



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C12N 1/20; C12N 1/38; C09K 103/00; (13) B
C09K 17/40



1-0051421

(21) 1-2019-04859 (22) 04/09/2019
(30) 10-2018-0116939 01/10/2018 KR
(45) 25/09/2025 450 (43) 27/04/2020 385A
(73) Seoul National University R&DB Foundation (KR)
1 Gwanak-ro Gwanak-gu Seoul 08826 Republic of Korea
(72) Kyoung Phile NAM (KR); Hyeon Yong CHUNG (KR); Sang Hyun KIM (KR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM NGĂN CHẶN SỰ XÓI MÒN ĐẤT VÀ PHƯƠNG PHÁP NGĂN
CHẶN XÓI MÒN ĐẤT

(21) 1-2019-04859

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất, và phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất sử dụng chế phẩm này. Chế phẩm này gồm dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii*, ure, và canxi, trong đó ure và canxi có cùng tỷ lệ và nồng độ của mỗi chất ure và canxi nhỏ hơn 1 mol mỗi lít (M).

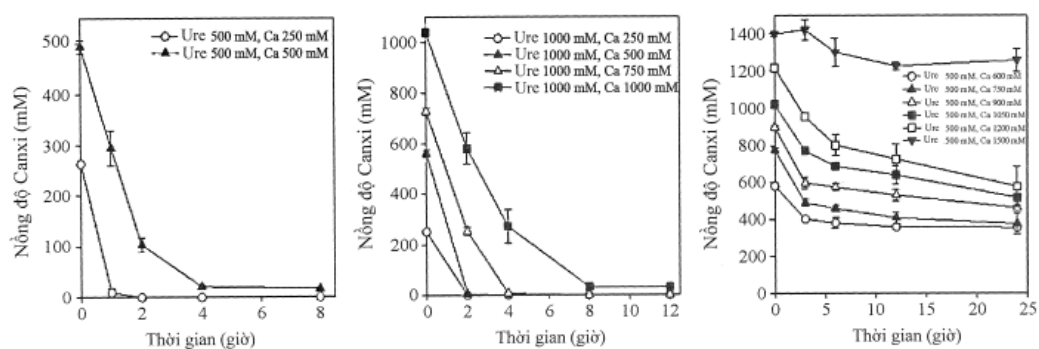


FIG. 1

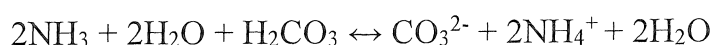
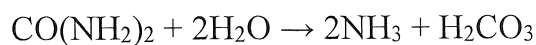
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

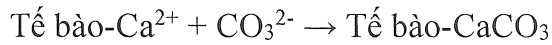
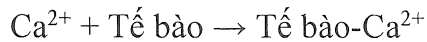
Sáng chế đề cập đến chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất sử dụng kết tủa canxit do vi khuẩn gây ra (microbially induced calcite precipitation: MICP) của *Sporosarcina pasteurii* và phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất sử dụng chế phẩm này, và cụ thể hơn, sáng chế còn đề cập đến phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất do mưa.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Kết tủa canxit do vi khuẩn gây ra (MICP) là phản ứng trong đó canxit hoặc canxi cacbonat, CaCO_3 , bị kết tủa trên bề mặt của vi sinh vật, nguyên nhân là do quá trình khoáng hóa sinh học bằng phản ứng ureaza trong môi trường tự nhiên. Màng tế bào của vi sinh vật có điện tích âm (-), và cảm ứng các điện tích dương (+) khác nhau bao gồm Ca^{2+} từ môi trường xung quanh vi sinh vật để tạo ra CaCO_3 trong màng tế bào của vi sinh vật. Phản ứng này do enzym được gọi là ureaza gây ra.

Ureaza là enzym xúc tác mà thủy phân ure thành amoniac và ion cacbonat, và amoniac được tạo ra làm tăng độ pH và tạo môi trường thích hợp cho sự hình thành canxi cacbonat. Ure trong tự nhiên bị phân giải bởi ureaza từ vi sinh vật để tạo ra NH_3 và H_2CO_3 , và NH_3 và H_2CO_3 được tạo ra bị phân giải trong nước để tạo thành ion cacbonat và ion amoni. Ion cacbonat được tạo thành phản ứng với ion canxi gắn trên màng tế bào của vi sinh vật để tạo ra canxi cacbonat. Cơ chế phản ứng được thể hiện dưới đây:





Các vi sinh vật được tin là có khả năng của MICP bao gồm *Sporosarcina pasteurii*, *Sporosarcina ureae*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus sphaericus*, *Myxococcus xanthus*, *Proteus mirabilis*, *Helicobacter pylori*, và các vi sinh vật tương tự.

MICP có thể được sử dụng như phương pháp ứng dụng sinh học cho việc thanh lọc hoặc trị liệu sinh học môi trường, và sự phát triển của vật liệu xây dựng. So với phương pháp lý hóa, phương pháp này có thể không gây ra ô nhiễm môi trường.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế

Theo tình trạng kỹ thuật được mô tả như vậy, (các) tác giả sáng chế đã phát hiện ra nồng độ tối ưu của ure và canxi trong chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất sử dụng *Sporosarcina pasteurii* trong số các loại vi sinh vật có khả năng tạo kết tủa canxi do vi khuẩn gây ra (MICP) và tỷ lệ tối ưu của mỗi chất trong chế phẩm, và làm rõ sự ảnh hưởng của hàm lượng hữu cơ trong đất và kích thước hạt của đất đến lượng kết tủa canxi cacbonat khi sử dụng chế phẩm này trong phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất mà có thể cải thiện hiệu quả trong việc làm tăng độ cứng của đất nhờ kết tủa canxi cacbonat.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất mà có thể điều chỉnh số lần thêm chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất dựa trên kích thước hạt của đất và hàm lượng hữu cơ trong đất.

Tuy nhiên, mục đích của sáng chế đạt được không bị giới hạn ở những gì đã được mô tả trên đây, và do đó người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này

biết rõ rằng những mục đích khác không được mô tả ở đây cũng có thể đạt được từ các phương án được mô tả dưới đây.

Giải pháp kỹ thuật

Theo một phương án làm ví dụ, sáng chế đề xuất chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất, chế phẩm này chứa dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii*, ure, và canxi. Ure và canxi có thể có cùng tỷ lệ, và nồng độ của mỗi chất có thể nhỏ hơn hoặc bằng 1 mol mỗi lít (M).

Nồng độ của mỗi chất ure và canxi có thể là 450 milimol mỗi lít (mM).

Dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* có thể được điều chế bằng nuôi cấy mẻ *Sporosarcina pasteurii* từ chế phẩm môi trường chứa 6 gam mỗi lít (g/L) ure và 30 g/L nước canh đậu nành tripsin (tryptic soy broth - TSB). Việc nuôi cấy mẻ có thể được thực hiện ở 30°C và 180 vòng mỗi phút (revolutions per minute: rpm) trong 24 giờ, mẫu nuôi cấy mẻ có tỷ lệ thể tích giữa chế phẩm môi trường và khoảng bên trên là từ 1:7,8 đến 1:8,3.

Giá trị mật độ quang (optical density: OD) của dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* có thể là 6.

Thể tích của dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* có thể bằng 1/6 thể tích chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất.

Theo một phương án làm ví dụ khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất, phương pháp này gồm bước đo hàm lượng hữu cơ trong đất, và bước thêm chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất vào đất. Bước thêm này có thể được thực hiện 5 lần hoặc nhiều hơn khi hàm lượng hữu cơ đo được lớn hơn hoặc bằng 2,5%, và bước thêm này có thể được thực hiện 2 lần hoặc nhiều hơn khi hàm lượng hữu cơ đo được bằng 0%.

Kích thước hạt của đất có thể là từ 75 micromet (μm) đến 1000 μm .

Sự xói mòn đất có thể do mưa.

Đất có thể bị nhiễm kim loại nặng.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Theo phương án làm ví dụ được mô tả ở đây, chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất có thể chứa ure và canxi với cùng tỷ lệ và làm kết tủa canxi cacbonat trong đất, và do đó có thể tối đa hóa hiệu quả trong việc cải thiện độ cứng của đất.

Theo phương án làm ví dụ được mô tả ở đây, phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất có thể điều chỉnh số lần thêm chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất dựa trên hàm lượng hữu cơ trong đất và kích thước hạt của đất, và do đó có thể đạt được tỷ lệ cao trong việc làm giảm sự xói mòn của đất.

Các hiệu quả không bị giới hạn ở những gì được mô tả trên đây, và các hiệu quả khác có thể được hiểu rõ ràng bởi người hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này dựa vào phân mô tả dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1 minh họa sự tăng lên của nồng độ amoniac do thủy phân ure sử dụng *Sporosarcina pasteurii* và sự giảm xuống của nồng độ canxi do kết tủa canxi cacbonat trong các dung dịch chứa các nồng độ canxi và ure khác nhau.

FIG.2 minh họa các lượng kết tủa canxi cacbonat và sự kháng thâm nhập đối với các lượng kết tủa này khi nồng độ ure và canxi là 200 milimol mỗi lít (mM), 450 mM, và 1000 mM.

FIG.3 minh họa các lượng kết tủa canxi cacbonat và sự kháng thâm nhập đối với các lượng kết tủa này dựa trên số lần thêm vào cát khi được xử lý bằng chế phẩm trong đó nồng độ ure và canxi là 450 mM.

FIG.4 minh họa các lượng kết tủa canxi cacbonat và sự kháng thâm nhập đối

với các lượng kết tủa theo kích thước hạt của đất khi được xử lý bằng chế phẩm trong đó nồng độ ure và canxi là 400 mM.

FIG.5 minh họa sự thay đổi của kết tủa canxi cacbonat theo hàm lượng hữu cơ trong đất khi được xử lý bằng chế phẩm trong đó nồng độ ure và canxi là 450 mM.

FIG.6 minh họa sự thay đổi quan sát được trong các mẫu dạng đĩa chứa cát và đất mùn theo số lần thêm chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất vào các mẫu này.

FIG.7 minh họa sự gắn kết của các mẫu dạng đĩa chứa cát và đất mùn quan sát được khi thêm chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất vào các mẫu này.

FIG.8 minh họa sự thay đổi của tỷ lệ xói mòn đất cho thấy sự xói mòn của đất do mưa khi áp dụng phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất vào cát.

FIG.9 minh họa sự thay đổi của tỷ lệ xói mòn đất cho thấy sự xói mòn đất do mưa khi áp dụng phương pháp ngăn chặn xói mòn đất vào đất mùn.

FIG.10 minh họa sự thay đổi tỷ lệ xói mòn đất của đất thực địa có hàm lượng hữu cơ là 2,0% (đất 1), 0,8% (đất 2), và 1,4% (đất 3) khi đất thực địa này được tiếp xúc với lượng mưa 33 milimet mỗi giờ (mm/giờ) ở độ dốc $8,5^\circ$ sau khi áp dụng phương pháp ngăn chặn xói mòn đất vào đất thực địa đó.

FIG.11 minh họa tỷ lệ thủy phân ure và giá trị mật độ quang OD_{600} dựa trên thể tích khoảng bên trên được biểu hiện bởi lượng oxy.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, các phương án làm ví dụ của sáng chế sẽ được mô tả dựa vào việc tham khảo các hình vẽ đi kèm, trong đó các số tham chiếu đề cập đến các phần tử tương tự xuyên suốt bản mô tả. Tuy nhiên, sự thay đổi, cải biến, và tương đương khác nhau của các phương pháp, thiết bị, và/hoặc hệ thống được mô tả ở đây sẽ trở nên rõ ràng sau khi hiểu phần mô tả của đơn này. Các dấu hiệu được mô tả ở đây có thể được thể hiện dưới các dạng khác nhau, và không được hiểu là bị giới hạn ở các ví dụ được

mô tả ở đây. Hơn nữa, các ví dụ được mô tả ở đây được đề xuất chỉ để minh họa cho một số cách thực hiện các phương pháp, thiết bị, và/hoặc hệ thống được mô tả ở đây mà sẽ trở nên rõ ràng sau khi hiểu phần mô tả của đơn này.

Thuật ngữ được sử dụng ở đây chỉ có mục đích mô tả các phương án cụ thể và không làm giới hạn sáng chế này. Như được sử dụng ở đây, các dạng số ít bao gồm cả dạng số nhiều, trừ khi có quy định khác. Nên hiểu thêm rằng các thuật ngữ "gồm," "bao gồm," "có," và/hoặc "có chứa," khi được sử dụng ở đây để cụ thể hóa sự có mặt của các dấu hiệu, số nguyên, hoạt động, phần tử, và/hoặc thành phần đã nêu trên, nhưng không loại trừ sự có mặt hay bổ sung của một hoặc nhiều dấu hiệu, số nguyên, hoạt động, phần tử, thành phần khác, và/hoặc các nhóm của chúng.

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ, gồm các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học, được sử dụng ở đây có cùng ý nghĩa khi được hiểu theo nghĩa thông thường mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế này dựa vào nội dung của bản mô tả. Các thuật ngữ, như các thuật ngữ được định nghĩa trong các từ điển thường sử dụng, được hiểu là có nghĩa thống nhất với nghĩa trong ngữ cảnh của tình trạng kỹ thuật liên quan và bản mô tả này và không được hiểu theo nghĩa lí tưởng hóa hoặc quá máy móc trừ khi được định nghĩa rõ ràng ở đây.

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết theo các phương án sau đây. Liên quan đến các số tham chiếu được gán cho các phần tử trong hình vẽ, nên lưu ý rằng các phần tử giống nhau sẽ được chỉ định cùng số tham chiếu, bất cứ ở đâu có thể, thậm chí khi chúng được thể hiện trong các hình vẽ khác nhau. Ngoài ra, trong phần mô tả của các phương án, việc mô tả chi tiết các cấu trúc hoặc chức năng liên quan đã biết rõ sẽ được bỏ qua khi sự mô tả này gây ra sự mơ hồ về sáng chế.

Sporosarcina pasteurii là vi sinh vật thuộc chi *Sporosarcina*, và tạo ra ureaza là enzym thủy phân của ure, khi có mặt ure.

(Các) tác giả sáng chế phát hiện ra rằng chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất chứa *Sporosarcina pasteurii* có hiệu quả trong việc cải thiện độ cứng của đất nhờ kết tủa canxi cacbonat ở nồng độ canxi và ure nhất định, và hàm lượng hữu cơ trong đất và kích thước hạt của đất cần được xem xét khi thực hiện phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất để đạt được tỷ lệ ngăn chặn xói mòn đất cao.

Theo một phương án làm ví dụ, sáng chế đề xuất chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất chứa dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii*, và ure và canxi có cùng tỷ lệ, trong đó mỗi chất có nồng độ là 1 mol mỗi lít (M) hoặc nhỏ hơn. Sau đây, chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất sẽ được đề cập một cách đơn giản là chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất.

Trong FIG.1, khi ure có nồng độ 1500 milimol mỗi lít (mM) và được trộn với canxi thì canxi đã được thêm không bị mất. Khi nồng độ của mỗi trong số ure và canxi nhỏ hơn hoặc bằng 1000 mM thì toàn bộ canxi đã được thêm bị mất. Để làm tối ưu hiệu suất, tỷ lệ giữa nồng độ ure và canxi được xác nhận tốt hơn là bằng 1:1. Như được minh họa trên FIG.2, mỗi nồng độ của ure và canxi tốt hơn là bằng 450 mM.

Cụ thể, dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* thu được bằng cách nuôi cấy mẻ *Sporosarcina pasteurii* từ chế phẩm môi trường chứa 6 g/L ure và 30 g/L nước canh đậu nành tripsin (tryptic soy broth: TSB). Việc nuôi cấy mẻ có thể thực hiện ở 30°C và 180 vòng trên phút (rpm) trong 24 giờ, với tỷ lệ thể tích giữa chế phẩm môi trường và khoảng bên trên là từ 1:7,8 đến 1:8,3. Ở đây, khi tỷ lệ thể tích giữa chế phẩm môi trường và khoảng bên trên nhỏ hơn hoặc là 1:7, việc nuôi cấy mẻ có thể được thực hiện ở 180 rpm trong 48 giờ.

Dung dịch môi trường chứa ure ở nồng độ 0,1 M (6 g/L), và do đó có thể ngăn cản sự hình thành của amoniac tự do khi so sánh với dung dịch môi trường có nồng độ ure cao, và làm tăng tỷ lệ thủy phân ure và tỷ lệ sinh trưởng của *Sporosarcina*

pasteurii và do vậy làm tăng lượng kết tủa canxi cacbonat.

Ngoài ra, giá trị mật độ quang (OD) của dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* là 6. Khi điều chế chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất thì thể tích dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* là bằng 1/6 thể tích chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất để giá trị OD của chế phẩm là 1.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất bao gồm việc đo hàm lượng hữu cơ trong đất, và việc thêm chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất vào đất. Việc thêm này có thể được thực hiện 5 lần hoặc nhiều hơn khi hàm lượng hữu cơ đo được là 2,5%, và 2 lần hoặc nhiều hơn khi hàm lượng hữu cơ đo được là 0%. Sau đây, phương pháp ngăn chặn sự xói mòn của đất sẽ được đề cập một cách đơn giản là phương pháp ngăn chặn xói mòn đất.

Phương pháp ngăn chặn xói mòn đất có thể được áp dụng vào đất có kích thước hạt cát chủ yếu từ 75 μm đến 1000 μm . Vì hiệu quả của việc cải thiện độ cứng của đất nhờ lượng kết tủa canxi cacbonat có thể khác nhau tùy vào kích thước hạt chủ yếu nên số lần áp dụng phương pháp ngăn chặn xói mòn đất có thể được điều chỉnh dựa trên kích thước hạt. Ví dụ, khi kích thước hạt nhỏ hơn thì sự kháng xâm nhập nhờ lượng canxi cacbonat xâm nhập sẽ thấp hơn. Trong ví dụ này, tốt hơn là làm tăng số lần áp dụng.

Ở đây, sự xói mòn của đất có thể do gió hoặc mưa, nhưng không bị giới hạn ở đó.

Chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất và phương pháp ngăn chặn xói mòn đất có thể được áp dụng vào đất, ví dụ, cát và đất bị nhiễm kim loại nặng. Tuy nhiên, loại đất không bị giới hạn ở các ví dụ đã được mô tả trên đây.

Trong trường hợp đất bị nhiễm kim loại nặng, sự thủy phân ure do *Sporosarcina pasteurii* có thể bị ảnh hưởng bởi nồng độ kim loại nặng. Đất bị nhiễm

kim loại nặng này có thể chứa nhiều kim loại nặng khác nhau bao gồm, ví dụ, Cu, Cd, Pd, Zn, Ni, As, Cr(VI), và các kim loại tương tự. Các kim loại nặng này có trong, ví dụ, dung dịch đất, nước trong lỗ hổng đất, nước trong kẽ đất, và tương tự có thể ngăn cản hoạt động của enzym. Tỷ lệ thủy phân ure dựa trên nồng độ kim loại nặng trong một dung dịch đo được như sau.

Bảng 1

Tỷ lệ thủy phân ure (%: tỷ lệ thủy phân của <i>Sporosarcina pasteurii</i> tiếp xúc với các kim loại nặng so với tỷ lệ thủy phân của <i>Sporosarcina pasteurii</i> không tiếp xúc với các kim loại nặng)						
Nồng độ (μM) Kim loại nặng	0,1	1	10	100	1000	10000
Cu	-	-	52	20	2	1
Cd	-	-	-	62	36	6
Zn	-	-	-	62	19	10
Pb	-	-	-	-	26	20
Ni	-	-	-	-	34	22
As	-	-	-	-	59	65
Cr(VI)	-	-	-	-	79	73

* - : sai số có ý nghĩa thống kê không được thể hiện

Như được thể hiện trong Bảng 1 trên đây, kim loại Cu được xác định là gây ức chế sự thủy phân ure nhiều nhất. Khi nồng độ kim loại Cu tăng đến 1000 μM hoặc cao hơn thì sự thủy phân ure bị giảm xuống nhanh chóng, và do đó sẽ không dễ dàng

áp dụng phương pháp ngăn chặn xói mòn đất sử dụng kết tủa canxit do vi khuẩn gây ra (MICP). Do đó, bằng việc xác định trước nồng độ kim loại nặng của đất trước khi áp dụng phương pháp ngăn chặn xói mòn đất, số lần thêm chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất sau đó có thể được thiết lập dựa trên ảnh hưởng của ức chế sự thủy phân urea.

Sau đây, các phương án sẽ được mô tả chi tiết hơn trong các ví dụ sau đây. Các ví dụ này được đưa ra để giúp hiểu về sáng chế này, và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: Điều chế chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất

Ví dụ 1-1: Điều chế dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii*

Nước cất ba lần được bổ sung vào TSB (BD Korea) để nồng độ TSB trong chế phẩm môi trường nuôi cấy là 30 g/L. Sau khi hấp khử trùng ở 121°C và 1,45 khí quyển tiêu chuẩn (atm) trong 15 phút để khử trùng, chế phẩm môi trường đã hấp khử trùng này được để nguội một cách tự nhiên đến 40°C trong một tủ cấy sạch. Dung dịch ure có nồng độ 1M (60 g/L) được điều chế trong thể tích tương ứng với 10% thể tích của chế phẩm môi trường, và dung dịch ure này được điều chế trong tủ cấy sạch được lọc qua tấm lọc 0,2 μ m và sau đó được thêm vào chế phẩm môi trường đã được làm nguội tự nhiên ở trên để điều chế chế phẩm môi trường có nồng độ ure cuối cùng là 0,1M (6 g/L). Chế phẩm môi trường này sau đó được ủ với *Sporosarcina pasteurii* (từ bộ sưu tập mẫu nuôi cấy Hàn quốc chủng 3558 - Korean Collection for Type Cultures [KCTC] 3558 strain) và được đặt vào trong một mẻ. Chế phẩm môi trường này được nuôi cấy trên mặt phẳng với nắp đậy kín trong điều kiện 30°C và 30 vòng/phút. Ở đây, tỷ lệ giữa thể tích của chế phẩm môi trường và thể tích của khoảng bên trên, mà còn được đề cập là tỷ lệ thể tích giữa chế phẩm môi trường và khoảng bên

trên, được thiết lập là bằng 1:0, 1:1,6, 1:3, 1:5, 1:7, 1:7,8, 1:8,3, 1:14, 1:26, và 1:52 như được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Tỷ lệ thể tích	1:0	1:1,6	1:3	1:5	1:7	1:7,8	1:8,3	1:14	1:26	1:52
Lượng oxy (mg/mL)	0,01	0,47	0,87	1,44	2,01	2,24	2,38	4,01	7,44	14,87

Thời gian nuôi cấy được thiết lập là 48 giờ trong trường hợp tỷ lệ thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 1:7, và thời gian nuôi cấy được thiết lập là 24 giờ trong trường hợp tỷ lệ thể tích lớn hơn 1:7. Sau khi hoàn thành nuôi cấy, giá trị OD₆₀₀ của chế phẩm môi trường cuối cùng và tỷ lệ thủy phân ure được đo lại, và giá trị và tỷ lệ đo được này được thể hiện trên FIG.11.

Trong FIG.11, giá trị OD được xác định là đạt đến giá trị tối đa của nó khi tỷ lệ thể tích là 1:7,8, và tỷ lệ thủy phân ure đạt được giá trị tối đa của nó khi tỷ lệ thể tích là 1:8,3. Do đó, xác định tỷ lệ sinh trưởng và tỷ lệ thủy phân ure của *Sporosarcina pasteurii* cao nhất khi tỷ lệ thể tích là từ 1:7,8 đến 1:8,3.

Dựa trên kết quả được mô tả trên đây, chế phẩm môi trường có nồng độ ure là 0,1M (6 g/L) được ủ với dung dịch *Sporosarcina pasteurii* mà có thể tích bằng 1/100 thể tích của chế phẩm môi trường, sau đó tỷ lệ thể tích giữa chế phẩm và khoảng bên trên được thiết lập là 1:8,3 và được đặt trong bình có thể đóng kín và được nuôi cấy trong 24 giờ khuấy đảo ở nhiệt độ 30°C để điều chế dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii*. Dung dịch môi trường này được trộn với nước cất với tỷ lệ thể tích 1:2, và giá trị OD của dung dịch môi trường sau khi trộn thì gần bằng 2.

Ví dụ 1-2: Điều chế dung dịch gắn kết

Dung dịch gắn kết (400 mM, 900 mM, 2000 mM) có nồng độ cao gấp hai lần

nồng độ mục tiêu cuối cùng tương ứng được điều chế để điều chỉnh nồng độ cuối cùng của ure và canxi trong chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất tương ứng là 200 mM (mẫu 1), 450 mM (mẫu 2), và 1000 mM (mẫu 3). Dung dịch gắn kết này được điều chế bằng cách bổ sung chất phản ứng ure và canxi vào nước cất ba lần và làm tan hoàn toàn để điều chỉnh pH. Để điều chế dung dịch với các nồng độ mục tiêu tương ứng, lượng chất phản ứng ure và canxi được bổ sung vào 1 L dung dịch gắn kết như sau: 24 g ure và 59,2 g canxi ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) cho 200 mM, 54 g ure và 132,4 g canxi ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) cho 450 mM, và 120 g ure và 294 g canxi ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) cho 1000 mM. Độ pH của dung dịch được điều chỉnh bằng cách thêm 2 N dung dịch HCl hoặc 2 N dung dịch NaOH.

Chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất cuối cùng được điều chế bằng cách trộn dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* và dung dịch gắn kết được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1-1 và Ví dụ 1-2 với tỷ lệ 1:1.

Ví dụ 2: Xác định nồng độ tối ưu của từng chất ure và canxi cho chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất

Ba chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được thêm vào mẫu đất mà được tạo ra bằng cách lấp đầy cát có kích thước hạt từ 150 μm đến 500 μm vào bình trụ có độ cao 2 centimet (cm). Ở đây, 15 mililit (mL) chế phẩm được thêm vào cùng lúc với mỗi 50 g cát. Nồng độ canxi cacbonat hoặc lượng kết tủa canxi cacbonat, và sự kháng xâm nhập đối với lượng kết tủa canxi cacbonat và sự kháng xâm nhập đối với lượng kết tủa canxi cacbonat được đo lại và được minh họa trên FIG.2. Sự kháng xâm nhập được đo bằng độ cứng của đất bề mặt bằng cách sử dụng một thăm kế kim.

Như được thể hiện trên FIG.2, khi nồng độ canxi và ure của chế phẩm tăng lên thì lượng kết tủa canxi cacbonat có xu hướng tăng lên. Tuy nhiên, hiệu quả của sự kháng xâm nhập đối với lượng xâm nhập được xác định là giống nhau trong mẫu

1 (200 mM) và mẫu 2 (450 mM), và giảm xuống trong mẫu 3 (1000 mM).

Do đó, xác định rằng khi 450 mM ure và canxi có mặt trong mẫu 2, thì lượng kết tủa canxi cacbonat trong mỗi lần thêm chế phẩm vào và sự kháng xâm nhập đối với lượng xâm nhập là tương đối cao, và do đó chế phẩm có thể nhanh chóng hình thành canxi cacbonat trong đất.

Ví dụ 3: Đánh giá lượng kết tủa canxi cacbonat và sự kháng xâm nhập, dựa trên kích thước hạt của đất

Ví dụ 3-1: Lượng kết tủa canxi cacbonat

Mẫu có chiều cao 2 cm đã được tạo ra bằng cách lấp đầy cát có kích thước hạt từ 75 μm đến 150 μm , từ 150 μm đến 200 μm , từ 300 μm đến 355 μm , và từ 500 μm đến 1000 μm vào các bình trụ tương ứng. Ở các mẫu này, chế phẩm ở mẫu 2 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được thêm vào để đo lượng kết tủa canxi cacbonat trong mỗi lần thêm. Ở đây, một lần thêm được thực hiện bằng cách thêm 15 mL chế phẩm nêu trên vào 50 g cát.

Như được chỉ ra trên FIG.4, canxi cacbonat bị kết tủa trong bốn loại kích thước hạt, và lượng kết tủa canxi cacbonat là giống nhau trong mỗi lần thêm dung dịch.

Ví dụ 3-2: Sự kháng xâm nhập đối với lượng kết tủa.

Mẫu có chiều cao 2 cm được tạo ra bằng cách lấp đầy cát có kích thước hạt từ 75 μm đến 150 μm , từ 150 μm đến 500 μm , và từ 500 μm đến 1000 μm vào các bình trụ tương ứng. Ở các mẫu này, chế phẩm mẫu 2 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được thêm vào để đo lượng kết tủa canxi cacbonat, sự kháng xâm nhập, và sự kháng xâm nhập đối với lượng kết tủa canxi cacbonat. Ở đây, một lần thêm được thực hiện bằng cách thêm 15 mL chế phẩm nêu trên vào 50 g cát.

Trong FIG.3, khi số lần thêm chế phẩm tăng lên thì lượng kết tủa canxi

cacbonat cũng tăng lên. Sự kháng xâm nhập duy trì ở 25 newton milimet (N/mm) trong trường hợp số lần thêm là 7 hoặc nhiều hơn, và chỉ canxi cacbonat hình thành cầu nối hiệu quả thì mới làm tăng độ cứng của đất. Ngoài ra, trong FIG.4, khi kích thước hạt của đất giảm xuống, sự kháng xâm nhập đối với lượng kết tủa canxi cacbonat dựa trên kích thước hạt của đất có xu hướng giảm xuống. Kết quả là thí nghiệm này gợi ý rằng, khi áp dụng phương pháp ngăn chặn xói mòn đất được mô tả ở đây, có thể cần tăng số lần thêm chế phẩm vào đất có kích thước hạt nhỏ hơn.

Ví dụ 4: Đánh giá kết tủa canxi cacbonat và sự kháng xâm nhập dựa trên hàm lượng hữu cơ trong đất

Mẫu có chiều cao 2 cm được tạo ra bằng cách trộn cát có kích thước hạt từ 150 μm đến 500 μm và than bùn và sau đó lấp đầy hỗn hợp này vào bình trụ. Bằng cách thay đổi tỷ lệ trộn giữa cát và than bùn, các mẫu có hàm lượng hữu cơ tương ứng là 0%, 1%, 2,5%, và 5% được tạo ra. Ở 4 mẫu này, chế phẩm mẫu 2 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được thêm vào để đo lượng kết tủa canxi cacbonat trong mỗi lần thêm chế phẩm và sự kháng xâm nhập đối với lượng kết tủa canxi cacbonat. Ở đây, một lần thêm được thực hiện bằng cách thêm 15 mL chế phẩm nêu trên vào 50 g cát.

Như được thể hiện trên FIG.5, xác định canxi cacbonat bị kết tủa trong bốn mẫu với hàm lượng than bùn nêu trên và lượng kết tủa canxi cacbonat là giống nhau trong các lần thêm chế phẩm. Sự kháng xâm nhập đối với cùng lượng kết tủa canxi cacbonat thì có xu hướng giảm xuống khi hàm lượng hữu cơ tăng lên. Nguyên nhân là do chất hữu cơ trong đất gây ức chế sự phát triển của tinh thể canxi cacbonat.

Ví dụ 5: Đánh giá hiệu quả ngăn chặn sự xói mòn của đất do gió và mưa

Ví dụ 5-1: Điều chế mẫu dạng đĩa

Cát với hàm lượng hữu cơ 0% và cát mùn với hàm lượng hữu cơ 2,6% được

tạo ra, và mẫu dạng đĩa được tạo ra bằng cách lấp đầy các loại đất này vào các đĩa có kích thước $30\text{ cm} \times 30\text{ cm}$ và $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$.

Chế phẩm của mẫu 2 mà được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được phun lên bề mặt của mẫu dạng đĩa nêu trên. Chế phẩm mẫu 2 được phun 1, 2, 3, 4, và 5 lần lên bề mặt của mẫu cát, và được phun 1, 3, 5, 7, và 8 lần lên bề mặt của mẫu cát mùn. Như được thể hiện trên FIG. 6 và FIG. 7, khi các chế phẩm này được phun lên cát 2 lần và lên cát mùn 5 lần, sự kết dính của đất được quan sát thấy. Đất có sự kết dính như vậy thì không bị phân tán trong nước.

Ví dụ 5-2: Hiệu quả ngăn chặn sự xói mòn của đất do mưa - mẫu

Chế phẩm mẫu 2 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được phun lên bề mặt của từng mẫu cát dạng tấm có kích thước $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ và mẫu cát mùn dạng tấm kích thước $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$, mà được tạo ra như được mô tả trong Ví dụ 5-1, 0, 1, 2, 3, 4, và 5 lần (đối với cát), và 0, 1, 3, 5, 7, và 8 lần (đối với cát mùn). Mẫu mà áp dụng MICP được quan sát trong các điều kiện mà cường độ mưa là 13,5 mm/giờ, 33 mm/giờ, và 75 milimet trên giờ (mm/giờ) và độ dốc là $5,1^\circ$, $8,5^\circ$, và 15° , để đo lượng của đất bị mất theo hướng của dốc và lượng đo được thì được minh họa trên FIG. 8 và FIG. 9.

Như được thể hiện trên FIG.8, đối với mẫu cát, hiệu quả ngăn chặn sự xói mòn của đất do mưa được quan sát 2 lần từ khi thêm chế phẩm. Như được thể hiện trên FIG.9, đối với mẫu cát mùn, hiệu quả ngăn chặn sự xói mòn của đất do mưa được quan sát 5 lần từ khi phun chế phẩm được. Bởi vì, như kết quả được thể hiện trên FIG.4, cát mùn có hàm lượng hữu cơ lớn hơn.

Sau đó, hiệu quả ngăn chặn sự xói mòn của đất do mưa được đánh giá bởi tỷ lệ giảm xói mòn. Tỷ lệ giảm xói mòn được tính toán bằng cách sử dụng phương trình sau đây, và kết quả của việc tính toán này được thể hiện trong Bảng 3 dưới đây.

$$\text{Tỷ lệ giảm xói mòn (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Tỷ lệ xói mòn khi áp dụng MICP (hiệu quả giảm xuống)}}{\text{Tỷ lệ xói mòn khi không áp dụng MICP}}\right) \times 100(\%)$$

Bảng 3

Tỷ lệ giảm xói mòn (%)	Cát mùn			Cát		
Cường độ mưa (mm/giờ)	13,5	33	75	13,5	33	75
Độ dốc (°)						
5,1	41	79	72	-	44	90
8,5	76	64	65	76	70	90
15	70	73	67	65	82	87

Trong Bảng 3 trên đây, tỷ lệ giảm xói mòn có xu hướng cao hơn trong cát so với cát mùn. Ngoài ra, trong điều kiện độ dốc lớn hơn hoặc bằng 8,5° và cường độ mưa là 33 mm/giờ và 75 mm/giờ, tỷ lệ giảm xói mòn là từ 64% đến 73% trong cát mùn và từ 70% đến 90% trong cát.

Ví dụ 5-3: Hiệu quả ngăn chặn sự xói mòn của đất do mưa - đất tại chỗ

Ba loại đất được chọn từ một vị trí bị nhiễm kim loại nặng, và các kết quả phân tích (phương pháp US-EPA 3052) đặc tính đất - hàm lượng hữu cơ, khả năng trao đổi cation (Cation-exchange capacity - CEC), kết cấu đất, và nồng độ thành phần tổng được thể hiện trong Bảng 4 và 5 dưới đây.

Bảng 4

	Đất 1	Đất 2	Đất 3
Hàm lượng hữu cơ	2,00	0,82	1,44

(%)			
CEC (cmol/kg)	18,77	3,05	9,43
Kết cấu đất	mùn	cát	cát mùn
Cát/Bùn/Sét	39,00/38,36/22,64	90,40/3,52/6,08	80,16/13,60/6,24

Bảng 5

Nồng độ tổng thành phần (mg/kg)	Cd		Cu		As		Pb		Cr (Tổng)		Zn		Ni	
	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn	Trung bình	Độ lệch chuẩn
Đất 1	"	"	23,5	1,6	"	"	90	5,6	26,8	0,4	60,2	3	48,8	1,4
Đất 2	"	"	110,8	6,7	65,7	2,9	270,5	9,2	88	3,3	98,3	5,3	87,2	2,9
Đất 3	"	"	10,1	0,9	6,7	0,7	93,7	8,1	22	2	15,1	1,6	183,3	16,3

Dựa vào các kết quả trên, tỷ lệ giảm xói mòn trong điều kiện cường độ mưa 33 mm/giờ và độ dốc 8,5°, sau khi chế phẩm của mẫu 2 được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 1 được thêm năm, ba, và 4 lần tương ứng vào đất 1, đất 2, và đất 3, dựa trên hàm lượng hữu cơ. Như được thể hiện trên FIG.10, tỷ lệ giảm xói mòn đất là 56%, 69%, và 82% tương ứng với đất 1, đất 2, và đất 3. Do đó, sự xói mòn của đất do mưa được xác định là đã bị ngăn chặn một cách hiệu quả đối với đất tại chỗ.

Dù bản mô tả này bao gồm các ví dụ cụ thể nhưng người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này có thể nhận ra rõ ràng rằng các thay đổi khác nhau về dạng và chi tiết có thể được thực hiện trong các ví dụ này nhưng không nằm ngoài ý tưởng và phạm vi của yêu cầu bảo hộ và các tương đương của chúng. Các ví dụ được mô tả ở đây được hiểu là chỉ để mô tả và không nhằm mục đích giới hạn. Các mô tả các dấu hiệu hoặc các khía cạnh trong từng ví dụ có thể áp dụng cho các dấu hiệu hoặc các khía cạnh tương tự trong các ví dụ khác. Các kết quả phù hợp có thể đạt được nếu các kỹ thuật được mô tả được thực hiện theo thứ tự khác nhau, và/hoặc nếu các thành phần trong hệ thống, cấu trúc, thiết bị, hay bản mạch được mô tả được kết

hợp theo nhiều cách khác nhau và/hoặc được thay thế hoặc bổ sung bởi các thành phần hoặc các tương đương của chúng.

Bởi vậy, phạm vi của sáng chế này được xác định không phải theo bản mô tả chi tiết mà được xác định theo yêu cầu bảo hộ và các phần tương đương của chúng, và toàn bộ các biến thể trong phạm vi của yêu cầu bảo hộ và các phần tương đương của chúng cấu thành nên sáng chế này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất, bao gồm:

dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii*, ure, và canxi, trong đó nồng độ của mỗi chất trong số ure và canxi là 450 milimol mỗi lít (mM),

trong đó dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* được điều chế thông qua nuôi cấy mẹ *Sporosarcina pasteurii* từ chế phẩm môi trường chứa 6 gam mỗi lít (g/L) ure và 30 g/L nước canh đậu nành trypsin (TSB),

trong đó việc nuôi cấy mẹ được thực hiện ở 30°C và 180 vòng mỗi phút (rpm) trong 24 giờ, mẫu nuôi cấy mẹ có tỷ lệ thể tích giữa chế phẩm môi trường và khoảng bên trên nằm trong khoảng từ 1:7,8 đến 1:8,3.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó giá trị mật độ quang (OD) của dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* là 6.

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó thể tích của dung dịch môi trường *Sporosarcina pasteurii* bằng 1/6 thể tích của chế phẩm ngăn chặn xói mòn đất.

4. Phương pháp ngăn chặn xói mòn đất, phương pháp này bao gồm các bước:

đo hàm lượng hữu cơ trong đất;

thêm chế phẩm ngăn chặn sự xói mòn của đất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3 vào đất,

trong đó bước thêm chế phẩm được thực hiện 5 lần hoặc nhiều hơn khi hàm lượng hữu cơ đo được lớn hơn hoặc bằng 2,5%, và

bước thêm chế phẩm được thực hiện 2 lần hoặc nhiều hơn khi hàm lượng hữu cơ đo được là 0%.

5. Phương pháp theo điểm 4, trong đó kích thước hạt của đất nằm trong khoảng từ 75

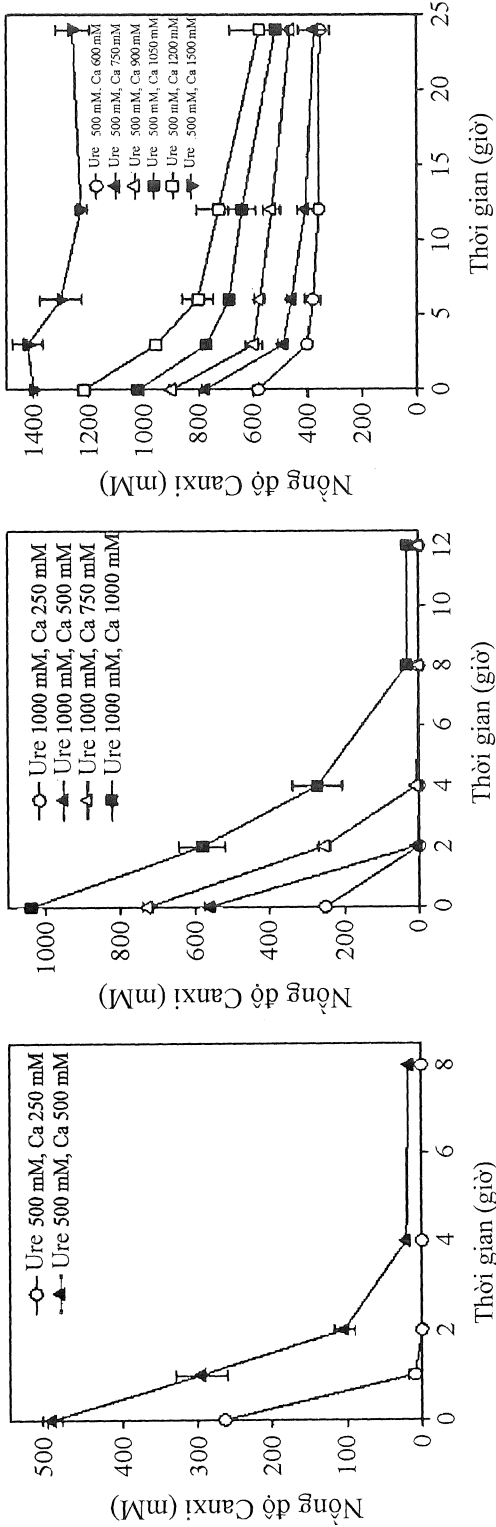
micromet (μm) đến $1000\ \mu\text{m}$.

6. Phương pháp theo điểm 4, trong đó sự xói mòn đất là do mưa.

7. Phương pháp theo điểm 4, trong đó đất là loại đất bị nhiễm kim loại nặng.

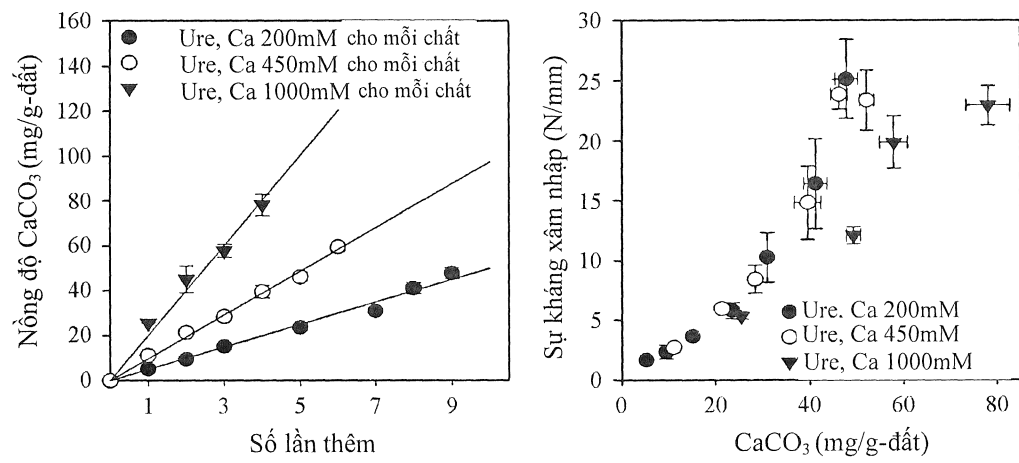
1/11

FIG. 1



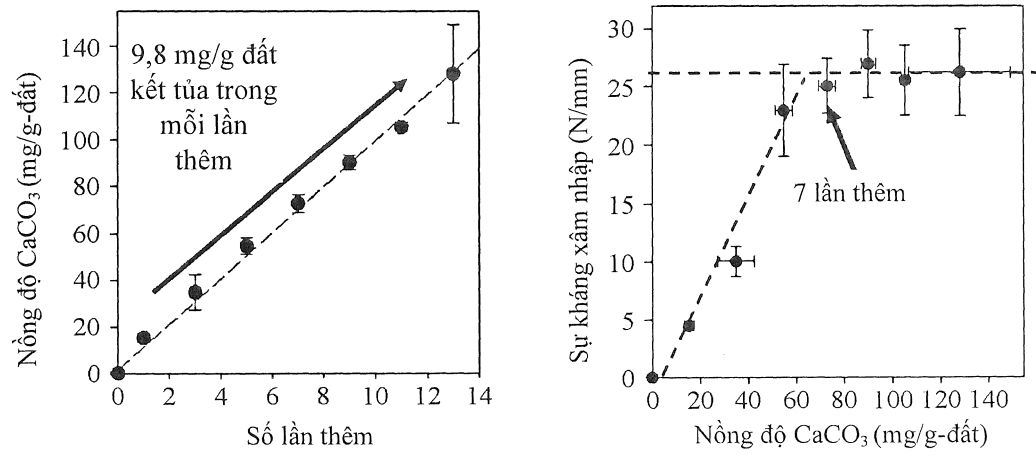
2/11

FIG.2



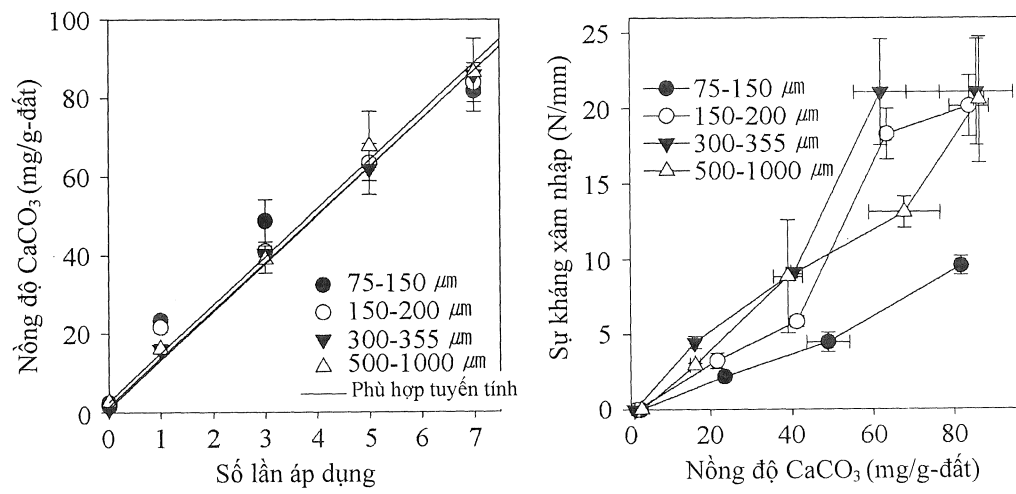
3/11

FIG.3



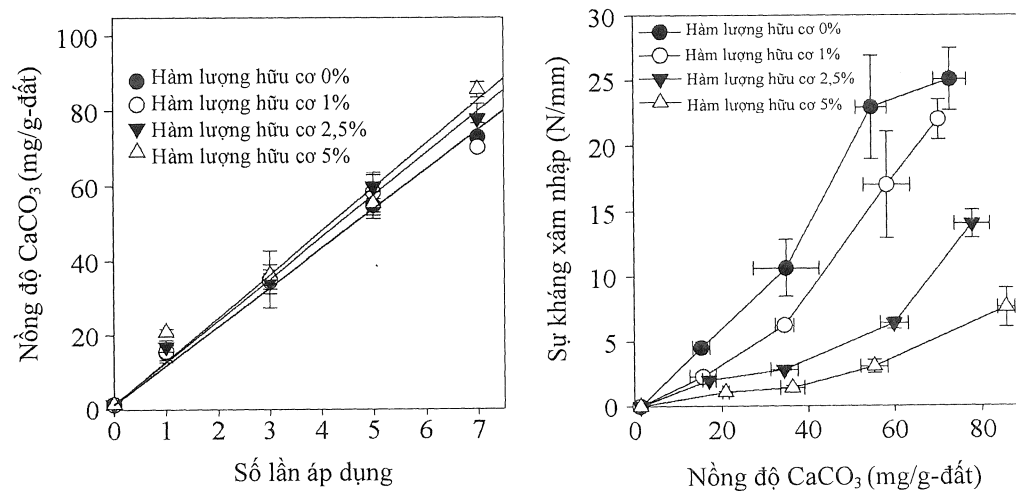
4/11

FIG.4

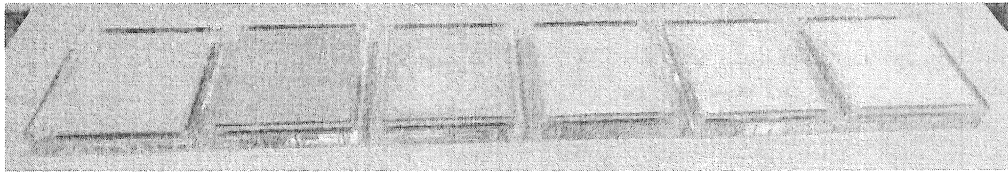


5/11

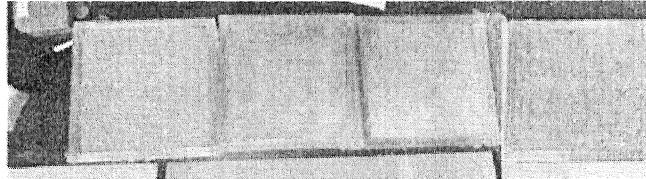
FIG.5



6/11

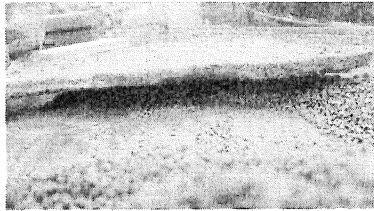
FIG.6

Cát (0,1,2,3,4,5 lần áp dụng từ trái qua phải)



Cát mùn (0,1,3,5 lần áp dụng từ trái qua phải)

7/11

FIG.7

Đĩa cát bám dính và được hình
thành do áp dụng MICP



Không bị phân tán trong nước do
sự tăng lên của sự bám dính



FIG. 8

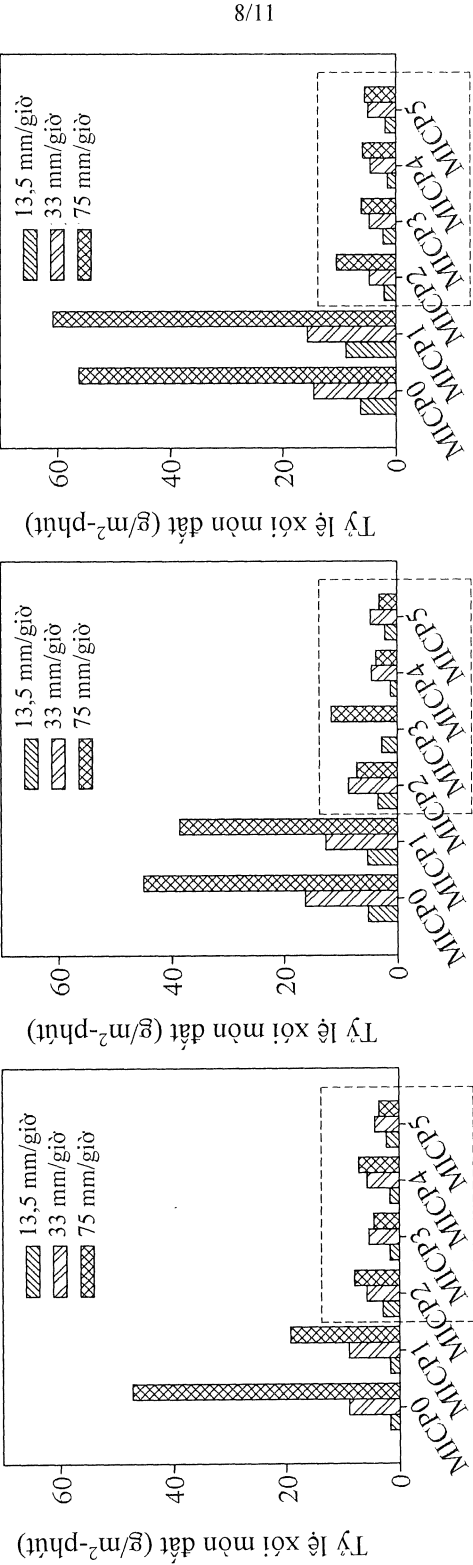
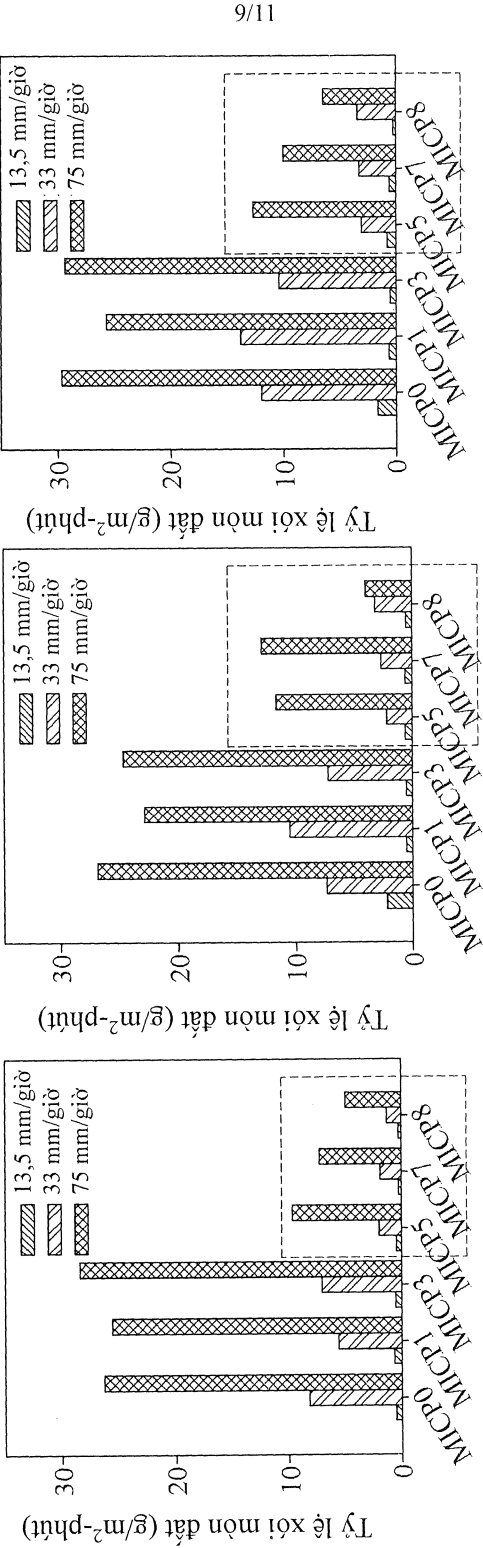
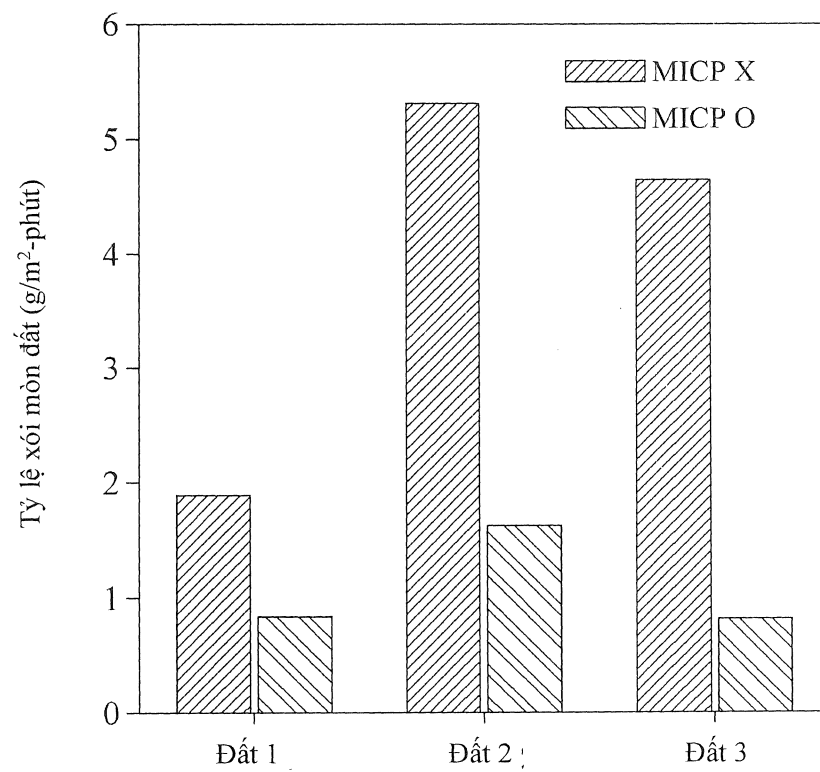


FIG. 9



10/11

FIG.10

11/11

FIG.11

