiều cao píc tín hiệu CO_2 trong lần đo đầu tiên cao gấp 3 lần tín hiệu nhiễu của đường nền để đảm bảo độ chính xác của thiết bị đo CO_2 , đồng thời thể tích CO_2 sinh ra trong lần đo đầu tiên thấp hơn $1/3$ thể tích không gian khí trong buồng phản ứng sinh học để đảm bảo điều kiện hiếu khí trong buồng phản ứng.
5. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó thời gian t_2 và t_3 được chọn thấp nhất có thể để tăng độ nhạy cho phương pháp đo.
6. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó giá thể dùng để cố định vi sinh vật là xơ dừa đã được loại bỏ tanin.
7. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó thể tích nước khoáng trong bước a) được chọn sao cho ngập giá thể chứa vi sinh vật nhưng không lớn hơn $2/3$ thể tích buồng phản ứng sinh học.
8. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó thể tích nước khoáng V_b được chọn sao cho ngập giá thể chứa vi sinh vật nhưng không lớn hơn $2/3$ thể tích buồng phản ứng sinh học.
9. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó chiều cao lớp giá thể chứa vi sinh vật không lớn hơn $1/2$ chiều cao buồng phản ứng sinh học.
10. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó dung dịch trong buồng phản ứng sinh học được khuấy trộn ở tốc độ lớn hơn 100 vòng/phút và nhỏ hơn 300 vòng/phút để tăng tốc độ truyền khối nhưng vẫn đảm bảo không thất thoát vi sinh vật ra khỏi giá thể.
11. Phương pháp xác định độ độc của nước thải theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó nguồn vi sinh vật được sử dụng là quần thể vi sinh vật tự nhiên trong bể xử lý sinh học hiếu khí của nước thải nhà máy chế biến thực phẩm.



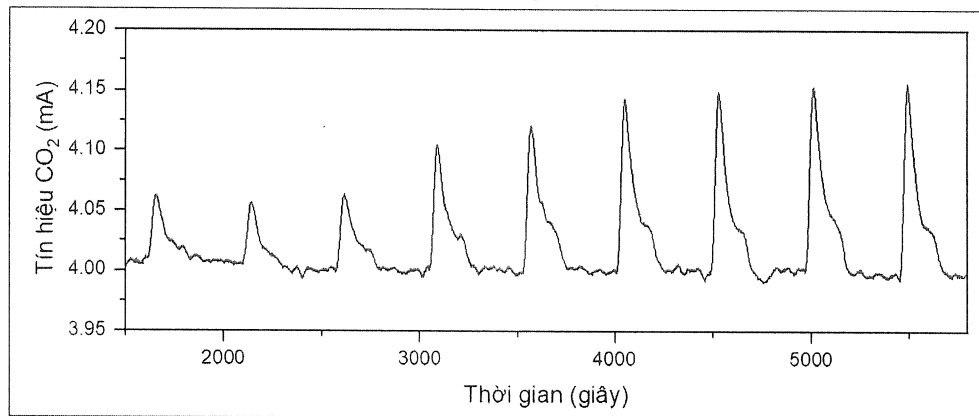
Hình 1



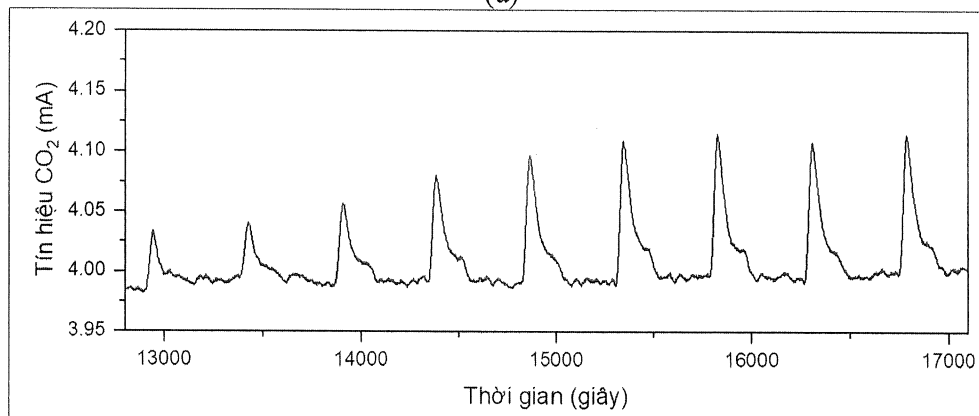
Hình 2



Hình 3

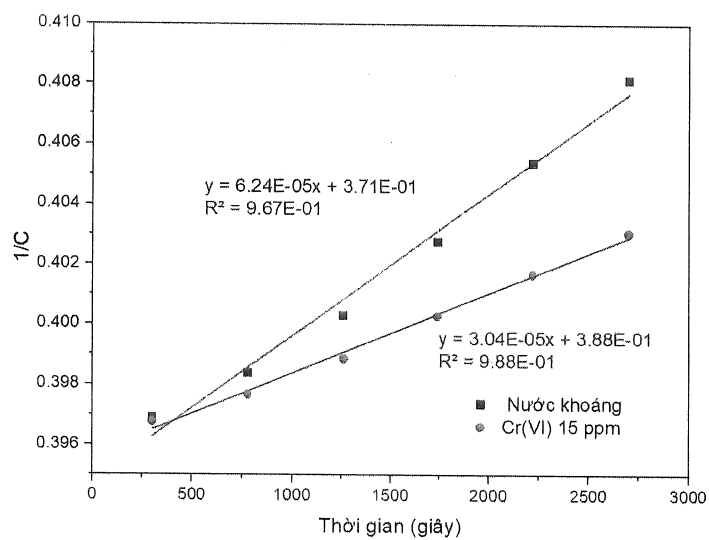


(a)

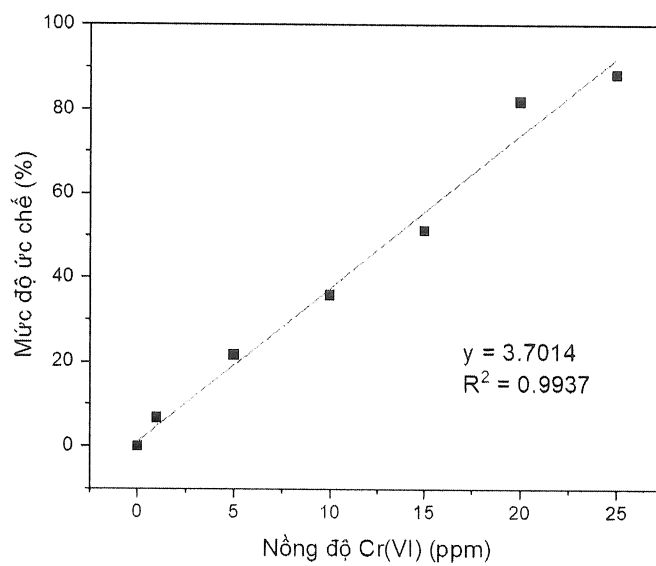


(b)

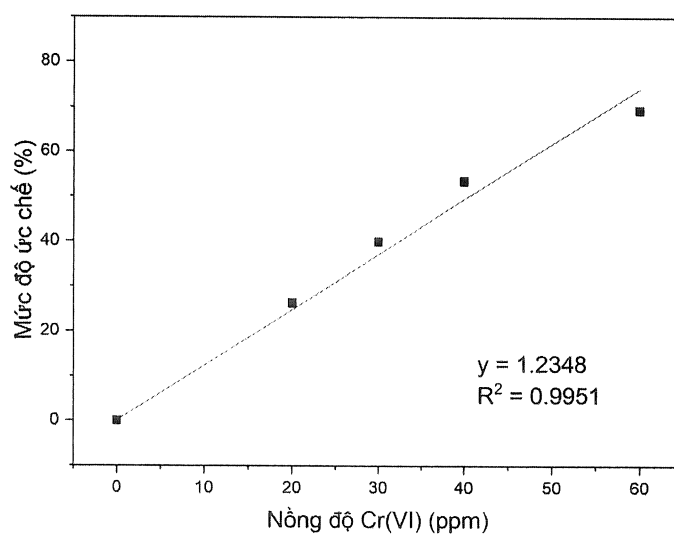
Hình 4



Hình 5



Hình 6



Hình 7