

R
BQP
TTKHKT - CNQS
PVCNM-BVMT

BỘ QUỐC PHÒNG
TRUNG TÂM KHOA HỌC KỸ THUẬT VÀ CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ
PHÂN VIỆN CÔNG NGHỆ MỚI VÀ BẢO VỆ MÔI TRƯỜNG
8 Láng Hạ, Ba Đình, Hà Nội

Báo cáo tổng kết khoa học và kỹ thuật Đề tài:

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ
CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG VÀ
SỰ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

GS.TSKH Đỗ Ngọc Khuê

HÀ NỘI, 11 – 2004

Bản quyền 2004 thuộc Phân viện CNM – BVMT,
Trung tâm KHKT – CNQS, Bộ quốc phòng
Đơn xin sao chép toàn bộ hoặc từng phần phải gửi đến Ban chủ nhiệm đề tài
KC.04.10 hoặc Thủ trưởng Phân viện CNM - BVMT

DANH SÁCH NHỮNG NGƯỜI THỰC HIỆN

A. BAN CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI VÀ CÁC CHỦ TRÌ ĐỀ TÀI NHÁNH

STT	Họ và tên	Chức vụ, đơn vị	Trách nhiệm trong đề tài	Chương, mục trong báo cáo
1	Đỗ Ngọc Khuê, GS.TSKH	Phó phân viện trưởng Phân viện CNM - BVMT	Chủ nhiệm đề tài	
2	Lê Thị Đức, Th.S	Trưởng phòng Phân viện CNM - BVMT	Thư ký đề tài, chủ nhiệm ĐTN KC.04.10.1	4.1 - 4.4 5.1
3	Phạm Sơn Dương, KS	Phân viện trưởng Phân viện CNM - BVMT	Chủ trì ĐTN KC.04.10.4	5.2
4	Nguyễn Văn Đạt, TS	Trưởng phòng Phân viện CNM - BVMT	Chủ trì ĐTN KC.04.10.6	1.1 3.1-3.3
5	Tô Văn Thiệp, Th.S	Nghiên cứu viên Phân viện CNM - BVMT	Chủ trì ĐTN KC.04.10.6	4.1.3.1.(e) 4.5, 5.3
6	Nguyễn Thị Ngọc Dao, PGS.TS	Viện CNSH Viện KHCN Việt Nam	Chủ trì ĐTN KC.04.10.9	6.1 - 6.3
7	Đỗ Ngọc Lanh, TS	Trưởng phòng Trung tâm NĐ Việt Nga	Chủ trì ĐTN KC.04.10.2	4.5, 5.3
8	Đoàn Trọng Tuyên, TS	Chủ nhiệm khoa Viện VSPD quân đội	Chủ trì ĐTN KC.04.10.10	8.1 - 8.3
9	Lê Khắc Đức, PGS.TS	Chủ nhiệm khoa Học viện Quân y	Chủ trì ĐTN KC.04.10.8	8.3.6.
10	Lê Thanh Vinh, Th.S	Trưởng phòng Viện Pháp y quân đội	Chủ trì ĐTN KC.04.10.7	4.1.3.1.
11	Đinh Ngọc Tấn, TS	Trưởng phòng Phân viện NBC, Viện HH-VL	Chủ trì ĐTN KC.04.10.11	7.1 - 7.3
12	Nguyễn Hùng Phong, TS	Phó phân viện trưởng Phân viện NBC, Viện HH-VL	Chủ trì ĐTN KC.04.10.12	9.1 - 9.3
13	Trần Minh Chí, Th.S	Phân viện trưởng Phân viện NĐMT-QS	Chủ trì ĐTN KC.04.10.3	4.6
14	Nguyễn Ngọc Quỳnh	Phân viện CNM - BVMT	Kế toán Đề tài KC.04.10	

B. DANH SÁCH NHỮNG NGƯỜI THAM GIA THỰC HIỆN CÁC ĐỀ TÀI NHÁNH THUỘC ĐỀ TÀI KC.04.10

1. ĐỀ TÀI KC.04.10.01.

"Nghiên cứu áp dụng công nghệ sinh học để xử lý nước thải chứa chất độc hại là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gọt nổ, thuốc nhuộm vũ khí và nhiên liệu tên lửa"

Chủ nhiệm đề tài: Th.S Lê Thị Đức

Cơ quan chủ trì: Phân viện CNM - BVMT

Cán bộ tham gia thực hiện: GS.TSKH Đỗ Ngọc Khuê, TS Nguyễn Văn Đạt, Th.S Nguyễn Thị Nhung, Th.S Nguyễn Thị Tâm Thư, CN Trần Thị Thu Hương, CN Bùi Thu Hà, CN Lê Huy Hoàng, Th.S Nguyễn Lê Tú Quỳnh, CN Đỗ Bình Minh.

2. ĐỀ TÀI KC.04.10.02.

"Nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học để xử lý nước thải chứa dầu mỡ đặc chủng và nước thải có chứa hàm lượng cao chất hữu cơ từ các cơ sở sản xuất ngành hậu cần quân đội"

Chủ nhiệm đề tài: TS Đỗ Ngọc Lanh

Cơ quan chủ trì: Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga

Cán bộ tham gia thực hiện: Th.S Nguyễn Thu Hoài, CN Nguyễn Quốc Khánh, CN Vũ Hoàng Giang, CN Võ Viết Cường, KTV Phạm Thu Huyền, Th.S Tô Văn Thiệp.

3. ĐỀ TÀI KC.04.10.03.

"Nghiên cứu xử lý nước thải chứa thuốc nhuộm bằng công nghệ sinh học kỵ khí và sinh học kết hợp"

Chủ nhiệm đề tài: Th.S Trần Minh Chí

Cơ quan chủ trì: Phân viện Nhiệt đới môi trường quân sự

4. ĐỀ TÀI KC.04.10.04.

"Xây dựng hệ thống xử lý nước thải chứa xăng, dầu tại một nhà máy quân sự bằng công nghệ sinh học:

Chủ nhiệm đề tài: KS Phạm Sơn Dương

Cơ quan chủ trì: Phân viện CNM - BVMT

Cán bộ tham gia thực hiện: GS.TSKH Đỗ Ngọc Khuê, Th.S Lê Thị Đức, TS Nguyễn Văn Đạt, CN Trần Thị Thu Hường, Th.S Nguyễn Lê Tú Quỳnh, Th.S Tô Văn Thiệp.

5. ĐỀ TÀI KC.04.10.05.

"Nghiên cứu thử nghiệm các chế phẩm sinh học nâng cao hiệu quả các công trình xử lý nước thải công nghiệp đang triển khai tại các cơ sở quốc phòng"

Chủ nhiệm đề tài: Th.S Tô Văn Thiệp

Cơ quan chủ trì: Phân viện CNM - BVMT

Cán bộ tham gia thực hiện: Th.S Lê Thị Đức, TS Đinh Ngọc Tấn, TS Đỗ Ngọc Lanh, KS Phạm Sơn Dương, CN Đỗ Bình Minh, Th.S Phan Nguyễn Khánh.

6. ĐỀ TÀI KC.04.10.06.

"Ứng dụng các kỹ thuật phân tích hiện đại để điều tra hiện trạng và đánh giá hiệu quả xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng bằng phương pháp sinh học"

Chủ nhiệm đề tài: TS Nguyễn Văn Đạt

Cơ quan chủ trì: Phân viện CNM - BVMT

Cán bộ tham gia thực hiện: GS.TSKH Đỗ Ngọc Khuê, Th.S Phạm Hoài Nam, Th.S Tô Văn Thiệp, CN Đỗ Bình Minh, CN Nguyễn Việt Hoa, KS Nguyễn Cao Tuấn.

7. ĐỀ TÀI KC.04.10.07.

"Xác định các sản phẩm trung gian trong quá trình phân hủy các chất thải quốc phòng đặc chủng"

Chủ nhiệm đề tài: Th.S Lê Thị Thanh Vinh

Cơ quan chủ trì: Viện Pháp y quân đội

Cán bộ tham gia thực hiện: CN Đặng Đức Khanh.

8. ĐỀ TÀI KC.04.10.08.

"Đánh giá ảnh hưởng của quá trình xử lý ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường nước và không khí tới sức khỏe cộng đồng"

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS Lê Khắc Đức

Cơ quan chủ trì: Học viện Quân y

Cán bộ tham gia thực hiện: TS Vũ Chiến Thắng, Th.S Lê Đức Thọ, TS Phạm Ngọc Châu, TS Nguyễn Thị Dư Loan.

9. ĐỀ TÀI KC.04.10.09.

"Nghiên cứu chế tạo KIT phát hiện nhanh, chính xác các vi sinh vật độc hại gây ô nhiễm không khí và nước"

Chủ nhiệm đề tài: PGS.TS Nguyễn Thị Ngọc Dao

Cơ quan chủ trì: Viện CNSH, Viện KHCN Việt Nam

Cán bộ tham gia thực hiện: PGS.TS Ngô Đình Bính, TS Nguyễn Ngọc Dũng, TS Trương Nam Hải, TS Nguyễn Thanh Hoà, TS Đinh Duy Kháng, TS Phạm Thuý Hồng; các CN: Nguyễn Minh Anh, Hồ Thị Kim Anh, Bùi Hoàng Anh, Trịnh Quý Bôn, Nguyễn Xuân Cảnh, Dương Văn Cường, Nguyễn Quỳnh Châu, Nguyễn Thị Ngọc Diệp, Phạm Minh Hương, Nguyễn Tiến Minh, Nguyễn Thị Bính Nga, Dương Hồng Quân, Bạch Thị Như Quỳnh, Trần Ngọc Tân, Phạm Minh Tuấn, Dương Cẩm Thuý; các KS: Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Nguyễn Đình Tuấn, Phạm Kiều Thuý; Th.S Phan Thanh Hà, Th.S Đỗ Thị Huyền, Th.S Trần Kiến Quốc, Th.S Hà Thị Quyên, Th.S Nguyễn Thị Thi.

10. ĐỀ TÀI KC.04.10.10.

"Xây dựng quy trình phòng chống ô nhiễm bởi các vi sinh vật độc hại trong môi trường đất, nước, không khí và thực phẩm"

Chủ nhiệm đề tài: TS Đoàn Trọng Tuyên

Cơ quan chủ trì: Viện Vệ sinh phòng dịch quân đội

Cán bộ tham gia thực hiện: Th.S Nguyễn Minh Tiếp, CN Vũ Văn Duyên, CN Nguyễn Ngọc Bảo, CN Nguyễn Thị Mai, KTV Nguyễn Việt Sự, KTV Đào Xuân Tảo.

11. ĐỀ TÀI KC.04.10.11.

"Áp dụng thành tựu công nghệ sinh học nghiên cứu chế tạo thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm môi trường không khí và nước bởi các vi sinh vật độc hại"

Chủ nhiệm đề tài: TS Đinh Ngọc Tấn

Cơ quan chủ trì: Phân viện Phòng chống vũ khí NBC

Cán bộ tham gia thực hiện: Th.S Nguyễn Xuân Thanh, KS Bùi Bá Dũng, Th.S Trần Trọng Thuyền, KS Nguyễn Văn Hoàng, CN Nguyễn Ngọc Sơn.

12. ĐỀ TÀI KC.04.10.12.

"Nghiên cứu chế tạo phương tiện bảo vệ cá nhân (có áp dụng thành tựu công nghệ sinh học) chống lại tác động của vi sinh vật độc hại"

Chủ nhiệm đề tài: TS Nguyễn Hùng Phong

Cơ quan chủ trì: Phân viện Phòng chống vũ khí NBC

Cán bộ tham gia thực hiện: Th.S Hoàng Ngọc Sơn, Th.S Nguyễn Đình Hoà, Th.S Nguyễn Trọng Dân.

BÀI TÓM TẮT

Đề tài "Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại" (Mã số KC.04.10) là đề tài thuộc Chương trình KHNCN trọng điểm cấp Nhà nước giai đoạn 2001 - 2005 "Nghiên cứu và phát triển công nghệ sinh học" (Mã số KC.04).

Đề tài được thiết lập với 2 mục tiêu chính:

♦ Ứng dụng thành tựu công nghệ sinh học xây dựng quy trình công nghệ xử lý một số chất thải khó phân hủy của công nghiệp quốc phòng (các thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, các chất gợi nổ, các chất độc hại khác).

♦ Xác định chính xác và xử lý hiệu quả sự ô nhiễm môi trường nước và không khí do các vi sinh vật độc hại gây ra.

⊕ Các đối tượng nghiên cứu chính của đề tài

- Các chất thải (chủ yếu là nước thải) bị nhiễm các hoá chất độc hại, khó phân hủy là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ và một số chất thải độc hại khác của các cơ sở ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần quân đội.

- Các kỹ thuật sinh học (hiếu khí, kỵ khí hoặc kết hợp), các chế phẩm vi sinh và quy trình xử lý sinh học các chất thải quốc phòng đặc chủng.

- 5 loại vi khuẩn độc hại gây dịch bệnh mà một số nước đã sử dụng trong Chiến tranh thế giới II: than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch.

- Các sinh phẩm (Kit) dùng cho phương pháp PCR để phát hiện 5 loại vi khuẩn trên.

- Thiết bị phát hiện nhanh vi khuẩn độc hại theo mẫu của Nga.

- Các kỹ thuật khử trùng tẩy uế môi trường bị ô nhiễm 5 loại vi khuẩn độc hại kể trên.

- Phương tiện bảo vệ cá nhân chống tác động vi sinh vật độc hại theo đường hô hấp.

⊕ Các phương pháp nghiên cứu chính mà đề tài đã sử dụng

• Các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại (sắc ký khí (GC), sắc ký khí - khối phổ (GC-MS), sắc ký lỏng cao áp (HPLC), trắc quang tử ngoại khả kiến

(UV-Vis)...) để khảo sát đánh giá hiện trạng ô nhiễm môi trường bởi các chất thải độc hại quốc phòng đặc chủng, để đánh giá hiệu quả quá trình xử lý sinh học, phân tích xác định các sản phẩm quá trình sinh phân hủy các chất thải quốc phòng đặc chủng.

- Các kỹ thuật nghiên cứu vi sinh: phân tích vi sinh, phân lập, tuyển chọn, định tên, nhân giống, bảo quản ... các chủng vi sinh vật và chế tạo các chế phẩm có khả năng phân hủy chất thải quốc phòng đặc chủng với hiệu lực cao.

- Các kỹ thuật xử lý môi trường bằng giải pháp hiếu khí, kỵ khí, UASB, kỵ khí hiếu nhiệt, sinh học kết hợp với các giải pháp hoá lý.

- Các phương pháp chế tạo Kit dùng cho kỹ thuật PCR để giám định phân tử các vi sinh vật độc hại (phương pháp tách chiết ADN từ vi sinh vật, phương pháp xác định gen đặc hiệu).

- Các phương pháp vật lý và hoá học khử trùng tẩy uế môi trường sử dụng nhiệt, hoá chất...

- Các phương pháp nghiên cứu xác định tính năng vật liệu lọc và đánh giá hiệu lực lọc vi sinh vật độc hại của khẩu trang.

⊕ Các kết quả chính mà đề tài đã đạt được

❶ Đã khảo sát đánh giá hiện trạng phát thải và công nghệ xử lý các chất thải độc hại đặc thù quốc phòng tại các cơ sở sản xuất quốc phòng trọng điểm của ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần, trên cơ sở đó làm rõ sự cần thiết của việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong xử lý sự ô nhiễm môi trường tại các cơ sở quốc phòng.

❷ Đã nghiên cứu xây dựng được các quy trình phân tích, xác định nhanh, nhạy và chính xác các chất thải quốc phòng đặc chủng và sản phẩm quá trình sinh phân hủy chúng bằng các phương pháp hoá lý hiện đại như sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí, sắc ký khí - khối phổ... Đã chứng minh rằng đây là những phương pháp chính cần sử dụng trong nghiên cứu, xây dựng và đánh giá hiệu quả các giải pháp công nghệ sinh học trong xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng.

- ③ Lần đầu tiên ở điều kiện trong nước đã phân lập tuyển chọn được từ các mẫu đất, nước bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ... nhiều chủng vi sinh vật bản địa có hiệu lực phân hủy cao các chất thải quốc phòng đặc chủng là thành phần thuốc nổ, thuốc gơi nổ, thuốc phóng như 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), 2,4-dinitrotoluen (DNT), nitroglycerin (NG), nitrocellulose (NC), 2,4,6-trinitroresorcinol (TNR), chế tạo và áp dụng thử nghiệm được 05 chế phẩm vi sinh có hiệu lực phân hủy đạt trên 75% trong thời gian ngắn với các chất thải trên.
- ④ Đã nghiên cứu xây dựng được 10 quy trình công nghệ sinh học (hiếu khí, kỵ khí hoặc kết hợp) hiệu quả và khả thi dùng để xử lý các loại nước thải nguy hiểm nhất, đó là nước thải nhiễm TNT, DNT, NG, NC, TNR,... của ngành CNQP; nước thải nhuộm đen vũ khí, nước thải chứa chất O, Γ, nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng của ngành Kỹ thuật; nước thải có hàm lượng hữu cơ (BOD) cao và nước thải dệt nhuộm của ngành Hậu cần quân đội. Trong đó các kết quả nghiên cứu về quy trình xử lý sinh học nước thải chứa TNT, DNT, TNR, NG, NC, thuốc nhuộm đen có nhiều tính khoa học, mới mẻ và sáng tạo. Công nghệ đã thiết lập có thể thay thế cho công nghệ nhập ngoại.
- ⑤ Kết quả nghiên cứu, thử nghiệm cho thấy để xử lý khử độc triệt để các nguồn nước thải bị ô nhiễm các hoá chất có độ bền hoá học, sinh học cao như thuốc nổ TNT, DNT, TNR, các loại thuốc nhuộm, v.v... thì cần thiết phải áp dụng giải pháp vi sinh kết hợp (hiếu khí với kỵ khí). Việc bổ sung công đoạn xử lý kỵ khí sẽ tạo điều kiện khoáng hoá tốt hơn các chất ô nhiễm hữu cơ kể trên nhưng sẽ làm cho thời gian xử lý tăng lên. Chính vì vậy quy trình công nghệ sinh học kết hợp đã thiết lập sẽ rất thích hợp để áp dụng cho việc xử lý các nguồn nước thải có lưu lượng nhỏ và vừa với nồng độ chất ô nhiễm không cao.
- ⑥ Đã thiết kế, chế tạo, lắp đặt được 1 pilot dạng hợp khối công suất 30l/ngày có thể sử dụng như mô hình áp dụng trong thực tiễn các nhà máy quốc phòng và để thử nghiệm các quy trình công nghệ sinh học xử lý chất thải

quốc phòng đặc chủng. Xây dựng 2 pilot xử lý nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng và có hàm lượng hữu cơ cao bằng công nghệ sinh học công suất 5 - 7 m³/ngày tại 2 cơ sở thuộc ngành Kỹ thuật và Hậu cần quân đội. Đây là những dây chuyền công nghệ sinh học xử lý chất thải dầu tiên được triển khai ở các nhà máy quốc phòng.

- ⑦ Lần đầu tiên ở trong nước đã nghiên cứu chế tạo được 5 bộ kit phân tử (Kit) có độ nhạy, chính xác cao tương đương với các kit trên thế giới và thiết lập được 5 quy trình sử dụng Kit để phát hiện tương đối nhanh và chính xác sự ô nhiễm môi trường khí, nước bởi 5 loại vi khuẩn độc hại (than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch) bằng kỹ thuật PCR. Các bộ Kit có thể phát hiện được vi khuẩn với lượng ADN của chúng là 0,07 - 1700pg, ngưỡng phát hiện là 10 - 10⁵ tế bào, thời gian xác định mẫu là 6 -8 giờ. Với việc trang bị máy PCR thế hệ mới có thể rút ngắn hơn nữa thời gian xét nghiệm. Kết quả này đã mở ra triển vọng có thể chế tạo được nhiều loại Kit phân tử mới để phát hiện nhanh, chính xác các vi sinh vật độc hại, các tác nhân sinh học khác bằng kỹ thuật PCR.
- ⑧ Đã nghiên cứu chế tạo được bộ thuốc thử có thể thay thế cho thuốc thử dùng để phát hiện vi sinh vật độc hại bằng thiết bị ACP (Nga). Thiết kế, chế tạo được thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí có tính năng tương đương thiết bị ACP của Nga. Kết quả này đã tạo cơ sở bước đầu để thiết lập công nghệ chế tạo các thiết bị trinh sát tác nhân sinh học ở điều kiện trong nước.
- ⑨ Đã nghiên cứu xây dựng được các mô hình đủ điều kiện để thử nghiệm gây nhiễm vi sinh vật và thiết lập được 4 quy trình khử trùng, tẩy uế môi trường đất, nước, không khí, thực phẩm bị nhiễm các vi sinh vật độc hại (than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch) phù hợp với điều kiện thực tiễn của quân đội và Nhà nước, trên cơ sở sử dụng các hoá chất, vật liệu thông dụng, phổ biến. Đã đánh giá tác động của việc xử lý khử trùng bằng hoá chất tới môi trường và sức khoẻ cộng đồng.

- ⑩ Đã nghiên cứu thiết kế chế tạo được 10 bộ phương tiện bảo vệ cá nhân chống tác động của vi sinh vật độc hại dưới dạng khẩu trang và bán mặt nạ phòng hô hấp có các chỉ tiêu kỹ thuật cơ bản tương đương với loại của nước ngoài, có khả năng lọc được vi sinh vật độc hại. Công nghệ sản xuất các phương tiện không phức tạp, giá thành sản phẩm không cao do đó có thể áp dụng để sản xuất trang bị đại trà cho dân chúng và bộ đội phòng sự cố sinh học.
- ⑪ Kết quả của đề tài đã được công bố trong 32 bài báo, báo cáo khoa học trên các Tạp chí, Hội nghị khoa học chuyên ngành. Theo hướng nghiên cứu của đề tài đã thực hiện được 01 luận án Tiến sĩ, 03 luận văn Thạc sĩ, 08 luận văn Tốt nghiệp đại học. Đã tổ chức 1 Hội thảo khoa học, 1 đoàn đi tham quan học tập tại Viện hàn lâm khoa học CHLB Nga.

MỤC LỤC

Bảng chú giải các chữ viết tắt, ký hiệu chữ quy ước, dấu, đơn vị và thuật ngữ	1
Lời mở đầu	3
Chương 1. Tổng quan. Tình hình nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại.....	8
1.1. Tình hình nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng	8
1.1.1. Hiện trạng phát thải các chất thải quốc phòng đặc chủng	8
1.1.2. Hiện trạng công nghệ xử lý các chất thải đặc thù quốc phòng	11
1.1.3. Tình hình nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng.....	14
1.1. 4. Đặc điểm công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng khác	18
1.2. Tình hình nghiên cứu về phương pháp phát hiện và phòng chống sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại	20
1.2.1. Tình hình nghiên cứu về các phương pháp phát hiện vi sinh vật độc hại.....	20
1.2.2. Tình hình nghiên cứu phát triển các thiết bị trình sát phát hiện nhanh tác nhân sinh học	23
1.2.3. Tình hình nghiên cứu các phương pháp khử trùng, tẩy uế.....	25
1.2.4. Tình hình nghiên cứu về phương tiện bảo vệ cá nhân phòng chống vi sinh vật độc hại	26
Chương 2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.....	28
2.1. Lựa chọn đối tượng nghiên cứu	28
2.2. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật đã sử dụng cho đề tài	29
2.2.1. Nguyên liệu, thiết bị dùng để phân tích phục vụ mục tiêu nghiên cứu công nghệ và đánh giá hiệu quả phân hủy sinh học các chất thải quốc phòng đặc chủng	29
2.2.2. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa TNT, DNT.....	29
2.2.3. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa styphnic axit	33
2.2.4. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ xử lý nước thải chứa nitroglycerin	37
2.2.5. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ xử lý nước thải nhiễm NO_3^- , NO_2^-	38
2.2.6. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý nước thải bị nhiễm dầu và hàm lượng cao chất hữu cơ.....	39
2.2.7. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý nước thải cơ sở dệt nhuộm.....	42
2.2.8. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu chế tạo KIT phân tử	46
2.2.9. Nguyên vật liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu chế tạo thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí	56
2.2.10. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu xử lý môi trường đất, nước, không khí và thực phẩm bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại.....	57
2.2.11. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu chế tạo phương tiện bảo vệ cá nhân chống lại tác động của vi sinh vật độc hại theo đường hô hấp.....	64

2.3. Một số điểm mới trong mục tiêu và nội dung nghiên cứu của đề tài.....	67
Chương 3. Kết quả nghiên cứu.....	68
3.1. Nội dung 1 - Xây dựng quy trình phân tích phục vụ mục tiêu nghiên cứu công nghệ và đánh giá hiệu quả phân hủy sinh học các chất thải quốc phòng đặc chủng	68
3.1.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu	68
3.1.2. Kết quả nghiên cứu quy trình phân tích TNT trong nước thải bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC)	70
3.1.3. Quy trình phân tích DNT và NG bằng sắc ký lỏng cao áp	71
3.1.4. Quy trình phân tích axit styphnic bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp.....	73
3.1.5. Quy trình phân tích chất G bằng sắc ký khí.....	74
3.1.6. Quy trình phân tích TNT, DNT, TNR và các sản phẩm phân hủy sinh học bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ (GC-MS)	76
3.2. Nội dung 2 - Kết quả nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý một số chất thải quốc phòng đặc chủng	78
3.2.1. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa TNT, DNT của cơ sở sản xuất thuốc nổ	78
3.2.2. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa Axit styphic (TNR) từ cơ sở sản xuất thuốc gọi nổ	91
3.2.3. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa nitroglycerin (NG) và nitrocellulose (NC) từ quá trình sản xuất thuốc phóng	102
3.2.4. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa nitrat, nitrit từ quá trình nhuộm đen vũ khí và phục hồi nhiên liệu tên lửa.....	109
3.2.5. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải bị nhiễm dầu và hàm lượng cao các chất hữu cơ của cơ sở ngành hậu cần	115
3.2.6. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải cơ sở dệt nhuộm ngành hậu cần quân đội	123
3.3. Nội dung 3 - Nghiên cứu thiết kế xây dựng các pilot xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng	130
3.3.1. Thiết kế, chế tạo pilot xử lý nước thải công nghiệp quốc phòng dạng modul quy mô phòng thí nghiệm công suất 30l/ngày	130
3.3.2. Nghiên cứu thiết kế, xây dựng pilot xử lý nước thải chứa dầu mỡ đặc chủng tại cơ sở bảo quản sửa chữa vũ khí ngành kỹ thuật.....	136
3.3.3. Nghiên cứu thiết kế xây dựng pilot xử lý nước thải có hàm lượng hữu cơ (BOD) cao tại cơ sở ngành hậu cần	139
3.4. Nội dung 4 - Nghiên cứu chế tạo kit phát hiện sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí và nước	142
3.4.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu	142
3.4.2. Kết quả nghiên cứu tách chiết ADN từ vi khuẩn	143
3.4.3. Xác định các gen đặc hiệu cho vi khuẩn bằng phương pháp PCR.....	147
3.4.4. Quy trình chế tạo Kit	147
3.4.5. Quy trình sử dụng các bộ Kit.....	148
3.4.6. Đánh giá độ nhạy của các bộ Kit.....	151
3.4.7. Chế tạo các thiết bị thu mẫu vi khuẩn từ mẫu nước và không khí và xây dựng quy trình phát hiện chúng	152
3.5. Nội dung 5 - Áp dụng thành tựu công nghệ sinh học nghiên cứu chế tạo thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí	157

3.5.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu	157
3.5.2. Kết quả nghiên cứu	158
3.6. Nội dung 6 - Nghiên cứu quy trình xử lý môi trường đất, nước, không khí và thực phẩm bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại	165
3.6.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu	165
3.6.2. Kết quả nghiên cứu	166
3.7. Nội dung 7 - Kết quả nghiên cứu chế tạo phương tiện bảo vệ cá nhân chống lại tác động của vi sinh vật độc hại theo đường hô hấp	179
3.7.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu	179
3.7.2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận	180
3.8. Nội dung 8 - Kết quả đào tạo sau đại học, hợp tác khoa học và các hoạt động khác của đề tài KC.04.10	189
3.8.1. Danh mục các công trình đã công bố	190
3.8.2. Danh sách các luận văn, luận án do các thành viên đề tài KC.04.10 hướng dẫn hoặc tham gia hướng dẫn thực hiện (chỉ trích riêng lĩnh vực sinh học)	195
Chương 4. Tổng hợp, đánh giá kết quả nghiên cứu và kết luận	197
4.1. Về các kết quả nghiên cứu ứng dụng các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại để phân tích và đánh giá hiệu quả công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng	197
4.2. Về kết quả nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng	197
4.3. Về kết quả nghiên cứu, thiết kế, chế tạo các pilot xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng	198
4.4. Về kết quả nghiên cứu chế tạo kit phát hiện chính xác vi sinh vật độc hại gây ô nhiễm môi trường không khí và nước	199
4.5. Về kết quả nghiên cứu chế tạo thiết bị phát hiện vi sinh vật độc hại theo mẫu máy ACP của Nga	200
4.6. Về kết quả nghiên cứu xây dựng quy trình khử trùng, tẩy uế môi trường bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại	201
4.7. Về kết quả nghiên cứu chế tạo phương tiện bảo vệ cá nhân phòng chống tác động vi sinh vật độc hại	201
4.8. Về kết quả đào tạo sau đại học, hợp tác khoa học và các hoạt động khác	202
4.9. Kết luận và kiến nghị	202
Tài liệu tham khảo	207

BẢNG CHÚ GIẢI CÁC CHỮ VIẾT TẮT, KÝ HIỆU CHỮ QUY ƯỚC, DẤU, ĐƠN VỊ VÀ THUẬT NGỮ

TNT: 2,4,6-Trinitrotoluen

DNT: 2,4-Dinitrotoluen

TNR: 2,4,6-Trinitrorezocxinol (hoặc axit styphnic)

HMX: octohydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazoxine

RDX: hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (Hecxogen)

NG: Nitroglycerin

NC: Nitroxenlulo

NP: Nitrophenol

LC₅₀: Lethal concentration - nồng độ gây chết 50% sinh vật

LD₅₀: Lethal dose - liều gây chết 50% sinh vật

COD: Nhu cầu oxy hoá học

BOD₅: Nhu cầu oxy sinh hoá

HPLC: Sắc ký lỏng cao áp

GC: Sắc ký khí

GC-MS: Sắc ký khí - khối phổ

UV-Vis: Tử ngoại - khả kiến

VSV: Vi sinh vật

ADN: Axit Deoxyribonucleic

ARN: Axit Ribonucleic

Amp: Ampicillin

BSA: Bovine Serum Albumin (Albumin huyết thanh bò)

Bp : Cặp Bazơ

dNTP: Deroxyribonucleotide 5'-triphosphates

EDTA : Ethylen Diamine Tetra acetic Acid

**ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Phản ứng hấp phụ miễn dịch
đánh dấu enzym)**

EtBt : Ethidium Bromide

E. coli: *Escherichia Coli*

IHA: Indirect Hemagglutination Assay (Phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động)

Kit: Bộ sinh phẩm

LB : Môi trường Lauria Betani

PCR : Polymerase Chain Reaction (phản ứng chuỗi trùng hợp)

SDS : Sodium Dodecyl Sulphate

TAE : Tris- Acetate- EDTA

Taq : Polymerase của *Thermus aquaticus*

TE: Tris- EDTA

X- gal : 5- Bromo- 4- Chloro- 3- Indolyl- β -D-Galactopyranoside

v/p : vòng /phút

WHO : Tổ chức Y tế thế giới

Yop: *Yersinia* outer protein

BacKit: Kit dùng để phát hiện vi khuẩn *Bacillus anthracis*

YerKit: Kit dùng để phát hiện vi khuẩn *Yersinia pestis*

VibKit: Kit dùng để phát hiện vi khuẩn *Vibrio Cholerae*

SalKit: Kit dùng để phát hiện vi khuẩn *Salmonella typhi*

ShiKit: Kit dùng để phát hiện vi khuẩn *Shigella spp.*

ACP: Thiết bị phát hiện tác nhân sinh học của Nga

LỜI MỞ ĐẦU

Cùng với sự phát triển mạnh mẽ của nền kinh tế và công nghiệp của đất nước, các nguy cơ ô nhiễm môi trường do các chất thải độc hại gây ra đang ngày càng gia tăng. Ngoài ra do sự phát triển phức tạp của các loại dịch bệnh nguy hiểm mới, sự tồn tại các thế lực phản động với các âm mưu xâm lược, phá hoại và khủng bố thì nguy cơ ô nhiễm môi trường bởi các tác nhân sinh học, trong đó có các vi sinh vật độc hại cũng là một thực tế, một thách thức lớn đối với các lực lượng khoa học trong và ngoài quân đội. Chính vì vậy nghiên cứu các giải pháp khoa học công nghệ có hiệu quả để khắc phục sự ô nhiễm môi trường do các chất thải và vi sinh vật độc hại gây ra luôn được xác định là một trong những nhiệm vụ trọng tâm của công tác BVMT hiện nay.

Để xử lý các chất thải sinh hoạt và chất thải công nghiệp dân dụng, người ta đã áp dụng thành công nhiều giải pháp công nghệ khác nhau trong đó có các giải pháp sinh học. Có nhiều nguyên nhân dẫn tới sự thành công này. Một là, trong lĩnh vực nghiên cứu công nghệ xử lý các chất thải dân dụng có thể tận dụng và phát huy được sự tham gia của lực lượng đông đảo các cơ sở nghiên cứu và chuyên gia khoa học của Nhà nước. Các tài liệu về công nghệ xử lý các đối tượng chất thải này tương đối phổ biến. Việc hợp tác chuyển giao công nghệ, kể cả với nước ngoài tương đối thuận lợi. Hai là, các loại chất thải sinh hoạt, chất thải công nghiệp thực phẩm, chế biến thủy sản, chăn nuôi, bệnh viện ,v.v... đa số là ở dạng dễ phân hủy sinh học. Chính vì vậy nhiều công trình xử lý chất thải quy mô lớn dựa trên cơ sở công nghệ sinh học đã được triển khai thành công trong thời gian qua.

Trong khi đó việc triển khai ứng dụng công nghệ sinh học để xử lý các chất thải của các cơ sở sản xuất quốc phòng đặc biệt là các cơ sở sản xuất thuốc nổ, thuốc phóng, sửa chữa, bảo quản vũ khí,v.v... còn rất chậm và gặp nhiều khó khăn. Một trong những nguyên nhân đầu tiên dẫn tới hiện tượng này là do đây là các đối tượng mà các cơ sở và chuyên gia khoa học ngoài quân đội ít có điều kiện tiếp cận, nghiên cứu; chính vì vậy các tài liệu, công trình đã công bố về công nghệ xử lý các chất thải này rất ít. Đồng thời do tính chất quân sự nên điều kiện để thực

hiện việc hợp tác, chuyển giao công nghệ với nước ngoài cũng bị hạn chế. Nguyên nhân thứ hai là hầu hết các chất thải quốc phòng đặc chủng đều là các hoá chất vừa có tính nguy hiểm (dễ cháy nổ), vừa có độ bền hoá học và sinh học cao, đặc biệt là các loại thuốc nổ, thuốc phóng. Do đó chúng rất khó hoặc chậm bị phân hủy, hoặc phân hủy không triệt để bằng tác nhân hoá học hoặc vi sinh. Chính vì vậy mà cho đến nay ở các cơ sở quốc phòng chỉ mới triển khai xây dựng được các công trình xử lý dựa trên cơ sở các giải pháp công nghệ hoá, lý là chính. Mặc dù xét về địa thế, mặt bằng thì các cơ sở này có nhiều điều kiện thuận lợi để triển khai các giải pháp công nghệ sinh học.

Tuy nhiên có một thực tế là các giải pháp hoá lý thường đòi hỏi phải có đầu tư ban đầu lớn về trang thiết bị và giá thành xử lý thường là cao. Trong khi đó các giải pháp công nghệ sinh học lại có ưu thế là giá thành xử lý thấp. Chính vì vậy việc tìm kiếm khả năng đưa các giải pháp công nghệ sinh học vào thực tiễn xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng là một nhu cầu mang tính thực tiễn cấp bách.

Trong lĩnh vực nghiên cứu phương pháp phát hiện và phòng chống sự ô nhiễm môi trường bởi các vi sinh vật độc hại, đặc biệt là các vi sinh vật có thể sử dụng làm tác nhân gây sự cố sinh học như vi khuẩn than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch, v.v... còn tồn tại nhiều vấn đề bất cập. Các kỹ thuật chẩn đoán vi sinh vật gây bệnh hiện hành bị hạn chế là có tốc độ phân tích chậm, độ nhạy và độ chính xác chưa cao cho nên rất khó áp dụng cho mục đích phát hiện nhanh, chính xác sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường. Các kỹ thuật phân tích sinh học hiện đại như PCR, phương pháp cảm biến sinh học (biosensor), v.v... mới chỉ bước đầu được triển khai nghiên cứu ở một số cơ sở chuyên ngành. Chúng ta cũng chưa thiết lập được công nghệ sản xuất ở điều kiện trọng nước các thiết bị phát hiện tác nhân sinh học trong môi trường dù ở dạng đơn giản. Chưa có được các quy trình khử trùng tẩy uế môi trường hiệu quả phù hợp với điều kiện thực tế. Chúng ta cũng chưa chế tạo được các phương tiện phòng hộ cá nhân chống tác động của vi sinh vật độc hại có thể trang bị đại trà cho bộ đội và dân chúng trong trường hợp xảy ra sự cố sinh học.

Tất cả các vấn đề đã nêu trên là căn cứ để chúng tôi đề xuất việc thực hiện đề tài "Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại".

A. Thông tin chung về đề tài

- 1. Tên đề tài:** Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại.
- 2. Mã số:** KC.04.10
- 3. Thời gian thực hiện:** 10/2001 - 10/2004
- 4. Cấp quản lý:** Nhà nước
- 5. Kinh phí:** 3000 triệu đồng (từ Ngân sách Nhà nước)
- 6. Thuộc chương trình:** Nghiên cứu khoa học và phát triển công nghệ sinh học. Mã số KC.04.
- 7. Chủ nhiệm đề tài:** GS.TSKH Nghiên cứu viên cao cấp Đỗ Ngọc Khuê
- 8. Cơ quan chủ trì:** Phân viện CNM - BVMT, trực thuộc Trung tâm KHKT - CNQS, Bộ quốc phòng

B. Nội dung KH-CN của đề tài

⊗ Mục tiêu của đề tài được xác định là:

- ◆ Ứng dụng thành tựu công nghệ sinh học xây dựng quy trình công nghệ xử lý chất thải khó phân hủy của công nghiệp quốc phòng (các thành phần thuốc nổ, thuốc phóng, các chất gợi nổ, các chất gây cháy...)
- ◆ Xác định chính xác và xử lý hiệu quả sự ô nhiễm môi trường nước và không khí do các vi sinh vật độc hại gây ra

⊗ Các nội dung nghiên cứu chính của đề tài là:

- ❶** Đánh giá hiện trạng phát thải các chất thải quốc phòng đặc chủng. Xác định đối tượng chất thải và khả năng áp dụng công nghệ sinh học để xử lý chúng.
- ❷** Nghiên cứu xác định khả năng của các kỹ thuật phân tích hiện đại trong đánh giá hiệu quả xử lý môi trường bằng công nghệ sinh học.

- ③ Nghiên cứu chế tạo các chế phẩm sinh học có hiệu lực phân hủy cao các chất thải quốc phòng đặc chủng điển hình: thuốc nổ, thuốc gỏi nổ, thuốc phóng, v.v...
- ④ Nghiên cứu thiết lập và hoàn thiện các quy trình công nghệ có sử dụng chế phẩm sinh học để xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng kể trên.
- ⑤ Nghiên cứu xây dựng các pilot thử nghiệm để làm mô hình triển khai áp dụng vào thực tiễn xử lý môi trường ở các cơ sở ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần quân đội.
- ⑥ Nghiên cứu chế tạo các Kit dùng cho phương pháp PCR để phát hiện sự ô nhiễm môi trường bởi 5 loại vi khuẩn gây bệnh (than, thương hàn, tả, dịch hạch, lỵ).
- ⑦ Nghiên cứu chế tạo thiết bị phát hiện nhanh vi sinh vật độc hại theo mẫu thiết bị ACP của Nga.
- ⑧ Nghiên cứu xây dựng quy trình xử lý ô nhiễm môi trường bởi các vi sinh vật độc hại (trước mắt là 5 loại vi khuẩn gây bệnh đã nêu trên) phù hợp điều kiện Việt Nam.
- ⑨ Nghiên cứu chế tạo phương tiện bảo vệ cá nhân chống tác động của vi sinh vật độc hại theo đường hô hấp dưới dạng khẩu trang, bán mặt nạ.

⊗ Tiến độ thực hiện

- Từ quý 4/2001 đến quý 4/2003: tiến hành các khảo sát đánh giá hiện trạng phát thải và công nghệ xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng, nghiên cứu, chế tạo các chế phẩm sinh học, kit thử, thiết bị phát hiện vi sinh vật độc hại, phương tiện bảo vệ, pilot thử nghiệm. Xây dựng các quy trình xử lý chất thải, xử lý khử trùng, tẩy uế môi trường, quy trình sử dụng kit để phát hiện vi sinh vật độc hại.

- Từ 1/2004 đến 10/2004: hoàn thiện các quy trình và sản phẩm nghiên cứu.

Viết báo cáo tổng kết KHKT đề tài.

- Tháng 10/2004: Nghiệm thu các đề tài nhánh

- Tháng 12/2004: Nghiệm thu cấp cơ sở

- Quý 1/2005: Nghiệm thu cấp Nhà nước

⊗ Các sản phẩm của đề tài đã đăng ký

- ① 5 chế phẩm vi sinh vật chuyên dùng cho phân hủy nhanh chất thải là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng, xăng dầu đặc chủng, nước thải nhuộm vũ khí đạt chỉ tiêu $10 - 10^{10}$ tế bào/ml (g), có hiệu lực cao trong xử lý, hiệu suất phân hủy chất thải đặc chủng đạt 70 - 85% sau thời gian ngắn.
- ② 10 quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải đặc thù quốc phòng. Hiệu quả xử lý giảm 70 - 85% nồng độ chất độc hại có trong nước thải.
- ③ 3 pilot xử lý chất thải quốc phòng xử lý được 10 lit nước thải/giờ làm mô hình áp dụng được trong thực tiễn các nhà máy quốc phòng.
- ④ 5 bộ kit phát hiện vi sinh vật độc hại (Kit BAC, Kit Sal, Kit Vib, Kit Yer, Kit Shi) đạt chỉ tiêu 25600.
- ⑤ 01 thiết bị phát hiện vi sinh vật độc hại trong không khí theo mẫu ACP của Nga có thời gian lấy mẫu 5 - 10 phút, thời gian báo độc 13 - 15 giây và 10 bộ phương tiện bảo vệ cá nhân.
- ⑥ 4 quy trình phòng chống, xử lý vi sinh vật độc hại có tính khả thi.
- ⑦ Báo cáo tổng kết KHKT của đề tài.
- ⑧ 5 bài báo khoa học đăng ở Tạp chí chuyên ngành, Hội nghị khoa học.
- ⑨ Hướng dẫn thực hiện 1 luận án Tiến sĩ, 3 luận văn Thạc sĩ, 2 luận văn Tốt nghiệp đại học thuộc lĩnh vực CNSH và Công nghệ môi trường.
- ⑩ Hợp tác quốc tế: Dự kiến hợp tác với Nga về nội dung học tập thêm về kỹ thuật chế tạo các Kit và phương tiện phát hiện và công nghệ xử lý phòng chống vi sinh vật độc hại.

⊗ Kinh phí thực hiện đề tài (từ Ngân sách Nhà nước): 3000 triệu đồng

Trong đó:	Thuê khoán chuyên môn:	964,5 triệu
	Nguyên vật liệu, năng lượng:	711,2 triệu
	Thiết bị, máy móc:	882,0 triệu
	Xây dựng, sửa chữa nhỏ:	50,0 triệu
	Chi khác:	393,3 triệu

CHƯƠNG 1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG VÀ SỰ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

1.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

1.1.1. Hiện trạng phát thải các chất thải quốc phòng đặc chủng

Khi nói đến chất thải quốc phòng đặc chủng là người ta muốn nói đến các loại chất thải đặc biệt thường chỉ được tạo ra từ các hoạt động quân sự trong đó chủ yếu là từ trong hoạt động của các cơ sở sản xuất quốc phòng, đảm bảo kỹ thuật và hậu cần quân đội [1]. Trong các chất thải này thường chứa các hoá chất có tính độc hại và khả năng gây nổ cháy cao như các loại thuốc nổ (TNT, DNT, NG, hecxogen), các chất gợi nổ (styphnat chì, phuminat thủy ngân, azotua chì), các thành phần thuốc phóng, các loại hoá chất độc hại khác sử dụng trong công nghệ xử lý bề mặt bảo quản vũ khí, thiết bị kỹ thuật, v.v...

Như vậy theo định nghĩa của chương trình môi trường Liên hiệp quốc (UNEP) [2-4] thì các chất thải quốc phòng đặc chủng thực chất cũng là các chất thải nguy hại cần phải được quan tâm và xử lý.

Có nhiều cách phân loại các chất thải nguy hại và vì vậy cũng có nhiều cách phân loại các chất thải quốc phòng đặc chủng. Có thể phân loại theo mức độ nguy hại, đặc điểm chất thải. Cũng có thể phân loại theo Công ước quốc tế về bảo vệ môi trường hoặc theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO) [2-4] dựa vào độc tính của các chất thải. Tuy nhiên, theo chúng tôi, để dễ tiếp cận hơn, còn có thể phân loại các chất thải quốc phòng đặc chủng theo nguồn tạo ra chúng, thí dụ: chất thải của ngành CNQP, của ngành đảm bảo kỹ thuật, các chất thải ngành Hậu cần quân đội và các chất thải từ các hoạt động đặc thù quân sự khác.

1.1.1.1. Các công nghệ sản xuất và chất thải độc hại đặc thù công nghiệp quốc phòng

Xét về lĩnh vực công nghệ sản xuất (tức là nguồn phát thải các chất thải độc hại) các cơ sở CNQP có thể phân thành các nhóm chính sau: nhóm cơ khí luyện kim, nhóm cơ khí hoá chất và nhóm các xí nghiệp hoá chất.

a. Nhóm cơ khí luyện kim (nhóm 1)

Đây là nhóm các nhà máy trong đó công nghệ chủ yếu là sản xuất cơ khí, song trong quá trình sản xuất hầu hết các cơ sở đều có các dây chuyền xử lý mặt ngoài, mạ, chế tạo dụng cụ, nhiệt luyện; một số nhà máy còn có phân xưởng đúc, luyện kim, tạo phôi. Chất thải gây ô nhiễm môi trường ở đây chủ yếu là các loại chất thải rắn, bụi (bụi than, cát, kim loại), hơi khí độc CO, CO₂, SO₂ từ lò than đúc, nước thải chứa chất hoạt động bề mặt dạng nhũ tương.

b. Nhóm cơ khí hoá chất (nhóm 2)

Đây là các cơ sở sản xuất mà ngoài các dây chuyền sản xuất cơ khí còn có lượng lớn các dây chuyền sản xuất các mặt hàng hoá chất nhồi lấp (thuốc nổ, thuốc mồi nổ, thuốc đen...).

c. Nhóm các xí nghiệp hoá chất (nhóm 3)

Đây là các cơ sở chủ yếu gồm các dây chuyền công nghệ chế tạo và gia công các loại thuốc phóng, thuốc nổ, các loại axit.

Các chất thải từ các xí nghiệp thuộc nhóm 2 và 3 thường mang tính độc hại cao như: khí, nước thải, chất thải rắn chứa thành phần thuốc nổ (TNT, NH₄NO₃, hexogen...), các thành phần thuốc phóng (nitroglycerin (NG), nitroxenlulo (NC), dinitrotoluen (DNT)), các dung môi (cồn, ete)... Đặc biệt nguy hiểm là các chất thải của dây chuyền sản xuất thuốc gơi nổ (phuminat thủy ngân, azotua chì, styphnat chì), chúng vừa có tính nhạy nổ cao vừa có chứa các kim loại nặng (Pb, Hg) và các hợp chất nitro thơm rất độc hại với môi trường. Ngoài ra còn phải tính đến các chất thải của dây chuyền mạ có áp dụng kỹ thuật mạ xyanua, mạ crom; nước thải của các dây chuyền nhuộm đen vũ khí có chứa hàm lượng cao NaNO₂ và đặc biệt là lượng lớn nước thải, khí thải chứa TNT của các dây chuyền thu hồi thuốc nổ từ đạn cấp 5, sản xuất thuốc nổ công nghiệp cho đến nay vẫn là những

chất thải có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường ở diện rộng đặc thù cho ngành CNQP.

Ngoài 3 nhóm xí nghiệp sản xuất quốc phòng trên còn có nhóm xí nghiệp sản xuất các mặt hàng khác như cáp điện, sơn nhựa, cao su kỹ thuật... Tuy nhiên xét về phương diện tác động trong phạm vi rộng đến môi trường thì các chất thải của nhóm các xí nghiệp này không đáng kể và nguy hiểm bằng các chất thải của nhóm các xí nghiệp hoá chất và cơ khí hoá chất.

1.1.1.2. Các công nghệ sản xuất và chất thải nguy hại đặc thù ngành kỹ thuật quân đội

Ngành kỹ thuật cũng có một số cơ sở sản xuất, dây chuyền công nghệ tương tự như ngành CNQP trong đó có:

- Các công nghệ thuộc ngành cơ khí luyện kim.
- Các công nghệ sản xuất, gia công, bảo quản sửa chữa mang nét đặc thù công nghệ hoá chất, trong đó có công nghệ xử lý thu hồi thuốc nổ từ đạn cấp 5, công nghệ nhuộm đen vũ khí, công nghệ xử lý mạ điện, công nghệ thử nghiệm vũ khí, khí tài.
- Công nghệ xử lý hủy đạn cấp 5.

Trong các dây chuyền công nghệ trên thì các chất thải từ các dây chuyền công nghệ có sử dụng hoá chất như nhuộm đen vũ khí, mạ điện, thu hồi thuốc nổ... là tác động mạnh nhất đến môi trường, đặc biệt là tới nguồn nước thải.

1.1.1.3. Các công nghệ sản xuất và chất thải nguy hại đặc thù ngành hậu cần quân đội

Trong ngành hậu cần cũng có các cơ sở sản xuất và dây chuyền công nghệ đặc thù trong đó có thể kể đến các công nghệ sau:

- Công nghệ sản xuất hàng quân lương (lương khô, bánh kẹo...)
- Công nghệ sản xuất hàng quân trang (may, dệt nhuộm...)
- Công nghệ chế tạo, sửa chữa, gia công cơ khí
- Công nghệ y dược, các doanh nghiệp, các bệnh viện, viện nghiên cứu
- Công nghệ bảo quản xăng dầu

Nước thải của các dây chuyền công nghệ thuộc ngành hậu cần thường có đặc điểm chung là có hàm lượng BOD cao. Ngoài ra chúng còn chứa một số hoá chất

độc hại khác như các loại axit, kiềm, các loại thuốc nhuộm, chất tẩy trắng, chất giặt vòng thơm, các hoá chất bảo quản, dược liệu độc hại, xăng dầu mỡ đặc chủng. Ngoài ra, cũng như các bệnh viện khác trong cả nước, các bệnh viện quân đội cũng là nguồn phát sinh nhiều chất thải độc hại đối với môi trường.

Mặc dù xét về tổng thể các chất thải của ngành hậu cần quân đội cũng là các chất thải do các hoạt động quân sự sinh ra nhưng xét theo thành phần và tính chất của các chất thải này có thể thấy chúng ít mang tính đặc thù quốc phòng hơn so với các chất thải của ngành CNQP và Kỹ thuật. Điều này cũng được thể hiện rõ trong thực tế khi triển khai việc xử lý giảm thiểu tác động ô nhiễm môi trường của các chất thải trong ngành hậu cần chúng ta có nhiều tài liệu, nhiều mô hình công nghệ để tham khảo hơn là đối với chất thải ngành CNQP và Kỹ thuật. Chính vì vậy trong đề tài này chúng tôi sẽ tập trung nghiên cứu chủ yếu các đối tượng là chất thải điển hình của ngành CNQP và Kỹ thuật như: nước thải chứa thành phần thuốc nổ, thuốc phóng của các cơ sở sản xuất gia công vật liệu nổ, nước thải của các cơ sở sản xuất thuốc phóng, nước thải của các cơ sở sản xuất thuốc gỏi nổ, v.v...

1.1.2. Hiện trạng công nghệ xử lý các chất thải đặc thù quốc phòng

1.1.2.1. Đặc điểm chung

Như trên đã trình bày hoạt động của các cơ sở quốc phòng cũng là nguồn tạo ra các chất thải có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường. Chính vì vậy trong những năm qua việc điều tra khảo sát, đánh giá hiện trạng và đề xuất các giải pháp giảm thiểu ô nhiễm môi trường ở các cơ sở quốc phòng luôn được coi là một trong những nhiệm vụ BVMT hàng đầu của quân đội. Kết quả thực hiện Dự án "Điều tra khảo sát, đánh giá hiện trạng môi trường và đề xuất các giải pháp BVMT đối với các đơn vị quân đội trọng điểm trên phạm vi toàn quốc" (1998 - 2001) do Cục KHCN-MT Bộ quốc phòng chủ trì thực hiện đã cho ta thấy bức tranh tổng thể và tương đối đầy đủ về hiện trạng ô nhiễm ở các đơn vị quân đội trọng điểm. Trong khuôn khổ đề tài KC.04.10 chúng tôi cũng đã tiến hành khảo sát bổ sung về hiện trạng môi trường một số nhà máy quốc phòng trọng điểm thuộc ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần. Kết quả điều tra cho phép rút ra một số nhận xét sau:

- Các nhà máy quốc phòng đặc biệt là các cơ sở sản xuất thuốc nổ, thuốc phóng ... đều có những vấn đề môi trường nước thải cần phải quan tâm giải quyết.

- Tính theo lưu lượng nước thải của các nhà máy quốc phòng không lớn, chỉ ở mức vài chục đến vài trăm m³/ngày nhưng các chất thải ô nhiễm thì lại có tính nguy hiểm và độc hại cao hơn so với nước thải công nghiệp của các cơ sở ngoài quân đội.

- Trừ một số cơ sở trọng điểm thì hầu hết các nhà máy quốc phòng chỉ mới triển khai được các giải pháp xử lý sơ bộ, chưa xây dựng được các hệ thống xử lý nước thải hoàn chỉnh và đồng bộ.

- Các hệ thống xử lý đã được xây dựng đều hoạt động dựa trên sự kết hợp chủ yếu giữa công nghệ hoá học và vật lý. Các giải pháp công nghệ sinh học chưa tìm được ứng dụng có hiệu quả trong việc xử lý các chất thải độc hại là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng... mà chủ yếu mới được áp dụng trong lĩnh vực xử lý nước thải sinh hoạt, nước thải bệnh viện,...

Nhìn chung giá thành xử lý các loại nước thải đặc thù quốc phòng đều còn ở mức cao. Điều này có liên quan đến tính phức tạp và khó khăn của các giải pháp công nghệ khi phải xử lý các đối tượng là các hợp chất nitro, nitro thơm vừa có tính nổ, tính độc hại cao vừa khó phân hủy bằng tác nhân hoá học và vi sinh. Dưới đây sẽ giới thiệu tóm tắt kết quả nghiên cứu xử lý chất thải quốc phòng, điển hình là các chất thải chứa thành phần thuốc phóng, thuốc nổ (TNT, DNT, TNR, NG...) bằng các giải pháp công nghệ khác nhau.

1.1.2.2. Công nghệ sử dụng tác nhân hoá học, điện hoá

Để phân hủy TNT, DNT cũng như các hợp chất nitro thơm khác vốn là các hợp chất có độ bền hoá học cao, khó tan trong nước, người ta thường dùng tác nhân khử trong đó có NaHSO₃ (15%). Phản ứng này xảy ra ở nhiệt độ 87°C. Bằng phản ứng này có thể chuyển TNT thành các hợp chất tan hoàn toàn, không nhạy cảm, ít độc hơn so với chất ban đầu. Tuy nhiên thực nghiệm cho thấy giải pháp này không triệt để bởi nước thải sau xử lý vẫn còn có màu và tác nhân gây độc là 2,4-Dinitrotoluen.

Để xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng có thể sử dụng các tác nhân oxy hoá như ozon, clo. Để phân hủy TNR có thể sử dụng tác nhân oxy hoá là clo.

Giải pháp dùng hypoclorit để phân hủy TNT đã được đề cập đến trong tài liệu [5]. Để xử lý nước thải nhuộm đen, nước thải chứa chất O có chứa hàm lượng cao NaNO_2 cũng có thể sử dụng clo, ozon để chuyển nitrit thành nitrat là chất ít độc hơn [6]. Để phân hủy TNT và các hợp chất nitro, nitro thơm khác (DNT, TNR, NG) là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ còn có thể dùng phương pháp điện phân [7,8,9,10]. Tác giả công trình [9] đã chứng minh bằng thực nghiệm rằng bằng phương pháp điện phân trên điện cực rắn (kim loại hoặc graphit) trong điều kiện có màng ngăn có thể phân hủy các hợp chất độc hại trên đến các sản phẩm không độc với môi trường. Kết luận này đã được xác nhận bằng kết quả ghi phổ sắc ký - khối phổ. Đã xây dựng được quy trình công nghệ áp dụng phương pháp điện phân để xử lý nước thải chứa TNT, DNT, TNR, NG... và triển khai tại cơ sở dưới dạng pilot (công suất 7 - 10 m³/ngày). Khả năng sử dụng ozon và các chất oxy hoá để phân hủy các hợp chất nitro thơm kể trên cũng đã được đề cập đến trong các công trình [11,12], tuy nhiên phương án công nghiệp để áp dụng công nghệ trên cho đến nay vẫn chưa được thiết lập.

1.1.2.3. Công nghệ sử dụng năng lượng UV

TNT cũng như các hợp chất nitro thơm khác có thể bị phân hủy, chuyển thành các sản phẩm như CO_2 , HNO_3 , H_2O dưới tác dụng của năng lượng UV. Phương pháp này thường được thực hiện kết hợp với các tác nhân oxy hoá khác như ozon, ozon cùng với than hoạt tính hoặc H_2O_2 . Tác giả công trình [13] đã nghiên cứu lựa chọn được điều kiện tối ưu để thực hiện phản ứng phân hủy TNT bằng năng lượng UV với sự tham gia của chất xúc tác là H_2O_2 . Tuy nhiên các giải pháp công nghệ có triển vọng áp dụng ở quy mô công nghiệp theo hướng sử dụng năng lượng UV cho đến nay vẫn còn chưa được thiết lập.

1.1.2.4. Công nghệ sử dụng chất hấp phụ (than hoạt tính)

Than hoạt tính được sử dụng rộng rãi để xử lý nước thải bị ô nhiễm các chất hữu cơ, chất mang màu. Than hoạt tính cũng đã được sử dụng để tách TNT khỏi nước thải của các cơ sở sửa chữa đạn, sản xuất thuốc nổ công nghiệp [14,15]. Công nghệ xử lý nước thải chứa TNT, DNT và các thành phần thuốc nổ, thuốc phóng này có nhiều ưu điểm vì có thể loại bỏ tương đối triệt để lượng TNT có trong nước thải đồng thời dễ triển khai ở quy mô công nghiệp [6]. Phương pháp

hấp phụ sử dụng than hoạt tính cũng đã được kiến nghị để xử lý nước thải dệt nhuộm, nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng.

Ở nước ta đã có một số cơ sở công nghiệp quốc phòng triển khai áp dụng công nghệ này [1]. Tuy nhiên công nghệ này còn có hạn chế vì giá thành xử lý còn cao. Ngoài ra thực tế đã cho thấy để đạt hiệu quả cao trong việc xử lý nước thải chứa thành phần thuốc nổ thuốc phóng cần thiết phải áp dụng công nghệ tổng hợp. Chính vì vậy các giải pháp hoá lý thường được thực hiện kết hợp với việc bổ sung các giải pháp sinh học. Các giải pháp này hiện đang được sử dụng rất rộng rãi trong công nghệ xử lý môi trường.

Đặc điểm và hiện trạng nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng sẽ được trình bày trong đề mục riêng dưới đây.

1.1.3. Tình hình nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng

1.1.3.1. Nghiên cứu khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng của vi sinh vật

Sự phân huỷ và chuyển hoá TNT bằng VSV đã được nhiều tác giả nước ngoài nghiên cứu: Theo Osmon J.L và cộng sự [16], một số vi khuẩn đã được thừa nhận là có khả năng chuyển hoá TNT trong môi trường có bổ sung thêm glucoza, đặc biệt chủng *Pseudomonas sp.* có thể phát triển được trên môi trường có TNT là nguồn hữu cơ duy nhất.

Một trong những VSV được nhiều tác giả quan tâm khi nghiên cứu về sinh phân huỷ TNT là vi nấm.

Năm 1973, Klausmier và cộng sự đã nghiên cứu ảnh hưởng của TNT đến sự phát triển của 24 chủng đại diện của 9 giống nấm trong môi trường chứa glucoza [17].

Frederick W. Parrish [18] đã nghiên cứu khả năng chuyển hoá TNT hoặc 2,4 DNT của 190 chủng đại diện của 98 giống vi nấm, theo đó, khả năng chuyển hoá TNT của các vi nấm là rất lớn (183/190 chủng thử nghiệm) trong khi khả năng chuyển hoá được DNT là rất nhỏ (5/190 chủng thử nghiệm).

NG bằng các chủng trên đã được xem xét trong [31,32]. Ở điều kiện trong nước chưa có nghiên cứu nào được công bố về vấn đề này.

Đã có nhiều nghiên cứu được công bố về sử dụng vi sinh vật để khử NO_2^- , NO_3^- . Các nghiên cứu về công nghệ sinh học sử dụng vi sinh vật để xử lý nước thải công nghệ mạ cơ sở sản xuất chất O, Γ , nước thải nhuộm đen trong đó có chứa hàm lượng cao NO_2^- , NO_3^- hầu như chưa được công bố.

1.1.3.2. Tình hình nghiên cứu công nghệ xử lý môi trường bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ bằng phương pháp sinh học

a. Xử lý đất ô nhiễm thuốc nổ

Trên thế giới hiện có 6 dạng xử lý sinh học cho đất, nước bị nhiễm thuốc phóng thuốc nổ: xử lý sinh học pha nước, ủ compost, cánh đồng lọc, quang phân huỷ, xử lý pha rắn bằng nấm mục trắng và xử lý sinh học tại chỗ.

♦ Ủ compost

Từ năm 1982, phương pháp này đã được nghiên cứu và cho đến nay đã được giới thiệu để phân huỷ TNT, RDX, HMX, DNT, tetryl và nitro cellulose trong đất và bùn cặn. Điểm thuận lợi của phương pháp này là tạo ra một sản phẩm không độc đối với hệ thực vật ; sau khi đã đạt được độ sạch, vật liệu ủ có thể tái sử dụng tại chỗ. Một điểm thuận lợi khác nữa là ủ compost có hiệu quả cho một loạt các chất thải, tuy nhiên, giá thành bị hạn chế vì nồng độ các VSV bản xứ trong đất và hàm lượng sẵn có trong đất của các chất được bổ sung. Tuy nhiên, ủ compost thường đòi hỏi thời gian xử lý dài đối với một số chất thải và có khả năng chất không phù hợp với ủ compost sẽ cho các sản phẩm thứ cấp độc hại.

♦ Đất canh tác

Theo phương pháp này đất được đào xới, đập thành những mảnh nhỏ, định kỳ trộn với chất dinh dưỡng, tạo ẩm và bổ sung vi khuẩn.

♦ Quang phân huỷ

Là quá trình trong đó sử dụng một số loại thực vật có khả năng phân huỷ nhưng không hấp thụ chất nổ. Quá trình được thực hiện trong những vùng đầm lầy tự nhiên hoặc nhân tạo. Phương pháp này cho giá thành hạ.

♦ *Xử lý bằng nấm mục trắng*

Nấm mục trắng, *Phanerochaete chrysosporium* đã được nghiên cứu một cách rộng rãi hơn cả so với các loài nấm khác trong phân huỷ đất ô nhiễm thuốc nổ. Trong phòng thí nghiệm, với việc nuôi cấy thuần chủng, hiệu quả phân huỷ thuốc phóng, thuốc nổ của loài nấm này được đánh giá tốt. Song khi áp dụng ngoài hiện trường bị ảnh hưởng bởi: sự cạnh tranh của các vi khuẩn tự nhiên, sự ức chế của nồng độ chất ô nhiễm (hệ sợi nấm mẫn cảm với chất ô nhiễm) và sự hấp phụ hoá học (một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự biến mất của TNT trong các nghiên cứu về nấm mục trắng có thể do sự hấp thụ TNT vào trong nấm và các vật liệu bổ sung vào đất). Trong các kiểm tra cơ bản về các phức hệ là hỗn hợp của nấm và vi khuẩn, sự phân huỷ TNT đều được quy cho các quần thể vi khuẩn bản địa.

♦ *Xử lý sinh học tại chỗ*

Giải pháp này được thực hiện bằng việc tăng cường trao đổi chất với sự bổ sung nguồn dinh dưỡng, những cái không tự sinh ra trong môi trường tự nhiên tại nơi xử lý như: lõi ngô, rơm. Phương pháp này ít tốn kém song khó kiểm tra hiệu quả cả trong và sau khi xử lý.

b. *Xử lý nước ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ*

Hiện nay, trên thế giới người ta đã nghiên cứu nhiều phương pháp sinh phân huỷ kị khí để xử lý nước thải ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ trong đó phương pháp dùng bùn ao đã được công nhận và áp dụng. Theo nhiều kết quả nghiên cứu, khoáng hoá TNT dưới điều kiện kị khí xảy ra khá triệt để, song đầu tư thiết bị khá đắt vì vậy nếu bị ô nhiễm rộng, nồng độ ô nhiễm trung bình, phương pháp này khó áp dụng [33].

Một hướng đang được quan tâm là nghiên cứu sinh phân huỷ hiếu khí nước bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ ở nồng độ thấp, diện rộng, với hy vọng tìm ra được công nghệ xử lý mà giá thành có thể chấp nhận. Hạn chế của phương pháp này là tạo ra những các những sản phẩm trung gian, có những chất gây độc. Vì vậy, việc kết hợp nhiều loại VSV hoặc nhiều phương pháp sinh phân huỷ trong xử lý sẽ cho những kết quả khả quan. Cho đến nay, các nghiên cứu theo hướng này vẫn còn lẻ tẻ và chưa có công nghệ hoàn chỉnh nào được công bố.

c. Công nghệ sử dụng thực vật bậc cao

Đã có một số công bố về việc sử dụng thực vật cạn và thủy sinh bậc cao để loại bỏ các chất độc trong đó có các loại thuốc nổ. Thí dụ thực vật thủy sinh *Myriophyllum aquaticum* có khả năng hấp thụ TNT và các sản phẩm chuyển hoá của nó. Cây dương lai cũng có khả năng hấp thụ các loại thuốc nổ khi trồng thủy sinh hoặc môi trường kiểu cấy mô. Một số loại thực vật khác có khả năng hấp thụ thuốc nổ từ đất như cỏ linh lăng, cỏ mật, cây đậu trắng, lúa mì, cỏ chân ngỗng. Loại cỏ có tên Johnson có khả năng thu nhận 99% TNT từ đất. Các loại thực vật bản địa và một số thực vật nông nghiệp có khả năng hấp thụ mạnh HMX từ đất ô nhiễm. Cây bạch đàn, dương và liễu đều có khả năng hấp thụ peclorat là một thành phần của thuốc nổ và nhiên liệu tên lửa. Một số loại thực vật như *Rheum Polmatum*, *Saponaria officinalis* ... có thể phân hủy các thuốc nổ như TNT, NG, PENT tới sản phẩm không độc [34,35].

Tuy nhiên đây chỉ là những kết quả nghiên cứu có tính chất thăm dò. Hiện nay cũng chưa có các công bố liên quan đến các quy trình cụ thể xử lý đất và nước bị ô nhiễm các chất nổ bằng thực vật bậc cao. Ở Việt Nam chưa có đề tài và công trình nghiên cứu nào đề cập đến vấn đề này.

1.1. 4. Đặc điểm công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng khác

Như phần 1.1.1. đã trình bày ngoài các chất thải chứa các thành phần thuốc nổ, thuốc phóng các cơ sở sản xuất quốc phòng, đảm bảo kỹ thuật và hậu cần quân đội còn là nguồn sinh ra một số loại chất thải khác như: nước thải có hàm lượng BOD cao, nước thải chứa dầu mỡ đặc chủng, nước thải nhuộm đen có hàm lượng cao NaNO_2 , NaNO_3 , nước thải chứa thuốc nhuộm, v.v... Nước thải có hàm lượng BOD cao (trong đó có nước thải của cơ sở quân lương ngành hậu cần) thường được xử lý rất hiệu quả bằng phương pháp sinh học phân hủy kỵ khí hoặc hiếu khí hoặc kết hợp cả hai phương pháp. Phụ thuộc vào điều kiện làm thoáng, công trình xử lý có thể chia làm 2 dạng: xử lý tự nhiên (sử dụng đồng ruộng thoáng, hồ sinh học, mương tưới tiêu...) và xử lý trong điều kiện nhân tạo (sử dụng bể sinh học nhỏ giọt, loại bể aerotank, đĩa lọc sinh học...).

Nhìn chung các tài liệu về công nghệ sinh học xử lý nước thải có chứa hàm lượng cao các chất hữu cơ đã được công bố khá nhiều và ở Việt Nam đã có nhiều công trình được triển khai để xử lý nước thải bệnh viện, nước thải các cơ sở ngành công nghiệp thực phẩm, thủy sản, chăn nuôi... Trong quân đội công nghệ sinh học đã được triển khai trong xử lý nước thải của nhiều quân y viện. Tuy nhiên các giải pháp công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa BOD cao của các cơ sở sản xuất hàng quân lương, quân trang chưa được chú ý nghiên cứu.

Để xử lý nước thải dệt nhuộm, một loại chất thải thuộc loại khó xử lý thường phải dùng công nghệ tổng hợp bao gồm các bước: xử lý sơ bộ, xử lý hoá lý, xử lý sinh học vào hậu xử lý. Xử lý hoá lý chủ yếu là để loại màu bằng cách sử dụng chất tạo keo và đông tụ hoặc chất hấp phụ. Xử lý sinh học (cho đến những năm 90 chủ yếu là kỹ thuật hiếu khí) là nhằm mục đích phân hủy các hợp chất hữu cơ và một phần thuốc nhuộm bằng các kỹ thuật khác nhau: bùn hoạt tính, phân hủy sinh học đệm cố định, lọc sinh học hoặc đệm bùn kỵ khí dòng chảy ngược UASB... Hậu xử lý được áp dụng trong một số trường hợp đặc biệt cần áp dụng kỹ thuật châm ozon để oxy hoá một số loại thuốc nhuộm khó bị phân hủy sinh học trước khi thải ra môi trường.

Giải pháp sinh học thường được áp dụng trong công nghệ xử lý nước thải dệt nhuộm từ trước đến nay là kỹ thuật hiếu khí hoặc kết hợp ở nhiệt độ thấp. Trong thời gian qua người ta đã bắt đầu đi sâu nghiên cứu sử dụng kỹ thuật kỵ khí trong đó có kỹ thuật kỵ khí hiếu nhiệt kết hợp FBR. Đây là phương pháp có nhiều triển vọng vì có thể áp dụng với loại nước thải có nhiệt độ cao, có thể vận hành với tải cao, thời gian lưu thủy lực ngắn, khối tích thiết bị nhỏ hơn và tính ổn định của hệ thống xử lý cao. Tuy nhiên cho đến nay còn chưa được áp dụng ở các cơ sở quốc phòng.

Ngoài 2 loại nước thải kể trên nước thải của cơ sở nhuộm đen vũ khí của ngành Kỹ thuật cũng là loại nước thải khó xử lý. Nước thải nhuộm đen thường chứa các kim loại nặng và lượng lớn NaNO_2 , NaNO_3 , axit hoặc kiềm. Tương tự nước thải của cơ sở phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng cũng có hàm lượng cao NaNO_2 , NaNO_3 và ngoài ra còn có một số chất hữu cơ độc hại (như chất Γ ,

triethylamin, xylidin). Về nguyên tắc tất cả các chất ô nhiễm này đều có thể xử lý bằng phương pháp vi sinh kết hợp kỵ khí và hiếu khí hoặc bằng công nghệ tổng hợp hoá lý - sinh học. Tuy nhiên có thể nói cho đến giai đoạn trước khi thiết lập đề tài này hầu như chưa có tài liệu nào được công bố về việc nghiên cứu ứng dụng các giải pháp công nghệ sinh học hoặc sinh học kết hợp để xử lý các loại nước thải này.

Ngoài các loại chất thải đã nêu trên một loại chất thải khác cũng còn ít được quan tâm nghiên cứu đó là nước thải bị nhiễm dầu mỡ đặc chủng từ các cơ sở sửa chữa vũ khí, xe máy, các kho xăng dầu... của ngành Kỹ thuật và Hậu cần quân đội. Để xử lý loại nước thải này không thể chỉ sử dụng giải pháp sinh học mà phải áp dụng công nghệ tổng hợp. Cần phải có các phương pháp cơ học hoặc hoá lý để tách dầu nổi trước khi sử dụng phương pháp sinh học. Sự phân hủy dạng dầu tan thường được thực hiện qua các công đoạn phân hủy kỵ khí và hiếu khí. Nhìn chung ở nước ta sự phát triển công nghệ xử lý loại nước thải ô nhiễm dầu, mỡ còn gặp nhiều khó khăn và cho đến nay hầu như chưa có một công trình xử lý nước thải bị nhiễm dầu mỡ đặc chủng nào được triển khai tại các cơ sở quốc phòng.

1.2. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU VỀ PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN VÀ PHÒNG CHỐNG SỰ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

1.2.1. Tình hình nghiên cứu về các phương pháp phát hiện vi sinh vật độc hại

Vi sinh vật độc hại (VSVĐH) là khái niệm để chỉ các loại vi khuẩn, vi rút, vi trùng... có khả năng gây bệnh cho người và động, thực vật. Trong lịch sử tồn tại của mình loài người đã chứng kiến nhiều sự cố dịch bệnh trong đó có các dịch than, tả, dịch hạch, thương hàn... do VSVĐH gây ra với những hậu quả hết sức nghiêm trọng. Do có khả năng gây bệnh và mức tử vong cao cho nên VSVĐH đã được sử dụng rất sớm dưới dạng vũ khí sinh học. Ngày nay vũ khí sinh học vẫn đang được nhiều nước và các tổ chức khủng bố tiếp tục nghiên cứu phát triển và điều đó đã tạo ra những nguy cơ mới đe dọa nhân loại.

Chính vì vậy việc nghiên cứu, hoàn thiện các kỹ thuật phát hiện nhanh sự ô nhiễm VSVĐH trong môi trường luôn là một vấn đề mang tính thời sự và cấp thiết.

Trong lịch sử nghiên cứu sinh học có rất nhiều các phương pháp khác nhau đã được đưa ra để xác định vi khuẩn độc hại hoặc tác nhân sinh học khác. Tuy nhiên mỗi phương pháp đều có những ưu, nhược điểm riêng và phát hiện được vi khuẩn ở những mức độ khác nhau. Đối với mỗi loài vi khuẩn hoặc tác nhân sinh học để xác định có thể sử dụng phương pháp chung hay phương pháp riêng đặc trưng cho loài vi khuẩn đó.

- Phương pháp nhuộm tiêu bản: Dùng các phương pháp và thuốc nhuộm khác nhau để xác định vi khuẩn

- Phương pháp nuôi cấy và định loại

- Phương pháp dùng thực khuẩn thể Gamma

- Phương pháp xét nghiệm của Widal: là phương pháp cổ điển nhất, được một số nước ưa chuộng sử dụng vào thế kỷ trước. Đây là phương pháp thử nghiệm thô dùng để phát hiện kháng thể có kháng nguyên ngưng kết với tế bào vi khuẩn trong ống nghiệm nhưng ngày nay người ta đã chứng minh phương pháp này không có độ tin cậy cao đặc biệt khi sử dụng để phát hiện bệnh nhân trong vùng bị bệnh. Năm 2000, Chart H và cộng sự đã đưa ra kết luận chỉ nên sử dụng phương pháp Widal đối với kháng nguyên O và kháng nguyên H, không nên sử dụng cho kháng nguyên Vi [36]

- Phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động (IHA): Trong các phản ứng huyết thanh có hồng cầu, hồng cầu đóng vai trò là vật mang thụ động kháng nguyên và kháng thể, tức hồng cầu có khả năng hấp phụ tích cực lên bề mặt của nó những hợp chất hoá học khác, như các protein lipopolysaccharid (LPS). Việc gắn lên hồng cầu các kháng nguyên hoặc kháng thể của vi khuẩn khác nhau và việc sử dụng chúng trong nghiên cứu huyết thanh học để phát hiện kháng thể hoặc kháng nguyên đặc hiệu gọi là phản ứng ngưng kết hồng cầu thụ động. WHO đã tiêu chuẩn hoá phản ứng này và khuyến cáo nên dùng để chẩn đoán bệnh ở người, để nghiên cứu huyết thanh dịch tể học và dịch hạch ở động vật [37,38].

- Phản ứng ngưng kết hạt Latex (Latex Agglutination test): Suzuki và cộng sự đã gắn kháng nguyên F1 trên các hạt latex polystyrene. Phản ứng này về độ nhạy và độ đặc hiệu tương đương với phản ứng ngưng kết hồng cầu và có những

ưu điểm là kháng nguyên gắn trên hạt bền vững được ít nhất là 12 tháng và cách sản xuất cũng dễ hơn so với hồng cầu cừu [39].

- Kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang: Có thể chẩn đoán nhanh bằng phương pháp huỳnh quang trực tiếp với kháng thể kháng F1 được gắn fluorescein isothiocyanat. Phương pháp này đòi hỏi phải có kính hiển vi huỳnh quang. Tính đặc hiệu của phương pháp này cao. Nguyên tắc là dùng kháng thể F1 gắn với chất phát quang, tạo thành phức hợp dùng để phát hiện kháng nguyên F1 của vi khuẩn [37].

- Kỹ thuật ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay): Phản ứng ELISA có độ nhạy cao và đặc biệt có thể phát hiện được lớp kháng thể IgA, IgM nên có thể phát hiện được bệnh sớm đảm bảo điều trị bệnh kịp thời, vì kháng thể IgM, IgA xuất hiện sớm trong đáp ứng miễn dịch so với các lớp kháng thể khác. Phản ứng ELISA với kháng nguyên LPS được áp dụng với nhiều loại vi khuẩn [38,40,41,42,43].

- Kỹ thuật PCR

Phương pháp PCR (Polymeraza Chain Reaction) do Karl Mullis và cộng sự phát minh năm 1985. Thực chất đây là một phương pháp tạo dòng *in vitro*, không cần sự hiện diện của tế bào. Do có những ưu điểm tuyệt đối trong nghiên cứu sinh học phân tử, kỹ thuật PCR được nhanh chóng áp dụng rộng rãi để chẩn đoán (diagnosis), giám định (identification) các bệnh về vi khuẩn, virus, các bệnh ký sinh trùng với kết quả rất chính xác. Mặt khác, sự phân tích thành phần và trật tự nucleotit trên phân tử ADN trong hệ gen còn có giá trị rất lớn trong phân loại (taxonomy), nghiên cứu phả hệ (phylogenetic analysis) và lịch sử tiến hoá quần thể (evolutionary history) các loài sinh vật.

Ở Việt Nam, để chẩn đoán vi sinh vật độc hại gây bệnh từ trước đến nay chủ yếu sử dụng các phương pháp truyền thống thường có tốc độ phân tích chậm. Kỹ thuật PCR gần như mới chỉ được triển khai nghiên cứu một cách hệ thống từ khi thiết lập đề tài này.

1.2.2. Tình hình nghiên cứu phát triển các thiết bị trình sát phát hiện nhanh tác nhân sinh học

Để phát hiện các tác nhân sinh học (khái niệm chung bao gồm cả các vi sinh vật độc hại) các nhà khoa học trong những năm qua đã có nhiều thành công trong việc chế tạo các phương tiện trình sát phát hiện chúng. Việc nghiên cứu chế tạo các phương tiện này phát triển theo 2 hướng:

- Hướng thứ nhất: chế tạo các sensor sinh học, vi sensor quang học ghi nhận tác nhân sinh học bằng cách sử dụng các kháng thể hoặc chất nhận trên bề mặt sợi quang.

- Hướng thứ hai: ứng dụng các phương pháp hoá lý hiện đại, nghiên cứu các laser hồng ngoại để chế tạo các thiết bị trình sát phát hiện tác nhân này.

Sau đây sẽ giới thiệu về đặc điểm chính của một số thiết bị phát hiện nhanh tác nhân sinh học hiện đang có trong trang bị của quân đội 1 số nước.

1.2.2.1. Các phiếu thử phát hiện nhanh (SMART) [44]

Phiếu thử SMART (Mỹ) là thiết bị hoàn chỉnh, có thể thực hiện phản ứng so màu, lọc miễn dịch pha rắn, được thiết kế sử dụng kết hợp ranh giới pha lỏng.

Phiếu thử có thể phát hiện được hai loại tác nhân sinh học:

- + Xác định vi khuẩn dạng bào tử nội sinh.
- + Xác định các chất độc protein hoặc vi khuẩn chứa kháng nguyên hoà tan.

Nguyên lý hoạt động của SMART là dựa trên sự tập trung của các phân tử keo vàng để phân tích khả năng miễn dịch ảnh hưởng tới độ nhạy và sự chọn lọc của vật liệu sinh học. Các kháng thể đặc trưng của tác nhân sinh học được kết hợp với các phân tử keo vàng. Khi đó trên bề mặt chất rắn, các phân tử này có thể quan sát bằng mắt thường. Sự có mặt hoặc không có mặt các kháng nguyên của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp so màu. Điểm chấm đỏ nhỏ hình thành trên phiếu thử được đối chiếu với bảng so màu.

Phiếu thử này do hãng chuẩn đoán Horizon (Mỹ) sản xuất, trang bị cho người lính trong chiến dịch Bão táp Sa mạc năm 1991 ở vùng Vịnh, dùng để phát hiện trực khuẩn anthrax và độc tố Botulium.

1.2.2.2. Detector sinh - hoá (Mỹ) [3] [44]

Các detector sinh hoá do Mỹ chế tạo có thể tự động lấy mẫu, phát hiện và phân tích mức độ nguy hiểm về hóa học và sinh học trong không khí và trên bề mặt vật nhiễm. Cùng với việc phát tín hiệu báo động nhanh (âm thanh hoặc ánh sáng), các detector sinh - hoá còn cho biết loại tác nhân và nồng độ của chúng. Tất cả những dữ kiện này được chuyển về hệ thống thông tin để báo động kịp thời.

Detector sinh hoá bao gồm: bộ phận lấy mẫu, xử lý mẫu, bộ phận cảm biến và thiết bị xử lý tín hiệu. Hệ thống này gọn, nhẹ, dễ mang vác, trọng lượng 4,5kg. Ba giải pháp kỹ thuật điện tử tiên tiến được áp dụng cho detector sinh - hoá là: ống dẫn sóng quang sợi, sensor silic điều biến ánh sáng, detector điện hoá tiểu hình.

Các detector sinh hóa có thể phát hiện các tác nhân hóa học và tác nhân sinh học gây bệnh.

1.2.2.3. Detector sinh học - BD (Mỹ) [3] [44]

BD được sử dụng để tiến hành xét nghiệm tự động miễn dịch các mẫu dung dịch nhằm phát hiện và xác định các tác nhân sinh học gây bệnh. Khi dấu hiệu nguy hiểm đã được xác định BD phát ra tín hiệu âm thanh và ánh sáng. BD sử dụng sensor điều biến ánh sáng (LAPS).

+ Công nghệ LAPS tạo cho BD tính linh động để xác định cùng một lúc 8 TNSH bao gồm cả vi khuẩn, vi rút và toxin trong 15 phút.

+ Mẫu dung dịch có TNSH bị thu hút bởi các kháng thể đặc trưng và được phát hiện nhờ sensor silic điều biến ánh sáng.

1.2.2.4. Máy phát hiện tác nhân sinh học ACP (Nga) [45]

- Nguyên lý làm việc của máy là dựa vào sự ghi lại thông lượng ánh sáng xuất hiện khi xảy ra phản ứng hóa học của TNSH với dung dịch thuốc thử.

- Nhờ bộ nhân quang điện ФЭУ-84, tín hiệu ánh sáng được chuyển thành tín hiệu điện. Khi nồng độ TNSH đạt giá trị ngưỡng, thiết bị quang điện tử của bộ cảm biến làm việc, máy phát ra tín hiệu báo động nguy hiểm (âm thanh và ánh sáng), khi đó máy tự động chuyển sang chế độ lấy mẫu.

Quân đội ta hiện nay có trong trang bị chủ yếu là thiết bị kiểu ACP. Trong thời gian qua đã có một số nghiên cứu bước đầu về 1 số loại thuốc thử dùng để phát hiện tác nhân sinh học, còn các kết quả nghiên cứu về công nghệ chế tạo các thiết bị phát hiện tác nhân sinh học hầu như chưa được công bố.

1.2.3. Tình hình nghiên cứu các phương pháp khử trùng, tẩy uế

Cuối thế kỷ 19, Semmelwei và Louis Pasteur đưa ra những khái niệm cơ bản đầu tiên về khử trùng, tẩy uế và xây dựng phương pháp khử trùng môi trường còn Surgeons đưa ra phương pháp khử trùng trong bệnh viện chủ yếu là khử trùng vi sinh vật trong buồng bệnh, sàn nhà, tường, ngoài da bệnh nhân bằng các chất sát trùng hoặc xà phòng .

Năm 1880, khử trùng bằng phương pháp đun sôi đã được giới thiệu áp dụng cho khử trùng đồ vải ... Năm 1886 Ernst Von Bergmann giới thiệu phương pháp khử trùng bằng hơi nước và chỉ ra rằng dưới điều kiện áp suất mới có khả năng diệt vi khuẩn dạng sinh bào tử.

Phương pháp xông hơi hoá chất diệt côn trùng đã được thực hiện rất sớm từ đầu thế kỷ 20. Năm 1940, Ethylene Oxide được công nhận là chất diệt khuẩn phổ biến sử dụng trong khử trùng bệnh viện và nhà máy. Hiệu quả của các chất ăn mòn như axit cacbonic đã được sử dụng phổ biến và khả năng hạn chế của clorua thủy ngân được thay thế bằng các chất hoá học khác. Năm 1963, hoá chất có tên Glutaraldehyde được giới thiệu, đây là chất hoá học đầu tiên được cơ quan bảo vệ môi trường cho phép áp dụng trong khử trùng.

Phương pháp khử trùng hiện nay thường được áp dụng kể cả ở Việt Nam chủ yếu là phương pháp vật lý hoặc hoá học.

1. Phương pháp vật lý:

Các tác nhân vật lý thường được sử dụng để khử trùng là: hơi nước dưới điều kiện áp suất (Autoclave); nhiệt khô (Sấy khô ở nhiệt độ cao); sóng cực ngắn (Lò vi sóng) và bức xạ ion hoá (tia tử ngoại).

2. Phương pháp hoá học:

Các tác nhân hoá học thường được sử dụng để khử trùng, tẩy uế là: khí Ethylene Oxide, hơi Formaldehyde vapor, hơi Hydrogene peroxide, khí Ozone, dung dịch Glutaraldehyde, dung dịch peracetic và các hoá chất sinh clo hoạt.

Việc lựa chọn phương pháp và chất khử trùng phụ thuộc vào đối tượng vi sinh vật gây ô nhiễm, thời gian tiếp xúc với chất khử trùng và phụ thuộc vào tính chất của môi trường. Mỗi phương pháp khử trùng, tẩy uế có những ưu điểm và nhược điểm riêng, tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có các qui trình thống nhất và ổn định thành chuẩn thức chung để có thể áp dụng ở mọi nơi, mọi lúc vì có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng hiệu quả của khử trùng tẩy uế như: số lượng vi khuẩn sử dụng trong thử nghiệm, nhiệt độ, độ ẩm, pH, tốc độ gió ... là các yếu tố quyết định tới khả năng bất hoạt vi sinh vật độc hại trong môi trường. Ngoài ra khi khử trùng bằng các chất hoá học thì mỗi loại hoá chất tác động theo cơ chế khác nhau, do đó đối với mỗi loại môi trường cần cân nhắc về liều lượng, thời gian khả năng tồn lưu của hoá chất trong môi trường sống có thể ảnh hưởng tới sức khoẻ con người lâu dài. Trong số các vi sinh vật độc hại là đối tượng nghiên cứu của đề tài thì vi khuẩn than là đối tượng cần được tập trung nghiên cứu xử lý trước tiên.

1.2.4. Tình hình nghiên cứu về phương tiện bảo vệ cá nhân phòng chống vi sinh vật độc hại

Một trong các phương tiện phổ biến dùng để ngăn cản, phòng ngừa, hạn chế tác động của các vũ khí hoá học nói chung và vũ khí sinh học nói riêng là các loại quần áo phòng da và mặt nạ phòng độc.

Trên thế giới đã có nhiều loại quần áo phòng da và mặt nạ phòng độc quân sự trang bị cho bộ đội được sản xuất và bán trên thị trường. Có nhiều công trình nghiên cứu về vật liệu lọc, về công nghệ chế tạo các phương tiện phòng độc này nhưng do liên quan tới bí mật quân sự nên các thông tin này ít được phổ biến công khai. Trên các tạp chí khoa học quân sự chuyên ngành chỉ giới thiệu các sản phẩm với các chỉ tiêu kỹ thuật mang tính quảng cáo thương mại [46].

Trong lĩnh vực dân sự, để bảo vệ sức khỏe người lao động và nhân dân, người ta đã nghiên cứu sản xuất được nhiều loại phương tiện bảo vệ cá nhân phòng hít hấp kiểu lọc như mặt nạ, bán mặt nạ, khẩu trang [12,14,15,19,21]. Nhiều tiêu chuẩn qui định mang tính quốc gia và quốc tế đã được ban hành để kiểm soát chất lượng các sản phẩm.

Hiện nay để phòng chống vũ khí sinh học bộ đội ta cũng sử dụng quần áo phòng da cách ly và mặt nạ phòng độc kiểu lọc. Hai trang bị trên hiện ta vẫn phải nhập ngoại và chủ yếu chỉ được trang bị cho bộ đội chuyên trách là bộ đội hóa học. Về mặt nguyên tắc để phòng chống các tác nhân sinh học độc hại, việc trang bị đại trà hai loại phương tiện trên cho toàn quân trong chiến tranh và cho toàn dân với mục đích phòng thủ dân sự là không có tính khả thi.

Trong lĩnh vực bảo hộ lao động, chúng ta hiện có một số loại bán mặt nạ và khẩu trang lọc độc nhập ngoại hoặc do Việt Nam tự sản xuất. Tuy nhiên các sản phẩm kể trên còn có một số hạn chế nhất định như kích cỡ khẩu trang, bán mặt nạ không phù hợp với nhân trắc đầu, mặt người Việt Nam, bán mặt nạ phòng độc chỉ mới có loại phòng hơi hữu cơ, chưa có loại phòng bụi, phòng sương độc, phòng vi sinh vật độc hại. Các khẩu trang lọc độc trước đây mới chỉ có loại khẩu trang gấp dùng xô màn và màng lọc thô chỉ có khả năng lọc các hạt bụi to, kích thước lớn, do đó chỉ đáp ứng rất ít yêu cầu lọc bụi độc, chủ yếu là tạo tâm lý an toàn cho người sử dụng.

Trong thời gian qua một số cơ sở đã tiến hành nghiên cứu về khẩu trang phòng độc như công trình nghiên cứu khẩu trang lọc bụi tinh CT-2002 của Viện Y học lao động và Viện Bảo hộ lao động, tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có sản phẩm cung cấp trên thị trường. Gần đây Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga cũng đã nghiên cứu chế tạo loại khẩu trang lọc bụi, vi khuẩn. Tuy nhiên các sản phẩm vẫn cần tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện. Trong các vụ dịch viêm đường hô hấp cấp tính SARS, dịch cúm gia cầm do vi rút sau đó lây lan sang người và các gia súc khác xảy ra trong thời gian qua, ở Việt Nam đã sử dụng chủ yếu là loại khẩu trang M95 của Mỹ.

Với mục đích phòng thủ quân sự và dân sự phòng chống vi sinh vật độc hại để có thể trang bị đại trà cho toàn quân và toàn dân, chúng ta cần tự nghiên cứu, thiết kế chế tạo các phương tiện chuyên dụng phòng chống vi sinh vật độc hại.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. LỰA CHỌN ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Căn cứ vào mục tiêu đã xác định, đối tượng nghiên cứu của đề tài sẽ chia thành 2 nhóm chính:

- Các chất thải đặc thù quốc phòng và các giải pháp công nghệ sinh học xử lý chúng

- Các vi sinh vật độc hại, phương pháp phát hiện và phòng chống chúng

- ♦ Trong số các chất thải quốc phòng đặc chủng đề tài chỉ chọn đối tượng chất thải điển hình là: nước thải chứa hoá chất là thành phần thuốc nổ (TNT, DNT), thuốc phóng (NG, NC), thuốc gọt nổ (TNR), thuốc nhuộm đen (NaNO_2), nhiên liệu tên lửa lỏng (chất O, Γ); nước thải chứa xăng dầu mỡ bảo quản và có hàm lượng chất hữu cơ (BOD) cao và nước thải dột nhuộm của các cơ sở sản xuất ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần quân đội.

Các giải pháp công nghệ sinh học được nghiên cứu là các kỹ thuật vi sinh hiếu khí, kỵ khí và kết hợp.

- ♦ Trong số các vi sinh vật độc hại chỉ giới hạn nghiên cứu 5 loại vi khuẩn gây bệnh là than, tả, lỵ, thương hàn và dịch hạch.

- ♦ Trong số các phương pháp chẩn đoán phát hiện sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại sẽ tập trung nghiên cứu về phương pháp PCR sử dụng các Kit thử đối với 5 loại vi khuẩn là than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch.

- ♦ Trong số các thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí đã lựa chọn để khảo sát là thiết bị theo mẫu ACP của Nga là thiết bị đã có trong trang bị của quân đội ta.

- ♦ Trong số các phương tiện phòng chống sự ô nhiễm vi sinh vật theo đường hô hấp đã lựa chọn để nghiên cứu loại khẩu trang, bán mặt nạ kiểu lọc.

- ♦ Trong số các phương pháp khử trùng, tẩy uế môi trường (đất, nước, không khí, thực phẩm) đã lựa chọn để nghiên cứu các phương pháp thông dụng, đơn giản dựa trên cơ sở sử dụng hoá chất và nhiệt.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ KỸ THUẬT ĐÃ SỬ DỤNG CHO ĐỀ TÀI

2.2.1. Nguyên liệu, thiết bị dùng để phân tích phục vụ mục tiêu nghiên cứu công nghệ và đánh giá hiệu quả phân hủy sinh học các chất thải quốc phòng đặc chủng

♦ Để nghiên cứu đã sử dụng các thiết bị sắc ký lỏng cao áp Model HP1100 trang bị Detector Diode Array (Mỹ), sắc ký khí Agilent 6890N (Mỹ) trang bị detector ion hoá ngọn lửa của Phòng thí nghiệm Phân viện CNM - BVMT, thiết bị sắc ký khí - khối phổ GC 6890-MSD 5972A (Mỹ) của Phòng thí nghiệm phân tích Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga.

♦ Các hoá chất, dung môi (cloroform, axeton, axetonitryl, metanol...) đều có độ sạch dùng cho sắc ký.

2.2.2. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa TNT, DNT

2.2.2.1. Nguyên liệu

* Để phân lập tuyển chọn các vi sinh vật có khả năng phân hủy TNT đã sử dụng mẫu đất, bùn, nước lấy từ các khu vực đã bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ lâu năm và từ nơi thải của các nhà máy sản xuất quốc phòng.

* Để tạo môi trường nuôi cấy VSV và phân tích nước thải đã sử dụng các hoá chất sau: các loại đường (sacaroza, glucoza, maltoza...), cao thịt, cao nấm men, các muối vô cơ (như K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $FeSO_4$), các axit (HCl , H_2SO_4 , HNO_3 ...), các dung môi (metanol, acetonitrit, axeton, cồn.....) có độ sạch sắc ký.

**** Thiết bị:***

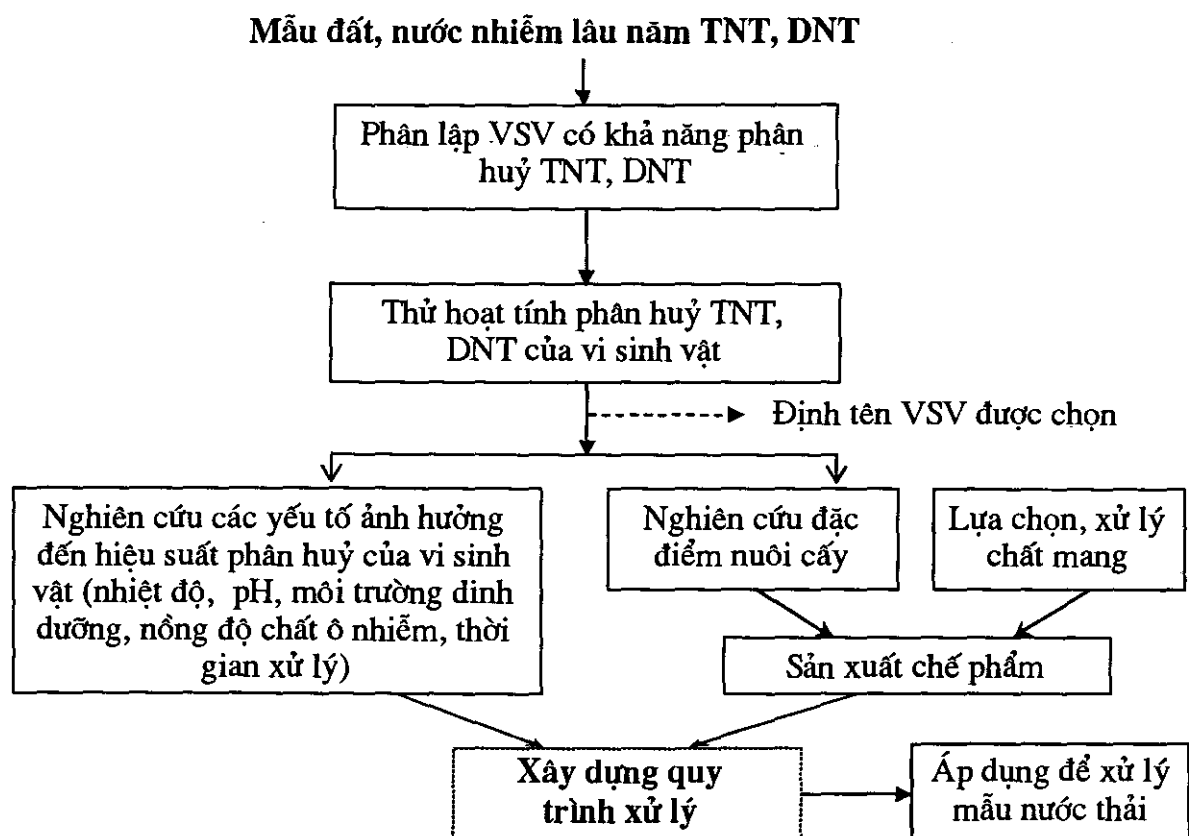
Để nghiên cứu đã sử dụng các thiết bị chính sau:

- Nồi khử trùng hơi nước HIRAYAMA (Nhật)
- Tủ khử trùng khô MEMMERT BE. 500 (Đức)
- Buồng cấy VSV ENVIRCO (Mỹ)
- Tủ ấm nuôi cấy VSV MEMMERT (Đức)
- Máy lắc tròn BIG - BILL (Mỹ)
- Kính hiển vi thường và soi nổi CAR - ZEISS (Đức)

- Thiết bị lên men hiếu khí FERMENTOR BF 2000 (Mỹ)
- Thiết bị lên men kỵ khí ELE (Anh)
- Máy ly tâm HETTICH (Đức)
- Máy so màu JENWAY 6300 (Anh)
- Thiết bị sắc ký lỏng cao áp HPLC 1100 (Mỹ)

2.2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

Các phương pháp nghiên cứu được áp dụng ở đây mặc dù vẫn dựa trên nguyên tắc cơ bản của các phương pháp nghiên cứu VSV [56] song với đối tượng cụ thể của đề tài là VSV phân huỷ các chất ô nhiễm là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ (là những chất khó phân huỷ bằng VSV), đồng thời do số lượng VSV phân huỷ được những chất này ngoài tự nhiên không nhiều nên phải có những thay đổi, cải tiến nhất định cho phù hợp. Thí dụ như trong quá trình phân lập phải có bước làm giàu, trong quá trình nghiên cứu phải có thay đổi cụ thể tùy theo mục đích của thí nghiệm. Quá trình nghiên cứu được tiến hành theo các bước nêu trong hình 2.1.



Hình 2.1. Sơ đồ quy trình thí nghiệm

Các VSV hiếu khí được nuôi cấy trên máy lắc tròn Big - Bill (Mỹ), với vận tốc 200 vòng/phút.

Các VSV kỵ khí: được nuôi cấy trên thiết bị Ele (Anh).

a. Phương pháp phân lập các chủng VSV có khả năng phân huỷ TNT, DNT trong điều kiện hiếu khí [56 - 60]

Các mẫu đất được pha loãng và nuôi cấy trên môi trường Czapek không đường có bổ sung các chất trên với nồng độ 10mg/l. Sau 7 ngày nuôi cấy trên máy lắc 200vòng/phút ở nhiệt độ phòng ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), bình có VSV phát triển (môi trường đục) được lấy làm giống để cấy lặp lại như trên.

Sau 3 vòng lặp, bình có môi trường đục nhất sẽ được lấy mẫu phân lập khuẩn lạc trên môi trường thạch đĩa.

b. Phương pháp tuyển chọn các VSV có khả năng phân huỷ TNT, DNT

Nuôi cấy VSV đã phân lập theo phương pháp trên trong môi trường khoáng Czapek dịch thể (không đường) có bổ sung TNT, DNT với nồng độ: 20mg/l trên máy lắc 200 vòng/phút (hiếu khí), 100mg/l trong thiết bị lên men kỵ khí (phương pháp kỵ khí), ở nhiệt độ phòng ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Khả năng phân huỷ các chất ô nhiễm của VSV được đánh giá dựa trên lượng chất ô nhiễm còn lại trong môi trường sau 5 ngày nuôi cấy.

c. Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh tới sự sinh trưởng và khả năng phân huỷ TNT, DNT

♦ *Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy*

* *Ảnh hưởng của nhiệt độ lên tốc độ sinh trưởng*

Cấy VSV vào môi trường khoáng có bổ sung đường, lignin và nuôi ở các nhiệt độ khác nhau. Đếm số lượng VSV ban đầu và sau 1, 2, 3, 4, 5 ngày nuôi cấy.

* *Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng phân huỷ TNT, DNT*

Nuôi cấy VSV trong môi trường có thành phần khoáng, lignin saccharose (3g/l) và TNT, DNT nồng độ 30mg/l và 100mg/l (tùy điều kiện hiếu khí hay kỵ khí) ở các nhiệt độ khác nhau. Thời gian nuôi là 7 ngày. Khả năng phân huỷ TNT,

DNT của VSV được đánh giá dựa trên sự thay đổi nồng độ TNT, DNT trong môi trường nuôi cấy.

♦ *Ảnh hưởng của pH ban đầu*

Nuôi cấy VSV trong môi trường có thành phần khoáng, lignin và TNT, DNT nồng độ 30 mg/l và 100mg/l (tùy điều kiện hiếu khí hay kỵ khí). pH môi trường được chỉnh theo các giá trị: 3; 5; 7; 9 bằng H_2SO_4 và NaOH. Thời gian nuôi cấy là 7 ngày, ở nhiệt độ 30 - 32°C. Khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV được đánh giá dựa trên sự thay đổi nồng độ các chất này trong môi trường nuôi cấy.

♦ *Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng*

Nuôi cấy VSV trong 5 loại môi trường có khoáng, lignin, TNT, DNT nồng độ 30 mg/l và 100mg/l (tùy điều kiện hiếu khí hay kỵ khí), bổ sung thêm các chất dinh dưỡng khác nhau với nồng độ khác nhau. Nuôi cấy 7 ngày, ở nhiệt độ 30 - 32°C, khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV được đánh giá bằng sự thay đổi nồng độ các chất này trong môi trường nuôi cấy.

♦ *Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm (TNT, DNT)*

Nuôi cấy VSV trong môi trường chọn từ các thí nghiệm trên với các nồng độ chất ô nhiễm được bổ sung là 15; 20; 25; 30; 35; 45; 55 mg/l (với phương pháp hiếu khí) và 50, 100, 150mg/l (với phương pháp kỵ khí).

Nuôi cấy ở nhiệt độ 30 - 32°C trong 7 ngày. Khả năng phân huỷ TNT, DNT được đánh giá bằng sự thay đổi nồng độ của chúng trong môi trường nuôi cấy.

♦ *Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy*

Nuôi cấy VSV trong thiết bị lên men Bioflo 2000 (hiếu khí) và Ele (kỵ khí) với môi trường và các điều kiện nuôi cấy chọn từ các thí nghiệm trên. Theo dõi nồng độ TNT, DNT trong môi trường sau 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6 ngày nuôi cấy.

Áp dụng kết quả nghiên cứu vào xử lý nước thải Z121 bằng cách pha loãng nước thải đến nồng độ thích hợp, bổ sung thêm khoáng và dinh dưỡng trên cơ sở kết quả của các thí nghiệm đã tiến hành, cấy VSV đã lựa chọn. Theo dõi thí nghiệm 5 ngày. Đánh giá hiệu quả xử lý bằng cách đo lượng TNT, DNT còn lại trong môi trường.

d. Phương pháp phân tích TNT, DNT trong môi trường

Sự thay đổi TNT, DNT trong môi trường được đo bằng phương pháp HPLC, với điều kiện thí nghiệm như sau: pha động tỷ lệ methanol : nước = 60 : 40 theo thể tích; tốc độ dòng 0,65 ml/phút; tín hiệu đo ở bước sóng 250nm (xem 3.....)

e. Xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm VSV trong xử lý môi trường

♦ Chuẩn bị dịch huyền phù VSV

Các chủng VSV có khả năng phân huỷ mạnh TNT, DNT được sử dụng để tạo chế phẩm xử lý môi trường. Các chủng VSV được cấy vào các bình môi trường nhân giống đã chọn. Nuôi cấy 3 ngày trên máy lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ 30 - 32°C.

♦ Lựa chọn chất mang

Trộn các loại cơ chất lignincellulose đã được xử lý sơ bộ theo tỷ lệ khác nhau, khử trùng và bổ sung dịch huyền phù VSV sao cho nồng độ VSV trong cơ chất đạt 10^9 - 10^{10} CFU/g và độ ẩm là 30% và 50%. Bao gói, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Đếm số lượng VSV sau 2, 4, 6, 8, 10, 12 tuần và 24 tuần để xác định độ ổn định số lượng VSV trong các mẫu.

f. Đánh giá khả năng xử lý nước thải ở quy mô phòng thí nghiệm

Pha loãng nước thải đến nồng độ thích hợp, bổ sung khoáng và dinh dưỡng (trên cơ sở kết quả của các thí nghiệm đã tiến hành), cấy chế phẩm VSV đã lựa chọn với nồng độ 0,1% và sục khí 3 - 5 ngày. Đánh giá hiệu quả xử lý bằng cách đo lượng TNT, DNT còn lại trong môi trường bằng phương pháp HPLC và GC-MS.

2.2.3. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa styphnic axit

2.2.3.1. Nguyên liệu

a. Các mẫu đất và nước:

- Đất, bùn, nước lấy từ các khu vực đã bị ô nhiễm thuốc súng, đạn, thuốc gọt nổ lâu năm và từ nơi thải của các nhà máy sản xuất quốc phòng để phân lập vi sinh vật.
- Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gọt nổ chứa TNR để xử lý ở quy mô phòng thí nghiệm.

b. Các hoá chất:

TNR dạng tinh thể có độ tinh khiết trên 99% hoà tan trong nước cất vô trùng được sử dụng để bổ sung vào môi trường nuôi cấy vi sinh vật.

Các hoá chất dùng để tạo môi trường nuôi cấy VSV và xác định COD, BOD:

- Khoáng: K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $FeSO_4$, $NaOH$,...
- Nguồn Cacbon: Saccaroza, glucoza, ...
- Nguồn Nitơ: $(NH_4)_2SO_4$, cao nấm men, bột đậu tương...

c. Các môi trường

♦ *Môi trường khoáng tối thiểu*

Môi trường cơ sở được cải tiến từ môi trường khoáng Czapek dùng để phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR có thành phần như sau [9]: KH_2PO_4 (0,4 g/l), $(NH_4)_2SO_4$ (0,6 g/l), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,06 g/l), $CaCl_2$ (0,08 g/l), $FeSO_4$ (0,01 g/l), nước (1 lít).

♦ *Môi trường dinh dưỡng có nguồn C và N hạn chế:*

Môi trường cơ sở đã cải tiến để nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến khả năng sinh trưởng và phân huỷ TNR của các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn: KH_2PO_4 (0,4 g/l), $(NH_4)_2SO_4$ (0,6 g/l), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,06 g/l), $CaCl_2$ (0,08 g/l), $FeSO_4$ (0,01 g/l), rơm (0,1 g/l), bột đậu tương (0,025 g/l), nước (1 lít).

♦ *Môi trường giữ giống*

Để giữ giống vi sinh vật, môi trường có nguồn C và N hạn chế được bổ sung: TNR (5mg/l), sacaroza (4 g/l), thạch (20 g/l)

2.2.3.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR

♦ *Phương pháp phân lập*

Vi sinh vật phân huỷ TNR được phân lập theo phương pháp làm giàu vi sinh vật [8]. Đất và nước lấy từ các nguồn chứa chất thải là TNR ở các nhà máy quốc phòng sản xuất thuốc gọi nổ.

Cân 10g đất cho vào bình tam giác 250ml có chứa 90 ml môi trường khoáng tối thiểu (mô tả ở mục 4.2.2.1.(c)). Nguồn cacbon duy nhất là TNR với nồng độ 5mg/l. Các mẫu nước được bổ sung các thành phần khoáng với nồng độ như môi trường khoáng tối thiểu và nồng độ TNR cũng là 5mg/l.

Việc nuôi cấy vi sinh vật được thực hiện trên máy lắc tốc độ 200vòng/phút ở nhiệt độ phòng ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Thời gian nuôi cấy 7 ngày. Sự sinh trưởng của vi sinh vật phân huỷ TNR được đánh giá theo độ đục của dịch nuôi cấy. Bình nào có vi sinh vật phát triển tốt sẽ được lấy làm giống theo tỷ lệ 5% để cấy lặp lại như trên. Sau 3 vòng lặp lại, bình nào có môi trường đục nhất và màu xanh của TNR giảm nhiều nhất tức vi sinh vật phát triển tốt nhất thì được lấy để phân lập theo phương pháp cấy gạt trên đĩa thạch. Các đĩa thạch được giữ trong tủ ẩm ở nhiệt độ $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Sau 5 ngày, tách các khuẩn lạc riêng biệt có màu sắc và kích thước khác nhau sang ống thạch nghiêng chứa môi trường giữ giống (mục 4.2.2.1.(c)). Các chủng được đánh ký hiệu để nghiên cứu tiếp.

Đánh giá mức độ sinh trưởng sau 5 ngày của các chủng phân lập được trên thạch nghiêng chứa môi trường khoáng tối thiểu có TNR 5mg/l là nguồn hữu cơ duy nhất.

♦ *Tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR cao*

Các chủng sinh trưởng tốt trên môi trường thạch nghiêng có TNR là nguồn hữu cơ duy nhất được lựa chọn để nuôi cấy trên môi trường dịch thể khoáng tối thiểu (mô tả ở mục 4.2.2.1.(c)) có bổ sung TNR với nồng độ 20mg/l. Các mẫu trên được nuôi cấy trên máy lắc tốc độ 200vòng/phút, ở nhiệt độ phòng $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Sau 7 ngày nuôi cấy, các mẫu thí nghiệm được xác định lượng TNR còn lại trong môi trường bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) [20]. Mẫu nào có hàm lượng TNR giảm nhiều chứng tỏ chủng vi sinh vật trong mẫu đó có khả năng phân huỷ mạnh TNR và được tuyển chọn để tiếp tục nghiên cứu trong các thí nghiệm tiếp theo.

b. Định tên đến loài các chủng VSV đại diện có khả năng phân huỷ TNR cao

Sau khi tuyển chọn được các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR cao, chúng tôi chọn ra 2 chủng nấm mốc M1 và nấm men M10 có khả năng phân huỷ TNR mạnh nhất để định tên và tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

♦ Định tên nấm mốc

Để phân loại nấm mốc, sử dụng các phương pháp quan sát và mô tả hình thái khuẩn lạc, hệ sợi và cơ quan sinh sản và phát sinh bào tử của nấm mốc. Sau đó dựa vào các khoá phân loại nấm mốc của Benett và Hunter [71] để định tên loài dưới sự giúp đỡ của Bộ môn Vi sinh vật, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

♦ Định tên nấm men

Nghiên cứu các đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh lý, sinh hoá của chủng nấm men M10 [60]. Sau đó dựa vào các khoá phân loại nấm men của Lodder để định tên loài dưới sự giúp đỡ của Viện Vệ sinh phòng dịch Quân đội.

c. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường lên sinh trưởng và khả năng phân huỷ TNR của các chủng vi sinh vật đã lựa chọn

* Tiến hành nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trong môi trường dịch thể có khoáng, lignin (rơm), bột đậu tương (như mô tả ở mục 4.2.2.1.(c)), và bổ sung đường saccaroza 3g/l trong các điều kiện nhiệt độ, pH, chất dinh dưỡng khác nhau.

- Đối với nấm men, để xác định khả năng sinh trưởng của chúng, sử dụng phương pháp đo mật độ quang dịch nuôi cấy [8] ở thời điểm ban đầu và sau 5 ngày nuôi cấy trên máy so màu Zenway 6300 ở bước sóng 620nm.

- Xác định sinh trưởng của nấm mốc: sử dụng phương pháp xác định trọng lượng sinh khối khô [57] sau 5 ngày nuôi cấy.

* Để xác định ảnh hưởng của các điều kiện môi trường lên khả năng phân huỷ TNR, tiến hành nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trong môi trường dịch thể có khoáng, rơm, bột đậu tương (như mô tả ở mục 4.2.2.1.(c)) và saccaroza 3g/l rồi bổ sung TNR với nồng độ 20mg/l. Thời gian nuôi cấy 7 ngày, trên máy lắc tốc độ 200vòng/phút, ở các điều kiện nhiệt độ, pH, chất dinh dưỡng khác nhau. Sau đó

xác định nồng độ TNR ban đầu và nồng độ TNR còn lại trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy.

2.2.4. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ xử lý nước thải chứa nitroglyxerin

2.2.4.1. Nguyên liệu

- Đất, bùn, nước lấy từ các khu vực đã bị ô nhiễm thuốc phóng lâu năm và từ nơi thải của các nhà máy sản xuất quốc phòng để phân lập VSV.

- Các hoá chất dùng để tạo môi trường nuôi cấy VSV và phân tích nước thải: các loại đường (sacaroza, glucoza, maltoza...), cao thịt, cao nấm men, các muối vô cơ (như K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $FeSO_4$), các axit (HCl, H_2SO_4 , HNO_3 ...), các dung môi (metanol, acetonitril, axeton, cồn.....)

* *Thiết bị*: các thiết bị nghiên cứu, nuôi cấy, phân tích đều có độ chính xác tin cậy như đã nêu ở phần trên.

2.2.4.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phân lập các chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NG, NC là nguồn hữu cơ duy nhất

Mẫu đất và nước thải được làm giàu bằng cách lấy 0,5g đất hoặc 5ml nước thải cho vào bình tam giác chứa 50ml môi trường khoáng 1. Bổ sung NG và NC vào mỗi bình sao cho nồng độ 30mg/l. Sau khi nuôi lắc 5 ngày ở nhiệt độ 28 - 30°C, bình nào môi trường đục (VSV phát triển) sẽ dùng làm giống. Sau 3 vòng lặp, bình có VSV phát triển tốt nhất sẽ được dùng làm giống phân lập khuẩn lạc trên môi trường thạch đĩa.

b. Tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ NG, NC cao

Mỗi chủng VSV đã phân lập được cấy vào bình tam giác 250ml chứa 50ml môi trường khoáng có bổ sung NG, NC như là nguồn hữu cơ duy nhất với nồng độ 60mg/l. Các bình được nuôi trên máy lắc (tốc độ 220 vòng/phút) ở nhiệt độ 30 ± 2°C trong 5 ngày. Khả năng phân huỷ NG, NC được xác định bằng cách đo nồng độ NG, NC còn lại trong môi trường bằng phương pháp trắc quang.

Đối chứng: môi trường khoáng 1 + NG, NC nồng độ 60mg/l, không cấy VSV.

c. Nghiên cứu đặc tính nuôi cấy

Nuôi cấy VSV trên môi trường thạch nghiêng trong các điều kiện nhiệt độ, pH, môi trường dinh dưỡng có các thành phần khoáng, nguồn cacbon và nitơ khác nhau. Đọc mức độ phát triển sau 3 ngày nuôi cấy.

d. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất phân huỷ NG, NC của VSV (nhiệt độ, pH, bổ sung dinh dưỡng, nồng độ chất ô nhiễm, thời gian)

Nuôi cấy VSV trong môi trường khoáng dịch thể có NG, NC là nguồn hữu cơ duy nhất ở điều kiện có các yếu tố ngoại cảnh (nhiệt độ, pH, bổ sung dinh dưỡng, nồng độ chất ô nhiễm, thời gian nuôi cấy) được thay đổi theo mục đích nghiên cứu của từng thí nghiệm. Khả năng phân huỷ NC, NG của VSV được xác định bằng sự thay đổi nồng độ của chúng trong môi trường.

e. Phương pháp xác định NG, NC trong môi trường

- Xác định nồng độ NG trong môi trường bằng phương pháp trắc quang theo nguyên lý: NG được thuỷ phân bằng NaOH tạo thành amin tương ứng và NO_2^- tạo thành được xác định bằng thuốc thử Griss [80], hoặc bằng phương pháp HPLC (xem mục 2.3.2).

- Các hợp chất nitrat cellulose chứa hơn 10,5% nitrat được xác định bằng phản ứng tạo thành nitrophenol disulfonic axit, sau đó có màu vàng do tạo thành dung dịch kiềm dưới điều kiện đậm. Mẫu nitrat cellulose tinh khiết được dùng làm chất chuẩn.

2.2.5. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ xử lý nước thải nhiễm NO_3^- , NO_2^-

2.2.5.1. Nguyên liệu

- Đất mùn lấy từ vùng chuyên canh trồng rau màu chứa nhiều vi khuẩn nitrat và phản nitrat hoá.

- Các hoá chất tạo môi trường và dùng cho phân tích tương tự như nêu trong mục 2.2.2.1.

- Các thiết bị nuôi cấy vi sinh vật và thiết bị phân tích tương tự trong mục 2.2.2.1.

2.2.5.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp làm giàu VSV

Cần một lượng đất nhất định nuôi cấy trong môi trường khoáng tối thiểu có NO_2^- là nguồn nitơ duy nhất trên máy lắc 200 vòng/phút, ở $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Sau 15 ngày phát triển cấy lại sang môi trường mới. Sau vài vòng lặp, môi trường đục nhiều (kiểm tra số lượng vi sinh khoảng 10^8MPN/ml) lấy làm giống tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

b. Phương pháp nuôi cấy vi khuẩn nitrat hoá

Được tiến hành bằng các phương pháp truyền thống tương tự như đã nêu ở mục 2.2.2.2.

c. Phương pháp xác định số lượng vi khuẩn nitrat hoá

Số lượng vi khuẩn xác định bằng phương pháp pha loãng tìm giới hạn [57].

d. Phương pháp xác định hàm lượng NO_2^- và NO_3^-

Hàm lượng NO_2^- và NO_3^- xác định theo tiêu chuẩn TCVN 5945-1995 [83].

2.2.6. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý nước thải bị nhiễm dầu và hàm lượng cao chất hữu cơ

2.2.6.1. Nguyên liệu và hóa chất

♦ *Mẫu để tiến hành phân lập các chủng vi sinh:* là mẫu đất, nước đã lâu năm bị ô nhiễm dầu và các sản phẩm dầu. Do nhiều năm trong và ngoài quân đội đều chủ yếu sử dụng dầu mỡ nhập khẩu từ Liên Xô cũ, chính vì vậy tính đặc thù về dầu mỡ trong và ngoài quân đội thể hiện chưa thật rõ. Chúng tôi đã lấy mẫu nghiên cứu tại một số nơi bị ô nhiễm dầu cao và lâu năm : Z551 (Tổng cục CNQP), Kho 680 (Tổng cục KT), bãi chứa vỏ thùng dầu kho Đức Giang, nước thải lâu năm tại xí nghiệp dầu máy xe lửa Gia Lâm và mẫu thu được từ cơ sở sửa chữa xe máy tại Hà Nội. Mẫu bùn và nước thải có hàm lượng cao BOD lấy từ X22 và xưởng sản xuất bia Trung Hoà.

♦ *Môi trường nuôi cấy vi khuẩn trên đĩa thạch bao gồm các chất sau:* Cao thịt (3g), Peptone (5g), Glucose (1g), NaCl (1g), Agar (10g), Nước cất (1 lít).

Môi trường có pH từ 6,8 - 7,2, được khử trùng ở nhiệt độ 121°C (1atm) trong thời gian 30 phút.

♦ *Môi trường khoáng có thành phần như sau:* KNO_3 (3g), KH_2PO_4 (0,3g), MgSO_4 (0,4g), Na_2HPO_4 (0,7g), NaCl (1 g), Nước máy (1 lít).

Môi trường có pH từ 6,8 - 7,2 được khử trùng ở nhiệt độ 121°C (1 atm) trong thời gian là 30 phút.

2.2.6.2. Thiết bị máy móc

Các thiết bị máy móc dùng trong nghiên cứu gồm có:

- Kính hiển vi điện tử Olympus độ phóng đại 1500 lần (Nhật Bản)
- Cân phân tích Mettler AB204 (Thụy Sĩ)
- Cân kỹ thuật Caltex (Tây Đức)
- Máy đo pH HANNA (Italia)
- Máy lắc (Đức)
- Nồi khử trùng BK75 (Nga)
- Box Laminar (Việt Nam)
- Tủ nuôi cấy (Hungari)
- Tủ sấy khử trùng (Hungari)
- Tủ hút Labo Coneo (Mỹ)
- Dụng cụ thủy tinh

2.2.6.3. Phương pháp nghiên cứu

a. Xác định số lượng vi sinh vật bằng phương pháp pha loãng tới hạn

Cân 10g mẫu (nếu là mẫu rắn) hoặc 10 ml (nếu là mẫu lỏng) có chứa vi sinh vật cho vào 90ml nước muối sinh lý (NaCl 0,85%) đã vô trùng, mẫu lắc đều trên máy lắc với tốc độ 150 vòng/phút trong 10 phút. Dùng pipet vô trùng hút 1,0ml dịch chứa vi sinh vật cho vào ống nghiệm có 9,0ml nước muối vô trùng và trộn đều trên máy rung lắc.

Từ ống nghiệm trên, hút 1,0 ml cho vào ống thứ hai đã có sẵn 9,0 ml nước muối sinh lý và pha loãng tiếp tục, quá trình này được lặp lại đến khi nào số lượng vi sinh không quá lớn trong một đơn vị thể tích. Sau khi pha loãng xong, hút 0,1 ml dịch đã pha loãng nuôi cấy trên môi trường thạch tương ứng. Dùng que gạt vô trùng gạt đều mẫu trên bề mặt thạch. sau nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C , theo dõi trong 24 giờ và đếm số khuẩn lạc trên từng đĩa petri và tính theo công thức:

$$X = a.n$$

Trong đó: a - số lượng khuẩn lạc trên mỗi đĩa nuôi cấy

n - độ pha loãng

X - số lượng CFU (Colony Forming Unit)/g (ml) mẫu.

Ghi chú : Đếm số lượng khuẩn lạc theo phương pháp gạt trên đĩa thạch cần phải đếm ở vài nồng độ khác nhau và mỗi nồng độ gạt 3 đĩa và tính kết quả trung bình.

b. Phương pháp làm giàu mẫu để phân lập các chủng vi sinh vật

Mẫu đất, bùn bị ô nhiễm hợp chất hữu cơ cao hoặc dầu và các sản phẩm dầu được nuôi cấy lactic tích lũy vi sinh vật trên môi trường có chứa nguồn cacbon duy nhất là dầu thô (5%) hoặc hợp chất hữu cơ trong nước thải. Điều kiện nuôi cấy lactic 200 vòng/phút, nhiệt độ $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, thời gian từ 5 đến 7 ngày, sau đó chuyển dịch sang môi trường nuôi cấy mới. Quá trình lactic tích lũy được tiến hành qua 3 lần cấy truyền. Các mẫu sau khi lactic tích lũy cho sinh khối nhiều (tạo độ đục của môi trường) và loại bớt vi sinh vật không có khả năng phân huỷ dầu, được chúng tôi phân lập, tuyển chọn và giữ giống để phục vụ cho mục đích nghiên cứu sau này.

c. Phương pháp đánh giá khả năng phân huỷ dầu và các chất hữu cơ có hàm lượng cao của vi sinh vật

Để đánh giá khả năng phân huỷ dầu và các sản phẩm dầu hoặc các hợp chất hữu cơ cao ta có thể dựa theo hai cách :

1 - Xác định lượng nguồn cacbon đưa vào môi trường nuôi cấy còn lại theo thời gian

2 - Xác định số lượng vi sinh vật trong 1 đơn vị cần xác định theo thời gian (đây là phương pháp dựa vào số lượng tế bào vi sinh (sinh khối) để xác định lượng nguồn cacbon thay đổi trong quá trình nuôi cấy).

d. Phương pháp giữ giống vi sinh trên giá thể là chất hấp phụ

- Chuẩn bị chất hấp phụ ẩm: chất hấp phụ sấy trong tủ sấy ở nhiệt độ 110°C đến độ ẩm 1% .

- Chuẩn bị môi trường bảo vệ: Thành phần gồm: Đường , glutamat, Thioure, pepton, nước cất. Số lượng tế bào mà chúng tôi đưa vào giữ ở nồng độ $10^8 - 10^9$ CFU /ml.

- Cách tiến hành: Lọ đựng chất hấp phụ được làm lạnh ở -20°C trong 1h. Sau đó cho vào 0,2 ml dịch tế bào và đậy lại, lắc nhẹ. Để làm đều độ ẩm ở nhiệt độ phòng một thời gian sau đó bảo quản ở 4°C .

Từ mẫu được bảo quản, chúng tôi kích hoạt trong dịch môi trường sao cho số lượng vi khuẩn đạt được 3×10^{10} CFU/ml. Với phương pháp này, chúng tôi đã giữ được trong 12 tháng và tỷ lệ tế bào vi sinh sống đạt 91%.

e. Phương pháp giữ chủng vi sinh trên cát

Cát được rửa sạch nhiều lần (loại bỏ mùn và tạp chất), sấy khô và rây nhỏ để loại bỏ sét và rác bẩn. Sấy khô cát ở nhiệt độ 120°C trong khoảng thời gian từ 3 - 4 giờ, để nguội, cho cát vào ống nghiệm sạch, mỗi ống 15 - 20 gam. đậy bằng nút bông và khử trùng $160 - 180^{\circ}\text{C}$ trong 2 giờ. Chủng vi sinh vật, sau khi đã được phân lập và thuần khiết sẽ được chuyển vào các ống cát. Khi hoạt hoá chỉ cần lấy cát có chứa vi sinh vật nuôi cấy trên đĩa thạch thích hợp, trong điều kiện $30^{\circ}\text{C}/48 - 72$ giờ để đánh giá khả năng sống và phát triển của vi sinh vật. Phương pháp này cho kết quả : sau 7 tháng giữ ở nhiệt độ phòng, khả năng sống của bào tử nấm đạt 89%.

2.2.7. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý nước thải cơ sở dệt nhuộm

2.2.7.1. Mô hình thiết bị liên tục

- Mô hình UASB được thiết kế trên cột thủy tinh hai lớp với thể tích 4.0 L, đường kính trong 50mm.

- Nhiệt độ được kiểm soát bởi thiết bị ổn nhiệt (Thermomixme/B.Braun). Để tạo dòng hồi lưu sử dụng bơm Watson Marlow 505 Di, dòng nước thải và dòng dinh dưỡng sử dụng bơm Watson Marlow 205 U. Kiểm soát pH bằng máy pH – Controler E H.

- Bùn kỵ khí được lấy từ bể xử lý kỵ khí đang hoạt động của nhà máy bia Heineken. và cấy vào cột phản ứng với thể tích khoảng 1,5 lít.

- Cột phản ứng hoạt động liên tục và được cung cấp dinh dưỡng trong suốt quá trình chạy bằng bơm định lượng. Thành phần dung dịch dinh dưỡng gồm các nguyên tố đa lượng và vi lượng .

+ Dung dịch đa lượng (g/l): NaCl (0,5); NH_4Cl (0,3); $\text{MgCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (1,2); KH_2PO_4 (0,2); NaH_2PO_4 (0,25); CaCl_2 (0,15); Na_2SO_4 (0,5); KCl (0,5); NaHCO_3 (4).

+ Dung dịch vi lượng (mg/l): $\text{FeCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$ (1500); $\text{CoCl}_2.2\text{H}_2\text{O}$ (190); $\text{MnCl}_2.4\text{H}_2\text{O}$ (100); ZnCl_2 (70); H_3BO_3 (62); $\text{Na}_2\text{MoO}_4.2\text{H}_2\text{O}$ (36); $\text{NiCl}_2.6\text{H}_2\text{O}$ (17); HCl 36% (7ml/l)

- Mẫu được lấy 2ngày/ lần

- Các chỉ tiêu phân tích :

+ Các thông số đầu vào : COD, VFA, CO_2 , CH_4 , Độ màu

+ Các thông số đầu ra : COD, VFA, CO_2 , CH_4 , Độ màu

Các thông số vận hành cột UASB được trình bày trong bảng 4.13.

Bảng 2.1. Các thông số vận hành cột UASB

Thông số vận hành	Đơn vị	Mức 1	Mức 2	Mức 3	Mức 4
Thể tích cột	l	4	4	4	4
pH		6.5-7.5	6.5-7.5	6.5-7.5	6.5-7.5
Nhiệt độ	$^{\circ}\text{C}$	28 – 32	45	55	65
Tốc độ dòng	m/h	1.2-2	1.2-2	1.2-2	1.2-2
Lưu lượng dòng tuần hoàn	ml/ph	250	250	250	250
Lưu lượng nước thải	ml/ph	3.4 – 4.0	3.4 – 4.6	3.4 – 4.2	3.4 – 4.2
Lưu lượng dinh dưỡng	ml/ph	3.0 – 3.7	3.4 – 3.7	3.5 – 4.3	3.3
Lưu lượng đầu vào	ml/ph	7.0 – 7.7	7.8 – 8.2	8.2 – 8.7	8.2 – 8.7
Thời gian lưu nước	h	6.8 – 8.6	7.0 – 8.0	8.2 – 8.9	8.2 – 8.9

2.2.7.2. Lấy mẫu và phân tích

a. Lấy mẫu và bảo quản mẫu

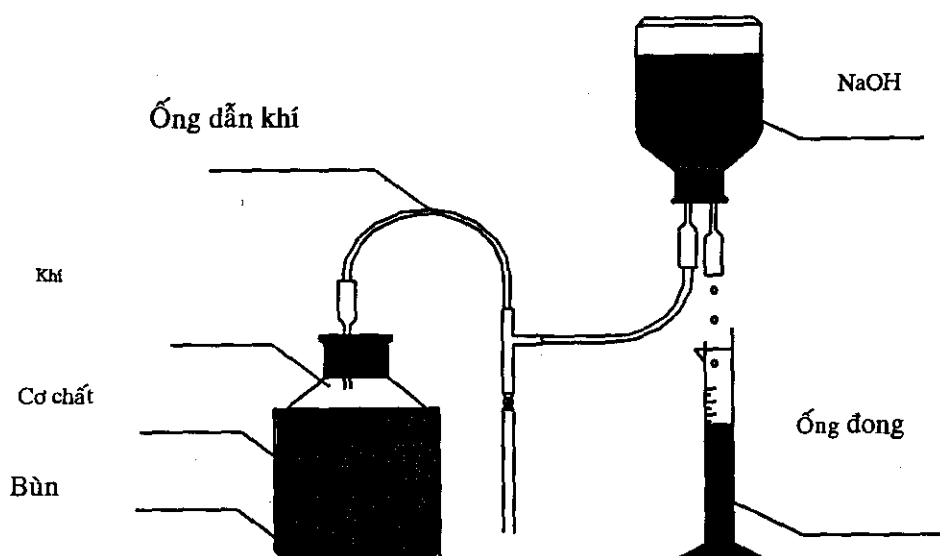
- Mẫu được lấy hai ngày/1 lần tại điểm lấy mẫu ở đỉnh cột và được phân tích ngay hoặc bảo quản trong điều kiện lạnh 4°C . Các chỉ tiêu đo đạc: COD, pH, CH_4 , VFAs.
- Mẫu bùn được lấy bằng ống xi phông qua đầu trên của cột, vị trí lấy bùn tùy thuộc mục đích nghiên cứu bùn. Mẫu bùn sau khi lấy được gạn bỏ phần nước và bảo quản trong điều kiện lạnh 4°C .

b. Phân tích

- VFAs phân tích bằng phương pháp sắc ký khí trên máy HP 6890 PLUS (HEWLETT PACKARD – USA).
- Bộ bơm mẫu chia dòng/ không chia dòng, tỉ lệ chia dòng = 20 : 1, Pi (áp suất đầu cột) = 40 kpa, Tinj. (nhiệt độ buồng bơm mẫu) = 250°C .
- Detector Ion hóa ngọn lửa (FID), nhiệt độ Detector $T_{\text{det}} = 270^{\circ}\text{C}$, lưu lượng dòng hydro $\text{FH}_2 = 35\text{ml/phút}$, lưu lượng không khí $F_{\text{air}} = 400\text{ml/phút}$, lưu lượng dòng phụ trợ $\text{FN}_2 = 25\text{ml/min}$.
- Cột HP – INNOWAX 30m x 0,32mm x 0,32 μm .
- Chương trình nhiệt : 120°C (1phút) , tăng lên 230°C (100/phút), ổn định 230°C (5phút).
- Định lượng theo phương pháp ngoại chuẩn.
- Mẫu biogas (H_2 , N_2 , CH_4 , CO, CO_2) được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí trên máy sắc ký khí HP 6890 PLUS như trên, với detector TCD (150°C) và cột HP-PLOT Molsieve 5A, 30m x 0.32mm x 0.12 μm . Lưu lượng khí mang qua cột: 4ml/phút, tỉ lệ chia dòng là 40:1, nhiệt độ buồng chứa cột (Oven) được giữ tại 50°C trong suốt quá trình chạy sắc ký.
- CH_4 đo bằng phương pháp sử dụng bình Mariotte và cân trọng lượng.

c. Khảo sát sinh khối

- Thí nghiệm xác định hoạt tính metan của bùn được thực hiện bằng mô hình trình bày trên hình 2.2.



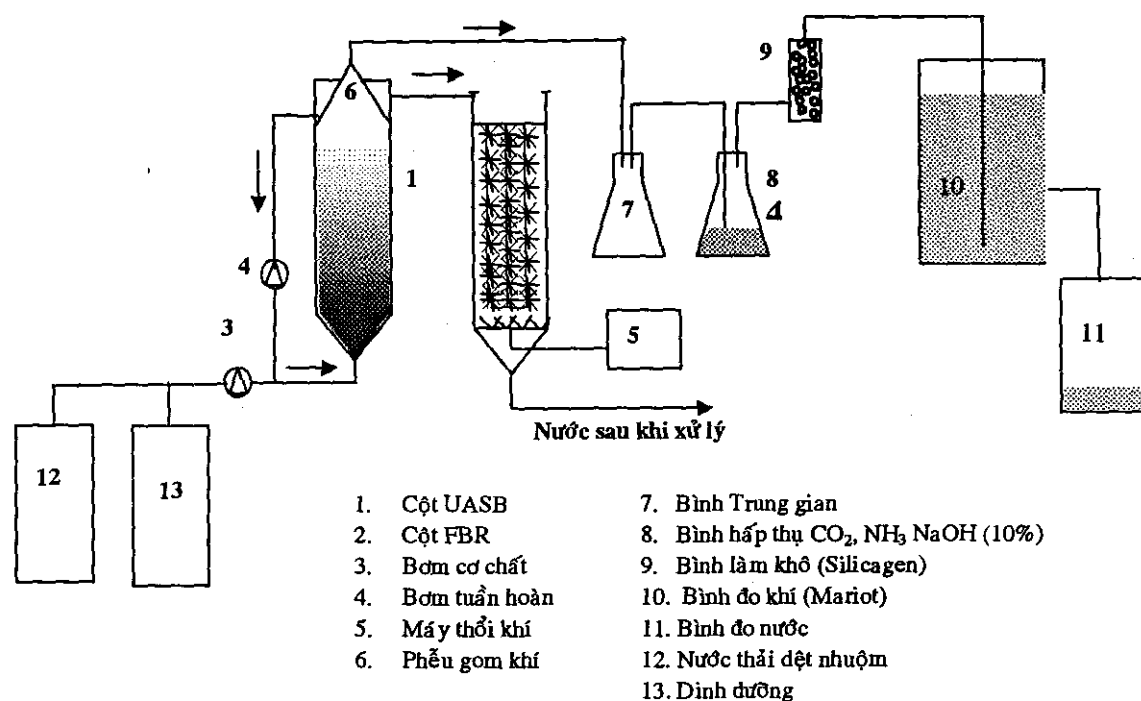
**Hình 2.2. Mô hình thí nghiệm xác định hoạt tính (activity test)
sinh metan của bùn**

Mô hình sử dụng là chai serum có dung tích tổng cộng là 1.250 ml và dung tích sử dụng 1.000 ml. Dung dịch VFA, có bổ sung đầy đủ dinh dưỡng và nguyên tố vi lượng, với chỉ số COD 2.600 mg/l là nguồn cung cấp cacbon cho vi sinh vật. Nồng độ vi sinh vật trong mô hình được khống chế ở mức 3 g VSS/L. Khí sinh ra từ quá trình phân hủy kỵ khí được hấp thu trong chai serum chứa dung dịch NaOH 10% để loại bỏ khí CO_2 , H_2S ,... phần khí CH_4 không bị hấp thu chiếm khoảng không bên trên và đẩy dung dịch NaOH ra ngoài. Chỉ số COD còn lại trong dung dịch được phân tích hàng ngày.

- Khảo sát hình thái bùn : Mẫu bùn được cố định trên các tiêu bản và chụp hình bằng kính hiển vi Olympus, Nhật bản có độ phóng đại 3000 lần.

d. Khảo sát phương án sinh học kết hợp (UASB kết hợp FBR)

Thí nghiệm về khả năng xử lý nước thải dệt nhuộm bằng công nghệ sinh học kỵ khí UASB kết hợp FBR được thực hiện bằng hệ thống thiết bị thí nghiệm liên tục được mô tả bằng sơ đồ trên hình 2.3.



Hình 2.3. Sơ đồ hệ thống thiết bị thí nghiệm liên tục – UASB – FBR

2.2.8. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu chế tạo KIT phân tử

2.2.8.1. Sinh phẩm

a. Vi sinh vật

Các chủng vi khuẩn hoặc ADN tách chiết từ các vi khuẩn được nêu ở bảng

2.2.

Bảng 2.2. Các chủng vi khuẩn dùng trong nghiên cứu

Chủng vi khuẩn	Nguồn cung cấp
Chủng <i>B. anthracis</i> chuẩn 34F, 17JB	Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc thú y Trung ương
Chủng <i>B. anthracis</i> phân lập TS1, TS2	Học Viện Quân Y
Chủng <i>B. anthracis</i> VCM-0012, chủng chuẩn <i>B. thuringiensis</i> var <i>kurstaki</i> (<i>Btk</i>), <i>B. cereus</i> (<i>Bc</i>), <i>B. mycoides</i> (<i>Bm</i>)	Phòng Di truyền Vi sinh vật, Viện Công nghệ Sinh học

Vi khuẩn dịch hạch <i>Y. pestis</i> đã bất hoạt	Bộ môn Vi sinh vật, Đại học Y Hà Nội
Các chủng <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> DH5 α , <i>E. coli</i> JM 101, <i>E. coli</i> JM 109, <i>E. coli</i> XL1 Blue và <i>E. coli</i> HB101	Phòng Kỹ thuật Di truyền, Viện Công nghệ Sinh học
Vi khuẩn tả <i>Vibrio cholerae</i> Inaba 389 và Ogawa 395	Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương
Các chủng <i>Salmonella typhi</i>	
Các chủng <i>Shigella. dysenteriae</i> , <i>Shigella. boydii</i> 342, <i>Shigella. flexneri</i> F3a-388, <i>Shigella. flexneri</i> F2b-395, <i>Shigella. flexneri</i> F2a-407, <i>Shigella. sonnei</i> 348, <i>Shigella. sonnei</i> 364, <i>Shigella. sonnei</i> 367, <i>E. coli</i> EPEC, <i>E. coli</i> EHEC, <i>E. coli</i> ETEC, 11 chủng <i>E. coli</i> ký hiệu từ 1-11.	
Các chủng <i>Pseudomonas fluorescens</i> Ps7-1 và <i>Azospirillum</i> sp. DA10-2	Phòng Vi sinh vật học đất, Viện Công nghệ Sinh học

b. Các cặp môi (bảng 2.3)

Bảng 2.3. Trình tự các cặp môi sử dụng trong nghiên cứu

Tên	Trình tự	Kích thước sản phẩm (bp)
Các cặp môi sử dụng trong nghiên cứu <i>Bacillus anthracis</i>		
EWA-1	5'-TATGGTTGGTATTGCTG-3'	167
EWA-2	5'-ATGGTTCCGCCTTATCG-3'	
PA 5	5'- TCCTAACACTAACGAAGTCG -3'	596
PA 8	5'- GAGGTAGAAGGATATACGGT -3'	

1234	5'- CTGAGCCATTAATCGATATG -3'	846
1301	5'- TCCCACTTACGTAATCTGAG -3'	
Cặp môi sử dụng trong nghiên cứu <i>Yersinia pestis</i>		
PLAF	5' ATCTTACTTTCCGTGAGAAG 3'	480
PLAR	5' CTTGGATGTTGAGCTTCCTA 3'	
Các cặp môi sử dụng trong nghiên cứu <i>Vibrio cholerae</i>		
TOXP1	5'-GGCTGTGGGTAGAAAGTGAAACGG-3'	1300
TOXM2	5'-CTTAATTTGCCATACTAATTGCCGC-3'	
HLYA1	5'-GCCAAAACCTCAATCGTTGCG-3'	1100
HLYA2	5'-TGTAAGCTAACCGCTTGCG-3'	
MALATP3	5'-TCTTCCTGCTGGTTCTGATCTCGCG -3'	1400
ALATM6	5'-TTGTGGCAAGCTAAACACGCCCG - 3'	
Cặp môi sử dụng trong nghiên cứu <i>Salmonella typhi</i>		
<i>vipRf</i>	5' GTTATTTTCAGCATAAGGAG 3'	595
<i>vipRr</i>	5' ACTTGTCCGTGTTTACTC 3'	
Các cặp môi sử dụng trong nghiên cứu <i>Shigella</i> spp.		
mdh p9	5'- CTA ACC CGG TTA ACA CCA CAG T-3'	201
mdh p10	5'- GGC AGA ATG GTA ACA CCA GAG T-3'	
1A.251F	5'- GGG ATA GAT CCA GAG GAA GG-3'	624
1A.832R	5'- CCG GAC ACA TAG AAG GAA ACT C-3'	
2A.506F	5'- CTG GCG TTA ATG GAG TTC AG-3'	383
2A.848R	5'- CCT GTC GCC AGT TAT CTG AC-3'	
Prf	5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3'	500
Prr	5'-GCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCC-3'	
ORF-3f	5'-AGCGATCTTACGTCTTG-3'	118
ORF-3r	5'-CGAGATGTGGAGGCAT-3'	

c. Các Kit tách chiết

- TA Cloning Kit (Invitrogen)
- QIAquick[®] PCR Purification Kit (QIAGEN)
- S.N.A.P.[™] Purification Kit (Invitrogen)
- BigDye[®] Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)
- QIA Prep Spin Mini Kit (QIAGEN)

2.2.8.2. Dụng cụ và hoá chất

a. Dụng cụ

- Bộ lọc mẫu vi khuẩn (Santorius): Phễu lọc, giá lọc, ống dẫn, bình thu mẫu và màng lọc khuẩn.

- Máy bơm chân không.

- Ống eppendorf chẩn đoán.

- Máy PCR và bộ điện di agarose.

- Ống ly tâm vô trùng.

- Máy sốc nhiệt.

- Pipet Man, đầu côn các loại cùng một số dụng cụ khác.

b. Hoá chất

Nước sử dụng để pha môi trường, pha các dung dịch và để dùng trực tiếp trong các thí nghiệm được khử trùng và khử ion theo hệ thống xử lý nước Milli-Q Ultrapure (Millipore, Australia), nước sử dụng cho phản ứng PCR là loại siêu tinh khiết do BRL-GIBCO cung cấp.

Agar dùng cho nuôi cấy vi sinh loại A được cung cấp bởi Becton Dickinson và Co., Cockeysville, MD, USA.

Agarosa để kiểm tra sản phẩm PCR được cung cấp bởi FMC Bioproducts, Rockland, MA., USA

Chỉ thị ADN (ADN Marker) và các enzym giới hạn khác cũng như các dung dịch đệm do Invitrogen, New England Biolabs, Inc., Beverley, MA., USA cung cấp.

Một số hoá chất sử dụng khác được cung cấp bởi Sigma Chemical Company (St. Louis, MO., USA), Merck PtyLtd., (Kilsyth, VIC., Australia), BDH Laboratory Supplies và Asia Pacific Speciality Chemical Ltd. Tất cả các hoá chất này được sử dụng và bảo quản đúng theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

c. Môi trường

Môi trường cơ bản LB (Luria-Bertani) dùng trong các thí nghiệm nuôi cấy được pha chế theo công thức:

- Bactotrypton hoặc casein hydrolysate: 10 g
- Cao nấm men (bactoyeast extract): 5 g
- NaCl: 10 g
- Với môi trường LB agar cho thêm agar: 15 g
- H₂O 1l

Môi trường SOB gồm: Trypton (20g/l), Yeast extract (5g/l), NaCl (10 mM), KCl (2,5 mM) và MgCl₂ (10 mM), MgSO₄ (10 mM). MgCl₂ và MgSO₄ được thêm vào sau khử trùng nhiệt độ. Môi trường SOC là SOB có bổ sung thêm 20 mM glucoza sau khi khử trùng.

• Môi trường MPA:		• Môi trường CYS	
Cao thịt	3g	Pepton	10g
Pepton	10g	Cao nấm men	3g
Thạch	20g	Glucoza	7g
NaCl	5g	KH ₂ PO ₄	5g
H ₂ O	1l	MgCl ₂	0,5mM
PH	7-7,2	MnCl ₂	0,5mM
• Môi trường MPB		ZnSO ₄	0,05mM
Cao thịt	3g	FeCl ₃	0,05mM
Pepton	10g	CaCl ₂	0,2mM
NaCl	5g	H ₂ O	1l
H ₂ O	1l		
pH	7-7,2		

- Môi trường RSA là môi trường MPA bổ sung 5% máu thỏ

2.2.8.3. Các phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp tách chiết ADN từ vi khuẩn

Để thực hiện được phản ứng PCR thì thành phần không thể thiếu là ADN làm khuôn. Đối với mỗi loài vi khuẩn sẽ có các phương pháp khác nhau để tách chiết ADN.

Tách chiết ADN từ vi khuẩn *B. anthracis*

Một khuẩn lạc vi khuẩn mọc trên môi trường thạch máu RBA qua đêm được chuyển vào 200µl dung dịch đệm TE (10 mM Tris-HCl [pH 8,0], 1mM EDTA Na), trộn đều, đun sôi trong 20 phút, để nguội ở nhiệt độ phòng, li tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút thu dịch nổi làm khuôn cho chạy PCR.

Tách chiết ADN tổng số từ vi khuẩn *Yersinia pestis*

ADN tổng số của vi khuẩn dịch hạch vô hoạt được tách chiết bằng bộ hoá chất là DNeasy kit của Hãng Qiagen. Qui trình tách chiết được mô tả tóm tắt như sau:

1. Lấy 500 µl sinh khối vi khuẩn, ly tâm 10000 vòng/2 phút, thu được cặn tế bào.
2. Thêm 180 µl ATL vào mỗi ống Eppendorf (dùng đầu côn khuấy tan cặn tế bào). Thêm 20 µl Proteinase-K và 4 µl Rnase-A (nồng độ 100 mg/ml), sau đó lắc đều bằng máy lắc và ủ ở 55°C/2 giờ (thỉnh thoảng lắc trong quá trình ủ).
3. Thêm 200 µl AL, lắc đều 15 phút. Sau đó ủ ở 70°C/10 phút.
4. Thêm 200 µl cồn tuyệt đối (96-100°), lắc đều.
5. Chuyển toàn bộ hỗn dịch sang ống có màng lọc của bộ kit DNeasy (mini column) đem ly tâm ở 13000 v/phút trong 1 phút, bỏ dịch ly tâm bên dưới, giữ lại cột có màng lọc.
6. Cho 500 µl dung môi AW1, đem ly tâm ở 13000 v/phút trong 3 phút, bỏ dịch ly tâm dưới cột.
7. Cho 500 µl dung môi AW2, đem ly tâm ở 13000 v/phút trong 3 phút, bỏ dịch ly tâm dưới cột.
8. Chuyển cột DNeasy mini column đặt vào ống Eppendorf 1,5ml mới có ghi ký hiệu mẫu để lưu giữ. Cho 100 µl AE lên màng lọc trong cột, để ở nhiệt độ phòng một phút, đem ly tâm ở 13000 v/phút trong 1 phút. Dịch ly tâm lúc này chính là ADN tổng số, bảo quản ở nhiệt độ -20°C.

Nồng độ ADN được xác định bằng phương pháp đo độ hấp phụ ở bước sóng 260 nm nhờ máy quang phổ kế (spectrophotometer) GBC UV/visible 911A. Hàm lượng ADN tổng số sử dụng cho mỗi phản ứng PCR (50 µl) là khoảng 100-150 nanogram (ng).

Tách chiết ADN plasmid từ vi khuẩn *Vibrio cholerae*

1. Lấy 1,5ml dung dịch sinh khối vi khuẩn dịch hạch vào ống Eppendorf, ghi ký hiệu cẩn thận.

2. Ly tâm 13.000vòng/phút trong 4 phút để thu cận tế bào.
3. Cho 250µl **P1** vào, trộn đều để hoà tan cận tế bào.
4. Cho vào 250µl **P2**, đảo nhẹ, để nhiệt độ phòng trong 4 phút.
5. Cho vào 350µl **N3**, đóng nắp, đảo nhẹ bằng cách lộn ngược xuôi vài lần.
6. Ly tâm 13.000vòng/phút trong 10 phút. Thu dịch trong bên trên để chuyển sang cột lọc.
7. Ly tâm 13.000vòng/phút trong 1 phút. Đổ bỏ phần nước dưới cột.
8. Cho vào 500µl **PB**, ly tâm 13.000vòng/phút trong 1 phút, bỏ nước ở dưới.
9. Cho vào 750µl **PE**, ly tâm 13.000vòng/phút trong 1 phút, bỏ nước ở dưới, ly tâm 13.000vòng/phút trong 1 phút một lần nữa.
10. Chuyển cột lọc sang ống Eppendorf sạch.
11. Cho 50µl dung dịch thôi ADN (gọi là EB, elution buffer) lên trên màng lọc, để nhiệt độ phòng trong 5 phút, ly tâm 13.000vòng/phút trong 2 phút. Dung dịch bên dưới là ADN plasmit, kiểm tra trên thạch agaroza sau khi cắt bằng enzym giới hạn, và bảo quản ở -20°C cho đến khi cần sử dụng.

Tách chiết ADN tổng số từ vi khuẩn *Yersinia pestis*

- Ly tâm huyền dịch vi khuẩn, loại dịch nổi. Cận tế bào vi khuẩn được hoà lại trong 567 µl TE(10 : 1), bổ sung 32 µl SDS 10% và 3 µl Proteinase K, đảo đều, ủ ở 37°C trong 1 giờ để phá tế bào.
- Bổ sung 180 µl NaCL 5M, ủ 65°C trong 10 phút, sau đó chiết ADN bằng 700 µl dung dịch phenol, ly tâm thu dịch nổi nằm trên lớp xác tế bào, chuyển sang ống Eppendorf mới. Chiết lại ADN bằng cách bổ sung 600 µl *chloroform* : *isoamylalcohol* (24:1), ly tâm thu dịch nổi chuyển sang ống Eppendorf mới.
- Kết tủa ADN bằng cách bổ sung 1/10 thể tích NaOAc 3M pH 5.2 và 2.5 lần thể tích cồn 100%, sau đó tủa ADN ở - 25°C trong 2 giờ.
- Ly tâm loại bỏ dịch nổi, rửa cận ADN bằng cồn 70%, làm khô ADN, sau đó hoà lại cận ADN trong đệm TE chứa *RNase*(100 µg / ml), ủ ở 37°C trong 1 giờ để loại ARN.

Tách chiết ADN tổng số từ vi khuẩn *S. typhi*

Nuôi cấy vi khuẩn *S. typhi* trong 10 ml môi trường LB lỏng (0,5% yeast extract; 1% bacto-pepton; 1% NaCl) ở 37°C, lắc 200 vòng/phút qua đêm.

- Đổ dịch nuôi cấy qua đêm này vào các ống eppendorf 1,5 ml, ly tâm 5000 vòng/phút trong 5 phút, thu lấy tế bào. Trong mỗi ống, trình tự các bước tiếp theo được tiến hành như sau:

- Hoà tan tủa tế bào vào 576 µl dung dịch TE (Tris-HCl 1M, pH = 8; EDTA 0,5 M, pH = 8), sau đó bổ sung 30 µl SDS 10% và 3 µl proteinase K 1% và ủ ở 37°C trong 1 giờ.

- Bổ sung thêm 180 µl NaCl 5M và ủ ở 65°C trong 10 phút.

- Mẫu được lấy ra và đặt ngay trên đá lạnh để tránh đứt gãy ADN genom.

- Ly tâm mẫu ở 13000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C để tủa những phân tử protein có khối lượng phân tử lớn.

- Dịch nổi được trộn đều nhẹ nhàng với 2 ml phenol/chloroform/isoamylalcohol. Sau đó ly tâm 13000 vòng/phút trong 10 phút và chuyển dịch pha trên sang ống eppendorf mới. Quá trình này được tiến hành lặp lại ít nhất 2 lần để loại bỏ hoàn toàn protein có trong mẫu.

- Dịch pha trên chứa ADN genom được tủa bằng 2 lần cồn lạnh tuyệt đối và được thu lại bằng cách ly tâm 13000 vòng/phút trong 10 phút. Tủa ADN được làm khô và hoà lại vào trong 40 µl TE có bổ sung thêm RNase 1%. Mẫu được giữ ở -20°C.

Tách chiết ADN tổng số từ vi khuẩn của *Shigella spp.*

♦ Do tất cả các chủng được sử dụng nghiên cứu đều là vi khuẩn Gram âm, nên tách chiết ADN tổng số của các tế bào *Shigella spp.*, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *V. inaba*, *V. ogawa* P. *fluorescens* Ps7-1 và *Azospirillum sp* DA10-2 được tiến hành theo Masterson và cộng sự [92].

♦ Tách chiết ADN vi khuẩn từ mẫu nước sông ngòi.

Nước sông ngòi tự nhiên có thành phần phức tạp nên được lựa chọn làm mô hình để tiến hành nghiên cứu tách chiết ADN vi khuẩn. Các phương pháp theo Yu-li Tsai và cộng sự [93], Kuske và cộng sự [94] đã được sử dụng trong quá

trình nghiên cứu tách chiết ADN vi khuẩn từ mẫu nước sông ngòi ở Hà Nội. Quy trình như sau:

1. Thu thập mẫu nước (200-400 ml) → 2. Thu sinh khối (qua màng lọc vi khuẩn) → 3. Rửa sinh khối bằng nước vô trùng → 4. Hòa sinh khối vào đệm TEN (350ml), trộn đều → 5. Bổ sung SDS (5%), lắc đều, trộn kỹ và ủ 10 phút → 6. Chiết bằng phenol và Chloroform (3x) → Kết tủa bằng cồn → 7. Rửa sạch ADN bằng cồn 70% → 8. Làm khô chân không → 9. Kiểm tra chất lượng bằng phản ứng nhân bản gen 16S-ARNr.

b. Phương pháp PCR để xác định gen trong vi khuẩn

Sau khi tách được ADN vi khuẩn, công việc tiếp theo là phải nhân được gen cần phát hiện bằng phương pháp PCR và kiểm tra sản phẩm trên gel agarose. Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR và nồng độ gel agarose là khác nhau đối với mỗi loại gen khác nhau.

Xác định các gen của *Bacillus anthracis*

Phản ứng PCR để xác định các gen *rrv*, *cap*, *pag* của vi khuẩn *Bacillus anthracis* được tiến hành ở điều kiện: 94°C trong 2 phút, tiếp theo là 30 chu kỳ khuếch đại (94°C - 1 phút, 55°C - 1 phút, 72°C - 1 phút) và kéo dài ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR (3,5µl) được điện di trên gel agarose 2%.

Xác định các gen *pla* của *Yersinia pestis*

Phản ứng PCR để xác định các gen *pla* của *Yersinia pestis* được tiến hành ở điều kiện: 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ khuếch đại (95°C - 1 phút, 51°C - 1 phút, 72°C - 2 phút) và kéo dài ở 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR (3,5µl) được điện di trên gel agarose 0,8%.

Xác định các gen của *Vibrio Cholerae*

Phản ứng PCR khuếch đại các gen mã hoá Enterotoxin, Hemolysin và Malate dehydrogenaza sử dụng Taq polymeraza được tiến hành với 40 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3 bước. Bước 1: biến tính sợi ADN khuôn ở 94°C trong 1 phút. Bước 2: mỗi kết cặp bổ sung với đoạn gen tương đồng trong ADN khuôn ở 52°C trong 1 phút. Bước 3: tổng hợp, kéo dài chuỗi ở 72°C trong 1 phút 20 giây. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%.

Xác định gen *vipR* của *Salmonella typhi*

Chương trình PCR sử dụng Taq polymeraza được tiến hành với 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3 bước. Bước 1: biến tính sợi ADN khuôn ở 94°C trong 1 phút. Bước 2: mỗi kết cặp bổ sung với đoạn gen tương đồng trong ADN khuôn ở 54°C trong 1 phút. Bước 3: tổng hợp, kéo dài chuỗi ở 72°C trong 40 giây. Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 0,8%.

Xác định các gen của *Shigella*

- ♦ Phản ứng nhân bản các phân đoạn gen mã hóa độc tố Shiga.

Chu trình nhiệt được tiến hành theo Tarr và cộng sự [95]: biến tính 10 phút ở 94°C, chạy 35 chu kỳ theo các bước: 92°C trong 40 giây, 60°C trong 1 phút và 72°C trong 2 phút. Sản phẩm phản ứng được kiểm tra bằng phương pháp điện di agarose 1,5%.

- ♦ Phản ứng nhân bản phân đoạn gen 16S-rADN

Phản ứng được thực hiện với chu trình nhiệt như sau: Giai đoạn đầu, ADN được biến tính ở 95°C trong 1 phút 30 giây, tiếp tục biến tính ở 94°C trong 1 phút, kế tiếp mỗi được gắn ở nhiệt độ 52°C và phản ứng kéo dài chuỗi ở 72°C trong 1 phút 20 giây. Giai đoạn chính được lặp lại 30 lần chu kỳ nhiệt cơ bản giống ở giai đoạn đầu, chỉ khác ở chỗ ADN được biến tính một lần ngay ở nhiệt độ 94°C trong 1 phút, tiếp sau pha cuối cùng phản ứng kéo dài chuỗi được duy trì ở 72°C trong 10 phút và sản phẩm được bảo quản ở 4°C. Kết quả phản ứng được kiểm tra bằng phương pháp điện di agarose 0,8%.

- ♦ Phản ứng nhân bản phân đoạn ORF3 của locus *psa*

Phân đoạn *ORF-3* được thu nhận bằng chu trình nhiệt theo Rafii [96] như sau: biến tính ADN 50 giây ở 94°C, sau đó phản ứng kéo dài 35 chu kỳ nhiệt với các bước 94°C trong 60 giây, 45°C trong 90 giây và 72°C trong 2 phút; ở chu kỳ cuối cùng bước 72°C kéo dài 10 phút. Sản phẩm phản ứng được kiểm tra bằng phương pháp điện di agarose 1,5%.

c. Phương pháp tạo Kit phát hiện các vi khuẩn gây bệnh

Sau khi kiểm tra các sản phẩm PCR, lựa chọn các gen đặc hiệu cho mỗi vi khuẩn đã được phát hiện. Tiến hành tạo Kit phát hiện dựa trên các thành phần và

điều kiện cho phản ứng PCR đã tối ưu. Ngoài ra mỗi bộ Kit cần có thêm Kit âm tính và Kit dương tính làm đối chứng.

Kit phát hiện: Để phát hiện những vi khuẩn tương ứng với gen đặc hiệu.

Kit âm tính: Dùng nước vô trùng hoặc ADN của vi khuẩn khác loài.

Kit dương tính: Sử dụng ADN của vi khuẩn tương ứng.

d. Phương pháp xác định độ nhạy của Kit

Để xác định độ nhạy của Kit, ta sử dụng Kit với các độ pha loãng tế bào hay ADN của vi khuẩn tương ứng. Sau đó xác định nồng độ pha loãng nhỏ nhất mà vẫn có thể phát hiện được vi khuẩn.

e. Phương pháp thu mẫu vi khuẩn từ nước và không khí

Nguyên tắc của phương pháp là làm giàu lượng vi khuẩn cần phát hiện bằng hệ thống thu mẫu. Hệ thống thu mẫu gồm 2 bộ phận chính: Bơm chân không tạo ra sự chênh lệch áp suất trong và ngoài bình lọc, tạo áp lực để không khí (nước đi vào bình lọc), Màng lọc vi khuẩn ($\Phi 0,45\mu\text{m}$) làm ranh giới giữa trong và ngoài bình lọc dùng để thu vi khuẩn đi qua.

f. Một số phương pháp khác

Ngoài các phương pháp chủ yếu đã nêu, chúng tôi còn sử dụng một số phương pháp khác để hỗ trợ cho nghiên cứu bao gồm:

- Phương pháp thử đặc điểm sinh lí sinh hoá của vi khuẩn,
- Phương pháp tạo Kit huyết thanh miễn dịch,
- Phương pháp thử nghiệm Kit trong phòng thí nghiệm,
- Phương pháp tách dòng và đọc trình tự gen.

2.2.9. Nguyên vật liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu chế tạo thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí

2.2.9.1. Nguyên vật liệu

- Mẫu thiết bị ACP (Nga) có trong trang bị của Bộ Tư lệnh hoá học
- Các hoá chất dùng để chế tạo thuốc thử: NH_4Cl , etanol, metanol, H_3BO_3 , H_2O_2 , NaOH , HCl , thuốc thử huỳnh quang, KCl , axit tartric, NH_4Cl

- Các chủng vi sinh vật thử nghiệm:

Escherichia coli (E.coli)

Staphylococcus aureus (Khuẩn tụ cầu)

Bacillus subtilis (Trực khuẩn có bào tử)

Bacillus anthracis (Than)

2.2.9.2. Phương pháp nghiên cứu

- Để phân tích thành phần thuốc thử đã sử dụng các phương pháp sắc ký khí (thiết bị HP6890 - Mỹ), quang phổ hồng ngoại (Nexus 670FT-IR - Mỹ), quang phổ tử ngoại khả kiến (JASCO V530).

- Để chế tạo gia công các chi tiết, bộ phận cơ khí và điện tử của thiết bị đề tài đã phối hợp với một số cơ sở nghiên cứu sản xuất cơ khí điện tử được trang bị các thiết bị thí nghiệm và sản xuất có độ chính xác cao.

2.2.10. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu xử lý môi trường đất, nước, không khí và thực phẩm bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại

2.2.10.1. Chủng vi sinh vật thí nghiệm

Để tiến hành thí nghiệm đã tiến hành thu thập, phân lập các chủng, kiểm tra đặc tính sinh học, giữ trong thạch mềm và đông khô bảo quản các chủng thí nghiệm. Riêng với chủng trực khuẩn Than khi tiến hành thử trong không khí, chúng tôi dùng chủng không độc (nonpathogen) để đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm.

* *Phẩy khuẩn tả* (*Vibrio cholerae* 01, Inaba) :

Chủng được phân lập tại các vụ dịch tại Cần Thơ, An Giang năm 2001.

* *Chủng trực khuẩn lỵ* (*Shigella flexneri*) :

Chủng được phân lập tại các vụ dịch tại Tuyên Quang, Sơn Tây năm 2001

* *Vi khuẩn dịch hạch* (*Y.pestis*) :

Chủng phân lập tại Tây Nguyên năm 1998, 1989 có đủ yếu tố độc lực, loại trừ Murin toxin.

**Vi khuẩn thương hàn* (*Salmonella typhi*) :

Chủng này được tuyển chọn từ các chủng phân lập của Khoa vi sinh vật Viện VSPD-QĐ từ 1997 - 2001 tại các vụ dịch Điện Biên Lai Châu, Mường Tè, Sơn La

** Trục khuẩn than (B.anthraxis) :*

- Chúng phân lập từ bệnh nhân do Khoa vi sinh vật phân lập để tiến hành thí nghiệm khử bằng nhiệt, vi sóng và hoá chất. Chúng không độc dùng cho thử nghiệm gây nhiễm không khí đường khí dung.

- Sản xuất chủng thí nghiệm dưới 2 thể sinh dưỡng và bào tử

2.2.10.2. Môi trường nuôi cấy và phân lập vi sinh vật độc hại

- Môi trường canh thang BHI
- Canh thang kiềm
- Môi trường thạch dinh dưỡng (Muller Hillton)
- Môi trường tạo bào tử than: Casein (tryptic) (50,0g), Cao thịt (10,0g), $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,1g), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05g), $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,03g), K_2HPO_4 (5,0g), KH_2PO_4 (1,0g), Thạch (22,0g), Nước cất (1000ml).

Tất cả hoà tan trong nước bằng cách đun nóng nhẹ, chỉnh pH 7,4, cho vào chai Roux(120ml/chai), hấp vô trùng. Sau khi thạch đông để tủ ấm 37°C / 2 ngày cho khô mặt và kiểm tra vô trùng.

- Tiến hành kỹ thuật :

Cho 2ml chủng giống, láng đều mặt thạch, để 37°C cho đến khi hình thành ít nhất 80% bào tử . Cho 10ml nước cất để gạt chủng. Rửa 3 lần bằng nước cất vô trùng. Ly tâm lấy cặn, cho vào bình vô trùng miệng rộng, bổ xung phụ gia (pha trong đường Lactose 5%) để đạt $5 \cdot 10^9$ bào tử/ml. Đông khô hỗn dịch bào tử theo thường quy.

Kiểm tra tỷ lệ hình thành bào tử bằng nhuộm Gram, nhuộm huỳnh quang và soi kính hàng ngày.

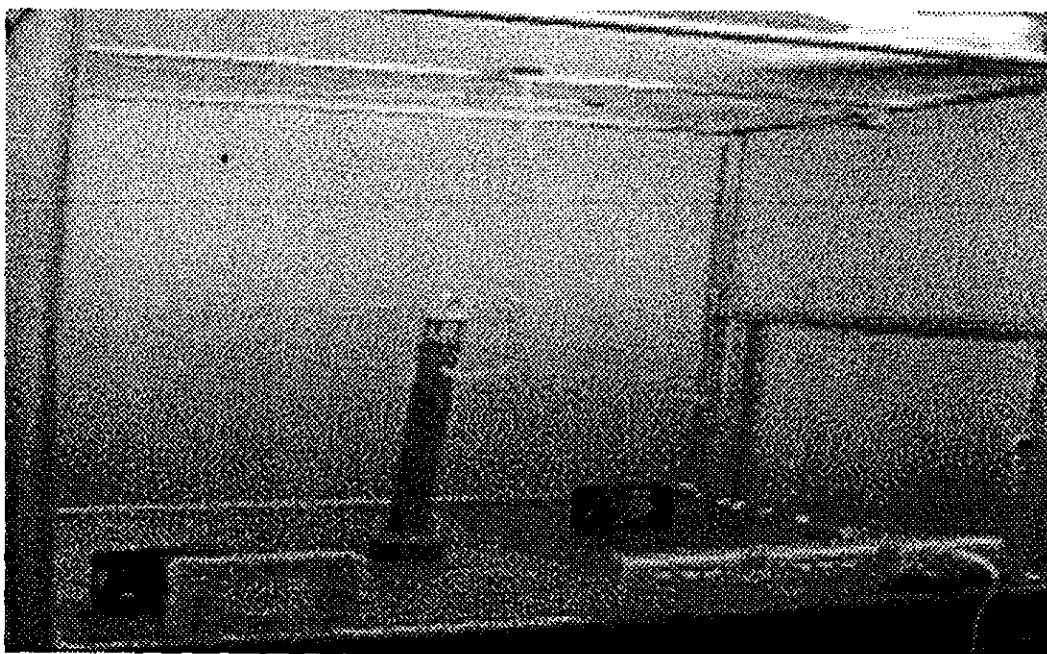
Các bộ thuốc nhuộm kiểm tra vi sinh vật : thuốc nhuộm gram, xanh malachite, hiss, thuốc nhuộm huỳnh quang than, dịch hạch do Khoa Vi sinh Viện VSPDQĐ sản xuất.

2.2.10.3. Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

♦ Buồng sinh học

Để nghiên cứu đã thiết kế, xây dựng buồng tạo khí dung để thử gây nhiễm mầm bệnh Than, dịch hạch trong không khí. Buồng đồng thời được dùng để thử các biện pháp khử khuẩn bằng xông hoá chất.

- Thể tích buồng : $1,000\text{m}^3$
- Buồng có khung nhôm kính, bọc xung quanh bằng kính kín không cho khí thoát và các cửa có gioăng kín
- Có thể tạo độ ẩm theo chỉ số mong muốn
- Buồng có quạt tạo gió để trộn đều khí dung
- Để tạo khí dung đã sử dụng máy tạo khí dung kích cỡ hạt 5,2 micromet (OMRON CX) của Nhật: Chỉ số khí dung 400ml/phút, dung tích sinh khối vi khuẩn : 10ml, kích thước hạt khí dung : 5,2micromet, áp suất phun tối đa : 2,0bar (200kPa), Nhiệt độ tối thiểu : 10°C , tối đa : 40°C , Độ ẩm tối thiểu : 10%, tối đa : 95%
- Việc tạo khí dung vi khuẩn bằng máy tạo khí dung được thực hiện trong buồng thí nghiệm với nồng độ 10^9 CFU/ml , nhiệt độ $20-40^{\circ}\text{C}$, độ ẩm 60-85%.



Hình 2.4. Buồng sinh học tự sản xuất và thiết kế phục vụ cho khử trùng

♦ *Các thiết bị dụng cụ thí nghiệm khác*

- Hotte an toàn mức độ II (Tây ban nha)
- Tủ sấy khô (Tây ban nha)
- Nồi hấp ướT Tomy (Mĩ)
- ống nghiệm các loại
- Micropipetter Gilson (Pháp)
- Hộp chứa các loại đất

♦ *Các loại hoá chất sử dụng khử trùng, tẩy ướ*

- Dung dịch NaClO
- Iodine
- Peroxide hydrogen
- Chlorhexidine
- Quaternary ammonia
- Formaldehyde

2.2.10.4. Các thuật toán sử dụng trong khử trùng, tẩy ướ

* Công thức chuyển đổi giữa °C và °F

$$^{\circ}\text{F} = (^{\circ}\text{C} \times 9/5) + 32$$

$$^{\circ}\text{C} = (^{\circ}\text{F} - 32) \times 5/9$$

- Thời gian chết do nhiệt (TDT: Thermal Death Time) : là thời gian cần thiết diệt bào tử ở nhiệt độ xác định

- Giá trị D : là thời gian cần thiết để bất hoạt hoặc diệt 90 % số lượng vi khuẩn

- Giá trị F: là thời gian tính theo phút diệt toàn bộ bào tử trong chất lỏng khi xử lý nhiệt từ 120°C hoặc 250 ° F.

- Giá trị Z : xác định sự thay đổi nhiệt độ làm thay đổi giá trị D đối với một loại vi khuẩn đặc trưng.

- CT : Hiệu lực của tẩy ướ trong đó C: nồng độ của chất khử trùng, tẩy ướ, T: thời gian cần thiết để bất hoạt tính theo tỷ lệ %

- Giá trị Q10 : là tỷ lệ của giá trị D ở 2 nhiệt độ mà nhiệt độ này cách nhiệt độ tiếp theo 10°C

Cách tính vi khuẩn bị bất hoạt:

$$\text{Hiệu quả diệt khuẩn (\%)} = \frac{\text{CFU* mẫu chứng} - \text{CFU* sau khử trùng}}{\text{CFU* mẫu chứng}} \times 100$$

CFU* (clone forming units): được tính trên cm^2 bề mặt nếu khử trùng bề mặt bao bì bảo quản thực phẩm, hoặc trên g thực phẩm.

2.2.10.5. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp gây nhiễm bào tử than trong không khí bằng máy phun khí dung

Để gây nhiễm bào tử than trong không khí đã sử dụng buồng sinh học (mục 8.2.3). Dùng máy OMRONCX của Nhật Bản để tạo khí dung hỗn dịch vi khuẩn, điều khiển nồng độ, tốc độ phun để đạt 10^9 CFU/ m^3 .

b. Phương pháp khử trùng bằng xông hơi hoá chất (Formaldehyde)

Sau khi bầu không khí trong buồng sinh học đạt 10^9 CFU bào tử Than/ml, đóng kín buồng xông bằng hóa chất Formalin đậm đặc (Formaldehyde 36%) của hãng Merk. Cách xông như sau : Đo lượng hóa chất cần thử , trộn với nước cất theo tỷ lệ 1V hóa chất + 9 V nước (cứ 10ml Formalin cho vào 90ml nước) , cho vào bình xông, đặt bình trên bếp điện, khi toàn bộ hỗn hợp bay hơi hết thì tắt điện (công tác điện ngoài buồng) .

Lấy mẫu tại các thời điểm bằng tăm quét bề mặt buồng rồi cấy vào canh thang dinh dưỡng kiểm tra khả năng sống sót của bào tử.

Để đảm bảo an toàn cho người làm thí nghiệm và cộng đồng buồng thử đặt trong một buồng khác, tất cả cửa đóng kín, dán băng keo các kẽ cửa để không có mầm bệnh thoát ra ngoài. Khi lấy mẫu đeo mặt nạ phòng độc. Kết thúc một thí nghiệm bật đèn cực tím qua đêm để khử khuẩn.

c. Phương pháp gây nhiễm bào tử than trong đất

- Bào tử than được pha với nước muối sinh lý hoặc dung dịch đệm PBS (pH: 7,2) để đạt nồng độ 10^8 CFU/ ml.

- Thử nghiệm được tiến hành trên các hộp chứa các loại đất khác nhau: đất cát, đất mùn, và đất hỗn hợp, đất sét. Hộp chứa đất có kích thước: 20 cm chiều dài, 10 cm chiều ngang và 30 cm chiều sâu = 6000 cm^3

- Trước khi gây nhiễm bào tử than trên môi trường đất, cần đưa toàn bộ hộp đựng đất vào autoclave, hấp ướt ở 121°C / 30 phút để loại bỏ toàn bộ vi khuẩn, ký sinh trùng có trong đất sau đó mới tiến hành gây nhiễm bào tử than.

- Lấy 10 ml bào tử có nồng độ 10^8 CFU/ ml, phun đều trên bề mặt đất có tổng diện tích là 200 cm^2

- Đặt hộp đất ở phòng thí nghiệm (nhiệt độ 20°C – 25°C / 24- 48 giờ

- Lấy 1 g đất ở các vị trí 5 cm, 10 cm, 15 cm, 20 cm (đánh giá độ thấm thấu của vi khuẩn) , trộn đều với 10 ml nước muối sinh lý, lấy 50 μl dàn đều trên mặt thạch và ủ ở 37°C / 24- 48 giờ đọc số lượng khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch (ở mỗi vị trí lấy mẫu cấy vào 3 đĩa thạch và tính số khuẩn lạc trung bình)

Công thức tính số khuẩn lạc trong g đất:

$$\text{CFU/ g đất} = \text{CFU} / 50\mu\text{l} \times 200 \text{ (hệ số pha loãng)}$$

d. Các phương pháp diệt bào tử than trong môi trường đất

* Phương pháp nhiệt

Phương pháp này chỉ có thể áp dụng trong phạm vi môi trường đất nhiễm bào tử than với diện tích hẹp như:

+ khu vực đất nghi ô nhiễm do xác động vật chết vì mắc bệnh

+ do vận chuyển mẫu bệnh phẩm nhiễm trực khuẩn than bị vỡ

+ Môi trường đất bão hoà với nước, khó sử dụng phương pháp khử trùng bằng hoá chất

+ Đất ô nhiễm bào tử than quá rắn, hoá chất không đủ khả năng thấm thấu

* Các bước tiến hành:

- Bóc toàn bộ phần đất có chiều sâu bị nhiễm bào tử than (dựa trên cơ sở đánh giá mức độ thấm thấu của bào tử than trên các hộp gỗ thử nghiệm) hoặc có thể đưa toàn bộ hộp gỗ có kích cỡ 20 cm x 30 cm x 10 cm để tiến hành khử trùng bằng phương pháp nhiệt (autoclave) ở nhiệt độ 121°C ở các khoảng thời gian 10, 20, 30 phút tính từ thời điểm đủ nhiệt độ

- Lấy 1 g đất sau khi đã xử lý ở các vị trí 5, 10, 15 ,20,25,30 cm chiều sâu của hộp cho vào canh thang BHI (Brain heart infusion), ủ ở 37°C / 24 – 72 giờ, đọc kết quả.

- Nhận định kết quả:

+ Nếu canh thang BHI đục, chứng tỏ khử trùng chưa đạt yêu cầu

+ Nếu canh thang trong chứng minh vi khuẩn không phát triển

* Diệt bào tử than trong môi trường đất bằng hoá chất:

- Sau khi gây nhiễm bào tử than trên môi trường đất như trên

- Pha dung dịch formaldehyde (36%) với nước cất để có nồng độ 2%; 4%, 8%, 10 %....

- Phun formaldehyde với các nồng độ này trên bề mặt và sử dụng ống thông kim loại đưa formaldehyde xuống sâu hộp đựng đất có chiều cao 30 cm

- Số lượng khử trùng bề mặt là: 100 ml hoá chất ở các nồng độ formaldehyde khác nhau (2%; 4%; 6%,8%)/ 200 cm² tương đương với 50 lít/ m² với các nồng độ formaldehyde pha loãng khác nhau.

- Chiều sâu cứ 10 cm cho 5 ml formalin ở nồng độ khác nhau.

*Đánh giá hiệu quả diệt bào tử:

+ Sau thời gian 4 giờ, 8 giờ, 10 giờ, sau 12 giờ khử trùng bằng formaldehyde .

+ Lấy 1 g đất (ở các vị trí có chiều sâu 5, 10, 15, 20 cm) trộn đều với 5 ml nước cất khử trùng, lấy 0,1 ml hỗn dịch cấy vào thạch dưỡng.

+ ủ đĩa thạch ở 37°C/ 24- 48 giờ đọc số khuẩn lạc mọc trên đĩa

+ Tính tỷ lệ % bào tử bị ức chế:

$$\text{Công thức tính: } 100 \% \times \frac{\text{CFU/ g không khử trùng} - \text{CFU/ g đất đã khử trùng}}{\text{CFU/ g không khử trùng}}$$

e. Phương pháp khử trùng trong nước

+ Phương pháp đun sôi (100°C)

Các bước tiến hành:

- Cho vào bình nút mài khoảng 10ml hỗn dịch vi khuẩn có 10⁹ CFU/ml có vi khuẩn.

- Đun sôi với khoảng thời gian khác nhau sau đó lấy mẫu (0,1μl) cấy vào canh thang dinh dưỡng, để ở 37°C qua đêm để kiểm tra số vi sinh vật còn sống sót.

+ Phương pháp Tyndall (pasteurization): ở nhiệt độ 60°C

Các bước tiến hành:

- Cho vào các tít (hoặc bình nút mài) khoảng 10ml hỗn dịch vi khuẩn có 10^9 CFU/ml có vi khuẩn. Đun cách thuỷ 60°C. Tại thời điểm định sẵn lấy một vòng dây que cấy, cấy vào canh thang dinh dưỡng, để ủ ấm 37 °C qua đêm.

2.2.11. Nguyên liệu và phương pháp sử dụng để nghiên cứu chế tạo phương tiện bảo vệ cá nhân chống lại tác động của vi sinh vật độc hại theo đường hô hấp

2.2.11.1. Nguyên liệu

- Vật liệu giấy lọc FP của Nga (FP N^o1, FP N^o2, FP N^o3)
- Mex, màng sợi tổng hợp
- Các vật liệu phụ trợ để chế tạo khẩu trang, bán mặt nạ

2.2.11.2. Phương pháp nghiên cứu

a. Phương pháp đánh giá chất lượng vật liệu lọc:

+ Độ dày (mm):

Xác định theo TCVN 5071 - 90 [97]

+ Khối lượng (g/m²):

Xác định theo TCVN 1752 - 86 [98]

+ Sức cản hô hấp (Pa) (trở lực - sức cản đối với dòng khí đi qua):

Xác định theo GOST 10188 -74 (Nga) [99,100]

Điều kiện đo: S = 50 cm² V= 2,5 lít/phút.

+ Hiệu suất lọc sol khí (sương dầu tiêu chuẩn) (%):

Xác định theo GOST 20810 - 75 (Nga) [99,100]

Điều kiện đo: S = 50 cm² ; V = 2,5 lít/ phút; Sương dầu: r = 0,14 ÷ 0,17 μm ; C₀ = 2500 mg/m³ ; Đục kế quang học: FEN 58

b. Phương pháp đánh giá chất lượng khẩu trang, bán mặt nạ

+ Khối lượng (g):

Xác định theo phương pháp cân

+ Độ giảm trường nhìn (%):

Xác định theo TCVN 3154 - 79 [101]

+ Sức cản hô hấp (Pa):

Xác định theo GOST 10188 -74 (Nga) [99,100]

Điều kiện đo: $V = 30$ lít/phút

+ Hiệu suất lọc sol khí (sương dầu tiêu chuẩn) (%):

Xác định theo GOST 20810 - 75 (Nga) [99,100]

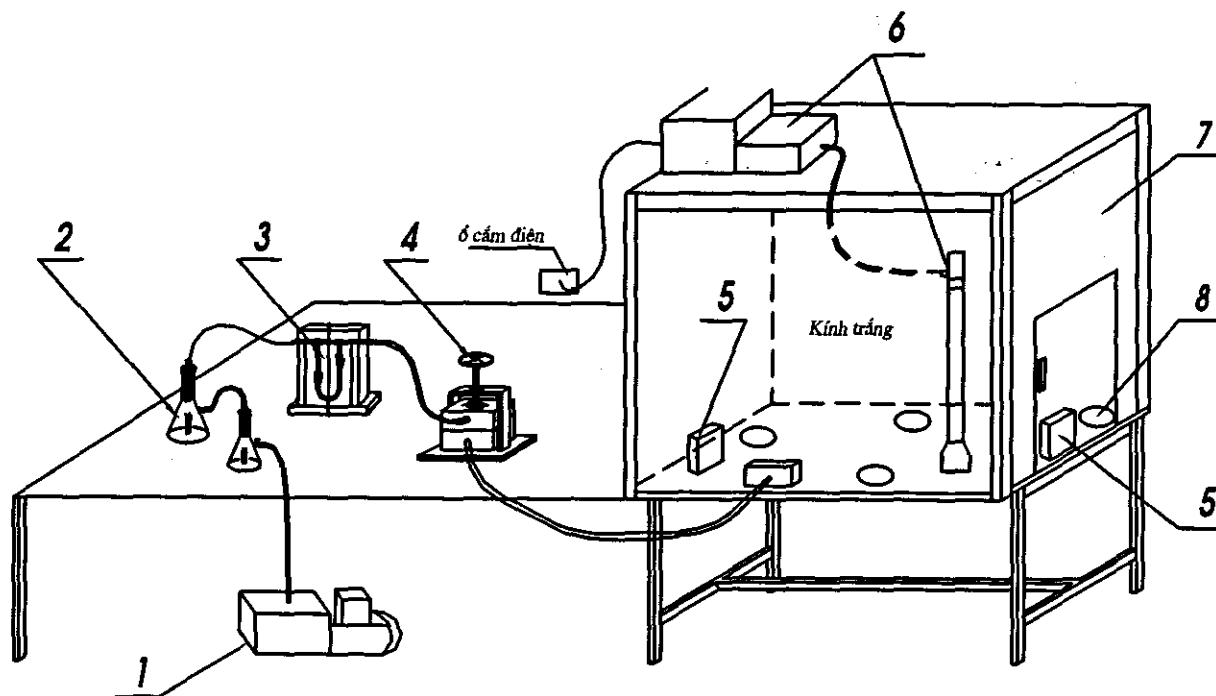
Điều kiện đo: $V = 30$ lít/phút; Sương dầu: $r = 0,14 \div 0,17 \mu\text{m}$; $C_0 = 2500 \text{ mg/m}^3$;

Đục kế FEN 58

c. Phương pháp đánh giá khả năng lọc Sol vi sinh vật của vật liệu lọc, khẩu trang và bán mặt nạ

Qua nghiên cứu thử nghiệm đã thiết kế, chế tạo, lắp đặt và đưa vào thử nghiệm hệ thống thiết bị đánh giá khả năng lọc vi sinh vật. Sau khi lắp đặt đã tiến hành đo thử nghiệm để sửa chữa và hoàn thiện toàn bộ hệ thống thiết bị đánh giá. Qua kết quả thử nghiệm đã xây dựng được qui trình đánh giá hiệu suất lọc vi sinh vật của vật liệu và các phương tiện cá nhân bảo vệ cơ quan hô hấp.

Sơ đồ thiết bị đánh giá hiệu suất lọc vi sinh vật của vật liệu và phương tiện cá nhân bảo vệ cơ quan hô hấp (bán mặt nạ, khẩu trang) được trình bày trên hình 2.5.



Hình 2.5. Sơ đồ nguyên lý hệ thống thiết bị đánh giá hiệu suất lọc vi sinh vật của vật liệu và phương tiện cá nhân bảo vệ cơ quan hô hấp.

1. Bơm chân không

2. Bình lấy mẫu vi sinh vật

5. Quạt phân phối

6. Bộ tạo sol vi sinh vật

3. Thiết bị đo lưu lượng khí

4. Bộ gá mẫu thử

7. Buồng thử

8. Đĩa lấy mẫu vi sinh vật

(vị trí: 4 góc và điểm giữa, mỗi vị trí 2 đĩa)

QUI TRÌNH ĐÁNH GIÁ

1. Hóa chất:

- Dung dịch formalin 36%
- Thạch dinh dưỡng, thạch máu
- Nước muối sinh lý 0,85% tiệt trùng
- Canh thang dinh dưỡng

2. Chủng vi sinh vật:

Vi sinh vật sử dụng trong thử nghiệm là vi khuẩn *Staphylococcus aureus*, Gram (+), hình cầu, kích cỡ 1 μm .

3. Qui trình đo:

Thực hiện thứ tự theo các bước sau:

- Thiết bị được lắp ráp đồng bộ như sơ đồ hình 9.1.
- + Khi đo vật liệu lọc: dùng bộ gá kẹp vật liệu, diện tích vật liệu thử 50 cm^2 , lưu lượng khí thử 2,5 lít/phút.
- + Khi đo khẩu trang, bán mặt nạ: dùng bộ gá chuyên dụng tự chế tạo phù hợp với từng chủng loại, lưu lượng khí thử 30 lít/phút.
- Kiểm tra độ kín của thiết bị
- Tiệt trùng toàn bộ thiết bị bằng dung dịch formalin 36%, định mức 12 - 12 g/m^2 .
- Kiểm tra độ vô trùng của toàn bộ hệ thống.
- Tiến hành đo:
 - + Tạo sol vi khuẩn trong buồng thử bằng bộ tạo sol vi sinh vật 6 (thiết bị phun khí dung). Bật quạt phân phối 5 làm đều nồng độ vi khuẩn trong toàn bộ buồng thử. Sau khi phun xong để ổn định 15 phút. Lấy các đĩa thạch lấy mẫu 8, ủ các đĩa thạch ở nhiệt độ

37°C/ 24 giờ, tính số khuẩn lạc trung bình trên 2 đĩa theo vị trí, từ đó tính số lượng vi khuẩn trong 1m³ không khí theo phương pháp của tác giả Rober Koch.

+ Hút không khí trong buồng thử qua mẫu thử. Thời gian thử nghiệm: 10 phút. Lượng không khí hút được đi qua hệ lấy mẫu gồm 2 bình nước muối vô trùng được nối liên tiếp với nhau. Sau khi hút xong lấy 1 ml nước muối ở mỗi bình cấy vào môi trường thạch dinh dưỡng, kích cỡ đường kính đĩa thạch 9 cm, ủ đĩa thạch ở 37° C/ 24-48 giờ. Đếm số khuẩn lạc có trên đĩa. Xác định các dạng khuẩn lạc có trên đĩa thạch. Mỗi dạng khuẩn lạc cho 3 khuẩn lạc, tăng sinh trên môi trường thạch dinh dưỡng sau 24 giờ, bắt khuẩn lạc xác định lại tụ cầu vàng trên thanh định danh vi khuẩn ID 32 STAPH, đọc kết quả trên máy mini API, nếu kết quả trả lời không phải S.aureus, thì các dạng khuẩn lạc này bị loại bỏ không tính, đồng thời kiểm tra lại độ vô khuẩn của buồng thử.

2.3. MỘT SỐ ĐIỂM MỚI TRONG MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU CỦA ĐỀ TÀI

◆ Đây là 1 trong các đề tài nghiên cứu KH-CN đầu tiên ở trong nước đề cập đến vấn đề nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý sự ô nhiễm môi trường do các chất thải độc hại sinh ra từ hoạt động của các cơ sở sản xuất quốc phòng (các hoá chất có tính nổ, cháy, các hoá chất chuyên dụng độc tính cao...).

◆ Đề tài đã đi sâu nghiên cứu về khả năng phân lập tuyển chọn được từ các mẫu đất, nước bị ô nhiễm lâu năm ở các cơ sở quốc phòng các chủng vi sinh có hiệu lực phân hủy cao đối với các chất thải đặc thù quốc phòng. Trên cơ sở đó có thể chế tạo được các chế phẩm vi sinh có hiệu lực chuyển hoá cao đối với các hợp chất nitro, nitro thơm là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng và thiết lập được 10 quy trình xử lý vi sinh thích hợp đối với các chất thải là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ và một số chất thải đặc thù khác. Đã đi sâu nghiên cứu giải pháp sinh học kết hợp kỵ khí và hiếu khí để xử lý khử trùng triệt để hơn tính độc của các chất thải quốc phòng đặc chủng.

◆ Các quy trình công nghệ sau khi thiết lập đều được thử nghiệm kiểm tra ở quy mô pilot phòng thí nghiệm trước khi triển khai áp dụng trong thực tiễn tại một số cơ sở quốc phòng.

◆ Lần đầu tiên ở điều kiện trong nước đã nghiên cứu phương pháp chế tạo các bộ Kit phân tử (mỗi bộ 2 Kit) dùng để phát hiện chính xác và nhanh so với

các phương pháp truyền thống các vi khuẩn gây bệnh than, dịch hạch, tả, lỵ, thương hàn bằng kỹ thuật PCR, nghiên cứu xây dựng các quy trình sản xuất và sử dụng các bộ Kit này.

- ◆ Lần đầu tiên ở điều kiện trong nước đã nghiên cứu chế tạo 2 loại thuốc thử khả năng có thể sử dụng thay thế cho 2 loại thuốc thử dùng cho máy phát hiện vi sinh vật độc hại ACP của Nga. Nghiên cứu công nghệ sản xuất, thiết kế, chế tạo thiết bị báo động sinh học có tính năng tương đương máy ACP của Nga.

- ◆ Đã nghiên cứu thiết lập các mô hình gây nhiễm, tạo cơ sở để xây dựng và thử nghiệm quy trình xử lý, khử trùng, tẩy uế môi trường đất, nước, không khí, thực phẩm bị nhiễm các vi sinh vật độc hại như than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch, thích hợp với điều kiện Việt Nam.

- ◆ Đã nghiên cứu thiết kế, chế tạo được 2 loại phương tiện phòng hộ cá nhân, đó là loại khẩu trang cá nhân và bán mặt nạ có khả năng lọc vi sinh vật bảo vệ cơ quan hô hấp dưới tác động vi sinh vật độc hại và có thể trang bị đại trà cho toàn dân, toàn quân.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. NỘI DUNG 1 - XÂY DỰNG QUY TRÌNH PHÂN TÍCH PHỤC VỤ MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÂN HỦY SINH HỌC CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

3.1.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Trong những năm gần đây các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại như sắc ký lỏng cao áp (HPLC), sắc ký khí - khối phổ (GC - MS), sắc ký lỏng - khối phổ (LC - MS) và một số phương pháp quang phổ khác đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khoa học công nghệ khác nhau, đặc biệt là trong lĩnh vực môi trường. Với những đặc tính ưu việt về độ nhạy, độ phân giải và độ chính xác cao các phương pháp trên đã được ứng dụng như những phương tiện tin cậy để giám sát và đánh giá hiệu quả các công nghệ xử lý môi trường [51].

Phương pháp HPLC, GC-MS, IR, UV - Vis đã được chúng tôi áp dụng để nghiên cứu quá trình xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng như DNT, TNT, TNR, NG bằng phương pháp hấp phụ [6,7], điện phân [7-10], clo hoá [5], sử dụng năng lượng UV [13], ozon hoá [11,12]. Nhờ kết quả phân tích bằng các phương pháp hoá lý hiện đại đã làm rõ được các vấn đề liên quan đến cơ chế quá trình phân hủy các chất ô nhiễm bởi các tác nhân khác nhau, xác định được sản phẩm quá trình phân hủy, trên cơ sở đó xác lập được cơ sở khoa học để xây dựng các quy trình công nghệ xử lý chúng.

Trong quá trình phân hủy sinh học các chất ô nhiễm hữu cơ, đặc biệt là các hợp chất nitro thơm, các sản phẩm dầu mỡ... thường sinh ra nhiều hợp chất trung gian, trong đó có những chất có thể gây ô nhiễm thứ cấp. Do nồng độ các chất này thường không cao, cũng như tính chất hoá lý của chúng cũng ít có sự khác biệt do đó chỉ bằng các phương pháp hiện đại, có độ nhạy và độ phân giải cao mới có thể theo dõi được sự biến đổi của các sản phẩm này trong quá trình xử lý, mới có thể đánh giá được chính xác hiệu quả quá trình xử lý. Chính vì vậy để đảm bảo cho việc nghiên cứu các giải pháp công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng được tiến hành thuận lợi bước đầu tiên là phải nghiên cứu xây

dụng được các quy trình phân tích các chất thải và sản phẩm phân hủy của chúng bằng các phương pháp hoá lý hiện đại như HPLC, GC, GC-MS...

Trong phần này của báo cáo sẽ giới thiệu kết quả nghiên cứu xây dựng các quy trình phân tích các chất thải quốc phòng đặc chủng như TNT, DNT, TNR, NG và chất Γ bằng phương pháp sắc ký. Phương pháp và kỹ thuật phân tích đã trình bày trong mục 2.2.1.

Từ kết quả thực nghiệm đề tài đã xác định, hoàn thiện một số quy trình phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí, sắc ký khí - khối phổ phục vụ cho việc nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa TNT, DNT, TNR, NG, chất Γ ...

Các điều kiện chính để thực hiện quy trình được trình bày như sau.

3.1.2. Kết quả nghiên cứu quy trình phân tích TNT trong nước thải bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp (HPLC)

3.1.2.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu.

a. Lấy mẫu TNT trong nước thải

TNT trong nước thải ở các công đoạn sản xuất khác nhau có nồng độ cũng rất khác nhau. TNT có nồng độ lớn nhất được xác định ở công đoạn xử lý hồi TNT bằng hơi nước. Nếu nồng độ TNT trong nước thải nhỏ hơn 1mg/l thì phải chiết làm giàu trước khi tiến hành phân tích.

Quá trình tiến hành như sau: Lấy 500 môi trường nước thải chứa TNT cho vào phễu chiết dung tích 1000 môi trường, thêm vào phễu chiết 10ml axeton và 10ml cloroform có độ sạch phân tích. Lắc trong 10 phút sau đó để yên 60 phút cho tách lớp, chiết lấy phần dung môi hữu cơ có chứa TNT để phân tích.

b. Lấy mẫu TNT trong quá trình xử lý bằng phương pháp vi sinh

Trong quá trình nghiên cứu xử lý TNT bằng phương pháp vi sinh đã đưa thêm vào nhiều chất làm môi trường và trong quá trình xử lý tạo nên nhiều bùn lơ lửng do đó không thể xác định trực tiếp. Mẫu phải được ly tâm ở tốc độ cao để tách phần bùn. Nếu ly tâm không tách được thì phải sử dụng màng lọc đặc biệt có kích thước lỗ 0,45 μm , lọc dưới áp lực của xy lanh chuyên dụng.

3.1.2.2. Thiết bị, hoá chất

Để phân tích sử dụng thiết bị sắc ký lỏng cao áp HP1100 (Mỹ) trang bị dedector Diode Array có bước sóng đo $\lambda=190\div 900$ nm.

Dung môi phân tích:

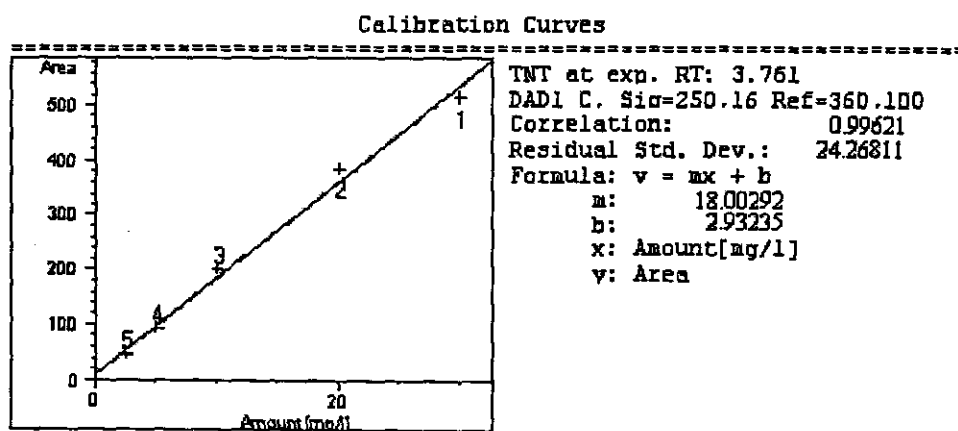
- Cloroform pA
- Axeton pA
- Axetonitril độ sạch sắc ký
- Nước cất 2 lần

3.1.2.3. Điều kiện phân tích sắc ký lỏng cao áp

- Pha tĩnh sử dụng cột spesiorb ODS C18 kích thước hạt 5 μ m.
- Pha động sử dụng hỗn hợp axetonitril: nước tỷ lệ 60 : 40 theo thể tích.
- Tốc độ pha động 0,8 ml/phút.
- Nhiệt độ cột 25°C.
- Tín hiệu đo $\lambda=200$ nm, $\lambda_2=250$ nm, $\lambda_4=350$ nm, $\lambda_5=400$ nm.

3.1.2.4. Xây dựng đồ thị chuẩn ngoại xác định TNT

- Pha 5 dung dịch chuẩn có nồng độ TNT tương ứng là 2,5; 5,0; 10; 20; 50mg/l.
- Xác định trên máy sắc ký lỏng cao áp các diện tích pic tương ứng của từng dung dịch.
- Xây dựng đồ thị chuẩn theo hàm số $S=f(c)$
- Đồ thị chuẩn được trình bày ở hình 3.1.1



Hình 3.1.1. Đồ thị chuẩn xác định TNT

3.1.3. Quy trình phân tích DNT và NG bằng sắc ký lỏng cao áp

3.1.3.1. Phương pháp lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

a. Lấy mẫu DNT trong nước thải

DNT có trong nước thải của các phân xưởng sản xuất thuốc phóng hình cầu và hình ống. DNT hoà tan ít trong nước vì vậy nếu nồng độ DNT có trong nước thải nhỏ hơn 1mg/ cần phải tiến hành làm giàu mẫu. Cách tiến hành như ở phần 3.1.2.1.

b. Lấy mẫu NG trong nước thải

NG có trong nước thải của các phân xưởng sản xuất thuốc phóng 2 gốc: gồm thuốc phóng hình lá, thuốc phóng hình cầu và thuốc phóng hình ống. NG tan trong nước với tỷ lệ 1 : 5000 vì vậy không cần phải làm giàu.

c. Lấy mẫu trong quá trình nghiên cứu xử lý bằng phương pháp sinh học

Lấy mẫu DNT và NG trong quá trình nghiên cứu xử lý bằng phương pháp sinh học tiến hành tương tự như cách đã nêu ở phần 3.1.2.1.(b).

3.1.3.2. Máy móc thiết bị hoá chất

Để phân tích DNT và NG sử dụng các máy móc, thiết bị và hoá chất như đã nêu trong mục 3.3.1.2.

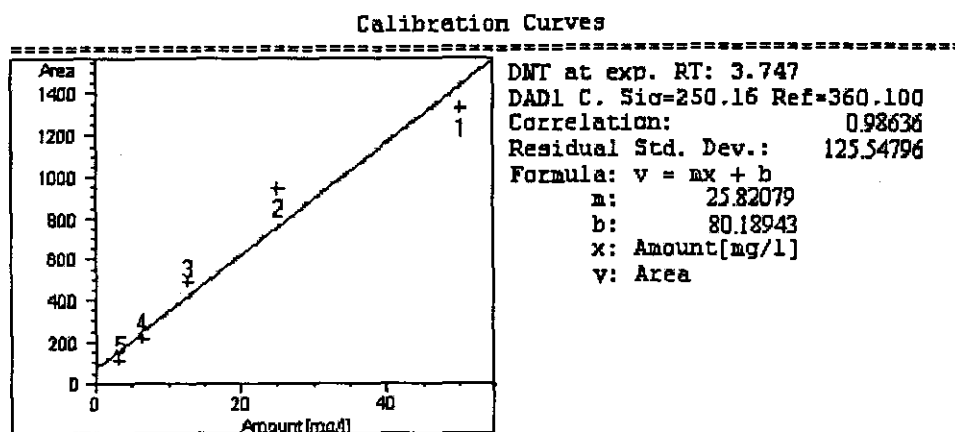
3.1.3.3. Điều kiện phân tích

Điều kiện phân tích như đã nêu trong mục 3.1.2.3.

3.1.3.4. Xây dựng đồ thị chuẩn ngoại xác định DNT và NG

a. Xây dựng đồ thị xác định DNT

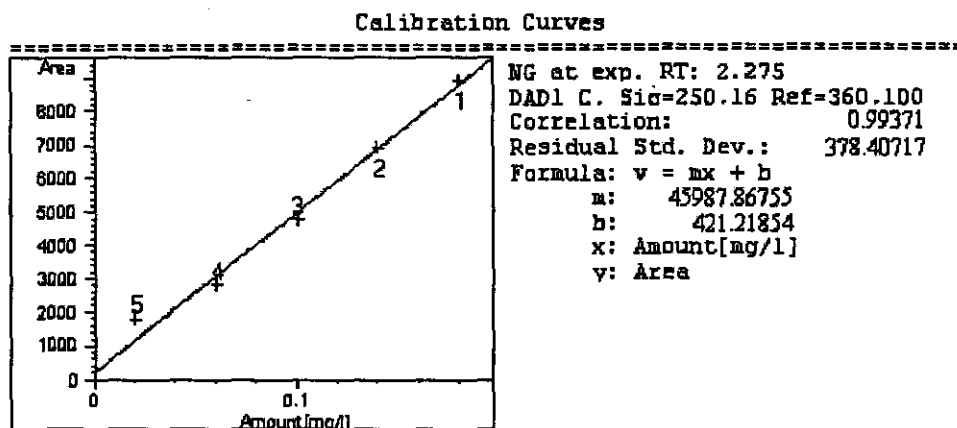
- Pha 5 dung dịch chuẩn có nồng độ DNT tương ứng là 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50mg/l.
- Xác định trên máy sắc ký lỏng cao áp các diện tích pic tương ứng của từng dung dịch.
- Xây dựng đồ thị chuẩn theo hàm số $S=f(c)$
- Đồ thị chuẩn được trình bày ở hình 3.1.2



Hình 3.1.2. Đồ thị chuẩn xác định DNT

b. Xây dựng đồ thị xác định NG

- Pha 5 dung dịch chuẩn có nồng độ NG tương ứng là 0,02; 0,06; 0,1; 0,14; 0,18 g/l.
- Xác định trên máy sắc ký lỏng cao áp các diện tích pic tương ứng của từng dung dịch.
- Xây dựng đồ thị chuẩn theo hàm số $S=f(c)$
- Đồ thị chuẩn được trình bày ở hình 3.1.3.



Hình 3.1.3. Đồ thị chuẩn xác định NG

3.1.4. Quy trình phân tích axit styphnic bằng phương pháp sắc kí lỏng cao áp

3.1.4.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

a. Lấy mẫu axit styphnic trong nước thải

Axit styphnic có trong nước thải của nhà máy sản xuất thuốc môi nổ chì styphnat. Axit styphnic tan nhiều trong nước nên nồng độ của nó trong nước thải khá cao vì vậy không phải làm giàu mẫu.

b. Lấy mẫu axit styphnic trong quá trình xử lý bằng phương pháp vi sinh

Lấy mẫu axit styphnic trong quá trình xử lý bằng phương pháp vi sinh tiến hành tương tự như cách đã nêu ở phần 3.1.2.1.(b).

3.1.4.2. Máy móc, thiết bị và hoá chất

Các máy móc, thiết bị và hoá chất sử dụng để phân tích axit styphnic như phần 3.1.2.2.

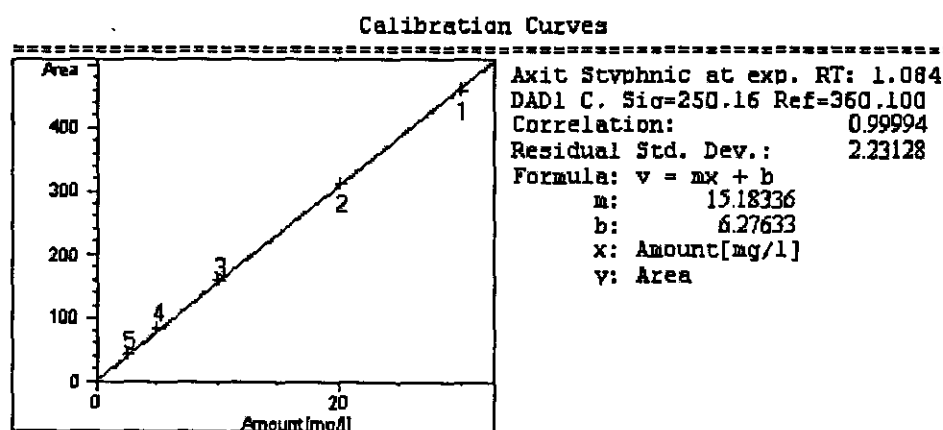
3.1.4.3. Điều kiện phân tích sắc ký lỏng cao áp

- Pha tĩnh sử dụng cột spesiorb ODS C18 kích thước hạt 5 μ m.
- Pha động sử dụng hỗn hợp axetonitril: nước tỷ lệ 60 : 40 theo thể tích.
- Tốc độ pha động 0,8 ml/phút.
- Nhiệt độ cột 25°C.
- Tín hiệu đo λ =200 nm, λ_2 =250 nm, λ_4 =350 nm, λ_5 =400 nm.

3.1.4.4. Xây dựng đồ thị chuẩn ngoại xác định axit styphnic

- Pha 5 dung dịch chuẩn có nồng độ axit styphnic tương ứng là 2,5; 5; 10; 20; 30 mg/l.

- Xác định trên máy sắc ký lỏng cao áp các diện tích pic tương ứng của từng dung dịch. Xây dựng đồ thị chuẩn theo hàm số $S=f(c)$. Đồ thị chuẩn được trình bày ở hình 3.1.4.



Hình 3.1.4. Đồ thị chuẩn xác định Axit styphnic

3.1.5. Quy trình phân tích chất G bằng sắc ký khí

3.1.5.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

Chất G là một thành phần quan trọng của nhiên liệu tên lửa, có 2 thành phần chính là xylidin và triethylamin là các hợp chất dễ bay hơi nên ngay trong quá trình cất giữ ở kho đã gây ô nhiễm không khí.

Trong quá trình phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng xylidin và triethylamin gây ô nhiễm không chỉ không khí mà cả cho nguồn nước và đất.

a. Lấy mẫu xylidin và triethylamin trong không khí

Xylidin và triethylamin tan rất tốt trong các dung môi hữu cơ vì vậy tiến hành lấy mẫu bằng cách hấp thụ trong dung dịch rượu ethylic: nước tỷ lệ 50 : 50 theo thể tích. Sau đó xác định trên máy sắc ký khí với dedector ion hoá ngọn lửa.

b. Lấy mẫu xylidin và triethylamin trong nước

- Xylidin và triethylamin tan rất kém trong nước vì vậy phải tiến hành làm giàu bằng cách chiết với hỗn hợp toluen : rượu ethylic tỷ lệ 70 : 30 theo thể tích.

- Lấy 500 ml mẫu vào phễu chiết dung tích 1000 ml, thêm vào 14 ml toluen và 6 ml rượu ethylic lắc kỹ trong 10 phút. Để yên trong 60 phút sau đó tách lấy phần dung môi hữu cơ. Làm khô phần dung môi hữu cơ bằng 2g Na_2SO_4 khan.

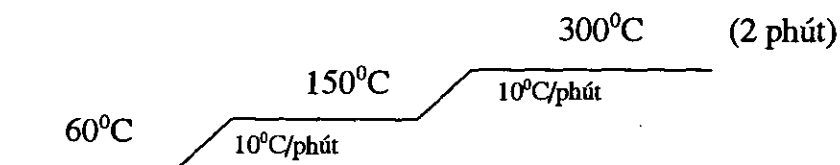
- Xác định nồng độ xylidin và triethylamin trong dung môi bằng sắc ký khí.

3.1.5.2. Máy móc, thiết bị và hoá chất

- Máy sắc ký khí Agilent 6890 N (Mỹ) dedector ion hoá ngọn lửa.
- Toluene pA
- Rượu ethylic pA

3.1.5.3. Điều kiện phân tích sắc ký khí

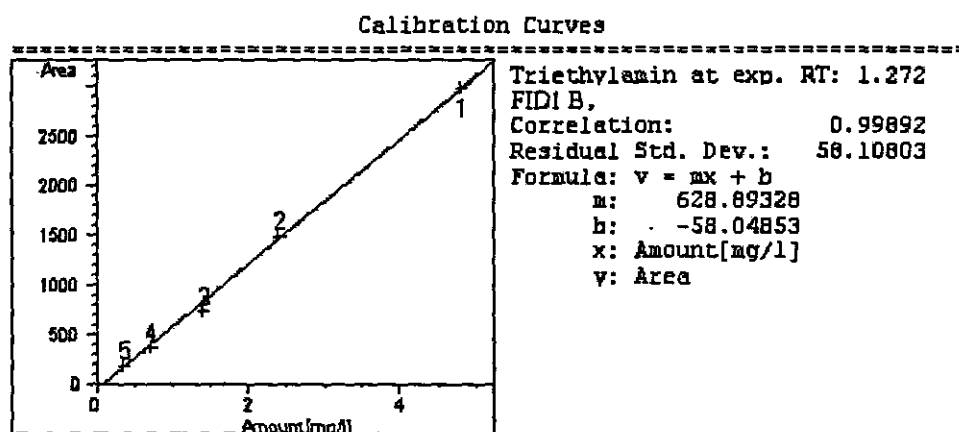
- Cột HP-5% Phenyl Metyl Siloxane, capillary 30,0m x 320 μm x 0,25 μm
- Khí mang nitơ, tốc độ khí mang 4ml/phút.
- Chương trình nhiệt độ:



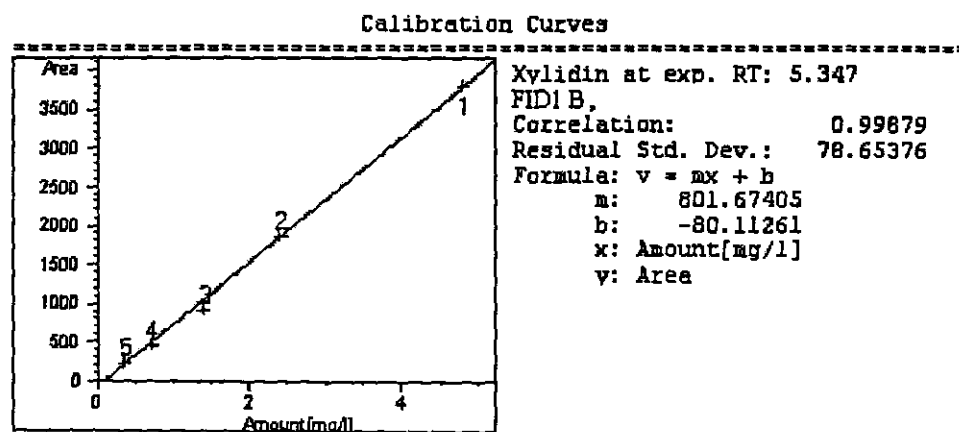
- Chế độ không chia dòng
- Nhiệt độ đầu bơm 280°C
- Nhiệt độ lò 300°C
- Nhiệt độ dedector 320°C

3.1.5.4. Xây dựng đồ thị chuẩn ngoại sắc ký khí xác định xylidin và triethylamin

- Pha 5 dung dịch chuẩn có nồng độ xylidin và triethylamin tương ứng là 0,35; 0,7; 1,4; 2,4; 4,8 mg/l.
- Xác định trên máy sắc ký khí các diện tích pic tương ứng của từng dung dịch.
- Xây dựng đồ thị chuẩn theo hàm số $S=f(c)$
- Đồ thị chuẩn được trình bày ở hình 3.1.5 và 3.1.6.



Hình 3.1.5. Đồ thị chuẩn xác định Triethylamin



Hình 3.1.6. Đồ thị chuẩn xác định Xylidin

3.1.6. Quy trình phân tích TNT, DNT, TNR và các sản phẩm phân hủy sinh học bằng phương pháp sắc ký khí - khối phổ (GC-MS)

3.1.6.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu và lấy mẫu

Các chủng vi sinh vật đã phân lập tuyển chọn (*Stenotrophomonas maltophylic*, *Curvularia prasadii* R.L, B.L Mathus, *Preudomonas aeruginosa*) được nuôi cấy trong môi trường có thành phần khoáng KH_2PO_4 (0,4 g/l), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0,6 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,06 g/l), CaCl_2 (0,08 g/l), FeSO_4 (0,01 g/l), rom (0,1 g/l), bột đậu tương (0,025 g/l), sacaroza (3 g/l), nước (1 lít); được bổ sung TNT, DNT, TNR với nồng độ 30 mg/l. Việc nuôi cấy được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ phòng $30 \pm 2^\circ\text{C}$, trên máy lắc có tốc độ 200 vòng/phút. Sau từng khoảng thời gian là 0, 2, 5 ngày lại lắc máy để xác định lượng TNT, DNT, TNR còn lại và các sản phẩm phân hủy của nó bằng phương pháp GC - MS.

Chuẩn bị mẫu phân tích GC - MS:

- Kiểm tra pH của dung dịch mẫu phân hủy vi sinh
- Siêu âm các dung dịch nuôi cấy trong bể siêu âm khoảng 15 phút

Lắc dung dịch mẫu 3 lần, mỗi lần 30 phút với diclometan (thể tích diclometan bổ sung vào bằng 50% thể tích dung dịch mẫu), tốc độ lắc 300 vòng/phút. Gạn, lọc lấy phần diclometan và lặn khan bằng Na_2SO_4 . Cô đuổi dung môi trên máy cất quay đến khi thể tích $\approx 0,5\text{ml}$. Chuyển vào ống nghiệm, làm bay hơi đến khô phần dung môi còn lại bằng dòng không khí nóng. Định mức chính xác bằng 100 μl MeOH và sau đó tiến hành phân tích xác định thành phần các cấu tử trên thiết bị GC-MS.

3.1.6.2. Thiết bị và điều kiện phân tích

Để xác định TNT, DNT và sản phẩm phân hủy sinh học của nó đã sử dụng thiết bị sắc ký khí - khối phổ GC 6890-MSD 5972A (Mỹ) của Phòng thí nghiệm phân tích Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga.

- Chương trình chạy máy: Nhiệt độ đầu 60°C (giữ 1 phút), tăng $11^\circ\text{C}/\text{phút}$ đến 280°C (giữ ở nhiệt độ này từ 5 - 10 phút).
- Nhiệt độ Injector: 270°C , Interface: 280°C .
- Bơm 1 μl dung dịch mẫu, chế độ Splitless

- Detector hoạt động theo chế độ quét (scan) từ 45 đến 450 Amu.
- Cột phân tích: HP-5, Trace Analysis (30m x 250 μ m x 0,25 μ m)

3.1.6.3. Quy trình phân tích

Sau khi chuẩn bị theo cách thức nêu ở mục 3.1.6.2 bơm 1 μ l dung dịch mẫu vào rồi cho máy chạy theo chương trình đã nêu trong mục 3.1.5.3. Việc phân tích nhận diện TNT, DNT, TNR và các sản phẩm phân hủy vi sinh của chúng được căn cứ vào thời gian lưu (t_R) và thư viện phổ cấu trúc NIST 98.

3.2. NỘI DUNG 2 - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ MỘT SỐ CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

3.2.1. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa TNT, DNT của cơ sở sản xuất thuốc nổ

3.2.1.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Nước thải chứa TNT là loại nước thải phát sinh chủ yếu từ các dây chuyền sản xuất sau:

- Dây chuyền công nghệ thu hồi thuốc nổ từ đầu đạn, bom, mìn kém chất lượng
- Dây chuyền sản xuất thuốc nổ công nghiệp (thí dụ thuốc nổ AD1)
- Dây chuyền nhồi ép thuốc nổ vào đầu đạn và chi tiết nổ...

Nước thải chứa TNT là một trong những nguồn nước thải có lưu lượng lớn và có nguy cơ gây ô nhiễm môi trường diện rộng của ngành CNQP. Đây là loại chất thải nguy hại vì TNT ngoài tính gây nổ còn là chất độc với con người và môi trường. TNT xâm nhập vào cơ thể con người thông qua các con đường: hít thở bụi chứa TNT, qua đường tiêu hoá, hấp thụ qua da. Dấu hiệu đầu tiên đối với con người khi tiếp xúc lâu với TNT là làm máu thay đổi: tổng số tế bào hồng cầu và hàm lượng hemoglobin giảm, xuất hiện tế bào đỏ dị thường, có sự tăng tạm thời khối lượng bạch cầu và lymphocyte, gây dị ứng da, làm vỡ mao mạch, gây chảy máu mũi [17,22,54,58,59,84]. Ở liều lượng cao và thời gian tiếp xúc kéo dài sẽ xuất hiện bệnh nghiêm trọng về máu. Một tác hại khác của TNT đối với cơ thể là gây bệnh vàng da, dẫn đến teo gan, làm suy yếu thận. Ngoài ra, đối với những

người có chức năng gan, mật yếu, bị tổn thương hoặc có tật, sự tiếp xúc quá nhiều, quá dài ngày với thuốc nổ sẽ gây ung thư và các đột biến khác [54,55].

Trong nước thải và chất thải rắn từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ Dinitrotolune (DNT) cũng là một trong những chất ô nhiễm nguy hại. Còn có nhiều giả thiết cho rằng DNT được sinh ra do phản ứng quang hoá các hợp chất có trong thành phần thuốc nổ, đặc biệt là từ TNT. Trong thành phần thuốc phóng, DNT chiếm 10% đối với thuốc phóng hình ống và 1% đối với thuốc phóng hình cầu. Tuy hàm lượng không lớn, song DNT lại là chất rất độc đối với con người và hệ sinh thái. Theo Michael và cộng sự [48], liều LC_{50} (mg/l) trong 96h đối với tảo nước ngọt là 1,5 ; tảo biển: 0,4 ; động vật có xương sống nước ngọt: 0,7 ; động vật có xương sống biển là 0,6 [23].

Chính vì là loại nước thải có tính độc cao cho nên nước thải chứa TNT, DNT là những đối tượng được nhiều nhà khoa học môi trường quan tâm nghiên cứu. Để xử lý nước thải loại này người ta đã áp dụng nhiều phương pháp hoá - lý như: quang hoá, hấp phụ, thiêu huỷ và phân huỷ điện hoá [6]. Tuy nhiên giá thành của các phương pháp này thường cao, do đó việc nghiên cứu tìm kiếm các giải pháp công nghệ khác có giá thành thấp hơn trong đó có giải pháp sinh học là vấn đề có tính cấp bách hiện nay. Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu chế phẩm vi sinh và quy trình sử dụng chế phẩm vi sinh để xử lý nước thải chứa TNT và DNT.

3.2.1.2. Phân huỷ TNT, DNT bằng phương pháp sinh học hiếu khí

a. Phân lập và sơ tuyển các vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNT, DNT

- Từ các mẫu đất bị nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ đã phân lập được 26 chủng VSV có khả năng phát triển được trên môi trường khoáng có bổ sung TNT, DNT như là nguồn hữu cơ duy nhất. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, VSV hoàn toàn có khả năng chấp nhận và chuyển hoá các chất độc là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của 1 số tác giả khác [19,33].

- Trong 26 chủng VSV đã phân lập được có 20 chủng vi khuẩn (chiếm 76,9%), 4 chủng mốc (chiếm 15,4%), còn lại 2 chủng xạ khuẩn (chiếm 7,7%).

- Các chủng VSV khác nhau, khả năng phát triển trên môi trường có TNT, DNT cũng rất khác nhau. Có những chủng phát triển mạnh trên cả 2 cơ chất

nhưng cũng có chủng phát triển tốt trên một trong hai môi trường, môi trường còn lại phát triển bình thường thậm chí có chủng phát triển yếu, điều này nói lên khả năng sử dụng các chất ô nhiễm là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ như là nguồn hữu cơ duy nhất của các chủng khác nhau là rất khác nhau.

- Các chủng có khả năng phát triển mạnh trên môi trường có TNT, DNT được sử dụng để nghiên cứu tiếp về khả năng phân huỷ TNT, DNT của chúng.

b. Khả năng phân huỷ TNT, DNT của các chủng VSV đã phân lập

♦ Khả năng phân huỷ TNT của các chủng đã phân lập

13 chủng VSV phát triển tốt trên môi trường có TNT là nguồn hữu cơ duy nhất được nuôi cấy theo mục 2.2.2.2(b), khả năng phân huỷ TNT được đánh giá thông qua việc xác định lượng TNT còn lại trong môi trường (mục 2.2.2.2(d)).

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Tất cả các chủng phát triển được trên môi trường có TNT như là nguồn hữu cơ duy nhất đều có khả năng phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT, nhưng tùy chủng mà hiệu suất phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT đạt từ 15% đến 87,5%.

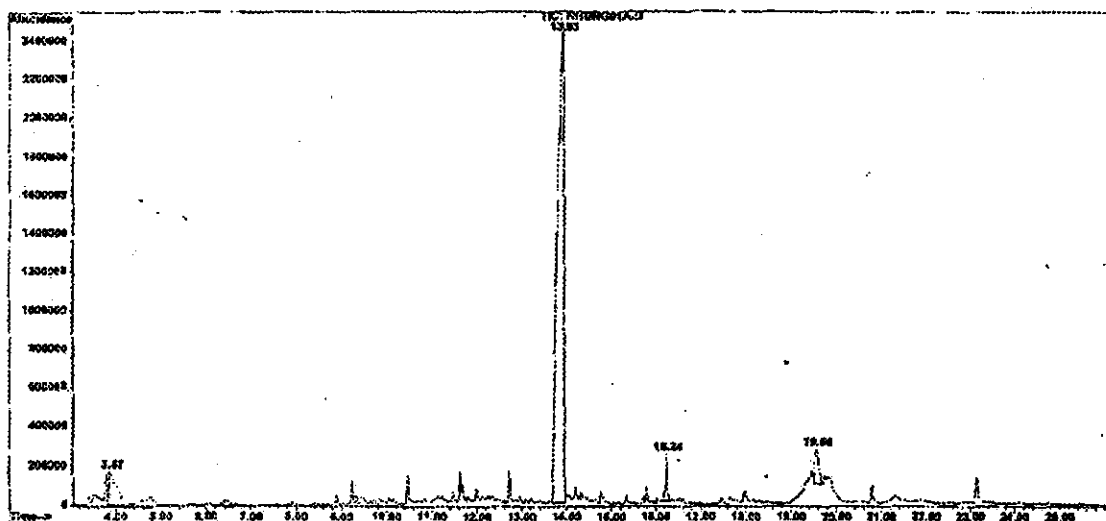
- 5 trong 13 chủng đã thử có khả năng phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT đạt 76,5% trở lên đã được định tên và nghiên cứu tiếp để sản xuất chế phẩm VSV xử lý đất, nước thải bị nhiễm TNT từ các cơ sở sản xuất quốc phòng, đó là các chủng:

1. Chủng Đ2 - *Bacillus stearothermophilus*
2. Chủng Đ10 - *Pseudomonas sp.*
3. Chủng Đ11 - *Alcaligenes sp.*
4. Chủng M1 - *Curvularia prasadii* R.L & B.L. Mathur
5. Chủng 1m - *Stenotrophomonas maltophilia*

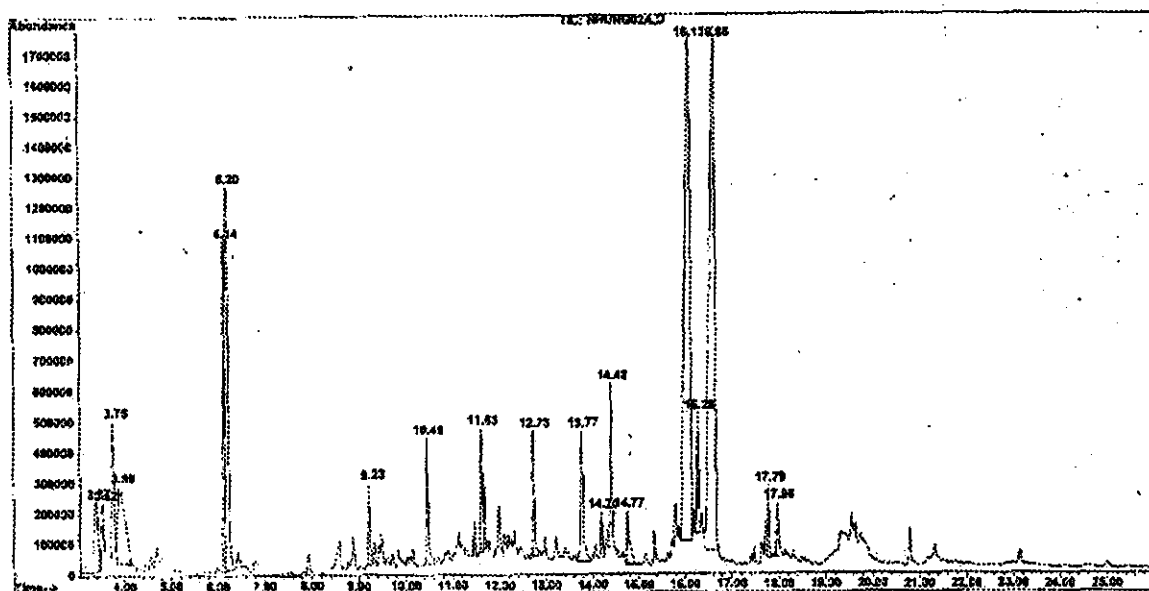
♦ Khả năng phân huỷ TNT của hỗn hợp các chủng vi sinh

Kết quả thử nghiệm cho thấy khi sử dụng hỗn hợp các chủng vi sinh (Đ2, Đ10, Đ11, M1, 1m) chúng ta sẽ đạt được hiệu suất phân huỷ TNT cao hơn nhiều so với khi sử dụng đơn chủng. Bằng việc đo phổ GC-MS đã chứng minh rằng chỉ sau 2 ngày xử lý toàn bộ 100% lượng TNT (35mg/l) có trong dung dịch đã chuyển hoá thành hợp chất 4-amino-2,6-dinitrotoluen (hình 4.1, 4.2), và sau 5

ngày chuyển hoá hết thành các hợp chất ít độc với môi trường. Chính vì vậy để chế tạo chế phẩm vi sinh chúng tôi sẽ sử dụng hỗn hợp 5 chủng vi sinh vật này.



Hình 3.2.1. Sắc đồ GC của dung dịch TNT trước xử lý



Hình 3.2.2. Sắc đồ GC của dung dịch TNT sau 2 ngày xử lý

♦ Khả năng phân huỷ DNT của các chủng đã lựa chọn

18 chủng VSV phát triển tốt trên môi trường có DNT là nguồn hữu cơ duy nhất được nuôi cấy theo mục 2.2.2.2(b), khả năng phân huỷ DNT được đánh giá thông qua việc xác định lượng DNT còn lại trong môi trường (mục 2.2.2.2(d)).

Kết quả cho thấy:

- Tất cả các chủng có khả năng phát triển trên môi trường bổ sung DNT như là nguồn hữu cơ duy nhất đều có khả năng phân huỷ và chuyển hoá DNT, tùy từng chủng mà hiệu suất phân huỷ hoặc chuyển hoá khác nhau. Chủng có khả năng chuyển hoá DNT mạnh nhất là 1m (84,0%) và chủng chuyển hoá thấp nhất là Đ5 (35,0%).

- 6 chủng có khả năng phân huỷ hoặc chuyển hoá DNT đạt hiệu suất 75% trở lên đã được định tên và được nghiên cứu tiếp để sản xuất chế phẩm là:

1. Chủng Đ1 - *Pseudomonas sp2*.
2. Chủng Đ2 - *Bacillus stearrowthermophilus*
3. Chủng 1m - *Stenotrophomonas maltophilia*
4. Chủng M1 - *Curvularia prasadii* R.L & B.L. Mathur
5. Chủng D5 - *Bacillus cereus*
6. Chủng D13 - *Pseudomonas aeruginosa*

Trong các chủng VSV đã thử nghiệm và định tên, chủng *Stenotrophomonas maltophilia* (1m) là chủng có khả năng phân huỷ mạnh cả TNT và DNT do đó ở các bước tiếp theo chúng tôi chỉ sử dụng chủng này để thí nghiệm.

Cũng như trong trường hợp TNT việc sử dụng hỗn hợp chủng vi sinh (Đ1, Đ13, 1m, M1) đã cho phép nâng cao đáng kể hiệu suất phân huỷ DNT so với khi sử dụng đơn chủng. Khi sử dụng hỗn hợp này sau 5 ngày xử lý toàn bộ lượng DNT có trong dung dịch đã được chuyển hoá, phân huỷ hết thành các sản phẩm không độc với môi trường.

Qua kết quả các thí nghiệm nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh tới quá trình phân huỷ TNT, DNT của VSV có thể rút ra điều kiện thích hợp cho các quá trình phân huỷ được trình bày trong bảng 3.2.1.

Bảng 3.2.1. Điều kiện thích hợp cho quá trình phân huỷ vi sinh TNT, DNT

Các yếu tố MT	Đối với TNT	Đối với DNT
Hỗn hợp khoáng (g/l)	1,15	1,15
Lignin (g/l)	0,1	0,1
Sacarosa (g/l)	3,0	3,0

Bột đậu tương (g/l)	0,025	0,025
pH môi trường	6,0 - 8,0 (opt: 7)	6,0 - 8,0 (opt: 7)
Chất ô nhiễm (mg/l)	≤ 35	≤ 30
Chế phẩm VSV (%)	0,1	0,1
Nhiệt độ	$30 \pm 5^{\circ}\text{C}$	$30 \pm 5^{\circ}\text{C}$
Thời gian xử lý (ngày)	3 - 4	3 - 4

Tuy nhiên có một hiện tượng là sau khi lên men để phân huỷ TNT, DNT nước thải trở nên đục hơn. Chỉ số BOD, COD vẫn còn cao vì sinh khối VSV và các sản phẩm trao đổi chất của chúng cho nên chưa thể thải ngay ra môi trường mà phải qua quá trình keo tụ, lắng, lọc và làm trong nước thải.

Nhiều thí nghiệm đã được tiến hành để lựa chọn chất keo tụ thích hợp. Kết quả cho thấy, đối với nước thải đã lên men phân huỷ TNT, DNT có pH ≥ 8 , khi dùng chất keo tụ là phèn chua với nồng độ 0,05% sẽ đạt được kết quả là nước thải trong, các chỉ số COD, BOD giảm đạt được tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN) (bảng 3.2.2).

Bảng 3.2.2. Ảnh hưởng của quá trình keo tụ, lắng lọc tới giá trị COD, BOD

Thời điểm xác định	COD (mg/l)	BOD ₅ (mg/l)
Sau lên men	220	43,9
Sau keo tụ, lắng, lọc	96	26

c. Nghiên cứu quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh hiếu khí

Chất được lựa chọn để làm chất mang trong sản xuất chế phẩm VSV hiếu khí xử lý môi trường phải là những chất có cấu trúc xốp, giữ được độ ẩm và thoáng khí, giữ được số lượng VSV ổn định trong thời gian bảo quản, không gây độc với VSV và VSV có khả năng phân huỷ dễ dàng, tránh tình trạng sinh thêm chất thải mới gây ô nhiễm môi trường. Trên cơ sở các nghiên cứu đặc điểm sinh lý, sinh hoá VSV và các yêu cầu cần thiết cho chất mang, chúng tôi chọn cellulosa làm chất mang khi sản xuất chế phẩm. Mặt khác theo các nghiên cứu của chúng tôi và của một số tác giả nước ngoài [21,23], các VSV có khả năng phân huỷ TNT, DNT cũng có thể phân huỷ xelluloza và lignin rất tốt. ở đây, chúng tôi chọn nguồn cơ

chất mang (CM) là rom, trấu, mùn cưa và các phụ phẩm này được trộn theo những tỷ lệ khác nhau và có độ ẩm tương ứng 30 - 50%.

Sản xuất chế phẩm theo mục 2.2.2.5, giữ ở nhiệt độ phòng ($30 \pm 20^\circ\text{C}$), cứ sau 2 tuần kiểm tra số lượng VSV một lần, kết quả đã chọn được chất mang có khả năng giữ lượng vi sinh vật dao động trong khoảng $10^7 - 10^{11}$ CFU/g sau 6 tuần và sau 24 tuần số lượng vi sinh vật vẫn tương đương số lượng vi sinh vật bổ sung vào ban đầu.

Thông thường, chất mang thường chỉ là vật mang bào tử hoặc sinh khối VSV mà không làm thay đổi số lượng của chúng. Tuy nhiên chất mang của chúng tôi ở đây lại là một cơ chất cho VSV sinh trưởng và các VSV trong chế phẩm của chúng tôi ở đây có thể sinh trưởng trong điều kiện bảo quản này cho thấy chúng có thể phù hợp trong việc lên men rắn và hữu ích cho quá trình xử lý đất ô nhiễm.

Căn cứ vào sự thay đổi số lượng VSV trong các chế phẩm, chúng tôi đã chọn được chất mang thích hợp cho chế phẩm phân huỷ sinh học TNT và DNT là hỗn hợp mùn cưa: trấu có tỉ lệ 1:1 (theo trọng lượng).

♦ Quy trình sản xuất chế phẩm VSV hiếu khí phân huỷ TNT và DNT (TSF và DSF)

*** Sản xuất giống VSV:**

Các chủng vi sinh vật phân huỷ mạnh TNT và DNT đã sử dụng để sản xuất chế phẩm được ghi trong bảng 3.2.3.

Bảng 3.2.3. Các chủng vi sinh dùng để sản xuất chế phẩm

Chế phẩm dùng cho TNT (TSF)	Chế phẩm dùng cho DNT (DSF)
1. Đ11: <i>Alcaligenes sp.</i>	1. Đ1: <i>Pseudomonas sp.</i>
2. Đ2: <i>Bacillus stearothermophilus</i>	2. Đ13: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
3. Đ10: <i>Pseudomonas sp.</i>	3. 1m: <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
4. 1m: <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4. M1: <i>Curvularia prasadii</i> R. L. & B. L.
5. M1: <i>Curvularia prasadii</i> R. L. & B. L.	Mathus
Mathus	

Các VSV trên được nuôi riêng rẽ trong môi trường dịch thể có thành phần (g/l): khoáng hỗn hợp - 1,15; lignin - 0,1; saccarose - 3; bột đậu tương - 0,025; pH - 7, trên máy lắc 200 vòng/phút trong 3 ngày ở nhiệt độ - $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Trộn lẫn các giống riêng rẽ cho bước tiếp theo của quá trình sản xuất chế phẩm (giống VSV).

*** Sản xuất chất mang:**

Mùn cưa, trấu được xử lý bằng cách đun trong dung dịch kiềm đặc trong 3 giờ để loại tạp chất, sau đó được rửa sạch đến pH trung tính, sấy khô.

Hỗn hợp mùn cưa, trấu được trộn theo tỷ lệ 1:1, khử trùng ở 121°C trong 30 phút, sấy khô ở 100°C trong 3 giờ. Hỗn hợp này sẽ được dùng làm chất mang để sản xuất chế phẩm.

*** Sản xuất chế phẩm:**

Trộn đều giống VSV vào chất mang theo tỷ lệ 1:1 (trọng lượng / trọng lượng), bao gói trong túi polyethylene 2 lớp, dán kín, bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

d. Sơ đồ quy trình xử lý nước thải chứa TNT, DNT bằng kỹ thuật hiếu khí

Từ tài liệu [61,62] và kết quả các thí nghiệm (mục 3.2.1.2) có thể đề xuất quy trình xử lý nước thải chứa TNT, DNT theo các bước sau (sơ đồ hình 3.2.3):

- Nước thải có chứa TNT, DNT có nồng độ $\leq 35\text{mg/l}$ và $\leq 30\text{mg/l}$ (tương ứng) được gom vào bể điều hoà (1), tại đây pH nước thải được chỉnh về trung tính bằng H_2SO_4 hoặc NaOH .

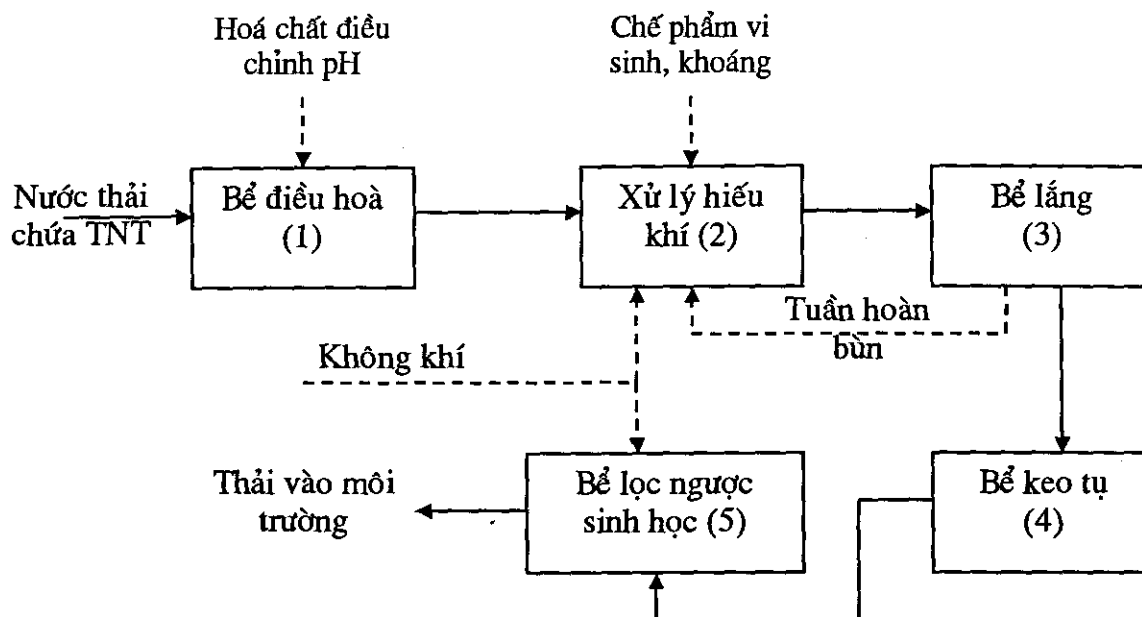
- Nước thải đã chỉnh pH được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học hiếu khí (2), tại đây bổ sung thêm khoáng và chế phẩm sinh học (TSF và DSF) với tỷ lệ 0,1%, sục khí liên tục 5 ngày với tốc độ dòng khí $30 \text{ m}^3/\text{giờ}$.

- Chuyển nước thải ra bể lắng (3), để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ (4), tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sao cho $\text{pH} \geq 8$, khuấy đều, để lắng 24 giờ. Phần cặn của bể lắng sau xử lý sinh học hiếu khí được tuần hoàn lại hệ thống sinh học hiếu khí.

- Phần nước trong sau keo tụ được lọc qua hệ thống lọc ngược sinh học (5) với các lớp vật liệu lọc kích thước hạt khác nhau. Có thổi khí nhẹ để tăng hiệu quả

quá trình lọc. Nước thải lúc này có thể thải ra môi trường với các chỉ tiêu đạt nước thải loại B (theo TCVN): COD - 93mg/l; BOD - 28,7mg/l;.

- Phần cặn của bể keo tụ được tách ra để xử lý riêng bằng chôn hoặc đốt.



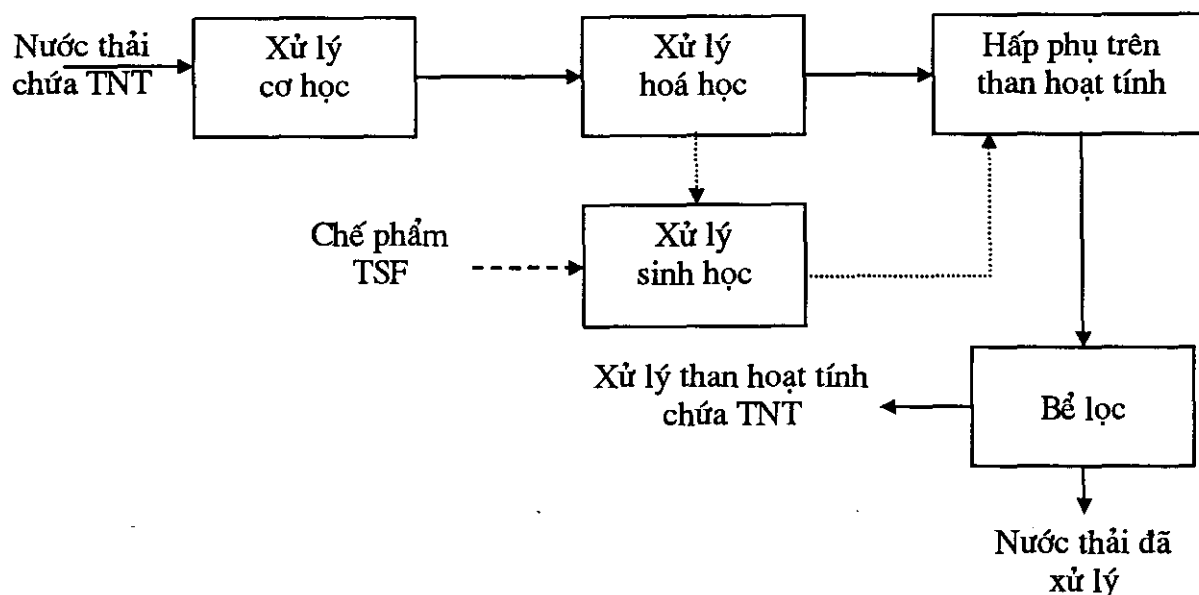
Hình 3.2.3. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa TNT, DNT

e. Áp dụng thử chế phẩm sinh học để nâng cao hiệu quả các công trình xử lý nước thải công nghiệp chứa TNT đã triển khai tại các cơ sở quốc phòng

Như trong chương 1 đã giới thiệu, công nghệ xử lý nước thải chứa TNT đã triển khai tại các cơ sở quốc phòng cho đến nay chủ yếu dựa trên cơ sở các giải pháp hoá lý, trong đó TNT được tách khỏi nguồn thải bằng chất hấp phụ là than hoạt tính. Công nghệ này có ưu điểm là vừa đơn giản vừa có khả năng loại bỏ khá triệt để chất ô nhiễm TNT khỏi nước thải nhưng có hạn chế là giá thành xử lý cao (chủ yếu do than hoạt tính có giá thành cao). Đồng thời cần phải có bổ sung công đoạn hậu xử lý các chất hấp phụ đã sử dụng để hấp phụ TNT. Để giảm giá thành xử lý cần phải tìm biện pháp giảm lượng than hoạt tính dùng để hấp phụ TNT. Điều này chỉ thực hiện được bằng cách áp dụng các giải pháp giảm nồng độ TNT trong dung dịch nước thải trước khi cho qua hệ thống hấp phụ.

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu đã nêu trên đề tài đã thử nghiệm bổ sung thêm công đoạn xử lý sinh học (sử dụng chế phẩm TSF, DSF) trước khi xử lý hấp

phụ. Do lưu lượng nước thải xử lý là tương đối lớn ($>40 \text{ m}^3/\text{h}$) do đó không thể thực hiện đầy đủ 1 chu trình xử lý sinh học (khoảng 5 ngày) như ở điều kiện phòng thí nghiệm. Tuy nhiên các kết quả thử nghiệm trên các dây chuyền công nghệ đang hoạt động tại cơ sở quốc phòng cho thấy việc bổ sung thêm công đoạn xử lý sinh học có sử dụng chế phẩm TSF, DSF trước khi thực hiện việc tách TNT bằng hấp phụ (sơ đồ hình 3.2.4) đã cho phép giảm đáng kể lượng hoá chất dùng cho xử lý (giảm gần 1/2 lượng hoá chất dùng cho công đoạn xử lý hoá học, 1/3 lượng than hoạt tính và 1/5 lượng các chất keo tụ).



Hình 3.2.4. Sơ đồ công nghệ xử lý nước thải chứa TNT tại Z1 - TCCNQP

3.2.1.3. Phân huỷ TNT bằng phương pháp sinh học ki khí kết hợp hiếu khí

Các thí nghiệm của chúng tôi để tìm các VSV có khả năng chuyển hoá TNT dưới điều kiện hiếu khí đã đạt được kết quả khả quan đối với nước thải có nồng độ TNT không lớn ($\leq 35 \text{ mg/l}$). Các kết quả nghiên cứu này có thể áp dụng để xử lý nước thải chứa TNT ở những nơi có mặt bằng rộng, lượng nước ô nhiễm không lớn và nồng độ chất ô nhiễm trong nước không cao. Tuy nhiên, với những nơi có nồng độ TNT trong nước cao hơn 35 mg/l , mặt bằng sản xuất cũng như xử lý hẹp, thì phân huỷ hiếu khí chưa đáp ứng được yêu cầu. Bởi trong điều kiện này không đạt được mục tiêu phân huỷ triệt để chất ô nhiễm, trong dung dịch còn tồn tại

nhiều sản phẩm trung gian có độc tính với môi trường. Trong khi đó các giải pháp kỵ khí thường có khả năng khoáng hoá TNT triệt để hơn. Đây chính là cơ sở để chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng chuyển hoá TNT trong điều kiện kỵ khí kết hợp hiếu khí nhằm khắc phục những hạn chế của phương pháp hiếu khí đã nói trên và tạo ra được quy trình áp dụng cho những nơi nước bị ô nhiễm TNT cao, mặt bằng xử lý hẹp.

Để xây dựng quy trình xử lý nước thải chứa TNT bằng phương pháp sinh học kỵ khí, chúng tôi cố gắng lựa chọn tập đoàn VSV kỵ khí có khả năng chuyển hoá TNT cao và đã tiến hành nghiên cứu các yếu tố ngoại cảnh ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất chuyển hoá TNT của VSV, trong đó có các yếu tố chính sau: nhiệt độ, pH, thời gian nuôi cấy, nồng độ chất ô nhiễm và VSV. Sau đây là một số kết quả đã nghiên cứu.

a. Lựa chọn tập đoàn vi sinh vật kỵ khí có khả năng chuyển hoá TNT cao

Các tài liệu tham khảo [52,53,63 - 66] và thực nghiệm cho thấy, xử lý TNT bằng hỗn hợp VSV có hiệu quả và triệt để hơn dùng đơn chủng. Chúng tôi không tiến hành theo hướng phân lập đơn chủng các VSV kỵ khí mà lựa chọn tập hợp chủng trong bùn hoạt tính có nguồn gốc khác nhau, đó là: bùn ao, bùn cống nước thải sinh hoạt, bùn sông Tô Lịch, bùn đáy kênh thoát nước của cơ sở chế biến thực phẩm Tương Mai. Tiến hành thí nghiệm trong thiết bị kỵ khí ELE.

Khả năng chuyển hoá TNT của các loại bùn được đánh giá bằng sự thay đổi nồng độ của TNT trong môi trường sau 5 ngày nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong 4 loại bùn hoạt tính đã lựa chọn, bùn lấy từ kênh thoát nước thải của cơ sở chế biến thực phẩm có khả năng chuyển hoá TNT mạnh nhất. Loại bùn này có những chất hữu cơ là sản phẩm phân huỷ các thức ăn thừa và phụ phẩm trong quá trình chế biến súc sản, nơi đây vi khuẩn khử sulphat, một loại vi khuẩn có khả năng sử dụng TNT như nguồn nitơ duy nhất [22] phát triển mạnh. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của một số tác giả đã công bố [65 - 67]: sulfidogenic bacterium có khả năng phát triển trên môi trường có TNT là nguồn nitơ duy nhất và do đó nó có khả năng chuyển hoá TNT mạnh. Theo Boopathy và Kulpa [67] thì vi khuẩn khử sulphat này là *Desulfovibrio* species (chủng B) phân lập được từ bùn cặn của nhà máy sản xuất thức ăn.

b. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến hiệu suất chuyển hoá kị khí TNT của VSV

Đã nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ, pH ban đầu, thời gian nuôi cấy vi sinh vật, nồng độ chất ô nhiễm tới hiệu suất phân hủy TNT. Kết quả thực nghiệm cho thấy các yếu tố môi trường ảnh hưởng lớn tới hiệu suất chuyển hoá TNT của vi sinh vật kị khí. Môi trường khoáng sunfit là môi trường thích hợp cho sự phân hủy TNT kị khí. Điều kiện thích hợp cho hiệu suất chuyển hoá tối đa là: nhiệt độ 40°C, pH 8, thời gian nuôi cấy 2 -5 ngày tùy nồng độ TNT. Nếu nồng độ TNT cao (>100 mg/l) có thể điều chỉnh lượng bùn hoạt tính (VSV) trong bình ủ để rút ngắn thời gian lên men. Để TNT được chuyển hoá hoặc phân hủy hoàn toàn có thể bổ sung thêm công đoạn xử lý hiếu khí sau khi xử lý kị khí.

Kết quả phân tích HPLC và GC-MS của dung dịch chứa TNT đã được xử lý bằng kỹ thuật sinh học kết hợp kị khí với hiếu khí cho thấy sau 8 ngày xử lý, trong dung dịch không còn phát hiện được các sản phẩm trung gian có tính độc hại như trong trường hợp chỉ có xử lý hiếu khí.

c. Quy trình xử lý nước thải chứa thuốc nổ bằng phương pháp kị khí

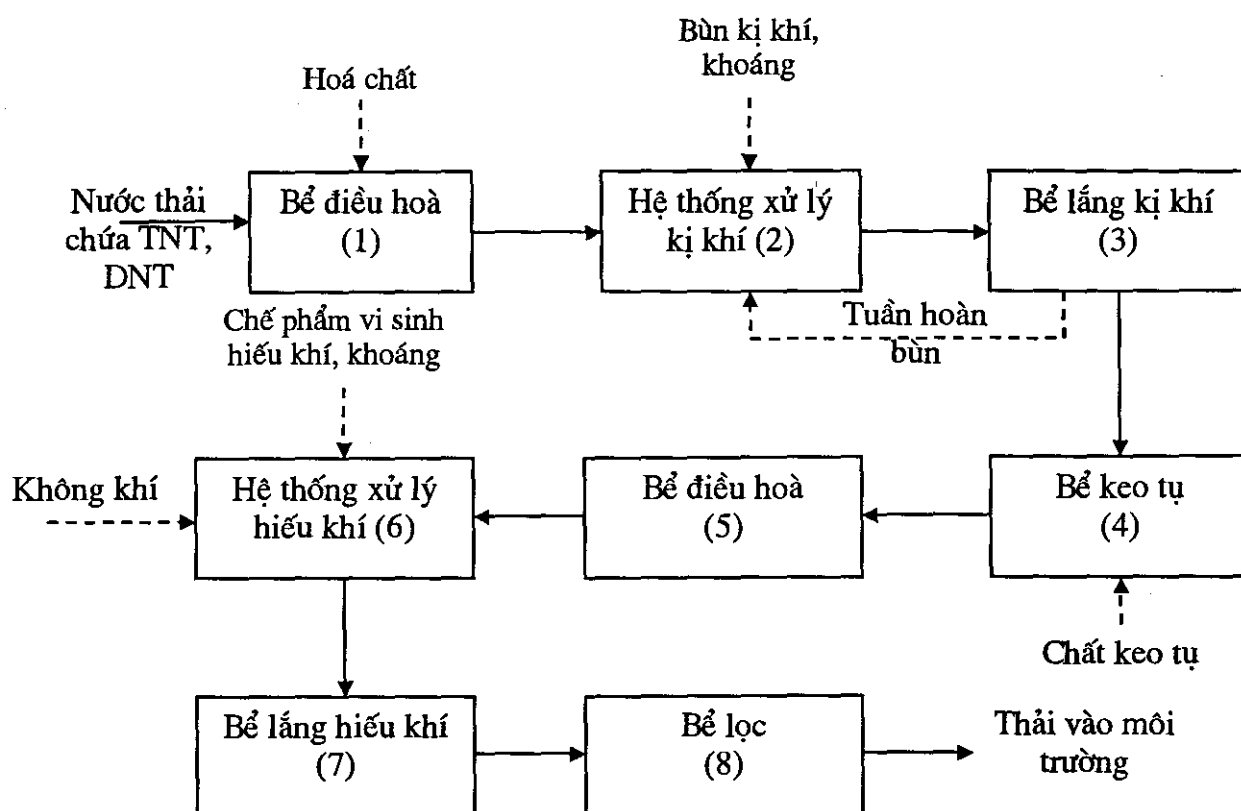
Từ các kết quả thực nghiệm, chúng tôi đã xây dựng quy trình xử lý nước thải chứa thuốc nổ bằng phương pháp sinh học kị khí kết hợp hiếu khí như sau:

*** Chuẩn bị bùn hoạt tính:**

Cân 1g bùn lấy từ cống thoát nước thải của cơ sở chế biến thực phẩm đã gạn bỏ cặn, sỏi, đất được đưa vào bình nuôi cấy kị khí chứa môi trường khoáng sunfit có thành phần sau (g/l): KCl - 0,3; CaCl₂ - 0,07; K₂HPO₄ - 0,25; KH₂PO₄ - 0,25; NaCl - 0,035; MgCl₂ - 0,01 ; Na₂CO₃ - 0,16; Na₂SO₄ - 2,84; Saccaro - 3,0 ; pH 6,8.

Đậy kín nút bình, ủ ở 30°C trong 5 ngày, khi VSV phát triển tốt, cấy chuyển sang bình môi trường mới. Sau 3 lần chuyển (nồng độ VSV trong bình đạt 108-109 CFU/g), dung dịch nuôi cấy được dùng làm bùn hoạt tính (giống) trong quá trình xử lý nước thải chứa TNT bằng phương pháp sinh học kị khí .

Quy trình xử lý nước thải chứa TNT bằng phương pháp sinh học kị khí kết hợp hiếu khí bao gồm các công đoạn chính sau (xem hình 3.2.5).



Hình 3.2.5. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa TNT, DNT bằng giải pháp sinh học kết hợp

- Nước thải chứa TNT, DNT có nồng độ $\geq 35\text{mg/l}$ đến 150mg/l được gom vào bể điều hoà (1), tại đây nước thải được chỉnh về môi trường trung tính bằng H_2SO_4 hoặc NaOH . Nước thải sau khi đã chỉnh pH được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học kỵ khí (2), bổ sung thêm môi trường khoáng sulfit (phần trên) và bùn hoạt tính nồng độ 10g/l , để phản ứng 3 - 5 ngày, thỉnh thoảng khuấy, trộn để tăng quá trình tiếp xúc giữa VSV và chất ô nhiễm, thúc đẩy nhanh quá trình phân huỷ. Sau đó nước thải được chuyển sang bể lắng (3), để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ (4), tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sao cho $\text{pH} \geq 8$, khuấy đều, để lắng 24 giờ. Phần nước trong sau keo tụ được chuyển sang bể điều hoà (5) dùng cho quá trình sinh học hiếu khí. Tại đây pH được điều chỉnh về trung tính bằng H_2SO_4 . Nước thải sau khi đã trung hoà được chuyển vào hệ thống xử lý hiếu khí (6), bổ sung chế phẩm vi khuẩn hiếu khí, khoáng sulfit, nguyên tố vết (Mn^{2+}) theo tỷ lệ phù hợp. Sục khí 3 - 4 ngày, tốc độ dòng khí $30\text{m}^3/\text{giờ}$. Tiếp theo nước thải được chuyển vào bể

lắng (7), để lắng 6 giờ rồi cho lọc qua bể lọc (có thể là cát mịn). Nước thải sau lọc có thể thải ra môi trường hoặc cánh đồng sinh học (ao, hồ có thực vật ngập nước...) để quá trình xử lý được triệt để hơn. Nước thải sau xử lý đạt loại B (theo TCVN).

Phần cặn của bể lắng sau xử lý sinh học kỵ khí (bể lắng 3) được tuần hoàn lại hệ thống xử lý sinh học kỵ khí. Phần cặn của bể keo tụ được tách ra để xử lý riêng bằng chôn hoặc đốt.

d. Xử lý thử nghiệm mẫu nước thải chứa TNT của nhà máy Z1 theo các điều kiện tối ưu đã nghiên cứu

Để kiểm chứng kết quả đã nghiên cứu, chúng tôi đã lấy mẫu nước thải dây chuyền sản xuất thuốc nổ của Z1 (có nồng độ TNT là 98,8 mg/l), sau đó tiến hành xử lý theo quy trình đã nêu trên. Kết quả cho thấy bằng quy trình này có thể xử lý nước thải của Z1 đạt tiêu chuẩn loại B sau khoảng 8 ngày. Kết quả được trình bày ở bảng 3.2.4.

Bảng 3.2.4. Một số chỉ tiêu môi trường của nước thải trước và sau xử lý 8 ngày bằng phương pháp sinh học kết hợp

Nồng độ TNT trong nước thải			COD (mg/l)		BOD ₅ (mg/l)	
Trước xử lý (mg/l)	Sau xử lý (mg/l)	Hiệu suất phân huỷ, %	Trước xử lý	Sau xử lý	Trước xử lý	Sau xử lý
98,8	0	100	395	98	75	³ 5,8

3.2.2. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa Axit styphic (TNR) từ cơ sở sản xuất thuốc gơi nổ

3.2.2.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Thuốc gơi nổ là một loại thuốc nổ rất nhạy dùng để gây nổ các thuốc nổ kém nhạy. Các chất thải, thải ra từ quá trình sản xuất thuốc gơi nổ là các loại chất thải đặc biệt có tính độc hại nguy hiểm và có tính nhạy nổ rất cao. Một trong những nguyên liệu chính để sản xuất thuốc gơi nổ là axit styphnic. Nước thải từ công nghệ sản xuất thuốc gơi nổ thường chứa lượng lớn axit styphnic (TNR).

Cho đến nay chưa có tài liệu nào nói đến ảnh hưởng cụ thể của TNR đối với môi trường, nhưng nó nằm trong danh sách 429 chất độc nguy hại cần được xử lý [68]. Khi có mặt trong nước, TNR làm tăng độ màu của nước, làm cản trở sự cung cấp oxy cho sinh vật sống, gây mùi khó chịu hoặc mùi thối cho nước và thịt cá [69]. Theo tài liệu của Urbanski [70], TNR có tính chất và độ độc hại tương tự trinitrophenol (TNP). Cho đến nay các tài liệu về xử lý TNR bằng phương pháp sinh học hầu như chưa được công bố.

Tại Việt Nam, việc xử lý TNR trong nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gọi nổ bằng phương pháp sinh học cũng chưa được nghiên cứu. Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu khả năng phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR để chế tạo chế phẩm và xây dựng quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gọi nổ.

Trên cơ sở sử dụng các nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu đã nêu trong mục 2.2.3. đề tài đã thu được các kết quả chính sau.

3.2.2.2. Kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật phân huỷ TNR

a. Kết quả phân lập

Từ các mẫu đất và nước lấy từ các nguồn ô nhiễm TNR khác nhau, tiến hành phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng sinh trưởng trên môi trường chứa TNR là nguồn hữu cơ duy nhất bằng phương pháp làm giàu vi sinh vật được mô tả ở mục 2.2.3.1.(c). Kết quả được trình bày trong bảng 3.2.5.

Bảng 3.2.5. Các nhóm VSV phân lập từ đất và nước ô nhiễm AS

Mẫu	Số lượng mẫu	Nấm men		Nấm mốc		Vi khuẩn	
		Số chủng phân lập được	%(*)	Số chủng phân lập được	%(*)	Số chủng phân lập được	%(*)
Đất	6	3	39	3	22	2	39
Nước	6	6		2		7	

Ghi chú: (*): % trên tổng số chủng phân lập được.

Từ kết quả ghi trong bảng 3.2.5 cho thấy từ 12 mẫu đất và nước bị ô nhiễm TNR, phân lập được 23 chủng vi sinh vật có khả năng sinh trưởng trên môi trường có TNR là nguồn hữu cơ duy nhất. Trong đó có 9 chủng nấm men (chiếm 39%), 5 chủng nấm mốc (chiếm 22%) và 9 chủng vi khuẩn (chiếm 39%), không thấy sự xuất hiện của xạ khuẩn. Kết quả này phù hợp với các kết quả nghiên cứu về các vi sinh vật có khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm [60]. Ở các mẫu nước, số lượng chủng vi sinh vật phân lập được là 15 chủng (chiếm 65%), nhiều hơn so với các mẫu đất (8 chủng, chiếm 35%). Điều này cho thấy vi sinh vật phân huỷ TNR tồn tại trong nước nhiều hơn ở trong đất.

* Dựa trên các đặc điểm khác nhau về màu sắc, hình thái, kích thước khuẩn lạc, chúng tôi tách riêng từng chủng và đánh ký hiệu cho mỗi chủng. Đánh giá mức độ sinh trưởng của các chủng này sau 4 ngày trên môi trường thạch nghiêng có TNR là nguồn hữu cơ duy nhất, ở nhiệt độ phòng ($30 \pm 2^\circ\text{C}$).

Kết quả cho thấy tất cả các chủng sinh trưởng mạnh trên môi trường chứa TNR là nguồn hữu cơ duy nhất, đều có khả năng phân huỷ TNR với hiệu suất phân huỷ khác nhau (từ 3,5% - 65%).

- Trong số 15 chủng thử hoạt tính phân huỷ TNR thì 5 chủng có hiệu suất phân huỷ đạt trên 50%, trong đó có 4 chủng nấm men là M3, M4, M5, M10 và 1 chủng là nấm mốc M1. Chủng nấm men M10 có hiệu suất phân huỷ cao nhất (nồng độ TNR trong môi trường giảm tới 65%).

- 5 chủng có hiệu suất phân huỷ TNR trên 50% đều là nấm men và nấm mốc sẽ được định tên ở bước tiếp theo.

3.2.2.3. Kết quả định tên các vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR cao

Dưới sự giúp đỡ của Bộ môn Vi sinh vật, trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học quốc gia Hà Nội và Viện Vệ sinh phòng dịch quân đội, đã xác định được đặc điểm hình thái của chủng nấm mốc M1 như sau (bảng 3.2.6).

Bảng 3.2.6. Đặc điểm phân loại chủng nấm mốc M1

Đặc điểm	Chủng M1
Hình thái khuẩn lạc	Khuẩn lạc trên môi trường Czapek màu xám lông chuột hoặc ở giữa nâu xám, xung quanh đen.
Dịch tiết	Không
Sắc tố tiết ra MT	Không
Vách ngăn trong khuẩn ty	Sợi nấm phân nhánh, ngăn vách, nâu nhạt đến nâu, nhẵn hoặc sần sùi dày 2-5 μ .
Hình dạng cuống sinh bào tử	Cuống sinh bào tử trần, đơn độc hoặc một nhóm ở tận cùng hoặc bên cạnh sợi nấm, đơn giản hoặc phân nhánh, thẳng hoặc khúc khuỷu, màu nâu nhạt hoặc nâu tối, nhẵn hoặc sần sùi gần cuối, ngăn vách dày 3-8 μ .
Hình dạng, màu sắc của bào tử	Bào tử chuỗi hướng ngọn, cong nhẹ, hình thon dài, 3-4 vách ngăn, nhẵn 25-40 μ x 12-17 μ

Từ các đặc điểm trên, tra theo khoá phân loại nấm mốc của Burnett và Hunter [71], chủng nấm mốc M1 thuộc loài *Curvularia prasadii* R.L & B.L Mathur.

Đặc điểm nuôi cấy và sinh lý của chủng nấm men M10 được trình bày ở bảng 3.2.7.

Bảng 3.2.7. Đặc điểm nuôi cấy và hình thái tế bào của chủng nấm men M10

Các đặc điểm	Chủng M10
Hình thái khuẩn lạc sau 4 ngày	Khuẩn lạc trên môi trường Hansen màu trắng, hình tròn, bề mặt khô.
Tạo sắc tố	Không
Khuẩn ty giả	Hệ sợi, có vách ngăn tạo thành chuỗi.
Tạo váng	Không
Sinh cặn	Không
Sinh bào tử	Không có giá bào tử. Bào tử tạo thành bởi sự phân đoạn của sợi nấm.
Hình dạng bào tử	Bào tử trần, 1 tế bào, không màu, hình trụ ngắn, phẳng 2 đầu

Theo khoá phân loại nấm men của Lodder, chủng M10 có nhiều khả năng thuộc loài *Geotrichum capitatum*.

Đối với các chủng còn lại cũng tiến hành nghiên cứu tương tự. Kết quả là đã định tên được 5 chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ mạnh TNR là:

1. M1 : *Curvularia prasadii* R.L & B.L Mathur
2. M10 : *Geotrichum capitatum*
3. S2 : *Candida pelliculosa*
4. S3 : *Rhodotorula glutinis*
5. S4 : *Kloeckera sp.*

Các thí nghiệm tiếp theo sẽ được tiến hành với 1 đại diện nấm mốc (M1) và 1 đại diện nấm men (M10).

3.2.2.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường lên sự sinh trưởng và khả năng phân huỷ TNR của các chủng VSV đã lựa chọn

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ

♦ Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự sinh trưởng

Kết quả nghiên cứu cho thấy hai chủng M1 và M10 đều là loại vi sinh vật ưa ấm, chúng có thể sinh trưởng trong dải nhiệt độ từ 15°C đến 35°C. Chủng nấm mốc có nhiệt độ sinh trưởng tối ưu là từ 30 đến 35°C. Chủng nấm men có nhiệt độ sinh trưởng tối ưu dao động từ 25 đến 30°C. Kết quả này phù hợp với kết quả của các tác giả đã công bố [65].

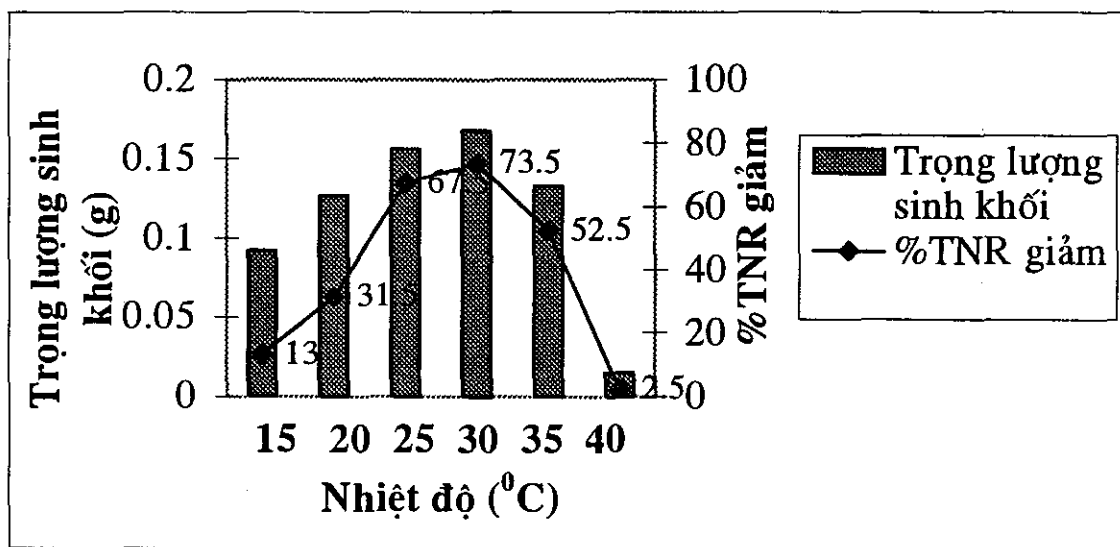
♦ Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng phân huỷ TNR

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt đến khả năng phân huỷ TNR của 2 chủng M1 và M10. Điều này được thể hiện ở sự thay đổi nồng độ TNR trong môi trường nuôi cấy.

- Hiệu suất phân huỷ TNR của cả 2 chủng đạt cao nhất ở 30°C. Ở nhiệt độ này nồng độ TNR giảm tới 73,5 và 82% so với ban đầu. Hiệu suất này cao hơn ở 25 và 35°C tới 1,1 - 1,6 lần. Ở 40°C, cả 2 chủng vi sinh vật không còn khả năng phân huỷ TNR. Điều này liên quan đến khả năng sinh trưởng của chúng ở các nhiệt độ trên. Ở các nhiệt độ khác (15 - 20°C), hiệu suất phân huỷ TNR của 2 chủng này giảm rõ rệt và giảm tới 3 - 4 lần (hình 3.2.6).

Các kết quả trên phù hợp với các kết luận của một số tác giả trước đây rằng: khả năng phân huỷ các hợp chất từ thuốc súng đạn trong đất ô nhiễm của VSV dao động trong khoảng nhiệt độ 20 - 37°C và nhiệt độ tối ưu là 30°C [69]. Khoảng nhiệt độ này đủ rộng để ứng dụng vào công nghệ xử lý sinh học các hợp chất thuốc súng đạn ở những vùng ấm có nhiệt độ trung bình trong năm không dưới 20°C. Như vậy, các chủng chúng tôi nghiên cứu ở đây thích hợp với việc xử lý đất, nước ô nhiễm tại các khu vực sản xuất và bảo quản thuốc súng, thuốc nổ ở nước ta.



Hình 3.2.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự thay đổi sinh khối và hàm lượng % TNR

b. Ảnh hưởng của pH

♦ Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng

Kết quả nghiên cứu cho thấy vi sinh vật phân huỷ TNR sinh trưởng ở phạm vi pH rất rộng từ pH 3 - 8. Tuy nhiên đã xác định được là pH thích hợp nhất cho sinh trưởng của nấm mốc là pH 5, nấm men là pH 5 - 6.

♦ Ảnh hưởng của pH lên khả năng phân huỷ TNR

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- pH có ảnh hưởng đến khả năng phân huỷ TNR của chủng M1 và M10. Ở các pH khác nhau, nồng độ TNR còn lại trong môi trường nuôi cấy rất khác nhau.

- Đối với chủng M1, hiệu suất phân huỷ TNR sau 7 ngày nuôi cấy đạt cao nhất ở pH 5 (69,5%). Còn chủng M10, hiệu suất phân huỷ cao nhất ở pH 5 - 6

(nồng độ TNR giảm 77,5 - 79%) sau 7 ngày. Tại pH 7, hiệu suất phân huỷ có giảm so với pH 5 - 6 nhưng không đáng kể. Ở các pH khác, hiệu suất phân huỷ TNR của cả 2 chủng giảm rõ rệt. Đặc biệt, ở pH 8, cả 2 chủng có hiệu suất phân huỷ TNR rất thấp (chỉ còn 10 và 23,5%). Các kết quả này phù hợp với kết quả của các tác giả nước ngoài về khả năng sinh trưởng của các vi sinh vật phân huỷ hợp chất nitro thơm ở các pH khác nhau [72].

c. Ảnh hưởng của nồng độ đường

Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ đường saccaroza ảnh hưởng mạnh đến khả năng phân huỷ TNR của 2 chủng vi sinh vật: nồng độ đường càng cao, hiệu suất phân huỷ càng lớn.

Đối với cả 2 chủng M1, M10 khi nồng độ saccaroza tăng lên thì hiệu suất phân huỷ tăng mạnh và đạt cao nhất tại nồng độ 5g/l (đạt 74,5 và 83,0%) sau 7 ngày. Tuy nhiên tại nồng độ 4g/l, hiệu suất phân huỷ TNR thấp hơn không đáng kể so với nồng độ 5g/l (đạt 73 và 82,5%) trong khi đó lượng đường tăng lên 25%. Như vậy, về phương diện kinh tế, 4g/l đường cho hiệu quả cao hơn nên trong thực tế xử lý chỉ nên bổ sung 4g/l saccaroza.

Cũng như đối với saccaroza, nồng độ glucoza có ảnh hưởng tương tự đến hiệu suất phân huỷ TNR của 2 chủng M1, M10 và cũng đạt cao nhất khi nồng độ glucoza tăng lên 5g/l (đạt 70,5 và 75,5%) sau 7 ngày.

Nồng độ bột đậu tương (BĐT) cũng có ảnh hưởng không nhiều tới hiệu suất phân huỷ của từng chủng vi sinh vật. Vì vậy, thực tế khi sử dụng chỉ cần bổ sung BĐT vào môi trường nuôi cấy với nồng độ 0,025g/l.

Kết quả nghiên cứu còn cho thấy:

- Tại 2 mẫu thí nghiệm không chứa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ thì sau 7 ngày nuôi cấy, nồng độ TNR trong môi trường không giảm. Điều này cho thấy cả 2 chủng không có khả năng phân huỷ TNR do chúng không sinh trưởng được khi môi trường thiếu nguồn N vô cơ.

- Theo các kết quả trên, M1 có hiệu suất phân huỷ TNR mạnh nhất tại nồng độ N vô cơ là 0,9g/l (hiệu suất đạt 77,5%). Còn M10 có hiệu suất cao nhất tại nồng độ N vô cơ là 0,3g/l (hiệu suất đạt 79,5%). Tại các nồng độ N vô cơ khác,

hiệu suất phân huỷ TNR thấp hơn nhưng không đáng kể nên để phù hợp với cả 2 chủng, chúng tôi chọn nồng độ N vô cơ 0,6g/l để bổ sung vào môi trường nuôi cấy vi sinh vật phân huỷ TNR.

♦ *Ảnh hưởng của nồng độ TNR lên sự sinh trưởng vi sinh vật*

Kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Nồng độ chất ô nhiễm TNR ảnh hưởng mạnh mẽ tới khả năng sinh trưởng của vi sinh vật. Ở nồng độ TNR càng lớn, mức độ sinh trưởng của 2 chủng M1 và M10 càng giảm.

- Ở nồng độ TNR 10mg/l, sinh khối 2 chủng tăng nhiều nhất. Ở các nồng độ TNR cao hơn (đến 40mg/l), VSV vẫn phát triển được. Kết quả này cũng phù hợp với các kết quả của một số tác giả đã công bố [73,74]. Ở nồng độ TNR 50mg/l, 2 chủng gần như không sinh trưởng được. Từ đó cho thấy nồng độ TNR quá cao đã ức chế sự sinh trưởng của VSV. Điều này phù hợp với các kết quả nghiên cứu đã công bố [54,75,76].

♦ *Ảnh hưởng của nồng độ TNR lên khả năng phân huỷ của vi sinh vật*

- Nồng độ chất ô nhiễm ảnh hưởng mạnh mẽ tới khả năng phân huỷ TNR của 2 chủng vi sinh vật. Nồng độ TNR có hiệu quả xử lý triệt để nhất là 10 mg/l: hiệu suất phân huỷ lên tới 95,1 và 97,0%. Ở nồng độ TNR 20mg/l, hiệu suất phân huỷ của cả 2 chủng không bằng ở nồng độ 10mg/l nhưng lượng TNR bị phân huỷ cao hơn (có thể tính được là 13,5mg và 14,8mg TNR so với 9,6 và 9,8mg ở nồng độ TNR 10mg/l). Ở nồng độ TNR càng cao, hiệu suất phân huỷ càng thấp và khi nồng độ TNR lên đến 50mg/l thì hiệu suất phân huỷ quá thấp. Điều này xảy ra do hàm lượng chất ô nhiễm cao sẽ trở thành chất độc đối với vi sinh vật nên nó sẽ kìm hãm sự phát triển và giảm hoạt tính của vi sinh vật.

♦ *Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy*

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy:

- Thời gian nuôi cấy ảnh hưởng mạnh mẽ tới hiệu suất phân huỷ của VSV.

- Đối với chủng M1, hiệu suất phân huỷ tăng dần theo thời gian và tốc độ tăng cao nhất ở ngày thứ 4 -5 của quá trình nuôi cấy (hiệu suất lên tới 67,8 - 73,8%) và chậm dần ở những ngày tiếp theo (chỉ tăng thêm 1,4%).

- Đối với M10, hiệu suất phân huỷ cao nhất sau 2 ngày nuôi cấy (đạt 80,2%). Ở những ngày tiếp theo ta thấy hiệu suất phân huỷ tăng rất ít (chỉ tăng thêm khoảng 0,5 - 1% mỗi ngày), thậm chí có ngày không tăng. Điều này có thể giải thích do môi trường nuôi cấy đã hết nguồn dinh dưỡng ban đầu làm cho sự phát triển của VSV chậm lại nên hiệu suất phân huỷ tăng không đáng kể.

Trong tự nhiên luôn tồn tại các vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNR. Khi điều kiện thuận lợi (có sục khí), chúng hoạt động mạnh hơn bình thường làm cho lượng TNR trong mẫu giảm. Như vậy, các vi sinh vật có sẵn trong nước thải cũng có khả năng phân huỷ TNR, tuy hiệu suất không cao. Khi bổ sung riêng chủng M1, M10 hoặc kết hợp cả 2 chủng M1, M10 thì hiệu suất phân huỷ TNR tăng mạnh. Điều này chứng tỏ khả năng phân huỷ TNR của 2 chủng này mạnh hơn hẳn so với vi sinh vật có sẵn trong nước thải.

Kết quả đo phổ HPLC và GC-MS của dung dịch TNR (10mg/l) sau 5 ngày xử lý các chủng vi sinh kể trên cho thấy không thể phát hiện được sản phẩm trung gian nào của quá trình sinh phân huỷ TNR. Có nghĩa là với thời gian xử lý là 5 ngày không có khả năng xảy ra hiện tượng ô nhiễm thứ cấp từ công nghệ xử lý này.

3.2.2.5. Quy trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chứa TNR (ASF)

*** Sản xuất giống vi sinh vật:**

- Các chủng vi sinh vật phân huỷ mạnh TNR sử dụng để sản xuất chế phẩm bao gồm:

- | | |
|--------|---|
| 1. M1 | : <i>Curvularia prasadii</i> R.L & B.L Mathur |
| 2. M10 | : <i>Geotrichum capitatum</i> |
| 3. S2 | : <i>Candida pelliculosa</i> |
| 4. S3 | : <i>Rhodotorula glutinis</i> |
| 5. S4 | : <i>Kloeckera sp.</i> |

- Các vi sinh vật trên được nuôi riêng rẽ trong môi trường dịch thể có thành phần (g/l): khoáng hỗn hợp - 1,15; lignin - 0,1; saccarose - 3; bột đậu tương - 0,025; pH - 7, trên máy lắc 200 vòng/phút trong 3 ngày ở nhiệt độ $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Trộn lẫn các giống riêng rẽ cho bước tiếp theo của quá trình sản xuất chế phẩm (giống VSV).

*** Sản xuất chất mang:**

Mùn cưa, trấu được xử lý bằng cách đun trong dung dịch kiềm đặc trong 3 giờ để loại tạp chất, sau đó được rửa sạch đến pH trung tính, sấy khô.

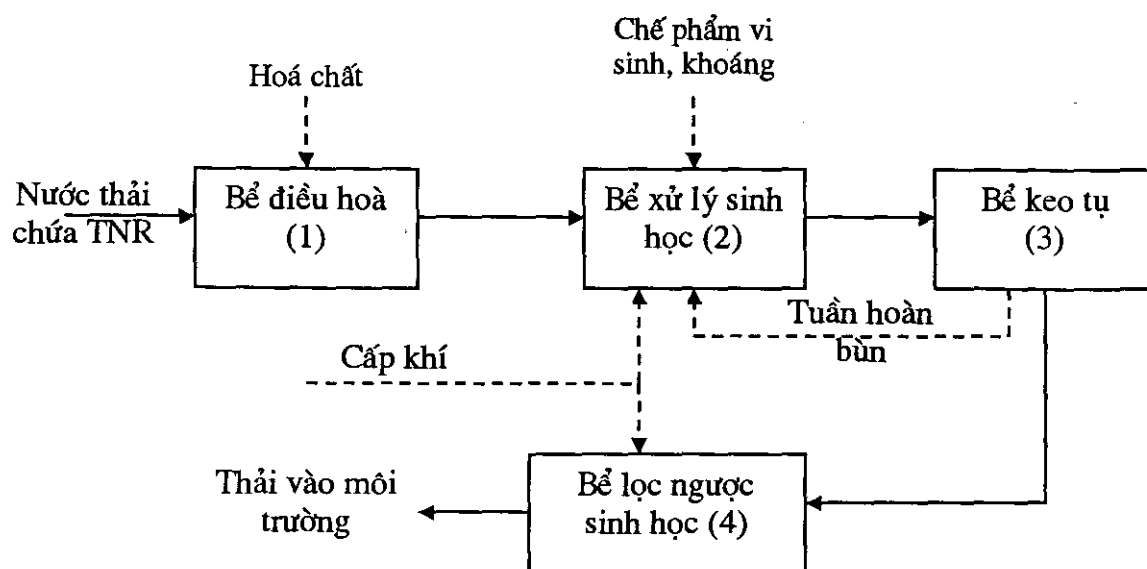
Hỗn hợp mùn cưa, trấu được trộn theo tỷ lệ 1:1, khử trùng ở 121°C trong 30 phút, sấy khô ở 100°C trong 3 giờ. Hỗn hợp này sẽ được dùng làm chất mang để sản xuất chế phẩm.

*** Sản xuất chế phẩm:**

Trộn đều giống vi sinh vật vào chất mang theo tỷ lệ 1:1 (trọng lượng /trọng lượng), bao gói trong túi polyethylene 2 lớp, dán kín, bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

3.2.2.6. Xây dựng quy trình công nghệ xử lý sinh học nước thải chứa TNR

Bằng quá trình thực nghiệm tại phòng thí nghiệm chúng tôi đã thiết lập quy trình xử lý nước thải chứa TNR từ quá trình sản xuất thuốc gọi nỏ như sau (sơ đồ hình 3.2.7).



Hình 3.2.7. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa TNR

- Nước thải có chứa TNR có nồng độ $\leq 20\text{mg/l}$ được gom vào bể điều hoà (1), bằng H_2SO_4 hoặc NaOH điều chỉnh pH đến giá trị pH 5 - 6.

- Nước thải đã chỉnh pH được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học hiếu khí (2), tại đây bổ sung thêm khoáng và chế phẩm sinh học (ASF) với tỷ lệ 0,1%, sục khí liên tục 5 ngày với tốc độ dòng khí $30 \text{ m}^3/\text{giờ}$.

- Để lắng 8 giờ, sau đó phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ (3), tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sao cho pH ≥ 8 , khuấy đều, để lắng 24 giờ. Phần cặn của bể lắng sau xử lý sinh học hiếu khí được tuần hoàn lại hệ thống sinh học hiếu khí.

- Phần nước trong sau keo tụ được lọc qua hệ thống lọc ngược sinh học (4) với các lớp vật liệu lọc kích thước hạt khác nhau. Có thổi khí nhẹ để tăng hiệu quả quá trình lọc. Nước thải lúc này có thể thải ra môi trường với các chỉ tiêu đạt nước thải loại B (theo TCVN): COD - 92mg/l ; BOD - $33,2\text{mg/l}$; TNR - $2,61\text{mg/l}$.

- Phần cặn của bể keo tụ được tách ra để xử lý riêng bằng chôn hoặc đốt.

3.2.2.7. Thử nghiệm xử lý mẫu nước thải ô nhiễm axit styphnic của nhà máy Z1 ở quy mô phòng thí nghiệm

Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gọi nổ được xác định các chỉ số môi trường là nồng độ TNR, pH, COD, BOD. Sau đó được xử lý bằng quy trình và chế phẩm VSV đã đề xuất ở trên. Kết quả được trình bày trên bảng 3.2.8.

Bảng 3.2.8. Các chỉ tiêu nước thải chứa TNR của nhà máy Z1 trước và sau khi xử lý

Các chỉ tiêu	Trước khi xử lý	Sau khi xử lý
Nồng độ TNR	17,35	2,61
COD	165	92
BOD	90,2	33,2
pH	3,5	5,5

Nồng độ TNR trong nước thải sau xử lý đạt mức cho phép ($< 3,8\text{mg/l}$). Các chỉ số pH, COD, BOD của nước thải sau xử lý được xác định: pH = 5,5; COD $< 100\text{mg/l}$; BOD₅ $< 50\text{mg/l}$ - đạt tiêu chuẩn nước thải công nghiệp loại B - TCVN.

3.2.3. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa nitroglycerin (NG) và nitrocellulose (nC) từ quá trình sản xuất thuốc phóng

3.2.3.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Nước thải chứa nitroglycerin (NG), nitrocellulose (NC) là nước thải phát sinh từ các dây chuyền sản xuất thuốc phóng 2 gốc dạng lá và ống. Các công đoạn cán tách nước nguyên liệu nitromas, keo hoá, cán, cắt tờ của dây chuyền sản xuất thuốc phóng hình lá và các công đoạn khử nước, keo hoá, ép đùn của dây chuyền sản xuất thuốc phóng hình ống thường tạo ra nước thải có hàm lượng cao NG, NC. Nước thải nhiễm NG, NC cũng là loại chất thải nguy hiểm vì NG và NC được xếp vào loại có độc tính cao, có thể gây chết người hoặc tổn thương vĩnh viễn sau khi tiếp xúc quá ngưỡng giới hạn ($2,0 \text{ mg/m}^3$ không khí) theo quy định của Hiệp hội Vệ sinh Công nghiệp và Nhà nước Mỹ. NG có thể xâm nhập vào cơ thể qua tiêu hoá hay hấp thụ qua da. Những triệu chứng nhiễm độc bao gồm đau đầu, giảm huyết áp, hưng phấn, chóng mặt, ngất xỉu, ngừng trệ hô hấp. Nguyên nhân dẫn đến tử vong thường là tê liệt hô hấp [55]. NG trong cơ thể có thể trở thành tác nhân gây ung thư khi các gốc NO_2^- được giải phóng tạo thành axit của nitơ kết hợp với các amin tạo thành nitrosamin, một tác nhân gây ung thư [55,70,78,79]. Các kỹ thuật xử lý như đốt hay thiêu tạo ra chất thải thứ cấp làm tăng gấp đôi độ độc của NG đối với động vật có vú [26,27], xử lý NC bằng cách đốt cũng sẽ tạo ra nhiều khí độc làm ô nhiễm không khí như CO_2 , NO_x ... điều này cho thấy cần phải tìm được phương pháp xử lý NG và NC phù hợp với môi trường hơn. Đã có một số báo cáo về một số phương pháp hoá học loại bỏ NG [55] nhưng phải tiêu thụ một lượng lớn hoá chất dẫn tới giá thành xử lý còn cao.

Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu khả năng chế tạo chế phẩm vi sinh và quy trình xử lý vi sinh nguồn nước thải chứa NG, NC của các cơ sở sản xuất thuốc phóng.

3.2.3.2. Kết quả nghiên cứu phân lập các chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NG, NC là nguồn hữu cơ duy nhất

♦ *Phân lập các chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NG là nguồn hữu cơ duy nhất*

Các mẫu đất và nước thải đã làm giàu sau 3 vòng lặp được cấy gọt trên môi trường thạch đĩa bổ sung NG, NC như là nguồn hữu cơ duy nhất. Kết quả đã phân lập được 17 chủng trên môi trường có NG là nguồn hữu cơ duy nhất, trong đó có 11 chủng vi khuẩn (chiếm 64,7%), 6 chủng mốc (chiếm 35,3%), không phân lập được xạ khuẩn. Các chủng đã phân lập có ký hiệu như sau:

- Các chủng vi khuẩn có ký hiệu : 1, 2, 3, 13, 14, 15, N1, N2, N4, N5, N9.
- Các chủng mốc có ký hiệu : 11, B, C, M1, N6.

Trong số 17 chủng VSV đã phân lập được có 10 chủng phát triển tốt được xác định khả năng phân huỷ NG ở các thí nghiệm tiếp sau.

♦ *Phân lập các chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NC là nguồn hữu cơ duy nhất*

Trên cơ sở phương pháp phân lập như với các chủng phát triển trên môi trường có NG, chúng tôi đã phân lập được 26 chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NC là nguồn hữu cơ duy nhất, trong đó 9 chủng mốc (chiếm 34,62%), 15 chủng vi khuẩn (chiếm 65,38%). 13 trong số 26 chủng VSV đã phân lập có mức độ phát triển tốt trên môi trường có NC là nguồn hữu cơ duy nhất đã được thử khả năng phân huỷ NC bằng thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả thử nghiệm cho thấy khả năng phân huỷ NC của các chủng VSV khác nhau rất khác nhau, có chủng phân huỷ gần 70% sau 5 ngày nuôi cấy trong khi có chủng chỉ phân huỷ được 8%. Có 6 chủng có hiệu suất phân huỷ > 50%, các chủng này được sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

Từ kết quả nghiên cứu thu được, để thí nghiệm không dàn trải và thu được kết quả khách quan, có tính tiêu biểu chúng tôi đã chọn các chủng B, C, N9 (có khả năng phân huỷ NG tốt) và các chủng 11, S12, C2, C3 (có khả năng phân huỷ NC tốt) để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Kết quả định tên cho thấy trong số 7 chủng có khả năng phân huỷ tốt NG, NC đã nêu trên thì 2 chủng thuộc chi *Geotricum*, 1 chủng thuộc chi *Monilia*, 1 chủng thuộc *Rhodococcus*, 2 chủng thuộc *Pseudomonas* và 1 chủng thuộc chi *Bacillus*.

3.2.3.3. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất phân huỷ NG, NC của vi sinh vật

Trong thí nghiệm này, chúng tôi chọn 2 đại diện có khả năng phân huỷ NG, NC mạnh nhất là chủng C (với NG) và chủng C2 (với NC), để tiến hành khảo sát các thông số kỹ thuật, xây quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng.

a. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả nghiên cứu cho thấy: trong khoảng nhiệt độ thử nghiệm, VSV phân huỷ NG, NC mạnh nhất ở nhiệt độ trong khoảng 30 - 35°C. Điều này cho thấy các VSV phân huỷ NG, NC hoạt động khá thuận lợi trong điều kiện khí hậu, thời tiết nhiệt đới của nước ta.

b. Ảnh hưởng của pH

Kết quả thực nghiệm cho thấy pH có ảnh hưởng mạnh đến khả năng phân huỷ NG, NC của VSV. Trong dãy pH thử nghiệm, hiệu suất phân huỷ mạnh nhất đạt được ở pH 6, 7. pH này tương đối gần với pH nước thải mà chúng tôi khảo sát. Môi trường kiềm hoặc axit đều không thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của VSV và do đó NG, NC ở những môi trường đó gần như không bị phân huỷ.

c. Ảnh hưởng của nguồn đường bổ sung đến khả năng phân huỷ NG, NC

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung một lượng nhỏ đường vào môi trường ban đầu làm tăng hiệu quả phân huỷ NG, NC của VSV một cách rõ rệt. Trong 2 nguồn cacbon thông dụng đã thử nghiệm, saccaroza cho hiệu quả phân huỷ cao hơn glucoza. Nồng độ đường tối ưu cả về mặt xử lý môi trường và kinh tế là 3g/l. Có thể môi trường không quá nghèo làm tăng khả năng sinh trưởng và phát triển của VSV, do đó khả năng phân huỷ chất ô nhiễm của VSV cũng mạnh lên. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của các tác giả khác [33,55,57,58]

d. Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm và thời gian xử lý

Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng chịu đựng và phân huỷ NG, NC của VSV là rất lớn. Ở nồng độ NG, NC khá cao trong môi trường (200mg/l) sự phát hiện VSV mới bị ức chế và hiệu suất phân huỷ (%) NG, NC bị giảm đáng kể (43,7%).

Ở nồng độ NG, NC $\leq 150\text{mg/l}$, khả năng phân huỷ của VSV là khá mạnh, xét về hiệu suất phân huỷ thì nồng độ 50mg/l có hiệu suất phân huỷ cao nhất (với NG: 98,50%; với NC: 96,8%) song xét về giá trị tuyệt đối thì ở nồng độ 150mg/l số mg NG, NC bị phân huỷ cao nhất. Do đó tùy điều kiện thực tế, tính chất xả thải có thể xử lý tuần hoàn hoặc không để đảm bảo độ an toàn khi thải ra môi trường.

Thời gian nuôi cấy cũng có ảnh hưởng lớn đến sự phân huỷ NG, NC của VSV. 2 ngày đầu, có thể do VSV mới được nuôi cấy, số lượng cá thể trong môi trường còn ít, để sinh trưởng và phát triển VSV lấy chất dinh dưỡng được bổ sung vào môi trường nên tỷ lệ NG, NC bị phân huỷ còn thấp. Từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 4, VSV phát triển mạnh, số lượng cá thể lớn, chất dinh dưỡng được bổ sung vào môi trường đã cạn kiệt, lúc đó VSV phải phân huỷ NG, NC để sinh trưởng và phát triển nên nồng độ NG, NC trong môi trường giảm mạnh. Tốc độ phân huỷ NG, NC chậm lại sau ngày thứ 4, có thể do môi trường đã cạn kiệt và số lượng VSV bắt đầu giảm nhiều. Kết quả phân tích phổ GC-MS của dung dịch đã qua 5 ngày xử lý cho thấy không còn sản xuất trung gian của quá trình phân huỷ NG.

Từ ngày thứ 6 - 7, nồng độ NG, NC trong môi trường gần như không giảm. Trên cơ sở đó, chúng tôi đề nghị chỉ duy trì quá trình xử lý 4 - 5 ngày là đạt yêu cầu về môi trường và đảm bảo tính kinh tế.

3.2.3.4. Sản xuất chế phẩm (NSF)

a. Chuẩn bị dịch huyền phù VSV

Các chủng có khả năng phân huỷ mạnh NG, NC đã được sử dụng để tạo chế phẩm VSV xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng. Cấy các chủng đó vào các bình có môi trường nhân giống đã chọn. Nuôi lắc 200 vòng/phút ở 30 - 32°C, sau 3 ngày lấy ra bổ sung vào cơ chất mang.

b. Lựa chọn chất mang

Trộn mùn cưa, rơm, trấu theo tỷ lệ khác nhau, khử trùng làm cơ chất mang và bổ sung dịch huyền phù VSV để đạt độ ẩm 30% và 50%. Bao gói và bảo quản ở nhiệt độ phòng. Đếm số lượng vi sinh vật sau 2, 4, 6, 8, 10, 12 tuần và 24 tuần để xác định độ ổn định số lượng VSV trong các mẫu.

Kết quả đã chọn được công thức chất mang và đã sản xuất được chế phẩm VSV xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng.

c. Quy trình sản xuất chế phẩm VSV phân huỷ NG, NC (NSF)

*** Sản xuất giống VSV:**

Các chủng VSV: 1 chủng mốc và 3 chủng vi khuẩn có hiệu suất phân huỷ NG, NC trong môi trường nuôi cấy đạt trên 80% được sử dụng để sản xuất chế phẩm là:

1. 11 : *Bacillus sp*
2. C2 : *Pseudomonas sp.*
3. N9 : *Rhodococcus sp.*
4. C : *Monilia sp.*

Các VSV trên được nuôi riêng rẽ trong môi trường dịch thể có thành phần (g/l): KH_2PO_4 - 0,4; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0,6; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,06; CaCl_2 - 0,08; FeSO_4 - 0,01 ; lignin - 0,1; saccarose - 3; bột đậu tương - 0,025; pH - 7, trên máy lắc 200 vòng/phút trong 3 ngày ở nhiệt độ $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Trộn lẫn các giống riêng rẽ cho bước tiếp theo của quá trình sản xuất chế phẩm (giống VSV).

*** Sản xuất chất mang:**

Mùn cưa, trấu được xử lý bằng cách đun trong dung dịch kiềm đặc trong 3 giờ để loại tạp chất, sau đó được rửa sạch đến pH trung tính, sấy khô.

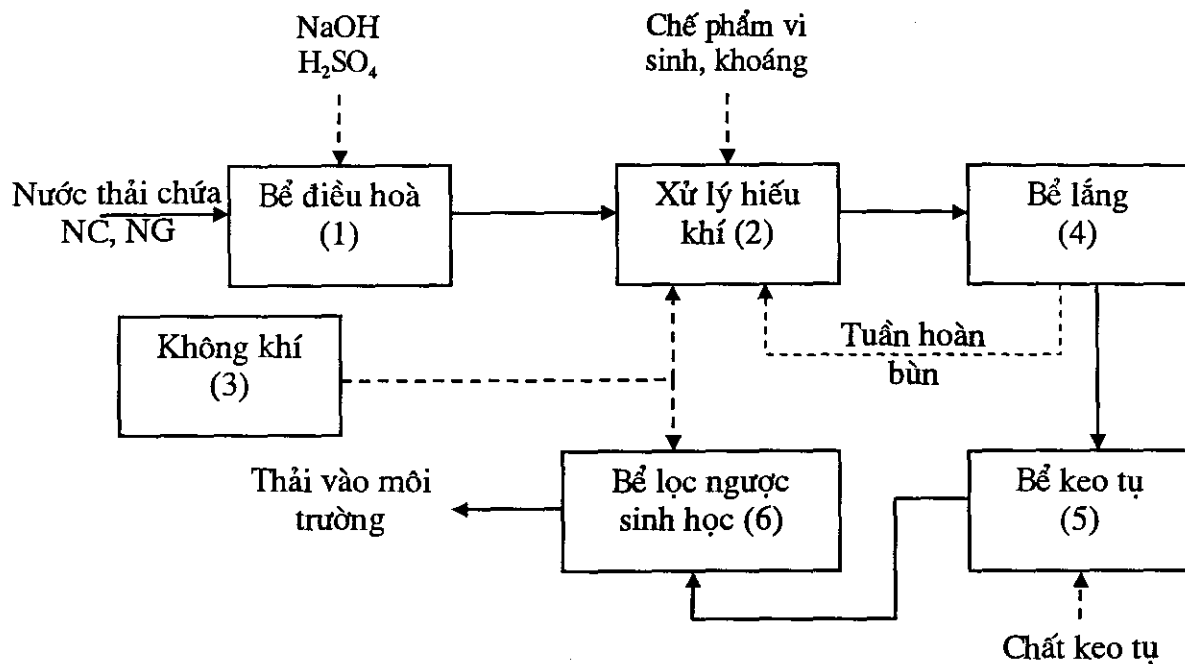
Hỗn hợp mùn cưa, trấu được trộn theo tỷ lệ 1:1, khử trùng ở 121°C trong 30 phút, sấy khô ở 100°C trong 3 giờ. Hỗn hợp này sẽ được dùng làm chất mang để sản xuất chế phẩm.

*** Sản xuất chế phẩm:**

Trộn đều giống VSV vào chất mang theo tỷ lệ trọng lượng 1:1, bao gói trong túi polyethylene 2 lớp, dán kín, bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 6 tháng kể từ ngày sản xuất.

3.2.3.5. Quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng

Từ tài liệu và kết quả các thí nghiệm trên có thể đề xuất quy trình xử lý nước thải chứa NG, NC theo sơ đồ sau (hình 3.2.8).



Hình 3.2.8. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa NG, NC

- Nước thải có chứa NG, NC có nồng độ $\leq 150\text{mg/l}$ được gom vào bể điều hoà (1), tại đây pH nước thải được chỉnh về trung tính bằng H_2SO_4 hoặc NaOH .
- Nước thải đã chỉnh pH được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học hiếu khí (2), tại đây bổ sung thêm môi trường khoáng (phần trên) và chế phẩm sinh học (NSF) với tỷ lệ 0,1%, sục khí liên tục 4 - 5 ngày bằng máy bơm (3) với tốc độ dòng khí $30\text{ m}^3/\text{giờ}$.
- Sau đó nước thải được chuyển sang bể lắng (4), để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ (5), tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và Ca(OH)_2 sao cho $\text{pH} \geq 8$, khuấy đều, để lắng 24 giờ.
- Phần nước trong sau keo tụ được lọc qua hệ thống lọc ngược sinh học (6) với các lớp vật liệu lọc kích thước hạt khác nhau. Có thổi khí nhẹ để tăng hiệu quả quá trình lọc. Nước thải lúc này có thể thải ra môi trường với các chỉ tiêu đạt nước thải loại B (theo TCVN): COD - 73mg/l ; BOD - $21,7\text{mg/l}$; NG, NC - $0,8\text{mg/l}$.

- Phần cặn của bể lắng sau xử lý sinh học hiếu khí được tuần hoàn lại hệ thống sinh học hiếu khí.

- Phần cặn của bể keo tụ được tách ra để xử lý riêng bằng chôn hoặc đốt.

3.2.3.6. Áp dụng kết quả đã nghiên cứu xử lý thử nghiệm mẫu nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng (một gốc và hai gốc)

Nước thải sản xuất thuốc phóng 2 gốc của Z1 được thử nghiệm có thành phần như sau:

+ pH	: 6,0	+ BOD ₅ (mg/l)	: 518,4
+ N tổng	: 19,8	+ COD (mg/l)	: 786,4
+ P tổng	: 76,04	+ NG, NC (mg/l)	: 147

Áp dụng quy trình đã xây dựng, chúng tôi tiến hành xử lý nước thải chứa NG từ dây chuyền sản xuất thuốc phóng với quy mô 30 lít trong phòng thí nghiệm. VSV là hỗn hợp các chủng có khả năng phân huỷ NG, NC mạnh. Môi trường được bổ sung thêm khoáng, nguồn cacbon (saccarose 3g/l). Kết quả xử lý được trình bày trên bảng 3.2.9.

Bảng 3.2.9. Sự thay đổi một số chỉ tiêu nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng trước và sau xử lý

Nồng độ NG, NC trong nước thải			COD (mg/l)		BOD ₅ (mg/l)	
Trước xử lý (mg/l)	Sau xử lý (mg/l)	Hiệu suất phân huỷ, %	Trước xử lý	Sau xử lý	Trước xử lý	Sau xử lý
147	0,8	99,45	786,4	73	518,4	21,7

Sau 5 ngày nuôi cấy, hàm lượng NG, NC giảm 99,45% (còn 0,8mg/l). Kết quả đo trên sắc ký khối phổ cho thấy không còn sản phẩm trung gian, chứng tỏ hỗn hợp vi khuẩn và mồi đã tạo điều kiện tốt cho sự phân huỷ NG, NC hoàn toàn. Kết quả này phù hợp với kết quả các tác giả nghiên cứu trước [81]. Nước thải sau xử lý đạt tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN).

3.2.4. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải chứa nitrat, nitrit từ quá trình nhuộm đen vũ khí và phục hồi nhiên liệu tên lửa

3.2.4.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Nước thải chứa nitrat và nitrit ở nồng độ thấp không phải là mối nguy hại cho hệ sinh thái, thậm chí nó còn là nguồn nitơ quan trọng cho thực vật sinh trưởng và phát triển. Nhưng nếu ở nồng độ cao, quá ngưỡng cho phép, nitrat và nitrit cũng là nguồn gây ô nhiễm nghiêm trọng cho đất, nước mặt và thậm chí cả nước ngầm tại nơi xả thải.

Nồng độ nitrat, nitrit cao trong nước uống sẽ gây bệnh methemoglobinemia (xanh da), đặc biệt ở trẻ em. Hàm lượng NO_3^- không được vượt quá 10mg/l. Ngoài ra NO_2^- trong nước còn có thể tác động với amin để hình thành nitrosamin, một trong số tác nhân có thể gây ung thư [82].

Trong ngành công nghiệp quốc phòng, có nhiều nguồn tạo ra chất thải chứa nitrat, nitrit nhất là nước thải từ quá trình nhuộm đen để bảo quản vũ khí và nước thải từ quá trình phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng (chất O).

Trong quá trình nhuộm đen vũ khí, người ta phải sử dụng lượng đáng kể dung dịch có hàm lượng cao nitrit, nitrat cho nên nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí thường có hàm lượng nitrat, nitrit cao.

Một nguồn nước thải nữa cũng có hàm lượng NO_2^- , NO_3^- cao là nước thải của cơ sở sản xuất phục hồi nhiên liệu tên lửa. Nước thải loại này bao gồm các chất là thành phần chính của 2 chất trong nhiên liệu là chất Γ và chất O.

+ Chất Γ gồm triethylamin và xilidin, tỷ lệ xấp xỉ nhau, khoảng 48,5% - 50%. Hai chất này có tính độc cao đối với VSV và chính chúng là nguồn nhiên liệu đốt cháy tốt nên cách xử lý ưu việt là đốt ở nhiệt độ cao trong lò đốt 2 cấp (sơ cấp và thứ cấp). Quá trình đốt triệt để sẽ cho các sản phẩm cuối cùng là CO_2 , H_2O , và N_2 .

+ Chất O gồm HNO_3 (> 73%); N_2O_4 (17,5 - 22,5%); HF (0,5%). Trong nước HNO_3 dễ bị phân ly thành H^+ và NO_3^- , N_2O_4 dưới tác dụng của nhiệt độ và áp suất bị phân huỷ thành NO_2^- .

Nhìn vào thành phần nhiên liệu tên lửa có thể thấy rằng nếu như trộn lẫn nước thải có thành phần của cả hai chất O và Γ sẽ rất khó xử lý chúng bằng công nghệ sinh học đơn thuần mà cho hiệu quả cao. Cách xử lý tốt nhất cho loại nước thải này là kết hợp giữa công nghệ hoá học (phân huỷ hoặc hấp thụ sau đó loại bỏ các chất độc hại đối với VSV bằng phương pháp hoá học) và công nghệ sinh học (các VSV sẽ tiếp tục khử nitrit và nitrat còn lại trong nước thải). Cách xử lý tốt nhất, kinh tế nhất cho loại nước thải từ quá trình phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng là tách ngay từ đầu 2 loại nước thải chứa chất O và Γ riêng rẽ [6].

Với nước thải chứa chất Γ có thể sử dụng phương pháp hấp thụ hoặc phân huỷ hoá học. Khi sử dụng phương pháp hấp thụ (hoặc hấp phụ) cần thiết phải bổ sung công đoạn xử lý chất hấp phụ (đốt hoặc nếu có thể thì giải hấp) [6].

Với nước thải chứa chất O, như đã nói trên, thành phần chính của nó là NO_3^- , NO_2^- . Các chất ô nhiễm này có thể loại bỏ bằng VSV. Do đó quy trình nghiên cứu xử lý nước thải chứa chất O sẽ tương tự như quy trình xử lý nước thải từ quy trình nhuộm đen vũ khí. Vì vậy việc thành lập được một quy trình xử lý nước thải có hàm lượng cao NO_3^- , NO_2^- cao có thể áp dụng để xử lý chung cho hai loại nước thải này.

Ở Việt Nam, một số đề tài nghiên cứu giảm thiểu ô nhiễm nitơ (N-NH^+) trong nước thải chăn nuôi đã được tiến hành, song các công bố về nghiên cứu loại bỏ NO_2^- , NO_3^- hàm lượng cao trong nước thải công nghiệp còn rất ít và hầu như chưa có. Mục đích của đề tài trong phần này là tiến hành các thí nghiệm nhằm xác định được các thông số cần thiết để xây dựng quy trình xử lý nước thải chứa NO_2^- và NO_3^- cao từ quy trình nhuộm đen vũ khí và phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng (chất O).

Như trên đã nói, các vi khuẩn nitrat và phản nitrat hoá tồn tại rất phổ biến trong đất, nước do đó để sử dụng các VSV này vào xử lý nước thải chứa NO_2^- , NO_3^- chúng tôi không tiến hành phân lập đơn chủng mà muốn huy động sức mạnh của cả quần thể VSV (hướng đã được thừa nhận là đạt hiệu quả cao khi xử lý ô nhiễm môi trường bằng phương pháp VSV). Để làm được điều đó, chúng tôi tiến

hành nghiên cứu đặc điểm nuôi cấy và các yếu tố môi trường ảnh hưởng đến sự sinh trưởng, phát triển và khả năng phân huỷ NO_2^- , NO_3^- của quần thể VSV.

3.2.4.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố đến khả năng phát triển của vi khuẩn nitrat hoá

a. Ảnh hưởng của môi trường khoáng

Cấy VSV giống [mục 2.2.5.1] với nồng độ 0,5% vào 4 loại môi trường sau:

1. Vinograxki.
2. Môi trường chứa dung dịch Vinograxki tiêu chuẩn.
3. Môi trường 3 (chứa (g/l): NaNO_2 - 2; NaCO_3 - 1; K_2HPO_4 vết).
4. Môi trường Krulwich và Funk (1995).

Nuôi trên máy lắc tốc độ 200 vòng/phút, nhiệt độ $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Sau 15 ngày lấy mẫu xác định số lượng vi khuẩn. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường 1 (Vinograxki) cho kết quả tốt nhất và tương đối ổn định (nồng độ vi sinh vật sau 15 ngày đạt $4,5 \cdot 10^6$ MPN/ml). Trên cơ sở đó các thí nghiệm tiếp theo đều nuôi cấy vi sinh vật trên môi trường 1.

b. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Kết quả thực nghiệm cho thấy vi khuẩn nitrat hoá có thể phát triển trong dải nhiệt độ khá rộng (dưới 10°C đến trên 50°C) tuy vậy vùng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển là $20 - 30^\circ\text{C}$. Tại vùng này nồng độ vi sinh vật sau 15 ngày đạt $2,5 \cdot 10^6 - 6,5 \cdot 10^6$ MPN/ml, trong khi đó ở nhiệt độ 10°C , 40°C , 50°C chỉ đạt $10^3 - 10^4$ MPN/ml. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác [57,84].

c. Ảnh hưởng của pH môi trường

Kết quả thực nghiệm cho thấy dải pH thích hợp cho sự phát triển của vi khuẩn nitrat hoá là từ 8,0 - 9,0. Nồng độ vi sinh vật ở vùng pH này sau 15 ngày nuôi cấy đạt $\approx 10^6$ MPN/ml.

d. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Vi khuẩn *Nitrobacter* oxy hoá NO_2^- thành NO_3^- thường rất mẫn cảm với sự tồn tại của NH_3 hay NH_4 nồng độ, amon 0,0005% đã hạn chế sự phát triển của VSV, nồng độ 0,015% ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn này [57]. Kết

qua thử nghiệm cho thấy nồng độ NaNO_2 thích hợp nhất là 0,1%, nếu quá 2% thì quá trình oxy hoá NO_2^- thành NO_3^- sẽ bị đình chỉ.

3.2.4.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố đến khả năng chuyển hoá NO_2^- , NO_3^- của vi sinh vật

a. Ảnh hưởng của thành phần khoáng

Kết quả thực nghiệm cho thấy thay thế Na_2CO_3 bằng CaCO_3 trong thành phần khoáng có tác dụng thúc đẩy quá trình nitrat hoá của vi khuẩn một cách rõ rệt. Hiệu suất phân huỷ NO_2^- và NO_3^- tăng 2 lần khi thay Na_2CO_3 bằng CaCO_3 (từ 33 - 42% tăng lên 87 - 96%).

Bổ sung CaCO_3 với các nồng độ khác nhau đều có tác dụng thúc đẩy sự chuyển hoá NO_2^- . Tuy nhiên từ nồng độ CaCO_3 3g/l trở lên không cho hiệu quả phân huỷ tuyến tính. Vậy nồng độ CaCO_3 thích hợp là 3g/l.

b. Ảnh hưởng của nồng độ NO_2^- , NO_3^-

Kết quả nghiên cứu cho thấy vi khuẩn nitrat hoá có thể sinh trưởng và phát triển cũng như phân huỷ NO_2^- , NO_3^- tốt nhất ở nồng độ $\leq 400\text{mg/l}$. Như vậy kết quả thí nghiệm này không hoàn toàn phù hợp lắm với kết luận của các nhà nghiên cứu trước đây cho rằng nồng độ NO_2^- , NO_3^- thích hợp cho vi khuẩn nitrat hoá vào khoảng 666mg/l [57,58].

c. Ảnh hưởng của thời gian xử lý

Các thí nghiệm tiến hành với các nồng độ khác nhau đều cho thấy lượng NO_2^- , NO_3^- giảm đáng kể từ ngày thứ 15 và đến ngày thứ 21 sau đó sự thay đổi không đáng kể. Như vậy thời gian phân huỷ tối ưu phụ thuộc vào nồng độ NO_2^- , NO_3^- có trong nước thải.

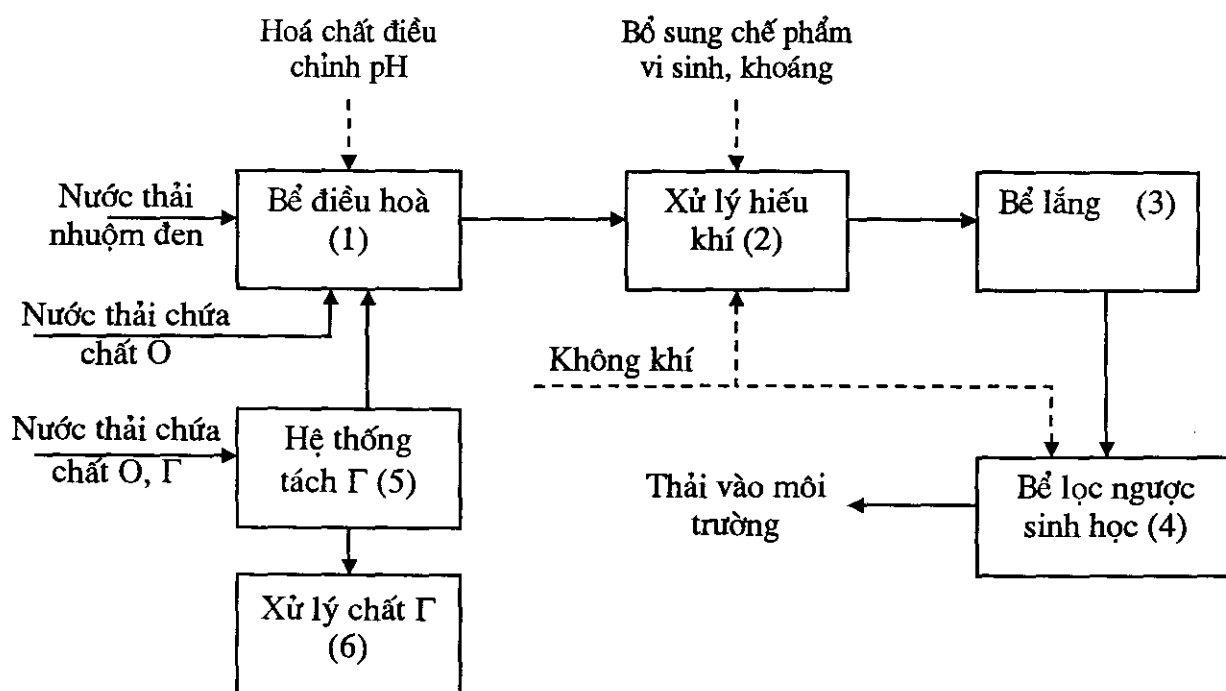
d. Vai trò của VSV trong quá trình loại bỏ NO_2^- , NO_3^- trong môi trường nước

Kết quả nghiên cứu cho thấy mẫu có bổ sung VSV có hiệu quả xử lý nhanh và triệt để hơn so với mẫu không bổ sung VSV, thời gian xử lý cũng ngắn hơn (chỉ cần 15 ngày hàm lượng NO_2^- , NO_3^- đã có thể chấp nhận được - Tiêu chuẩn nước thải Việt Nam chưa quy định rõ ràng chỉ tiêu về NO_2^- , NO_3^-).

3.2.4.4. Quy trình xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí

Từ kết quả nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến sự chuyển hoá NO_2^- , NO_3^- của vi sinh vật và kết quả nghiên cứu thành phần nước thải của quá trình nhuộm đen vũ khí có thể đưa ra quy trình xử lý nước thải như sau (hình 3.2.9):

Nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí có nồng độ NO_2^- , $\text{NO}_3^- \leq 400 \text{ mg/l}$ được gom vào bể điều hoà (1), sau đó điều chỉnh đến pH 8 sử dụng NaOH. Sau khi chỉnh pH nước thải được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học hiếu khí (2), tại đây bổ sung thêm khoáng có thành phần (g/l): Na_2CO_3 - 1; NaCl - 0,5; K_2HPO_4 - 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,3; FeSO_4 - 0,4 và VSV (đất xối) sao cho nồng độ vi khuẩn nitrat hoá trong nước thải đạt 10^6 CFU/g , sục khí liên tục 15 - 30 ngày tùy theo nồng độ NO_2^- , NO_3^- với tốc độ dòng khí $30 \text{ m}^3/\text{giờ}$. Sau đó nước thải được chuyển sang bể lắng (3), để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể lọc ngược sinh học (4) với các lớp vật liệu lọc kích thước hạt khác nhau. Có thổi khí nhẹ để tăng hiệu quả quá trình lọc. Nước thải lúc này có thể thải ra môi trường với các chỉ tiêu đạt nước thải loại B (theo TCVN): COD - 75 mg/l ; BOD - 18 mg/l ; nồng độ NO_2^- : $4,66 \text{ mg/l}$; NO_3^- : $5,38 \text{ mg/l}$. Phần cặn được tuần hoàn lại hệ thống sinh học hiếu khí.



Hình 3.2.9. Sơ đồ công nghệ xử lý nước thải nhuộm đen,
nước thải chứa chất O, Γ

3.2.4.5. Quy trình xử lý nước thải chứa nhiên liệu tên lửa

1. Nước thải hỗn hợp

Nước thải được xử lý trước tiên bằng phương pháp hấp phụ để loại bỏ chất độc (chất Γ). Sau đó nước thải được chuyển sang hệ thống tách (5) (hình 4.10) để tách phần chất rắn (chất hấp phụ có chất Γ) được xử lý riêng bằng phương pháp sử dụng lò đốt 2 cấp. Phần nước (sau khi đã loại bỏ chất Γ) còn lại chủ yếu là nitrat và nitrit được xử lý bằng công nghệ sinh học như quy trình xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí đã nêu ở trên (hình 3.2.9).

2. Nước thải tách riêng ngay từ đầu

- Nước thải chứa chất Γ : sử dụng phương pháp hấp phụ để tách chất Γ . Sau đó xử lý chất Γ và chất hấp phụ bằng lò đốt 2 cấp.

- Nước thải chứa chất O: xử lý bằng phương pháp sinh học hiếu khí như quá trình xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí (hình 3.2.9).

3.2.4.6. Thử nghiệm xử lý nước thải nhuộm đen vũ khí và nước thải chứa nhiên liệu tên lửa lỏng tại Z133 và A31

* Nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí của Z133 có nồng độ NO_2^- : 232 mg/l; NO_3^- : 220mg/l được xử lý với các thông số công nghệ thích hợp đã nghiên cứu (nhiệt độ, pH, khoáng...) trong 15 ngày. Kết quả được trình bày trên bảng 3.2.10.

Bảng 3.2.10. Sự thay đổi một số chỉ tiêu của nước thải nhuộm đen trước và sau xử lý (thời gian xử lý là 15 ngày)

Mẫu	COD (mg/l)	BOD ₅ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)
Trước xử lý	250	95	232	220
Sau xử lý	68	11	6	5

* Nước thải chứa nhiên liệu tên lửa lỏng của A31 được xử lý bằng than hoạt tính để tách triethylamin và xylicidin (hai thành phần chủ yếu của chất Γ), phần còn lại được xử lý theo quy trình đã đưa ra ở trên. Kết quả được trình bày trên bảng 3.2.11.

Bảng 3.2.11. Sự thay đổi một số chỉ tiêu của nước thải chứa chất O trước và sau xử lý (thời gian xử lý là 15 ngày)

Mẫu	COD (mg/l)	BOD ₅ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)
Trước xử lý	220	97	238	215
Sau xử lý	55	15	7,2	5,8

Nhân xét

- Điều kiện môi trường thích hợp cho VSV phân huỷ nitrat, nitrit phát triển tốt và phát huy tốt khả năng loại bỏ nitrat, nitrit trong nước thải là khoáng Vinogradski cải tiến trong đó Na₂CO₃ thay bằng CaCO₃ 3g/l. Nhiệt độ thích hợp cho sự sinh trưởng, phát triển và phân huỷ NO₂⁻, NO₃⁻ của vi khuẩn là 30°C, pH_{opt} là 8 - 9, nồng độ NO₂⁻, NO₃⁻ ≤ 400 mg/l, nồng độ vi khuẩn khoảng 10⁶ CFU/ml, thời gian xử lý 15-20 ngày trong điều kiện hiếu khí nghiêm ngặt (sục khí liên tục).

Quy trình công nghệ xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí và phục hồi nhiên liệu tên lửa (chất O) được xây dựng dựa vào các thông số đã nghiên cứu trên cho kết quả tốt: hàm lượng NO₂⁻, NO₃⁻ giảm 97 - 98% và nước thải sau xử lý đạt tiêu chuẩn nước thải loại B theo TCVN.

3.2.5. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải bị nhiễm dầu và hàm lượng cao các chất hữu cơ của cơ sở ngành hậu cần

3.2.5.1. Đặc điểm đối tượng và mục tiêu nghiên cứu

Nước thải có hàm lượng BOD cao là loại nước thải đặc trưng cho các ngành công nghiệp chế biến thực phẩm, chế biến thủy hải sản, công nghiệp sản xuất giấy, sản xuất phân bón. Đây cũng là nét đặc trưng của các loại nước thải sinh hoạt và nước thải bệnh viện. Trong ngành hậu cần quân đội các cơ sở sản xuất chế biến hàng quân lương (lương khô, bánh kẹo...), các cơ sở y tế, bệnh viện cũng là nguồn tạo ra nước thải có chỉ số BOD cao.

Nước thải có hàm lượng hữu cơ cao cũng là chất thải độc hại, thường có màu sắc không bình thường (màu nâu đen), có mùi khó chịu hôi thối. Hàm lượng chất dinh dưỡng cao đã làm tăng số lượng các vi sinh vật kể cả vi sinh vật gây hại có trong nước thải và trong môi trường, từ đó gây ảnh hưởng xấu tới sự phát triển của các sinh vật nước và ảnh hưởng gián tiếp đến đời sống động vật nuôi và con người.

Ngoài nước thải có hàm lượng BOD cao phát sinh chủ yếu từ các cơ sở của ngành Hậu cần quân đội, các cơ sở sửa chữa xe máy, ô tô, vũ khí ngành kỹ thuật và các cơ sở cất giữ, tàng trữ, sản xuất sản phẩm xăng dầu mỡ của ngành Hậu cần còn là những nguồn phát sinh một loại nước thải khác cũng rất độc hại là nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng.

Hậu quả do ô nhiễm dầu gây ra cho môi trường là rất nghiêm trọng, đa dạng và khó khắc phục. Đối với thực vật, sinh vật sống ở môi trường nước thiệt hại do ô nhiễm dầu gây ra là rất lớn và khó nhận biết, khó đánh giá chi tiết và không bù đắp được. Khi bị nhiễm bẩn dầu, do tính chất nhẹ hơn nước, giữa mặt nước và không khí có lớp dầu mỏng ngăn cách làm cản trở quá trình trao đổi năng lượng, độ ẩm, ôxy, không khí..., hậu quả làm giảm quá trình quang hợp của thực vật sống trong nước (rong, tảo,...) làm tăng hàm lượng CO_2 và giảm ôxy làm chết hàng loạt sinh vật nước. Với lượng dầu rất nhỏ trong nước ($0,01\text{cm}^3/\text{l}$) cũng làm chết hàng loạt loài cá.

Công nghệ sinh học đã được ứng dụng khá hiệu quả để xử lý nước thải có hàm lượng BOD5 cao và bước đầu đang triển khai áp dụng trong việc xử lý nước bị ô nhiễm dầu khoáng [85 - 88]. Tuy nhiên việc nghiên cứu xây dựng mô hình công nghệ sinh học để xử lý nước thải có chỉ số BOD cao, hoặc nước thải bị ô nhiễm dầu mỡ đặc chủng của các cơ sở sản xuất ngành Kỹ thuật và Hậu cần quân đội thì mới đạt được các kết quả rất hạn chế.

Mục tiêu của chúng tôi trong phần nghiên cứu này của đề tài là nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ xử lý nước thải bị ô nhiễm dầu và hàm lượng hữu cơ cao trên cơ sở ứng dụng các kết quả nghiên cứu về vai trò và tác dụng của các chủng vi sinh vật bản địa và các chủng vi sinh vật đã được phân lập tuyển chọn từ vùng đất nước bị ô nhiễm các chất hữu cơ độc hại kể trên.

3.2.5.2. Kết quả nghiên cứu chế phẩm vi sinh vật có khả năng xử lý ô nhiễm dầu

a. Khảo sát phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng sử dụng dầu tốt

Từ các mẫu đất, nước bị ô nhiễm dầu tại các cơ sở quốc phòng: Z551, K680 đã phân lập được 132 chủng vi khuẩn, đã nghiên cứu khả năng phân hủy dầu của các nhóm vi khuẩn. Sau đó chọn được 4 chủng có khả năng sử dụng dầu thô tốt nhất được ký hiệu là (V6.1, V6.2, X1,X2). Kết quả định tên các chủng như sau:

V6.1: *Bacillus* sp.

V6.2: *Bravibacterium* sp.

X1: *Acranobacterium* sp.

X2: *Gazdnezella* sp.

Đã nghiên cứu đặc điểm, xác định các hoạt tính sinh học, sinh hoá (đồng hoá các nguồn nitơ, thành phần ure, phân giải gelatin, lên men glucose, phân giải tinh kết, sinh dipaza, sinh axit, khả năng di động, phản ứng catalosa và khả năng đồng hoá các nguồn cacbon) của các chủng này. Đã xác định được rằng cả 4 chủng đều có khả năng đồng hoá glucose tốt (xem phụ lục).

b. Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường tới sự phát triển và phân hủy của chủng vi khuẩn

Kết quả nghiên cứu cho thấy sự sinh trưởng và phát triển cũng như khả năng sử dụng dầu của các vi khuẩn trong môi trường chỉ có nguồn cacbon duy nhất là sản phẩm dầu đều chịu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường: nhiệt độ, pH, nồng độ NaCl.

Đã xác định rằng 4 chủng đã phân lập có hoạt độ cao trong điều kiện pH từ 5 -10 (tối ưu: pH 7), nhiệt độ từ 25 - 35 °C (tối ưu trên dưới 30°C), nồng độ NaCl từ 0,5 - 1%.

c. Nghiên cứu phương pháp bảo quản, giữ chủng vi khuẩn để dùng cho công nghệ xử lý nước thải bị ô nhiễm dầu

Để bảo quản, giữ gìn chủng vi khuẩn chúng tôi đã nghiên cứu giải pháp sử dụng giá thể (silicagel cát và hạt hấp phụ ẩm) (theo phương pháp đã nêu trong mục 2.2.6.3), sau 7 tháng giữ ở nhiệt độ phòng khả năng sống của bào tử nấm đạt 89 - 91%.

Bằng phương pháp giữ giống và bảo quản kể trên đã bảo đảm cho khả năng sử dụng các chủng vi sinh này như chế phẩm vi sinh hiệu quả dùng cho mục đích xử lý nước bị ô nhiễm dầu.

3.2.5.3. Nghiên cứu chế phẩm vi sinh dùng trong xử lý nước thải ô nhiễm các hợp chất hữu cơ cao (BOD cao)

Nước thải gây ô nhiễm BOD cao từ các nhà máy quốc phòng có đặc điểm không khác nhiều so với nước thải các nhà máy chế biến thực phẩm khác thuộc khu vực dân sinh. Mặt khác, tập đoàn vi sinh vật phân huỷ các hợp chất hữu cơ rất đa dạng về chủng cũng như phân bố rộng theo địa hình, chính vì vậy tạo ra chế phẩm có hoạt tính cao dùng chung cho nhiều cơ sở với nhiều điều kiện cụ thể rất khác nhau là không thực tế, vì chỉ sau một thời gian sử dụng, vi sinh vật bản địa sẽ dần thay thế vi sinh vật tuyển chọn đã đưa vào. Vi sinh vật đã được tuyển chọn đưa vào bể phản ứng trong điều kiện mới sẽ mất dần hoạt tính. Chính vì vậy chúng tôi chỉ tiến hành nghiên cứu tuyển chọn các tập đoàn vi sinh vật bản địa và đưa vào nuôi cấy trên giá thể cho một quy trình xử lý cụ thể.

- Mẫu nước thải lấy để nghiên cứu : nước thải và bùn từ Công ty X 22; xưởng sản xuất bia Trung Hoà.

- Mẫu được nuôi cấy trong môi trường khoáng có bổ sung nước thải từ cơ sở sản xuất và bổ sung thêm đường glucose trong quá trình nuôi cấy. Điều kiện nuôi cấy : nhiệt độ 30°C, trên máy lắc 200 vòng/phút. Đối với vi sinh vật kỵ khí - sục CO₂ liên tục. Khi số lượng tế bào vi sinh đạt 10¹² CFU/ml, dịch tế bào được đưa vào giữ như phần trên (mục 2.2.6.3), hoặc đưa vào bể xử lý, hoặc nuôi cấy trên giá thể trong bồn xử lý hiếu khí và kỵ khí. Tập đoàn vi sinh được kích hoạt từ nước thải Công ty X 22 Tổng cục hậu cần đã được sử dụng thử nghiệm trên pilot hợp khối quy mô phòng thí nghiệm và tại pilot xử lý nước thải đã xây dựng được tại Công ty X 22 - Tổng cục Hậu cần.

3.2.5.4. Nghiên cứu lựa chọn điều kiện thực hiện quy trình công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm dầu và ô nhiễm hợp chất hữu cơ cao (BOD cao)

Như trình bày ở trên, xử lý nước thải ô nhiễm dầu và ô nhiễm hợp chất hữu cơ có một số yêu cầu chung và một số đặc điểm riêng, vì vậy nghiên cứu đưa ra quy trình cần tính đến các yếu tố đặc thù.

Quy trình chúng tôi nghiên cứu dựa trên cơ sở sự kết hợp giữa các giải pháp xử lý hoá lý (keo tụ & kết bông) với phân huỷ bằng phương pháp sinh học (hiếu khí và kỵ khí). Chính vì vậy cần nghiên cứu lựa chọn các tập đoàn chủng vi sinh vật thích hợp cho từng giải pháp, xác định được điều kiện tạo giá thể và các yếu tố môi trường cần thiết.

a. Lựa chọn nhiệt độ và pH

Kết quả thử nghiệm cho thấy cũng như đối với các chất thải là thành phần thuốc nổ, thuốc phóng quá trình phân huỷ nước thải có hàm lượng BOD cao được tiến hành ở nhiệt độ thích hợp nhất là 25 - 35 °C và pH từ 6 - 8 (khoảng pH vi sinh vật phát triển tốt). Trong thực tế, hai miền Nam, Bắc có độ chênh lệch nhiệt độ theo mùa trong năm khác nhau, chính vì vậy khi thiết kế bồn phân huỷ cần tính đến vật liệu và độ dày vỏ bồn để đảm bảo độ ổn định nhiệt độ.

b. Tập đoàn vi sinh vật

Tập đoàn vi sinh vật được sử dụng gồm hai nguồn: 1- Tập đoàn vi sinh vật bản địa có trong bùn hoặc nước thải tại nơi cần xử lý; 2 - Tập đoàn vi sinh vật tuyển chọn được phân lập trong môi trường và đã được đánh giá khả năng phân huỷ các hợp chất hữu cơ hoặc dầu mỡ của chúng (xem mục 4.5.2.1 và 4.5.2.2).

Sử dụng tập đoàn vi sinh vật tuyển chọn có ưu điểm là hiệu suất phân huỷ cao, song cũng có yếu điểm là sau một thời gian sử dụng có sự cạnh tranh phát triển trên giá thể giữa vi sinh vật bản địa với vi sinh vật tuyển chọn. Vì vậy sau một thời gian sử dụng nhất định cần thay tập đoàn vi sinh vật mới.

c. Lựa chọn giá thể

Tiêu chuẩn để chọn giá thể - tạo điều kiện vi sinh vật bám và phát triển tốt trên bề mặt giá thể; bề mặt tiếp xúc với nước thải lớn song thể tích tối ưu; không cản trở dòng chảy của nước thải. Qua nghiên cứu, chúng tôi lựa chọn chất dẻo tái sinh được chế tạo dạng ống nhỏ với đường kính 10 - 15 mm, độ dài tùy theo điều kiện cụ thể, dạng mảnh dài hoặc dạng lưới làm giá thể. Giá thể dạng mảnh hoặc ống được xử lý gelatin và xếp dọc hoặc nghiêng theo dòng nước chảy, dạng lưới xếp vuông góc. Giữa các lớp giá thể có khoảng trống khoảng 5 cm (mục đích trộn đều nước thải với khí). Kích thước và cách xếp giá thể sao cho diện tích bề mặt giá thể tối đa trên một đơn vị thể tích. Với giá thể như trên, tải trọng BOD ngày

đem cho 1 m³ giá thể từ 3 - 7 kg. Khối lượng giá thể cần thiết và kích thước bồn phân huỷ kỵ khí và hiếu khí phụ thuộc vào tải trọng BOD cần xử lý cũng như hiện trường. Trong bồn kỵ khí, nước thải đi từ trên xuống; trong bồn hiếu khí, nước thải và khí được trộn đều và đi từ dưới lên. Trên bồn phân huỷ có bộ phận xử lý khí thải nhờ cơ chế hấp phụ (than hoạt tính), dưới đáy bồn có van xả cặn.

d. Bổ sung nguồn dinh dưỡng cần thiết

Đối với nước thải có ô nhiễm BOD cao, cần bổ sung thêm N, P, thường theo tỷ lệ : BOD:N:P = 100:5:1. Thường bổ sung urê và phốt pho trước khi nước thải vào bồn phân huỷ.

e. Cấp khí cho quá trình phân huỷ sinh học hiếu khí

Khi lượng oxy càng lớn, thì quá trình phân huỷ xảy ra càng hiệu quả trong quá trình phân huỷ hiếu khí. Chính vì vậy khi thiết kế bồn hiếu khí cần tính đến bảo đảm cung cấp oxy tối ưu. Oxy tan trong nước thải phụ thuộc vào áp suất khí nén, kích thước bọt khí và thời gian tiếp xúc giữa khí và nước thải.

f. Tạo màng tập đoàn vi sinh vật trên bề mặt giá thể

Một trong những yếu tố quyết định trong quá trình phân huỷ sinh học nước thải có BOD cao là tạo sinh khối trong bồn phân huỷ. Nếu trong bể aerotank đó là bùn hoạt tính; còn khi sử dụng giá thể - màng vi sinh vật bám trên bề mặt giá thể. Tập đoàn vi sinh vật khác nhau (bản địa hoặc tuyển chọn) được kích hoạt trong môi trường dinh dưỡng đến khi nồng độ vi sinh vật đạt 10¹⁰ CFU/ml (Đối với VSV hiếu khí, lắc trên máy lắc với tốc độ 200 vòng/phút; trong trường hợp kỵ khí - sục CO₂ liên tục). Sau đó dịch vi sinh vật được chuyển vào bồn xử lý nuôi cấy trong môi trường có nước thải cần xử lý (nếu sử dụng vi sinh vật tuyển chọn thì trước đó nước thải cần tiệt trùng) có cho thêm rỉ đường, glucose và N,P.. hoặc dầu mỡ khi xử lý nước ô nhiễm dầu. Đối với bồn phân huỷ hiếu khí cần sục khí liên tục với tốc độ hợp lý, tránh phá vỡ màng vi sinh trên bề mặt giá thể. Sau một thời gian khoảng 1 tuần tiến hành tuần hoàn nước thải cần xử lý có bổ xung N,P.. Sau 1 tháng nuôi cấy, có thể đưa vào sử dụng.

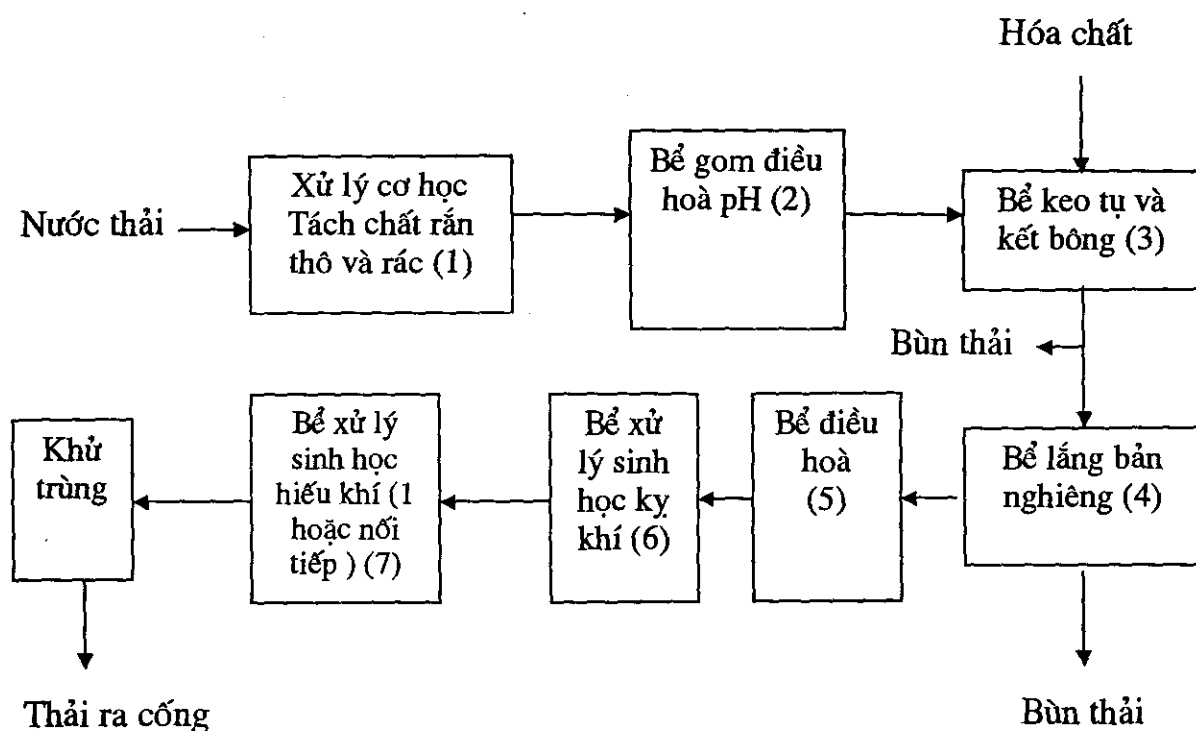
Như vậy, trong khuôn khổ đề tài đã nghiên cứu tạo ra các khối riêng rẽ của hệ thống xử lý như: bộ phận tách dầu nổi; bể lọc thô; bể thu gom và chỉnh pH; bể keo tụ và kết bông; bể tách lắng bản nghiêng; bồn phân huỷ hiếu khí; bồn phân

huỷ kỵ khí; bể khử trùng. Trong thực tế tùy từng điều kiện cụ thể, nồng độ BOD.. mà ta có thể kết nối các khối sao cho hiệu quả và kinh tế. Ví dụ, khi hàm lượng BOD và chất lơ lửng cao trong nước thải - cần có công đoạn xử lý keo tụ và kết bông; sau đó nếu BOD > 500 mg/l cần qua bồn kỵ khí và bồn hiếu khí (có thể nhiều bồn hiếu khí nối tiếp - nếu BOD quá cao); nếu BOD < 500 mg/l chỉ cần phân huỷ hiếu khí.

3.2.5.5. Quy trình công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm hợp chất hữu cơ cao trong các nhà máy của ngành hâu cần quân đội

Nguyên lý hoạt động: (hình 3.2.10)

Nước thải từ khu sản xuất qua lưới chắn rác (1) nhằm loại bỏ chất rắn thô và rác, thu vào bể gom (2), chỉnh pH sau đó chuyển vào bể keo tụ (3), sau khi cho chất keo tụ PAC (120 ppm) và chất trợ lắng A-101 (5 ppm), khuấy và chuyển vào bể lắng bản nghiêng (4) (tại đây phần lớn chất rắn lơ lửng và một phần chất hữu cơ được loại bỏ, cặn thải ra ngoài). Sau khi qua bể lắng nước thải thu vào bể điều hoà (5), tại đây cho thêm N,P, khoáng, chỉnh pH sau đó bơm vào bồn phân huỷ kỵ khí (6) có chứa các giá thể. Từ cuối bồn kỵ khí (6) nước thải chảy sang bồn hiếu khí (7). Trong khoang đáy nước thải được trộn đều không khí nhờ bơm nén khí. Phụ thuộc vào lượng BOD trong nước thải mà ta có thể kết nối 1 hoặc nhiều bồn hiếu khí. Sau bồn hiếu khí nước thải được lọc cặn lơ lửng, khử trùng và chảy vào cống thoát nước chung. Quy trình công nghệ này đã được áp dụng để xử lý nước thải của xí nghiệp 22 - Tổng cục Hậu cần (xem mục 5.3). Kết quả thử nghiệm cho thấy bằng quy trình này trong điều kiện pilot nhỏ đã đạt được hiệu suất phân huỷ trên 96,5% với nước đầu vào có hàm lượng $BOD_5(20^{\circ}C)$ - 1270 mg/l và nước đầu ra $BOD_5(20^{\circ}C)$ 45 mg/l đạt tiêu chuẩn nước thải công nghiệp loại B theo TCVN 5945-1995.

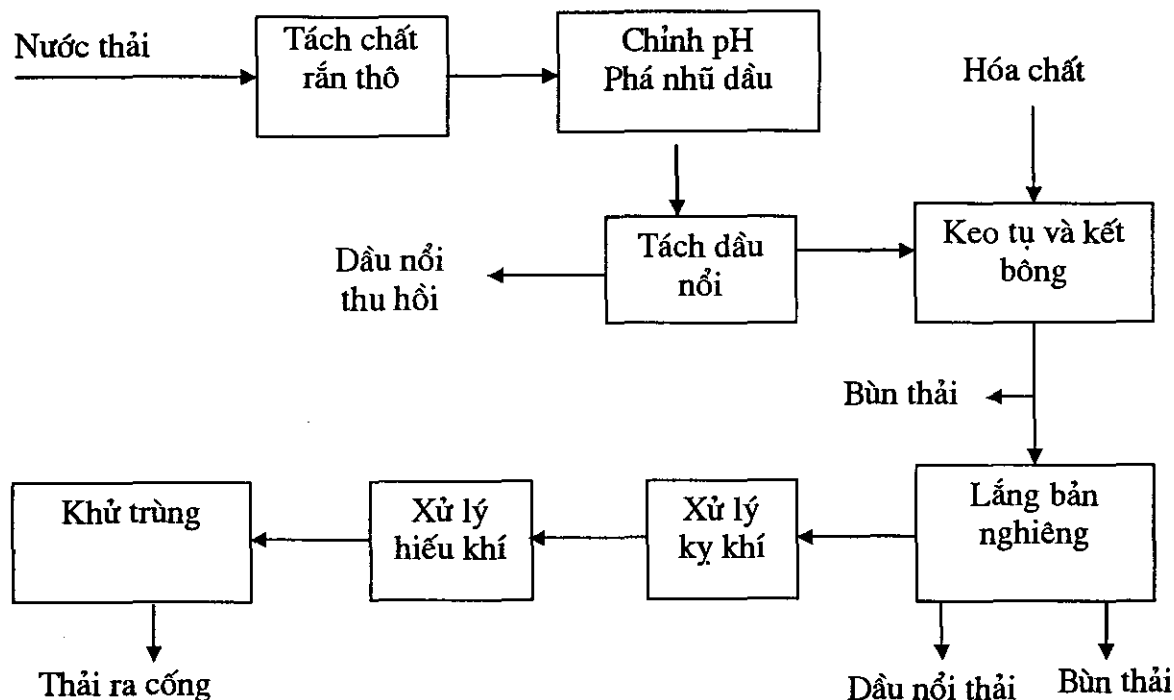


Hình 3.2.10. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm các hợp chất hữu cơ BOD cao trong các nhà máy của ngành Hậu cần Quân đội

3.2.5.6. Quy trình công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm dầu và các sản phẩm dầu

Nguyên lý hoạt động:

Về cơ bản cũng theo nguyên lý của quy trình công nghệ với nước thải có BOD₅ cao. Tuy nhiên khác với trường hợp nước thải có BOD cao trong giai đoạn đầu của quy trình xử lý cần có công đoạn vớt dầu mỡ dạng nổi và nhũ (sơ đồ hình 3.2.11). Nước thải có chứa dầu mỡ (dạng nổi và dạng nhũ), qua hệ thống lọc rác và chất rắn thô được thu vào bể gom - tại đây chỉnh pH để phá nhũ dầu và tách dầu nổi theo nguyên lý trọng lượng. Từ bể gom, nước thải qua bể keo tụ và kết bông sau qua hệ thống lắng bản nghiêng (tại đây, dầu nổi và bùn lắng được thải ra ngoài), phần nước được cho thêm N,P, khoáng .. và bơm vào bồn phân huỷ kỵ khí. Qua giai đoạn phân huỷ kỵ khí nước thải được chuyển qua bể (hoặc hệ thống nối tiếp bể) phân huỷ hiếu khí, sau đó được khử trùng và được thải ra ngoài. Kết quả cho thấy, qua hệ thống này sau xử lý nước thải đạt tiêu chuẩn loại B (0,75 mg/l) theo TCVN 5945-1995.



Hình 3.2.11. Sơ đồ qui trình công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm dầu tại các cơ sở Hậu cần Quân đội

3.2.6. Nghiên cứu quy trình công nghệ sinh học xử lý nước thải cơ sở dệt nhuộm ngành hậu cần quân đội

3.2.6.1. Mở đầu

Nước thải dệt nhuộm trong đó có nước thải các cơ sở ngành hậu cần quân đội thường bao gồm ba nhóm hóa chất khác nhau:

- 1- Các loại thuốc nhuộm (trực tiếp, phân tán, hoạt tính, axit, hoàn nguyên, lưu huỳnh)
- 2- Các chất phụ gia
- 3- Các hoá chất khác

Như vậy, thành phần nước thải dệt nhuộm rất phức tạp, bao gồm nhiều loại hóa chất vô cơ và hữu cơ khác nhau, trong đó có một số hợp chất khó phân hủy sinh học và có thể có một số kim loại nặng như Cr... Tùy theo nhà máy, chỉ số BOD₅ thường dao động từ 400 - 600 mg/l, còn chỉ số COD từ 900 -

1400 mg/l (UNIDO, 1995). Loại nước thải dệt nhuộm của công ty 28 - Tổng cục Hậu cần mà đề tài khảo sát có các đặc trưng sau (bảng 3.2.12).

Bảng 3.2.12. Một số đặc trưng của mẫu nước thải dệt nhuộm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Giá trị
pH		8,7
TDS	mg/l	78.400
TSS	mg/l	95.400
COD	mg/l	1770
BOD	mg/l	400
Màu	Pt - Co	200 - 650

Như vậy nước thải của các cơ sở dệt nhuộm cũng là loại nước thải có chỉ số COD cao, nhất thiết phải được xử lý để loại các hóa chất độc hại trước khi thải ra môi trường. Như trong mục 1.1.4. đã trình bày, công nghệ xử lý nước thải dệt nhuộm là công nghệ tổng hợp trong đó có công đoạn xử lý sinh học. Từ trước đến nay trong công đoạn này thường áp dụng kỹ thuật phân hủy hiếu khí [84]. Kỹ thuật này chịu nhiều ảnh hưởng của các yếu tố môi trường, đặc biệt là nhiệt độ, hiệu quả khử COD và màu không cao, đòi hỏi nhiều năng lượng và mặt bằng. Kỹ thuật phân hủy kỵ khí trong điều kiện hiếu nhiệt và khả năng áp dụng trong xử lý nước thải dệt nhuộm là đối tượng được tập trung nghiên cứu trong phần này của đề tài.

3.2.6.2. Kết quả nghiên cứu xử lý nước thải nhuộm bằng công nghệ sinh học kỵ khí và công nghệ sinh học kết hợp ở điều kiện nhiệt độ thường (mesophilic)

Khi nước thải nhuộm được xử lý bằng sinh khối kỵ khí mesophilic với nhiệt độ trong thiết bị UASB được kiểm soát ổn định ở 30 ° C, hiệu quả loại COD trong suốt bốn tuần đầu khá thấp, chỉ đạt từ ~ 36 % trong tuần đầu và tăng dần đến ~58 % vào cuối tuần thứ tư. Từ tuần thứ năm cho đến tuần thứ 9, hiệu quả loại COD có tăng, nhưng không nhiều, đạt đến mức cao nhất chỉ vào khoảng ~64 %. Khi hiệu suất loại COD đạt tới khoảng 60 %, màu nước thải

nhuộm trở nên nhạt hơn, nhưng không đáng kể. Nước thải nhuộm sau khi qua thiết bị UASB tiếp tục được xử lý trong thiết bị FBR, với hiệu quả loại COD trong vòng ba tuần đầu khá thấp, chỉ đạt ~ 25%. Từ tuần thứ tư, hiệu quả của thiết bị FBR có được cải thiện, nhưng không nhiều, với mức cao nhất trong suốt 9 tuần vận hành đạt đến ~ 48%.

3.2.6.3. Xử lý nước thải nhuộm bằng công nghệ sinh học kỵ khí và công nghệ sinh học kết hợp ở điều kiện nhiệt độ cao (thermophilic)

a. Tạo lập sinh khối kỵ khí hiếu nhiệt (thermophilic) từ sinh khối kỵ khí nhiệt độ thường (mesophilic)

Trong trường hợp sử dụng metanol làm cơ chất (Thiết bị UASB N1), thời gian vận hành ban đầu để tạo sinh khối hiếu nhiệt, mức tải lượng hữu cơ thể tích (OLR – Organic Loading Rate) được duy trì ở mức khá thấp, chỉ trong khoảng 1 – 2,5kg COD/m³.ngày. Nhưng hiệu quả loại COD tương đối thấp mặc dù chưa có chất hoạt động bề mặt. Lượng bùn trôi ra khá nhiều khi tăng nhiệt độ từ 30°C lên 45°C do bị sốc nhiệt. Thời gian để vi sinh thích nghi khi vận hành với nhiệt độ cao là khá lâu, khoảng 30 ngày từ ngày 51 đến ngày 83, hiệu suất loại COD mới tăng từ 35% lên 87% đối với thí nghiệm cơ chất bổ sung là methanol. Sau đó từ ngày 86 đến ngày 100, hiệu suất loại COD của cột 1 (cơ chất là methanol) luôn ổn định ở 84 – 89,91%.

Đối với thí nghiệm cơ chất bổ sung là ethanol (thiết bị UASB N2), quá trình thích nghi với nhiệt độ cao của sinh khối còn lâu hơn và khi vận hành ở nhiệt độ 45°C từ ngày 31 đến ngày 100, hiệu suất loại COD cao nhất đạt được là 83%.

**** Ảnh hưởng của yếu tố nhiệt độ***

Khi tăng nhiệt độ từ 30°C lên nhiệt độ 45°C thì hiệu quả loại COD bắt đầu giảm một cách rõ rệt đồng thời kéo theo sản lượng metan cũng suy giảm. Thời gian để thích nghi với nhiệt độ 45°C trong khoảng hơn 30 ngày và hiệu suất loại COD ở cả hai cột thí nghiệm bắt đầu tăng trở lại.

Khi tăng nhiệt độ ở cả hai thí nghiệm từ 45°C lên 55°C từ ngày 102, hiệu suất loại COD ở cả hai thí nghiệm đồng loạt giảm xuống <30%. Tuy nhiên, sau

đó ở cột thí nghiệm 1 (cơ chất là metanol) hiệu suất loại COD nhanh chóng được phục hồi trở lại và dao động trong khoảng từ 50 - 69% từ ngày 123 - 165. Còn ở thí nghiệm 2 (cơ chất bổ sung là ethanol) hiệu suất loại COD vẫn ở mức thấp <45% mặc dù vận hành ở nhiệt độ 55°C trong khoảng 60 ngày từ ngày 102 đến ngày 162. Như vậy thời gian thích nghi đối với nhiệt độ 55°C được coi là khởi đầu của công nghệ sinh học kỵ khí hiếu nhiệt lâu hơn đáng kể và vai trò của các cơ chất bắt đầu thể hiện rõ.

b. Thử nghiệm xử lý nước thải nhuộm với sinh khối kỵ khí hiếu nhiệt và hậu xử lý bằng FBR

Nước thải nhuộm được xử lý bằng sinh khối kỵ khí thermophilic với nhiệt độ trong thiết bị UASB được kiểm soát ổn định ở 55 °C, sau đó tiếp tục được xử lý trong thiết bị FBR trong khoảng 60 ngày liên tục, từ ngày 285 đến ngày 348. Hiệu quả loại COD trong suốt 20 ngày đầu, từ ngày 285 đến ngày 304, khá thấp, chỉ dao động trong khoảng từ 22 - 35%. Độ màu của nước thải có giảm nhưng ở mức rất ít. Có thể coi đây là thời gian thích nghi của sinh khối kỵ khí hiếu nhiệt, vốn được phát triển trên nền cơ chất metanol, là một hợp chất hữu cơ rất dễ phân hủy sinh học, với nước thải chứa các loại hoá chất nhuộm khó phân hủy sinh học, lại có thể có độc tính sinh học ở mức độ nhất định.

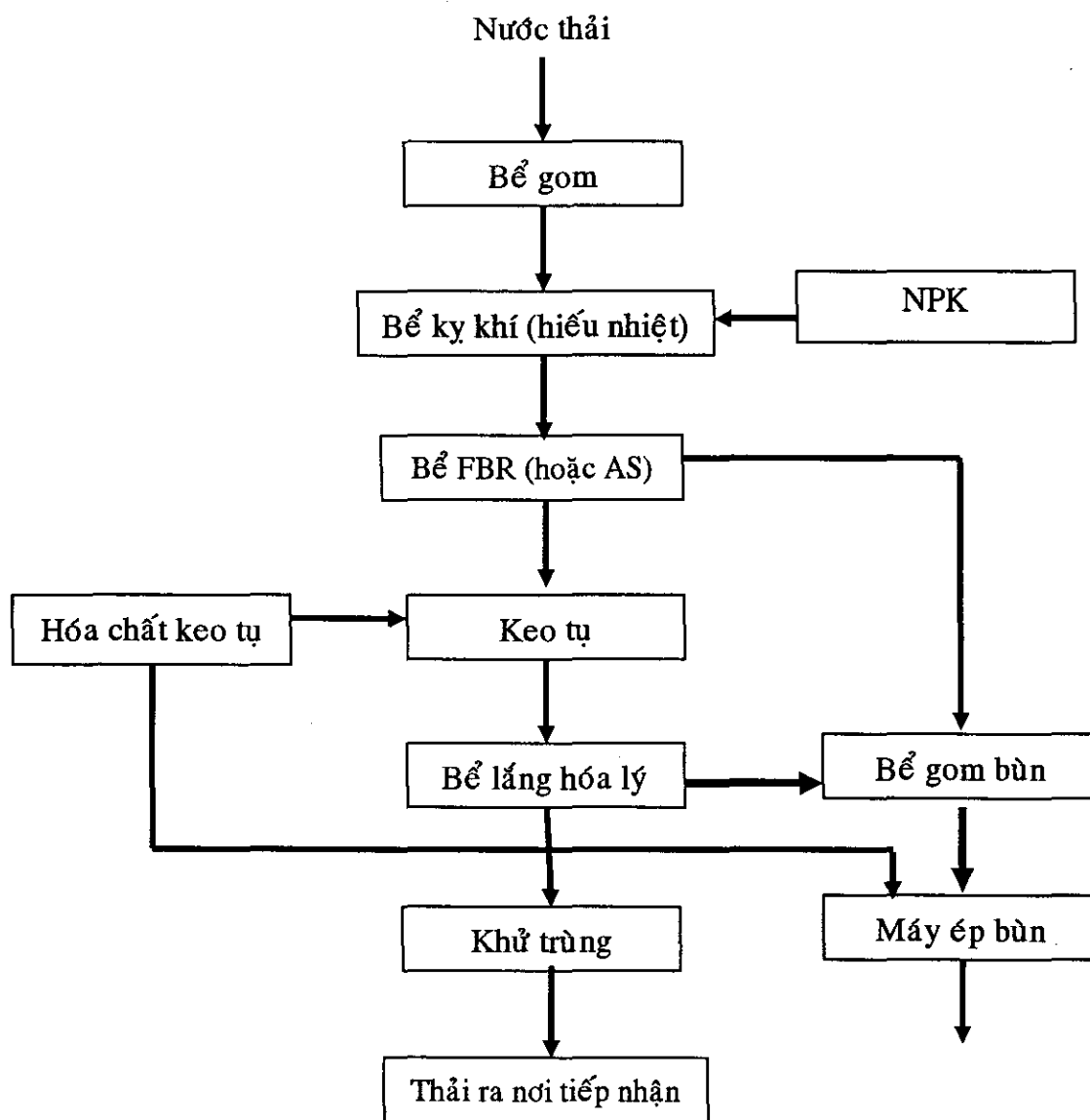
Từ ngày thứ 21, quá trình phân huỷ hữu cơ bắt đầu được cải thiện rõ rệt. Hiệu quả loại COD tăng dần từ ~ 39 % vào ngày thứ 31 (316) đến 82 % vào ngày 63 của thí nghiệm xử lý nước thải nhuộm (ngày 348 của toàn bộ thí nghiệm). Trong giai đoạn này, mặc dù hiệu quả xử lý của FBR chưa cao, cũng chỉ đạt tối đa ~ 57 % ở những ngày cuối, nhưng quá trình khử màu xảy ra rất khả quan. Trong 2 tuần cuối, độ màu sau khi qua UASB giảm mạnh, từ 200 đơn vị Pt – Co xuống còn 70, và giảm đều chỉ còn 22 đơn vị Pt – Co, nước thải sau khi xử lý bằng UASB (Thermophilic) và hậu xử lý bằng FBR, đã đạt được tiêu chuẩn thải loại B và không còn màu, thuần túy chỉ bằng các giải pháp sinh học. Quá trình này đạt được với tải trọng hữu cơ thể tích (VOL) ~1.6 g COD/l.ngày và thời gian lưu thủy lực (HRT) khá ngắn, chỉ khoảng 10 h.

Bảng 3.2.13. Xử lý nước thải nhuộm bằng UASB và FBR ở điều kiện nhiệt độ cao (thermophilic) – 55^o C

Ngày	pH	COD in (mg/l)	COD out (mg/l)	Tải lượng gCOD /l.ngày	% khử COD	CODout sau FBR	% khử COD sau FBR	Độ màu in Pt-Co/L	Độ màu-out Pt-Co/l	HRT (h)
285	7.1	655	510	1.45	22.1					10.9
288	7.2	652	400	1.44	38.7					10.9
292	7.15	647	580	1.46	10.3					10.7
296	7.2	652	530	1.46	18.7					10.8
298	7.25	657	520	1.49	20.9					10.6
300	7.05	659	490	1.51	25.6					10.6
302	7.1	659	500	1.5	24.1					10.6
304	7.3	664	433	1.52	34.8					10.6
316	7.1	661	400	1.51	39.5					10.6
318	7.4	663	350	1.53	47.2					10.5
321	7.25	660	220	1.52	66.7	150	31.9			10.5
324	7.1	655	200	1.53	69.5	180	10			10.4
328	7.3	663	210	1.55	68.4	175	16.7			10.3
330	7.35	643	180	1.68	72	140	22.3			9.3
333	7.15	617	150	1.49	75.7	146	2.7	200	70	10
336	7.05	647	170	1.8	73.7	130	23.6	200	65	8.7
339	7.2	631	120	1.67	81	80	33.4	200	42	9.2
342	6.95	675	140	1.56	79.3	60	57.2	200	45	10.5
345	6.9	661	132	1.51	80.1	65	50.8	200	32	10.6
348	7.2	657	120	1.59	81.8	62	48.4	200	22	10

c. Quy trình công nghệ xử lý nước thải dệt nhuộm

Như đã phân tích, sơ đồ quy trình công nghệ truyền thống có hiệu quả xử lý COD và màu tương đối thấp, nhưng lại đòi hỏi nhiều năng lượng và mặt bằng. Từ kết quả nghiên cứu của đề tài, có thể đề xuất một quy trình công nghệ mới, dựa trên nền tảng áp dụng công nghệ sinh học kỵ khí hiếu nhiệt được trình bày ở hình 3.2.12.



Hình 3.2.12. Sơ đồ công nghệ xử lý nước thải nhuộm áp dụng công nghệ sinh học kỵ khí hiếu nhiệt

♦ **Tiêu chuẩn thiết kế**

Các tiêu chuẩn thiết kế được đề xuất chỉ liên quan đến công đoạn sinh học, xuất phát từ kết quả nghiên cứu của đề tài.

Các tiêu chuẩn thiết kế của các công đoạn khác tuân theo các giá trị phổ biến, không thuộc phạm vi đề tài được trình bày trong bảng 3.2.14.

Bảng 3.2.14. Một số chỉ tiêu thiết kế bể xử lý sinh học

Công đoạn	COD in, mg/l	Tải trọng (Vol), kg/m ³ .ngày	Lưu lượng hồi lưu	Thời gian lưu thủy lực, h
Bể sinh học kỵ khí	100 - 400	1 - 3	100% Q _{tb}	4 - 5
	400 - 1000	3 - 4	100% Q _{tb}	5 - 8
	1000 - 2500	4 - 6	100% Q _{tb}	8 - 12
Bể FBR, vật liệu đệm 200m ² /m ³ , 70% thể tích	100 - 200	0,5 - 0,7		3 - 4
	200 - 400	0,7 - 0,9		4 - 5
	400 - 600	0,9 - 1,5		5 - 7

* Chú thích: Tải trọng hữu cơ thể tích (Vol) được chọn cao hơn hay thấp hơn phụ thuộc vào mức độ khắc nghiệt của tiêu chuẩn xử lý

♦ **Thuyết minh hoạt động hệ thống xử lý**

Nước thải cần xử lý được chuyển vào bể gom. Từ bể gom nước thải được bơm qua bể kỵ khí (hiếu nhiệt). Bể điều hoà kỵ khí (hiếu nhiệt) có hai chức năng chính:

- Điều hoà về lưu lượng và nồng độ trong điều kiện yếm khí
- Phân hủy các chất hữu cơ độc hại, khó phân hủy đặc biệt là các chất màu có trong nước thải của các nhà máy nhuộm
- Bể điều hoà được lắp nhiều loại vật liệu đệm - multimedia để làm giá thể cho nhiều loại vi sinh vật kỵ khí khác nhau. Các vật liệu đệm trên ngoài tính năng là làm giá thể cho vi sinh vật còn có tính năng là hấp phụ các chất ô nhiễm đặc biệt là các chất màu rồi từ từ giải phóng ra cho vi sinh vật bám bên ngoài phân hủy tiếp.

Nước thải sau bể kỵ khí được bơm qua bể phân hủy sinh học hiếu khí đệm có định (FBR). Tại đây các vi sinh vật hiếu khí bám trên lớp vật liệu đệm sẽ tiếp tục phân hủy các chất hữu cơ còn lại trong nước thải. Oxy được cung cấp bởi máy thổi khí thông qua hệ thống phân phối khí dạng màng (membranne diffuser). Hệ

thống này sẽ cho phép tạo ra các bọt khí có kích thước nhỏ, từ đó làm tăng hệ số khuếch tán oxy vào trong nước. Hệ thống này sẽ cho phép giảm năng lượng điện tiêu thụ đi từ 2 - 3 lần so với hệ thống phân phối khí thông thường.

Nước sau bể phân hủy sinh học hiếu khí đệm cố định sẽ chảy qua bể lắng sinh học để tách bùn. Bùn từ bể lắng sinh học một phần sẽ được hồi lưu, phần dư sẽ được bơm về bể thu bùn. Nước thải sau khi tách bùn sinh học sẽ được chuyển qua công đoạn xử lý hoá lý nhằm loại bỏ nốt các chất ô nhiễm không thể phân hủy sinh học có trong nước thải. Công đoạn xử lý hoá lý bao gồm các khâu:

- Keo tụ bằng PAC (polyaluminium chloride)
- Tạo bông bằng polymer dạng cationic
- Lắng tách cặn bằng bể lắng ly tâm

Nước thải sau bể lắng ly tâm được chảy qua ngăn khử trùng sử dụng $\text{Ca}(\text{OCl})_2$. Nước thải sau khi khử trùng sẽ đảm bảo đạt tiêu chuẩn TCVN 6980 - 2001 và TCVN 5945 - 1995.

3.3. NỘI DUNG 3 - NGHIÊN CỨU THIẾT KẾ XÂY DỰNG CÁC PILOT XỬ LÝ CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

3.3.1. Thiết kế, chế tạo pilot xử lý nước thải công nghiệp quốc phòng dạng modul quy mô phòng thí nghiệm công suất 30l/ngày

Như trong chương 4 đã trình bày việc xử lý nước thải chứa các chất thải quốc phòng đặc chủng phải được tiến hành thông qua nhiều giai đoạn và bằng nhiều phương pháp khác nhau: xử lý cơ học, hoá học, sinh học ... Sau khi tiến hành nghiên cứu và đề xuất được biện pháp xử lý thích hợp với quy mô nhỏ tại phòng thí nghiệm, cần thiết phải tiến hành thử nghiệm công nghệ trên các pilot quy mô lớn hơn. Việc thử nghiệm công nghệ trên pilot là bước cần thiết để kiểm tra, hoàn thiện công nghệ trước khi đưa vào áp dụng trong thực tế ở quy mô công nghiệp.

Tuy nhiên với mỗi loại đối tượng nước thải khác nhau cần có biện pháp và công nghệ xử lý khác nhau. Do vậy, cần thiết phải chế tạo được pilot có khả năng thử nghiệm được nhiều loại hình công nghệ khác nhau. Việc thiết kế, chế tạo 1

pilot xử lý nước thải dạng modul sẽ giúp tiến hành thử nghiệm các loại công nghệ khác nhau một cách liên hoàn: xử lý bằng phương pháp hoá học, phương pháp sinh học kỵ khí, phương pháp sinh học hiếu khí, phương pháp cơ học... Do pilot được chế tạo dưới dạng modul nên có thể tiến hành độc lập từng công đoạn hay kết hợp hai hoặc nhiều công đoạn với nhau. Do đây là pilot thử nghiệm quy mô phòng thí nghiệm nên lưu lượng nước thải cần xử lý không nhiều, cho nên công suất thiết kế của pilot được xác định là 30l/ngày.

Đây là pilot xử lý dạng modul, có thể hoạt động từng phần độc lập hay kết hợp giữa các modul khác nhau. Pilot này có thể áp dụng cho các loại nước thải quốc phòng khác nhau, và với mỗi loại nước thải cần có sự phối hợp hợp lý giữa các công đoạn xử lý.

Để mô hình có thể đáp ứng với các dạng công nghệ khác nhau, việc tính toán các bể và thiết bị phản ứng được hiệu chỉnh sao cho thuận lợi cho quá trình thử nghiệm. Do được thiết kế dạng modul nên ngoài việc đảm bảo sao cho thực hiện được các quy trình công nghệ cần áp dụng còn phải đảm bảo yêu cầu về độ bền và có tính mỹ thuật. Hệ thống sẽ đặt trong phòng thí nghiệm nên ngoài yêu cầu phải đảm bảo các yêu cầu đã nêu trên còn phải được thiết kế gọn nhưng có tính cơ động cao.

Pilot được thiết kế dưới dạng mặt phẳng. Khi lắp đặt các bể phản ứng, vị trí các thiết bị sẽ được bố trí đảm bảo tính hợp lý, thuận tiện trong vận hành và có tính thẩm mỹ.

Pilot bao gồm 3 modul chính:

- Modul xử lý hoá học.
- Modul xử lý sinh học kỵ khí.
- Modul xử lý sinh học hiếu khí.

Các bể trong modul được thiết kế và bố trí như sau:

- Modul xử lý hoá học bao gồm:
 - + Bể chứa.
 - + Bể điều hoà xử lý hoá học.
 - + Bể xử lý hoá học.
 - + Bể keo tụ sau xử lý hoá học.

- Modul xử lý sinh học kỵ khí bao gồm:

- + Bể chứa.
- + Bể điều hoà xử lý sinh học kỵ khí.
- + Bể xử lý sinh học kỵ khí.
- + Bể lắng sau xử lý sinh học kỵ khí.

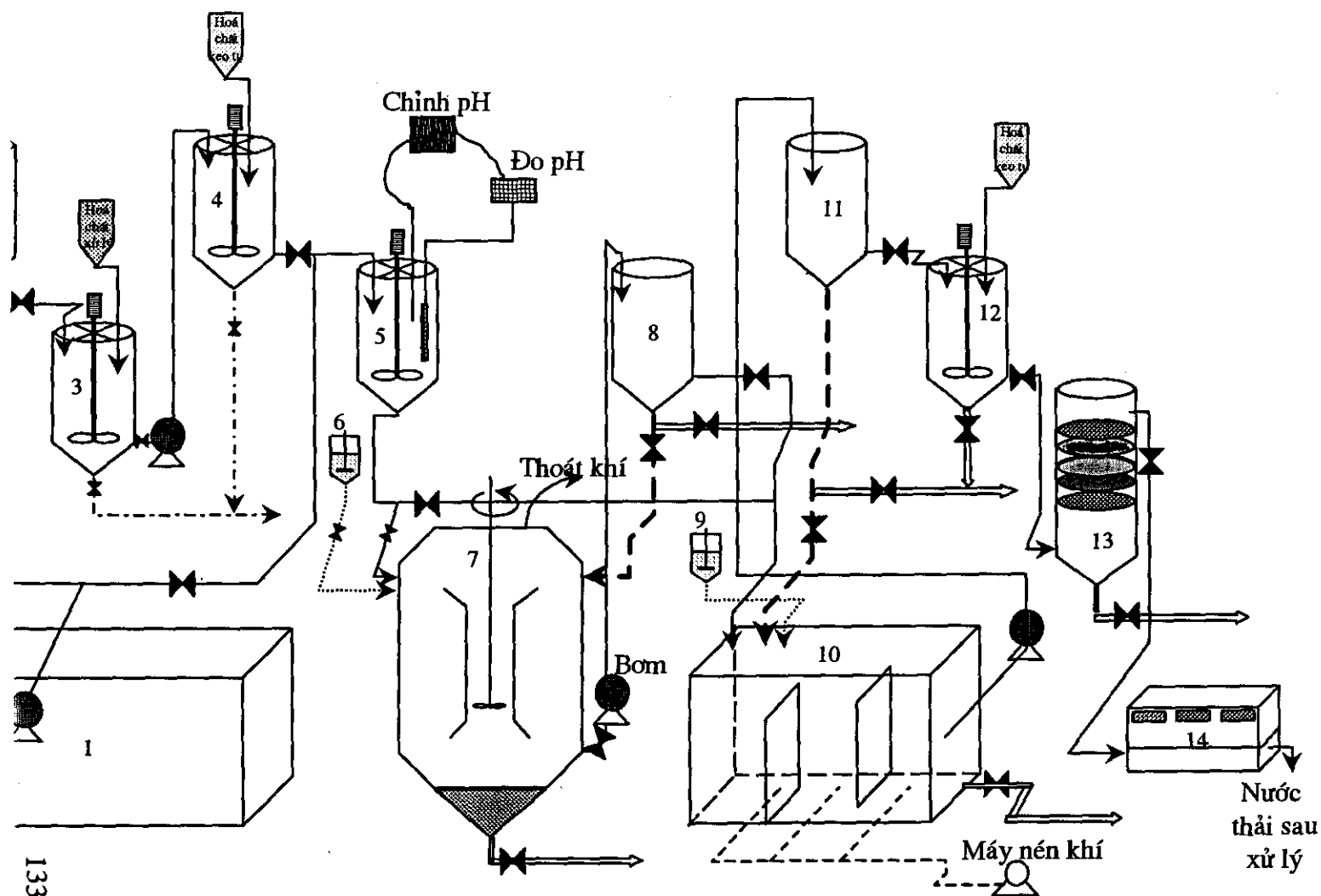
- Modul xử lý sinh học hiếu khí bao gồm:

- + Bể chứa.
- + Bể điều hoà xử lý sinh học.
- + Bể xử lý sinh học hiếu khí.
- + Bể lắng sau xử lý sinh học hiếu khí.
- + Bể keo tụ sau sinh học hiếu khí.
- + Hệ thống lọc ngược sinh học.
- + Hệ thống khử trùng bằng tia UV.

Toàn bộ pilot được gia công bằng thép inox có khả năng chịu được môi trường nước có độ kiềm, axit cao, chịu được các quá trình phản ứng khi pilot hoạt động.

Sơ đồ hệ thống (pilot) xử lý hợp khối các loại nước thải công nghiệp quốc phòng công suất 30l/ngày được trình bày trên hình 3.3.1.

Đình 3.3.1. Hệ thống (pilot) xử lý hợp khối nước thải CNQP bằng phương pháp sinh học



CHỦ THÌA HỆ THỐNG XỬ LÝ HỢP KẾ

chức năng:

- * Dự trữ các tài sản khác nhau,
- * Dự trữ các khoản VSV đã mua bán vào các hàng xuất,
- * Dự trữ chi phí quản lý các tài sản,
- * Dự trữ các hàng khác nhau khác nhau,
- * Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau,
- * Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau.

chức năng:

Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau, chi phí quản lý các tài sản khác nhau khác nhau.

- * Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau,
- * Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau.

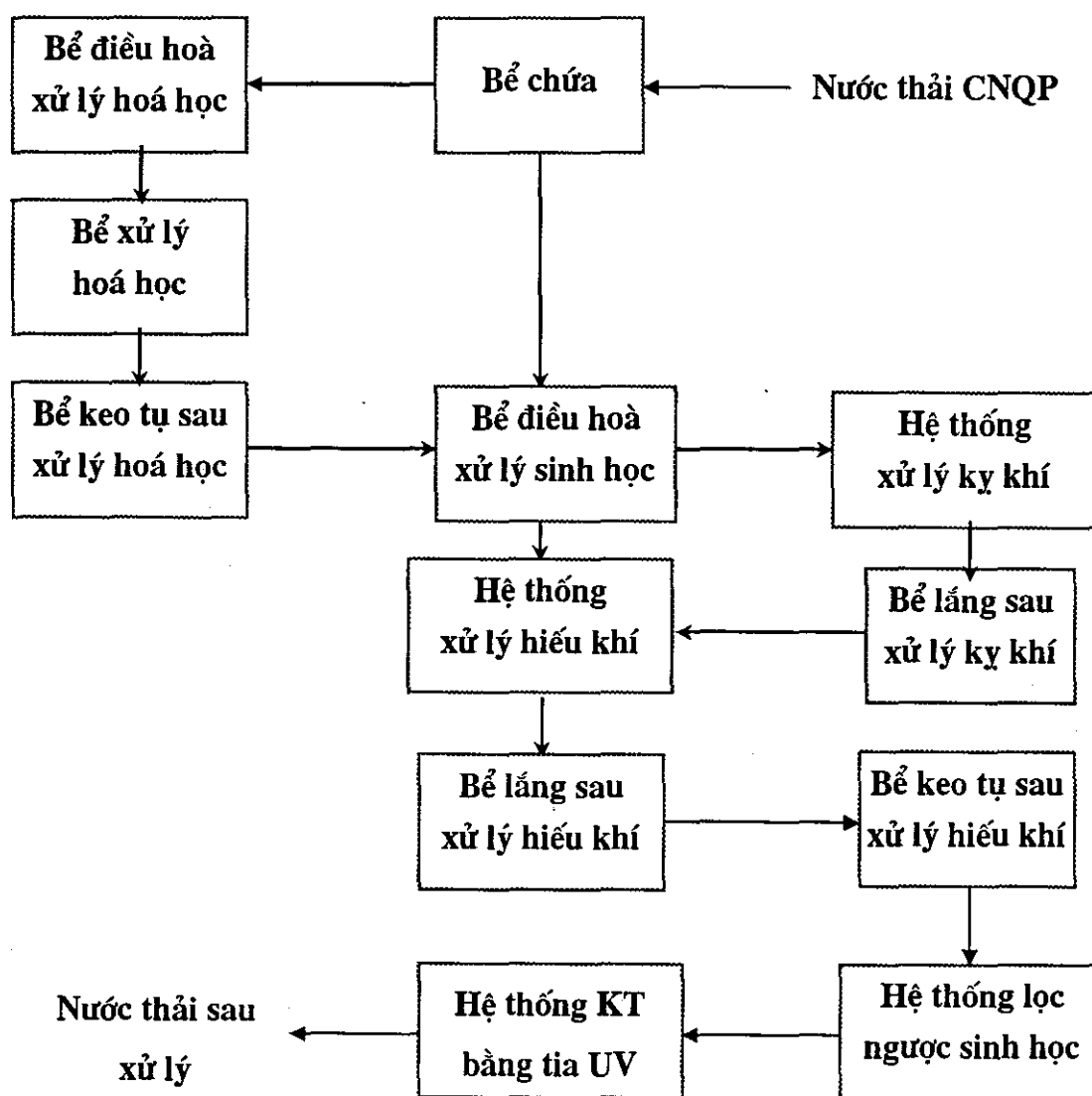
chức năng:

- 1: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau
- 2: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLHH)
- 3: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLHK)
- 4: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau
- 5: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLSH)
- 6: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLSHKK)
- 7: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLSHKK)

- 8: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau
- 9: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLHH)
- 10: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau (XLSHHK)
- 11: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau
- 12: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau
- 13: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau
- 14: Dự trữ các tài sản khác nhau khác nhau

Quy trình vận hành hoạt động của pilot thử nghiệm

Các công đoạn chính trong quy trình vận hành pilot dạng modul được trình bày trong sơ đồ dưới. Với từng loại nước thải khác nhau, có công nghệ xử lý khác nhau cần vận hành theo các công đoạn khác nhau. Sơ đồ trình bày ở hình 3.3.2.



Hình 3.3.2. Sơ đồ quy trình vận hành của pilot thử nghiệm

Với kết cấu hợp lý, pilot này đã được sử dụng hiệu quả để thử nghiệm các quy trình xử lý nước thải chứa TNT, DNT, TNR, NG, NC, NO_2^- , NO_3^- đã nêu trong mục 3.2.

3.3.2. Nghiên cứu thiết kế, xây dựng pilot xử lý nước thải chứa dầu mỡ đặc chủng tại cơ sở bảo quản sửa chữa vũ khí ngành kỹ thuật

3.3.2.1. Đặc điểm nguồn nước thải

Trong quy trình công nghệ bảo quản vũ khí, sau khi vũ khí được tháo rời người ta phải tiến hành tẩy mỡ cũ trước khi nhúng chi tiết vào dầu mỡ mới. Công đoạn này được thực hiện trong các bể chứa 2 loại dầu đặc chủng là AU và BO được đun nóng đến nhiệt độ 110 - 115 °C. Ở nhiệt độ này lượng đáng kể dầu bị bốc hơi và có ảnh hưởng xấu đến sức khỏe người lao động. Để hạn chế tác hại của hơi dầu người ta đã sử dụng biện pháp dùng nước để dập (hấp thụ) hơi dầu. Giải pháp này đã góp phần hạn chế được tác hại của hơi độc chứa dầu tới sức khỏe con người nhưng lại tạo ra lượng không nhỏ nước thải chứa dầu cũng có nguy cơ ảnh hưởng xấu tới môi trường.

Trong ngành Kỹ thuật có nhiều cơ sở sử dụng công nghệ trên để bảo quản vũ khí, trong đó có K680. Nước thải từ dây chuyền sửa chữa, bảo quản vũ khí tại K680 Cục quân khí có hàm lượng BOD, COD không quá cao nhưng tổng dầu mỡ bảo quản tương đối cao: COD $\approx$ 800 mg/l, BOD = 534 mg/l, N tổng là 95,27 mg/l, P tổng = 26,89 mg/l, tổng dầu mỡ là 58,4 mg/l. Ngoài ra, trong nước thải còn lẫn một ít dung môi, chất tẩy rửa. Do nguồn cung cấp nước ở các cơ sở ngành quân khí nói chung là bị hạn chế, nên việc xử lý để tái sử dụng lại lượng nước thải đã dùng để hấp thụ hơi dầu mỡ là nhu cầu rất cấp thiết.

Chính vì vậy khác với công nghệ xử lý nước thải bị nhiễm dầu mỡ nói chung, trong trường hợp này công nghệ xử lý sẽ thực hiện theo 1 chu trình khép kín. Mục tiêu chính là vừa đảm bảo được việc khử độc bởi hơi dầu mỡ đặc chủng vừa tiết kiệm được lượng nước dùng cho xử lý.

3.3.2.2. Yêu cầu thiết kế

- Thiết kế xây dựng hệ thống xử lý nước thải nhiễm dầu mỡ bảo quản vũ khí công suất 5 - 7 m³/ngày.
- Nước thải sau xử lý đạt tiêu chuẩn loại B (theo TCVN 5954 - 1995).

3.3.2.3. Công nghệ xử lý

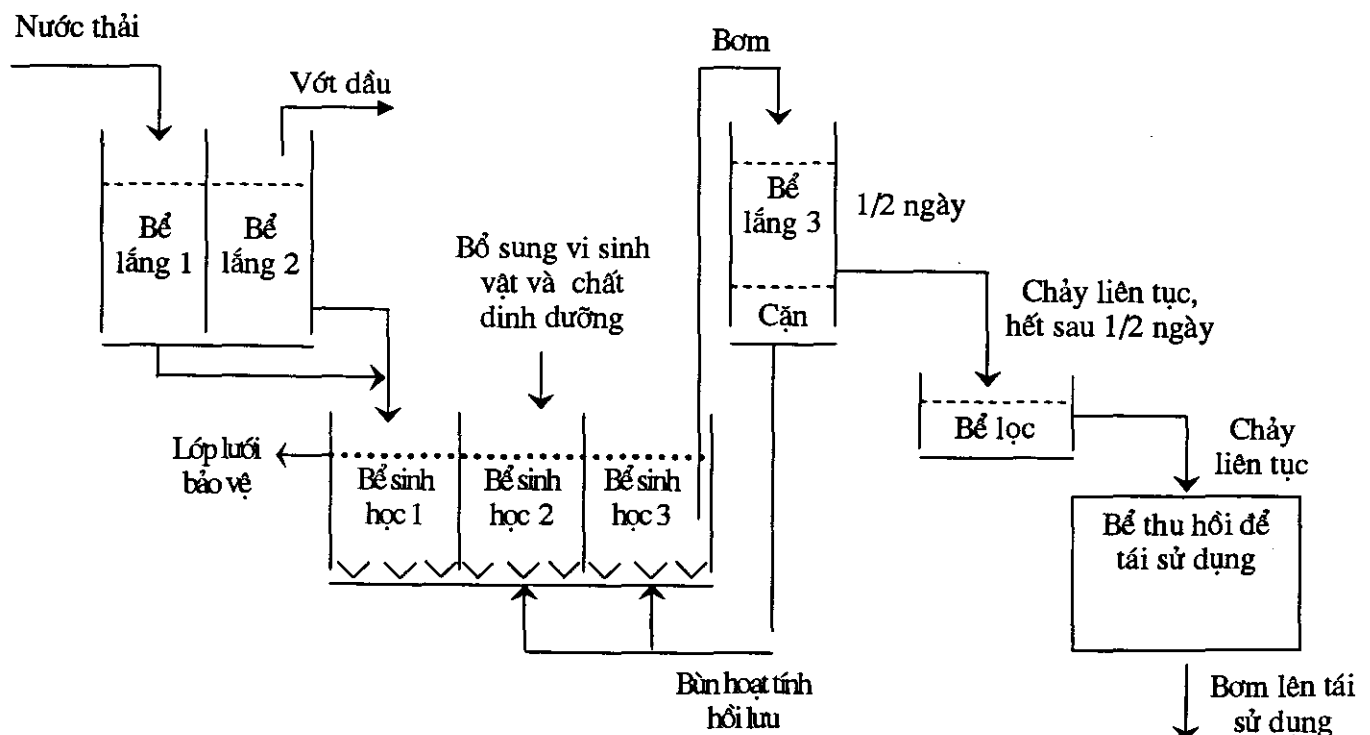
a. Nguyên lý chung

Nước thải chứa dầu, mỡ bảo quản vũ khí của Kho K680 được xử lý trên cơ sở công nghệ tổng hợp (lý, sinh) trong đó chủ yếu sử dụng kỹ thuật sinh học hiếu khí bổ sung thêm vào nước thải thành phần khoáng sao cho tỉ lệ BOD:N:P = 100:5:1 (môi trường thích hợp cho vi sinh vật phát triển) và một số vi sinh vật bản địa có khả năng phân hủy dầu mỡ bảo quản cao. Quá trình vi sinh vật sinh trưởng và phát triển sẽ phân hủy dầu, làm sạch nước.

Việc không sử dụng kỹ thuật kỵ khí trong trường hợp này có thể căn cứ vào chỉ số BOD, COD của nước thải đầu vào. Về nguyên tắc khi chỉ số BOD nhỏ hơn 1000 mg/l thì nước thải hoàn toàn có thể chỉ cần xử lý bằng kỹ thuật hiếu khí.

b. Sơ đồ quy trình công nghệ

Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải nhiễm dầu, mỡ bảo quản vũ khí được minh họa trên sơ đồ hình 3.3.3. Đây là quy trình khép kín bao gồm các công đoạn sau.



Hình 3.3.3. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải nhiễm dầu, mỡ

*** Quy trình hoạt động:**

- Ngày thứ nhất: gom nước thải vào bể lắng 1.
- Ngày thứ hai: chuyển nước thải vào bể lắng 2; vớt dầu ở bể lắng 1 bằng phương pháp thủ công sau đó sục khí bể sinh học 1.
- Ngày thứ ba: chuyển nước thải vào bể lắng 1; vớt dầu ở bể lắng 2, sục khí bể sinh học 1; chuyển nước ở bể sinh học 1 sang bể sinh học 2.
- Ngày thứ tư: chuyển nước thải vào bể lắng 2; vớt dầu ở bể lắng 1 sau đó sục khí bể sinh học 1; chuyển nước ở bể sinh học 1 sang bể sinh học 2; tiếp đó chuyển nước ở bể sinh học 2 sang bể sinh học 3.
- Ngày thứ năm: cho nước thải vào bể lắng 1; vớt dầu ở bể lắng 2 sau đó sục khí bể sinh học 1; chuyển nước ở bể sinh học 1 sang bể sinh học 2; sục khí bể sinh học 2 sau đó chuyển sang bể sinh học 3; nước ở bể sinh học 3 được bơm lên bể lắng 3 (1/2 ngày) sau đó cho qua bộ phận lọc và chuyển vào bể thu hồi.
- Ngày thứ sáu: chuyển nước thải vào bể lắng 2; vớt dầu ở bể lắng 1 sau đó sục khí bể sinh học 1, sục khí bể sinh học 2, sục khí bể sinh học 3 rồi chuyển sang bộ phận lắng, lọc và cuối cùng là vào bể thu hồi để tái sử dụng. (Đến đây kết thúc một chu kỳ khép kín).

Quy trình trên đã được ứng dụng để xử lý nước thải nhiễm dầu mỡ của K680. Kết quả xử lý được trình bày trong bảng 3.3.1.

Bảng 3.3.1. Kết quả xử lý nước thải chứa dầu mỡ của K680

	COD (mg/l)	BOD ₅ (mg/l)	Dầu, mỡ (mg/l)
Trước xử lý	800	534	58,4
Sau xử lý	87	46,5	0,3

3.3.2.4. Các hạng mục và thiết bị chính của hệ thống xử lý

- Bể gom, vớt váng dầu
- Bể xử lý sinh học hiếu khí
- Bể lọc
- Thiết bị khử trùng
- Thùng chứa sau xử lý
- Bơm nước 3 - 4m³ /giờ (02 chiếc)
- Bơm bùn 2 - 3m³/giờ (01 chiếc)
- Tủ điều khiển trạm xử lý
- Hệ thống đường ống, van cút

3.3.3. Nghiên cứu thiết kế xây dựng pilot xử lý nước thải có hàm lượng hữu cơ (BOD) cao tại cơ sở ngành hậu cần

3.3.3.1. Đặc điểm nguồn nước thải

Công ty 22 là xí nghiệp chế biến thực phẩm thuộc Tổng cục hậu cần. Nhiệm vụ và chức năng của Công ty - lương dụng, phục vụ Quốc phòng và dân sinh. Sản phẩm chủ yếu của Công ty là lương khô - phục vụ mục tiêu dự trữ, quốc phòng, sẵn sàng đáp ứng các nhu cầu sử dụng khẩn cấp và phục vụ cho bộ đội làm việc trong điều kiện khắc nghiệt. Ngoài ra Công ty còn sản xuất nhiều loại bánh, kẹo phục vụ Quốc phòng và dân sinh.

Đặc điểm các chất thải của nhà máy cũng giống các nhà máy sản xuất bánh kẹo khác. Nguồn gây ô nhiễm môi trường chính là nước thải có hàm lượng BOD và COD cao và rất cao. Đây là nhà máy đã xây dựng từ lâu, công nghệ sản xuất nhìn chung chưa được hiện đại, đồng thời nhà máy chưa có hệ thống xử lý nước thải.

Nguyên liệu sản xuất chính của nhà máy là tinh bột, đường, mật và phụ gia. Hàng ngày, nước thải với hàm lượng hữu cơ được thải trực tiếp vào hệ thống cống rãnh chung cùng nước thải sinh hoạt của khu dân cư xung quanh tạo mùi khó chịu. Đề tài đã tiến hành khảo sát thực địa, lấy mẫu nước thải và phân tích một số chỉ tiêu cần thiết. Mẫu nước lấy từ hố ga có hàm lượng COD là 9792 mg/l; BOD₅

là 8890 mg/l. Như vậy, đây là loại nước thải có hàm lượng chất hữu cơ rất cao và chủ yếu là chất dễ phân huỷ bằng phương pháp sinh học.

3.3.3.2. Yêu cầu thiết kế

- Thiết kế xây dựng hệ thống xử lý nước thải có hàm lượng BOD cao của xí nghiệp chế biến thực phẩm (Công ty 22) với công suất 3 - 4 m³/ngày, hoạt động của pilot được điều khiển tự động.

- Nước thải sau khi xử lý đạt Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5954-1995 (loại B)

3.3.3.3. Công nghệ xử lý

a. Nguyên lý chung

Nước thải có chỉ số BOD cao của Công ty 22 được xử lý trên cơ sở giải pháp công nghệ đã nêu trong mục 4.5.3.3 (b). Trong đó chủ yếu ứng dụng kỹ thuật kỵ khí (trong bể có giá thể) kết hợp hiếu khí.

Trong công nghệ này có sử dụng chế phẩm vi sinh là tập đoàn vi sinh bản địa được nuôi cấy trong điều kiện đã trình bày trong mục 4.5.3.2.

b. Các hạng mục và thiết bị chính

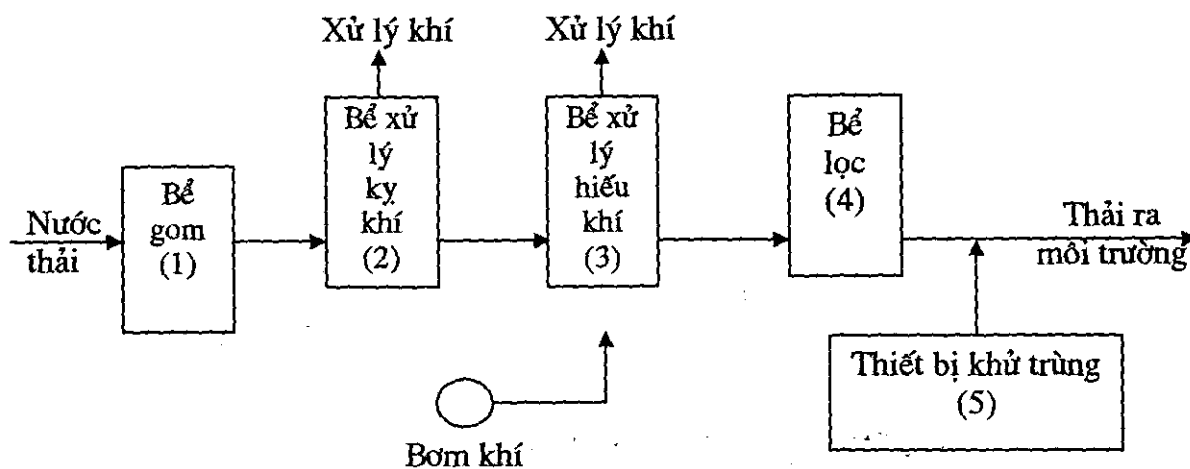
Hệ thống xử lý nước thải của Xí nghiệp chế biến thực phẩm Công ty 22 bao gồm các hạng mục và thiết bị chính sau:

- Hồ ga thu nước thải (1)
- Bể kỵ khí (2)
- Bể hiếu khí (3)
- Bể lọc (4)
- Thiết bị khử trùng (5)
- Bơm nước 2 - 3 m³/h (6)
- Tủ điều khiển
- Máy thổi khí
- Hệ thống đường ống nước

c. Sơ đồ quy trình công nghệ (hình 3.3.4)

Căn cứ vào hiện trạng sản xuất, cần tách nước thải sản xuất ra khỏi nước thải sinh hoạt và nước mưa. Xây quây nước thải khu sản xuất qua hệ thống lọc thô theo đường ống tập trung vào bể thu gom (1). Tại đây nước thải được tích lại và

pha loãng, sau một thời gian thấy xuất hiện tạo vẩn hữu cơ nổi (định kỳ vớt loại bỏ). Từ bể thu gom (1) nước thải được bơm lên bể kỵ khí có giá thể (2), tại đây xảy ra quá trình phân huỷ kỵ khí và chảy qua bể phân huỷ hiếu khí (3). Trong bể phân huỷ sinh học hiếu khí (3), đã áp dụng công nghệ bùn hoạt tính trong đó sinh khối ở trạng thái lơ lửng (kiểu aerotank). Bùn hoạt tính tồn tại ở dạng bông xốp. Vi sinh vật trong bùn hoạt tính là vi sinh vật tuyển chọn trong phòng thí nghiệm có khả năng phân huỷ các hợp chất hữu cơ với hiệu suất cao. Bể hiếu khí được cung cấp oxy nhờ máy bơm khí (6). Phần trên bể kỵ khí và hiếu khí có hệ thống xử lý khí thải nhờ cơ chế hấp thụ bằng than hoạt tính và than củi. Nước thải từ bể hiếu khí qua bể lọc có sỏi cát (4) và sau khi được khử trùng bằng hoá chất clo từ thiết bị (5) được thải ra cống.



Hình 3.3.4. Sơ đồ quy trình công nghệ xử lý nước thải công ty 22

Kết quả áp dụng quy trình đã xây dựng để xử lý nước thải có hàm lượng BOD cao của cơ sở sản xuất hàng quân lương X22 được ghi trong bảng 3.3.2.

Bảng 3.3.2. Kết quả xử lý nước thải X22 bằng phương pháp sinh học

Mẫu	COD, mg/l	BOD ₅ , mg/l	TCVN 5945-1995
Trước xử lý	1400	1270	50
Sau xử lý	81	45	100
Hiệu suất phân huỷ (%)	94	96,5	

3.4. NỘI DUNG 4 - NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO KIT PHÁT HIỆN SỰ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI TRONG MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ VÀ NƯỚC

3.4.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Trong những năm gần đây, những vụ dịch bệnh do các loại vi sinh vật độc hại gây ra ngày càng tăng. Nguy hiểm nhất phải kể đến những căn bệnh do vi khuẩn gây ra như bệnh than, bệnh dịch hạch, bệnh tả, bệnh thương hàn, bệnh lỵ.

Trong đó:

- Tác nhân gây bệnh than là trực khuẩn *Bacillus anthracis* (Ba). Có hai plasmid liên quan đến tác nhân gây bệnh của *B. anthracis*, pXO1 và pXO2. pXO1 chứa các gen mã hoá độc tố ngoại bào bộ ba bao gồm các thành phần: kháng nguyên bảo vệ PA, nhân tố gây phù EF và nhân tố gây tử vong LF. Các thành phần này nếu đứng riêng rẽ sẽ không gây độc. Hiệu quả gây độc là do sự hoạt động kết hợp của PA với hai thành phần kia (EF, LF), PA kết hợp với EF gây phù thũng, còn nếu kết hợp với LF sẽ gây chết cho cơ thể bị nhiễm. Các gen của pXO2 mã hoá tổng hợp protein trong sinh tổng hợp vỏ màng nhầy axit poly-D-glutamic.

- Bệnh dịch hạch là một bệnh nhiễm trùng cấp tính do vi khuẩn *Yersinia pestis* gây ra. Yếu tố độc lực gây bệnh chính của 3 loài vi khuẩn thuộc họ *Yersinia* này là các plasmit đảm nhiệm. Loại plasmit pCD1 là plasmit độc lực có trong cả 3 loài vi khuẩn *Yersinia*, chúng sử dụng loại plasmit này trong quá trình tiến triển gây bệnh. Hai loại plasmit pMT1 và pPCP1 là sở hữu riêng của vi khuẩn dịch hạch *Yersinia pestis* mà hai loài vi khuẩn *Yersinia enterocolitica* và *Yersinia pseudotuberculosis* không có.

- Vi khuẩn tả *Vibrio Cholerae* là một trong số vi khuẩn đường ruột nguy hiểm nhất thường gây bệnh ở người. Hệ gen của *Vibrio cholerae* có 3 gen quan trọng mã hoá Enterotoxin, Hemolysin và Malate dehydrogenaza. Trong đó gen

mã hoá độc tố tả Enterotoxin là gen quan trọng nhất trong 3 gen bởi vì độc tố tả Enterotoxin là nguyên nhân chính gây ra bệnh tả ở người

- Bệnh thương hàn chủ yếu là do vi khuẩn *Salmonella typhi* gây ra. Loại vi khuẩn này chỉ sống trên cơ thể người. Trong cơ thể, khi *S. typhi* bị dung giải bởi hệ thống miễn dịch, chúng có thể giải phóng nội độc tố. Nội độc tố này kích thích thần kinh giao cảm ở bụng làm tổn thương mảng Payer và gây xuất huyết đường tiêu hoá.

- *Shigella* gây bệnh lỵ cho người và các loài linh trưởng khác. Độc tố Shiga là sản phẩm của tế bào vi khuẩn *Shigella* và là tác nhân gây bệnh.

Những căn bệnh này không những ảnh hưởng nghiêm trọng đến sự khoẻ con người mà còn có khả năng lây lan thành những vụ đại dịch gây thiệt hại lớn cho nền kinh tế quốc dân. Đặc biệt khi mà chúng được các đối tượng khủng bố sử dụng như là một loại vũ khí sinh học có khả năng giết người hàng loạt. Việc nghiên cứu để tạo ra phương pháp phát hiện nhanh và chính xác các loại vi sinh vật gây bệnh trong môi trường dựa trên cơ sở kỹ thuật sinh học hiện đại trong đó có kỹ thuật PCR là một yêu cầu cấp thiết nhằm tìm ra biện pháp đối phó kịp thời khi có dịch bệnh xảy ra. Với những đặc trưng gen và độc tố nêu trên, các vi khuẩn độc hại sẽ có thể được phát hiện nhanh và chính xác bằng phương pháp giám định phân tử dựa trên kỹ thuật PCR. Trên cơ sở đó mục tiêu của đề tài trong hướng nghiên cứu này là:

- Nghiên cứu chế tạo 10 bộ sinh phẩm (kit) phục vụ phát hiện chính xác các vi khuẩn *Bacillus anthracis* gây bệnh than, *Yersinia pestis* gây bệnh dịch hạch, *Vibrio Cholerae* gây bệnh tả, *Salmonella typhi* gây bệnh thương hàn và *Shigella* gây bệnh lỵ.

- Xây dựng 5 quy trình sản xuất 5 bộ kit phát hiện chính xác 5 loại vi sinh vật gây bệnh trên.

3.4.2. Kết quả nghiên cứu tách chiết ADN từ vi khuẩn

3.4.2.1. Tách chiết ADN từ vi khuẩn *Yersinia pestis*

Tách chiết ADN tổng số

Toàn bộ ADN trong vi khuẩn bao gồm ADN của hệ gen và ADN của các loại plasmit gọi là ADN tổng số (total genomic ADN), được tách chiết bằng bộ

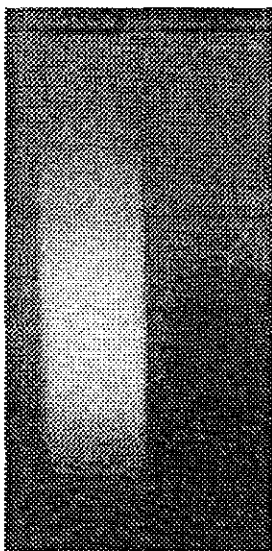
hoá chất là DNeasy kit của Hãng Qiagen. ADN đã tách chiết được kiểm tra trên thạch agaroza 0.8%. Kết quả được biểu hiện ở hình 3.4.1.



Hình 3.4.1. Ảnh điện di kiểm tra phản ứng tách ADN tổng số của *Y. pestis*

Tách chiết ADN plasmid

Nhằm thu ADN của plasmid pPCP1, một phương pháp khác được áp dụng là sử dụng bộ hoá chất QiaPrep Spin Mini Kit. Kết quả được trình bày ở Hình 3.4.2.



Hình 3.4.2. Ảnh điện di kiểm tra phản ứng tách ADN plasmid pPCP1

của Y. pestis

Như vậy ADN tổng số và ADN plasmit pPCP1 của *Y. pestis* đã được tách chiết với chất lượng tốt, là nguyên liệu chuẩn bị cho các thí nghiệm tiếp theo.

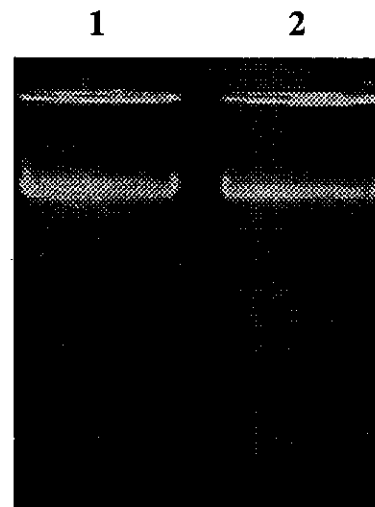
3.4.2.2. Kết quả tách chiết ADN tổng số từ vi khuẩn *Vibrio cholerae*

Từ hai chủng *Vibrio cholerae* Ogawa 395 và Inaba 389 chúng tôi tiến hành tách chiết ADN để làm khuôn cho phản ứng PCR. Quy trình tách chiết ADN tổng số được thực hiện như trong phần phương pháp nghiên cứu. Kết quả tách chiết được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1%. Kết quả được thể hiện ở hình 3.4.3.

Hình 3.4.3. Kết quả tách chiết ADN tổng số từ *Vibrio cholerae* Ogawa 395 và Inaba 389.

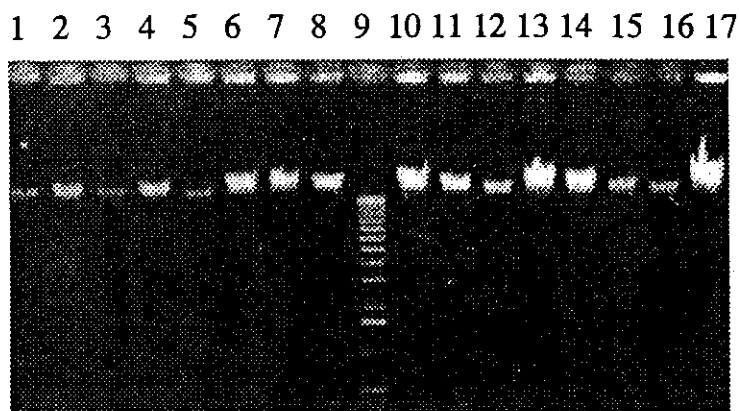
Đường chạy 1: ADN tổng số tách chiết từ *Vibrio cholerae* Ogawa 395.

Đường chạy 2: ADN tổng số tách chiết từ *Vibrio cholerae* Inaba 389.



3.4.2.3. Kết quả tách chiết ADN tổng số từ vi khuẩn *S. typhi*

Để nhân gen *vifR* bằng PCR, trước hết chúng tôi tiến hành tách chiết ADN genom để làm sợi khuôn. Sau đó ADN genom được chạy kiểm tra trên gel agarose. Kết quả cho thấy ADN genom là băng sáng, không bị đứt gãy (Hình 3.4.4). ADN genom được pha loãng đến nồng độ khoảng 5ng/μl để làm sợi khuôn cho kỹ thuật PCR.



Hình 3.4.4. Phân tích ADN genom từ các chủng *S. typhi* trên gel agarosa 0.8%

Đường chạy số 1-8, 10-17: ADN genom của các chủng *S. typhi* khác nhau
Đường chạy số 9: Thang ADN chuẩn (1 Kb)

3.4.2.4. Tách chiết ADN vi khuẩn từ mẫu nước tự nhiên

Chúng tôi đã tiến hành thu nhận ADN vi khuẩn theo các phương của Yu-li Tsai [93], Kuske và cộng sự [94]. Đây là những phương pháp tách chiết ADN vi khuẩn từ nước thải, từ bùn và từ đất. Theo các phương pháp đã nêu, chúng tôi đều đã thu nhận được ADN thông qua quan trắc trên bản điện di nhuộm ethidium bromid và xác định phổ hấp thụ trên Quang phổ kế ở bước sóng 260 nm. Kết quả thu được biểu diễn trên hình 3.4.5.

Hình 3.4.5. Sản phẩm nhân bản phân đoạn gen 16S rARN

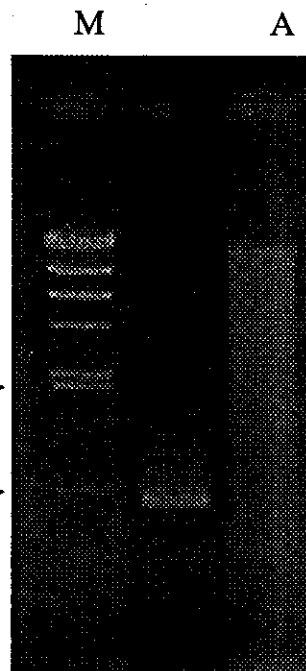
M: chỉ thị độ lớn ADN (lamda (Hind III))

A: sản phẩm PCR phân

đoạn gen 16S rARN

B: ADN tự nhiên

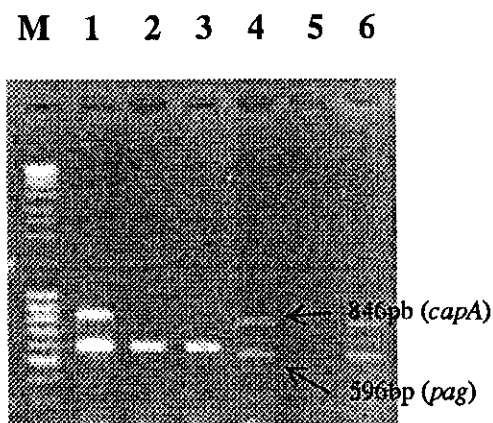
4361 →
2027 bp →
564 →



3.4.3. Xác định các gen đặc hiệu cho vi khuẩn bằng phương pháp PCR

Điện di đồ sản phẩm PCR khuếch đại gen kháng nguyên bảo vệ và vỏ màng nhầy được trình bày trên hình 3.4.6.

Hình 3.4.6. Điện di đồ sản phẩm PCR khuếch đại gen kháng nguyên bảo vệ và vỏ màng nhầy
Kênh 1: Marker, các kênh 2, 3, 4, 5, 6 lần lượt là các chủng 17JB, VCM-0012, 34F2, TS1, Btk, TS2



Ứng dụng các phương pháp đã nêu ở trên đã xác định được các gen đặc hiệu cho 5 loại vi khuẩn trên:

- Gen *pag* mã hoá kháng nguyên bảo vệ và gen *rrvA* là đặc hiệu cho vi khuẩn *B. anthracis*.
- Gen *pla* sản xuất sản phẩm hoạt hoá plasminogen là đặc hiệu với vi khuẩn *Y. Pestis*.
- Các gen mã hoá Enterotoxin, Hemolysin và Malate dehydrogenaza là đặc hiệu với *Vibrio Cholerae*.
- Gen *vipR* đặc hiệu với vi khuẩn *S. typhi*.
- Gen *ORF-3* của locus *spa* là đặc hiệu cho *Shigella*

Dựa vào các đặc tính này ta có thể xây dựng quy trình chế tạo và sử dụng Kit phát hiện từng loại vi khuẩn.

3.4.4. Quy trình chế tạo Kit

Áp dụng phương pháp đã nêu ở trên đã xây dựng quy trình chế tạo kit bao gồm các bước.

- Tổng hợp các cặp môi đặc hiệu cho mỗi loại Kit gồm:

- Cặp môi PA5-PA8 để nhân gen *pag*, EWA1-EWA2 để nhân gen *rrvA* dùng cho Kit phát hiện *Bacillus anthracis*.
- Cặp môi PLAF - PLAR để nhân gen *pla* dùng cho Kit phát hiện *Yersinia pestis*
- Cặp môi TOXP1 - TOXM2 để nhân gen mã hoá Enterotoxin dùng cho Kit phát hiện *Vibrio cholerae*
- Cặp môi *vipRf* - *vipRr* để nhân gen *vipR* dùng cho Kit phát hiện *Salmonella typhi*
- Cặp môi *ORF-3f* - *ORF-3r* để nhân gen *ORF-3* của locus *spa* dùng cho Kit phát hiện *Shigella* spp.

Trình tự các cặp môi và kích thước gen tương ứng được nêu trong phần vật liệu và phương pháp.

- Tổng hợp các thành phần khác cho phản ứng PCR gồm: H₂O khử ion vô trùng, Đệm 10 lần cho Taq ADN polymeraza, MgCl₂, dNTP, Taq ADN polymeraza.

- ADN của các vi khuẩn tương ứng dùng làm đối chứng dương, nước dùng làm đối chứng âm.

- Tất cả thành phần của các bộ Kit được bảo quản ở -4°C cho tới khi sử dụng.

3.4.5. Quy trình sử dụng các bộ Kit

Đối với mỗi loại vi khuẩn khác nhau cần phát hiện thì các thành phần trong bộ Kit và cách sử dụng là khác nhau.

Quy trình sử dụng BacKit để phát hiện *Bacillus anthracis*

Thành phần Kit:

H ₂ O khử ion vô trùng	11,5 µl
Đệm 10X cho Taq ADN polymeraza	2 µl
dNTP 2 mM	2 µl
Môi PA5	1 µl
Môi PA8	1 µl
ADN hệ gen	2 µl
Taq ADN polymeraza (5 U/µl)	0,5 µl

Chương trình PCR: 94°C trong 2 phút, tiếp theo là 30 chu kỳ khuếch đại (94°C - 1 phút, 55°C - 1 phút, 72°C - 1 phút) và kéo dài ở 72°C trong 5 phút. Sản

phẩm PCR (3,5µl) được điện di trên gel agarose 2%, sản phẩm có kích thước 596bp (với cặp mồi PA5-PA8) hoặc 167bp (với cặp mồi EWA1-EWA2).

Quy trình sử dụng YerKit để phát hiện *Yersinia pestis*

Thành phần YerKit được nêu trong bảng 3.4.3.

Bảng 3.4.3. Thành phần YerKit

Thành phần	Kit phát hiện	Kit dương tính	Kit âm tính
Khuôn	ADN tách từ mẫu cần phát hiện 2µl	ADN của YP (Khuôn được cung cấp trong bộ KIT) 2 µl	Nước tinh khiết (không cung cấp khuôn ADN) 2 µl
Hỗn hợp mồi PLAF - PLAR	6 µl	6 µl	6 µl
Đệm PCR	12,5 µl	12,5 µl	12,5 µl
Nước	vừa đủ	vừa đủ	vừa đủ
Tổng thể tích	25 µl	25 µl	25 µl

Chu trình nhiệt: Một chu kỳ ở 94 °C trong 10 phút; sau đó 35 chu kỳ với 3 bước, cụ thể: 94 °C trong 2 phút; 51 °C trong 2 phút; 72 °C trong 3 phút; kết thúc bằng 1 chu kỳ ở 72 °C trong 10 phút, rồi làm lạnh xuống 4°C cho đến khi kiểm tra sản phẩm. Sản phẩm điện di trên gel agarose 0,8% có kích thước 480bp.

Quy trình sử dụng VibKit để phát hiện *Vibrio cholerae*

Thành phần Kit:

H ₂ O khử ion vô trùng	16,2 µl
Đệm 10X cho Taq ADN polymeraza	2,5 µl
dNTP 2 mM	2 µl
Mồi TOXP1	1 µl
Mồi TOXM2	1 µl
ADN hệ gen	2 µl
Taq ADN polymeraza (5 U/µl)	0,3 µl

Phản ứng PCR khuếch đại các gen mã hoá Enterotoxin được tiến hành với 40 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3 bước. Bước 1: biến tính sợi ADN khuôn ở 94°C trong 1 phút. Bước 2: mồi kết cặp bổ sung với đoạn gen tương đồng trong ADN khuôn ở 52°C trong 1 phút. Bước 3: tổng hợp, kéo dài chuỗi ở 72°C trong 1 phút 20 giây.

Sản phẩm PCR được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%, sản phẩm có kích thước 1300bp.

Quy trình sử dụng SalKit để phát hiện *Salmonella typhi*

Thành phần Kit:

H ₂ O khử ion vô trùng	9,85 µl
Đệm 10 lần cho Taq ADN polymeraza	2,5 µl
MgCl ₂ 25 mM	2,5 µl
dNTP 2 mM	2,5 µl
Môi VifRf, 4 µM	1 µl
Môi VifRr, 4 µM	1 µl
ADN hệ gen (5 ng/µl)	2 µl
Taq ADN polymeraza (5 U/µl)	0,15 µl

Chương trình PCR được tiến hành với 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3 bước. Bước 1: biến tính sợi ADN khuôn ở 94°C trong 1 phút. Bước 2: mỗi kết cặp bổ sung với đoạn gen tương đồng trong ADN khuôn ở 54°C trong 1 phút. Bước 3: tổng hợp, kéo dài chuỗi ở 72°C trong 40 giây. Sản phẩm điện di trên gel agarose 0,8% có kích thước 595bp.

Quy trình sử dụng ShiKit để phát hiện *Shigella* spp.

Thành phần Kit:

H ₂ O khử ion vô trùng	10 µl
Đệm 10X cho Taq ADN polymeraza	2,5 µl
dNTP 2 mM	2 µl
Môi ORF-3f	1 µl
Môi ORF-3r	1 µl
ADN hệ gen	3 µl
Taq ADN polymeraza (5 U/µl)	0,5 µl

Chương trình PCR: Biến tính ADN 50 giây ở 94°C, sau đó phản ứng kéo dài 35 chu kỳ nhiệt với các bước 94°C trong 60 giây, 45°C trong 90 giây và 72°C

trong 2 phút; ở chu kỳ cuối cùng bước 72°C kéo dài 10 phút. Sản phẩm phản ứng được kiểm tra bằng phương pháp điện di agarose 1,5%, có kích thước 118bp.

3.4.6. Đánh giá độ nhạy của các bộ Kit

3.4.6.1. Đánh giá độ nhạy của BacKit

Để đánh giá độ nhạy của phương pháp chẩn đoán, chúng tôi sử dụng chủng nhược độc 34F với cặp môi EWA1-EWA2 để kiểm tra khả năng phát hiện đoạn gen *vrrA*. Việc đánh giá được tiến hành theo hai cách.

- Dịch nuôi chủng 34F qua đêm trong môi trường MPB được xác mật độ tế bào là 10^7 tế bào/ml, li tâm 5000vòng/phút trong 5 phút, rửa ba lần bằng nước khử ion, thu cặn bổ sung 50µl nước khử ion, đun sôi 10 phút, li tâm 10000vòng/phút trong 1 phút, thu dịch nổi. Dịch nổi được pha loãng lần lượt theo hệ số 10 với các nồng độ 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , sử dụng các nồng độ này làm khuôn cho phản ứng PCR.

Kết quả điện di cho thấy ở nồng độ pha loãng ADN 10^{-5} tương ứng với nồng độ ADN là 1pg vẫn có thể xác định được vi khuẩn *B. anthracis* bằng bộ Kit đã chế tạo.

Cũng với dịch nuôi này tiến hành pha loãng tế bào theo các nồng độ như trên và tiến hành thu ADN và chạy PCR theo phương pháp đã nêu. Bằng phương pháp pha loãng tế bào sau đó mới thu ADN ta có thể phát hiện được vi khuẩn *B. anthracis* với lượng tế bào là 1000.

3.4.6.2. Đánh giá độ nhạy của YerKit

Chúng tôi đã thực hiện thành công phản ứng PCR, sử dụng cặp môi PLAF-PLAR, nhân một đoạn gen *pla* có độ dài 480 bp; với độ pha loãng cao nhất của khuôn như sau:

- + Khuôn ADN tổng số là 0,6 ng, tương đương với 1 vi khuẩn *Y. pestis*.
- + Khuôn ADN plasmid pPCP1 là 0,2 ng;
- + Khuôn vi khuẩn nguyên vẹn (không cần tách ADN tổng số), với lượng vi khuẩn là 10^1 .

Như vậy, PCR đặc hiệu vẫn thực hiện thành công ở độ pha loãng 160.000 lần, tương đương với hàm lượng khuôn ADN tổng số là 0,2 ng/phản ứng, phản

ứng PCR vẫn thực hiện thành công

3.4.6.3. Đánh giá độ nhạy của VibKit

Cũng bằng phương pháp pha loãng tế bào của dịch nuôi vi khuẩn *Vibrio cholerae* trong môi trường LB qua đêm theo cơ số 10. Sau đó tiến hành thu ADN ở mỗi nồng độ pha loãng và sử dụng ADN làm khuôn để chạy PCR với VibKit. Kết quả cho thấy độ nhạy của VibKit đạt ở ngưỡng 1000 tế bào.

3.4.6.4. Đánh giá độ nhạy của SalKit

Để đánh giá độ nhạy của phương pháp chẩn đoán, ADN genom của *S. typhi* được pha loãng theo cơ số 10 và tiến hành kiểm tra khả năng phát hiện đoạn gen *VipR* bằng kỹ thuật PCR. Từ nồng độ ADN genom pha loãng, có thể tính được số vi khuẩn cần thiết để phát hiện được bằng kỹ thuật PCR.

Kết quả cho thấy, với nồng độ ADN genom pha loãng tới 10^{-6} , vẫn có thể phát hiện được bằng ADN kích thước khoảng 0,6kb. Theo tính toán, khi ADN genom pha loãng tới 10^{-6} tương đương với nồng độ ADN là 0,07pg/ μ l hoặc khoảng 7-10 vi khuẩn. Ngưỡng phát hiện này đã khẳng định độ nhạy của phương pháp phát hiện là khá cao, đáp ứng yêu cầu phát hiện vi khuẩn *S. typhi* trong các mẫu nước và không khí.

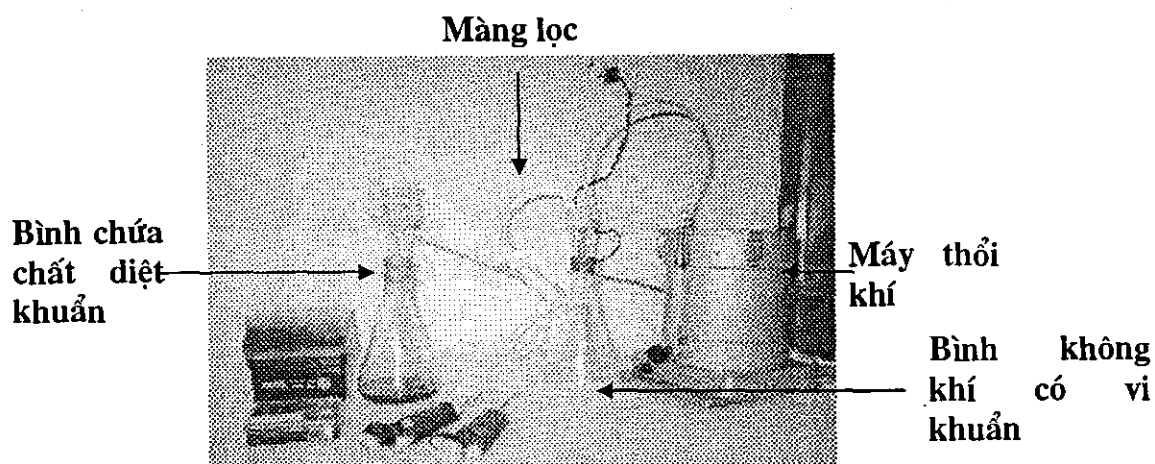
3.4.6.5. Đánh giá độ nhạy của ShiKit

Trong trường hợp hỗn hợp dung dịch phản ứng chứa ADN vi khuẩn được tách chiết từ nước kênh lạch với hàm lượng 70 ng ADN sản phẩm, phản ứng nhân bản phân đoạn *ORF-3* cũng chỉ được quan sát ở hàm lượng từ 1,75 ng ADN *Shigella* trở lên (khoảng tương ứng $\approx 3.10^5$ tế bào/ml).

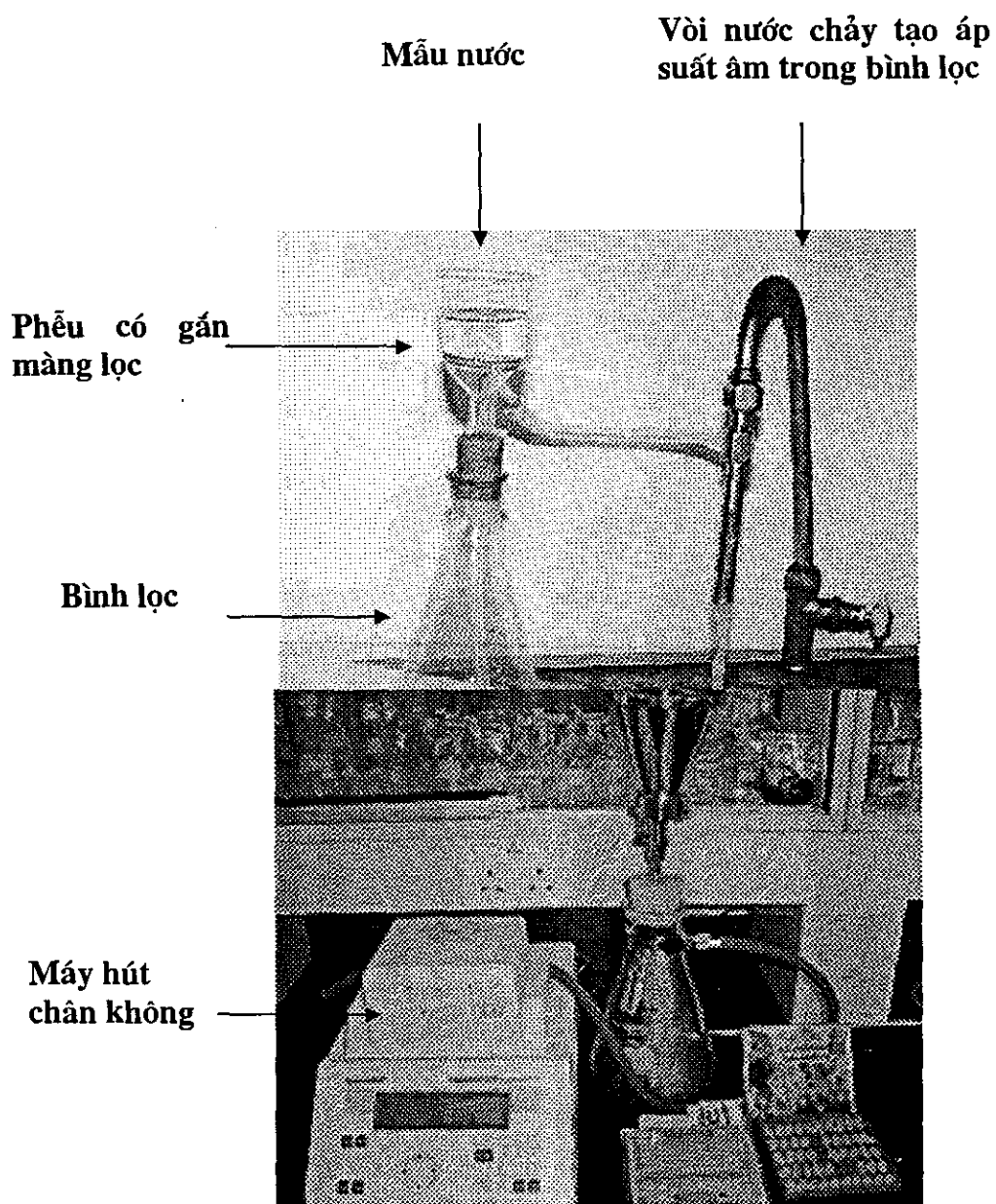
3.4.7. Chế tạo các thiết bị thu mẫu vi khuẩn từ mẫu nước và không khí và xây dựng quy trình phát hiện chúng

3.4.7.1. Chế tạo các thiết bị thu vi khuẩn

Mục tiêu của thiết bị là làm giàu lượng vi khuẩn cần phát hiện trong môi trường không khí và nước. Hệ thống thu mẫu gồm 2 bộ phận chính: Bơm chân không tạo ra sự chênh lệch áp suất trong và ngoài bình lọc, tạo áp lực để không khí (nước đi vào bình lọc), Màng lọc vi khuẩn ($\Phi 0,45\mu\text{m}$) làm ranh giới giữa trong và ngoài bình lọc dùng để thu vi khuẩn đi qua. Sau quá trình nghiên cứu và thiết kế chúng tôi đã chế tạo được 2 bộ dụng cụ để thu mẫu vi khuẩn từ nước và một bộ thu mẫu vi khuẩn từ không khí. Minh họa trên hình 3.4.7, hình 3.4.8.



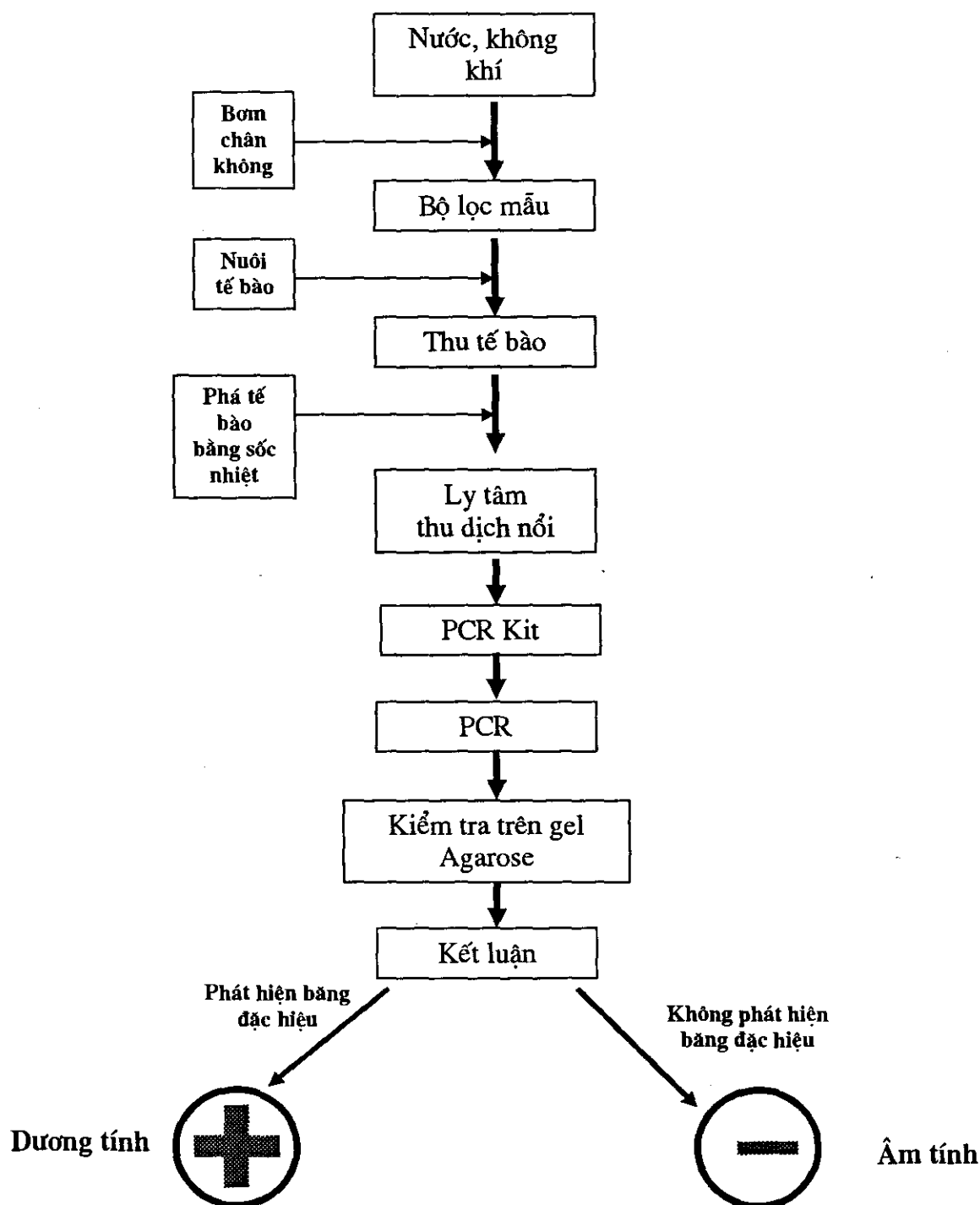
Hình 3.4.7. Mô hình thiết bị thu hồi vi khuẩn từ không khí



Hình 3.4.8. Mô hình thiết bị thu hồi vi khuẩn từ mẫu nước

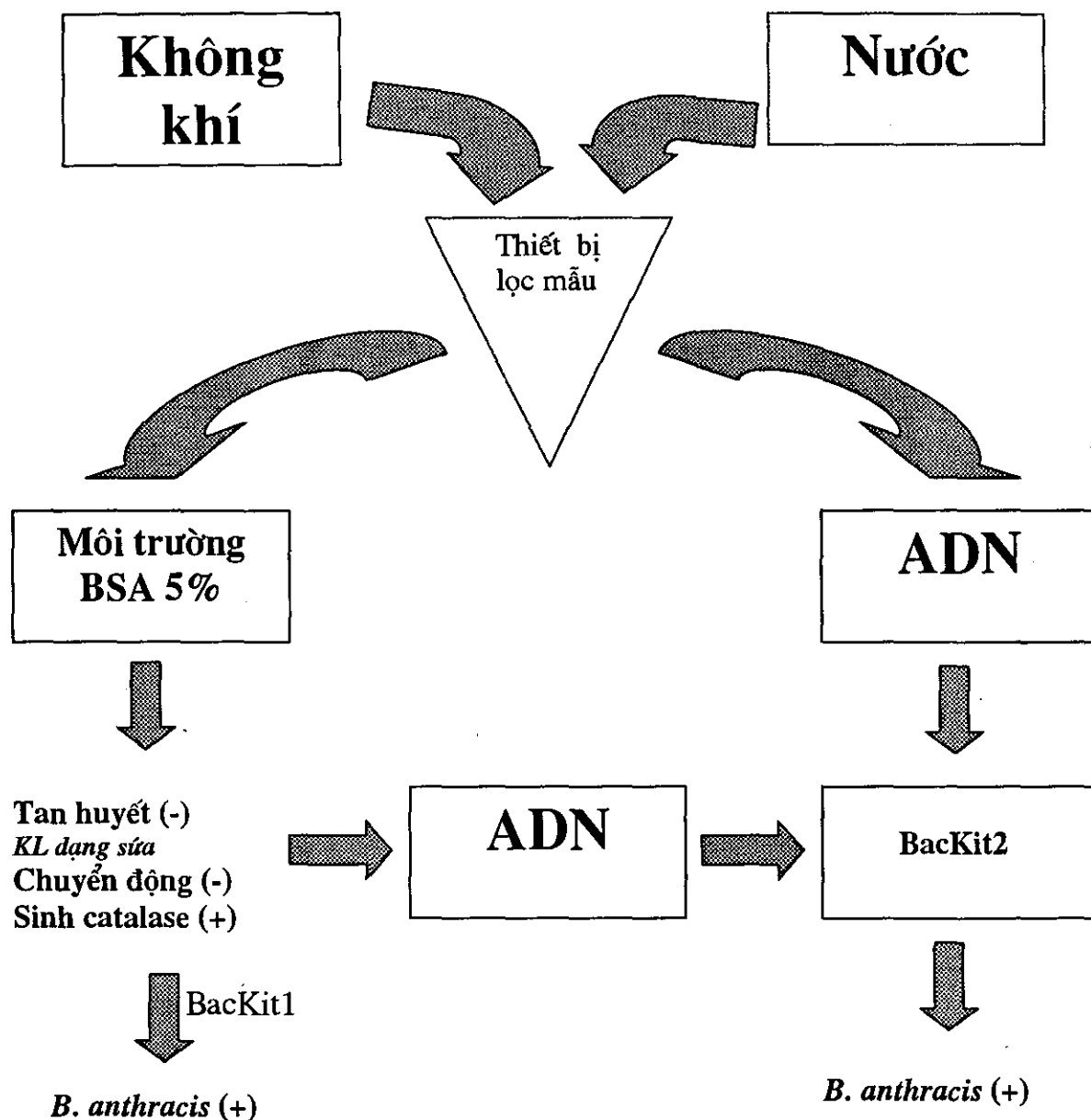
3.4.7.2. Xây dựng quy trình phát hiện vi khuẩn gây bệnh từ nước và không khí

Nguyên lý chung của quy trình đó là sử dụng các thiết bị lọc mẫu làm giàu và thu hồi vi khuẩn. Từ lượng vi khuẩn thu được tiến hành tách ADN sau đó chạy PCR với Kit đặc hiệu và phát hiện gen trên gel agarose (Hình 3.4.9). Toàn bộ quy trình phát hiện được thực hiện trong khoảng thời gian 6-8h.



Hình 3.4.9. Quy trình phát hiện vi khuẩn gây bệnh trong nước và không khí

Riêng đối với vi khuẩn *B. anthracis* gây bệnh than, ngoài Kit PCR chúng tôi đã chế tạo thêm được Kit huyết thanh miễn dịch, do vậy quy trình phát hiện sẽ bổ sung như sau (hình 3.4.10):



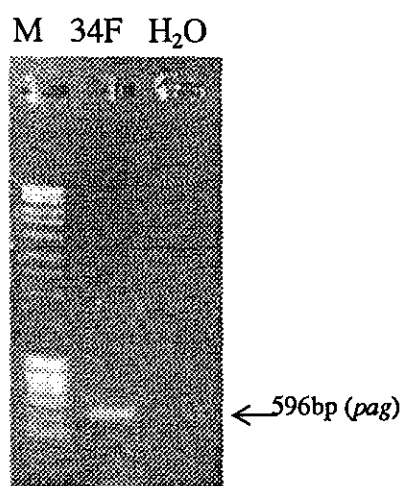
Hình 3.4.10. Sơ đồ quy trình lấy mẫu và phát hiện vi khuẩn *Bacillus anthracis* gây bệnh Than

3.4.7.3. Sử dụng các bộ Kit để phát hiện vi khuẩn gây bệnh trong phòng thí nghiệm

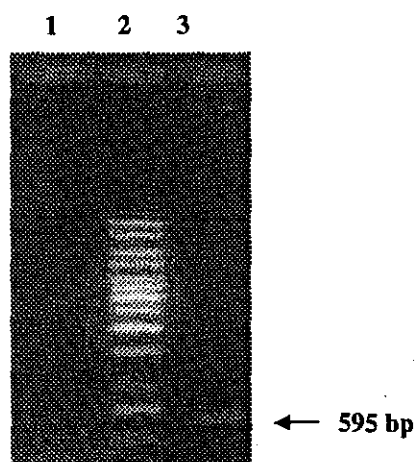
Để kiểm tra độ tin cậy của thiết bị cũng như của các bộ Kit chúng tôi đã lập mô hình thử nghiệm trong phòng thí nghiệm. Tuy nhiên để đảm bảo công tác an

toàn chúng tôi chỉ sử dụng vi khuẩn *Bacillus anthracis* (chủng nhược độc 34F) và vi khuẩn *S. typhi* làm mẫu đối chứng dương, nước máy làm mẫu chẩn đoán.

Sử dụng 10^5 tế bào pha trong 2 lit nước cất sau đó lọc bằng thiết bị lọc và phát hiện vi khuẩn bằng phương pháp PCR với bộ Kit đã chế tạo, kết quả trên hình 3.4.11 và hình 3.4.12.



Hình 3.4.11. Phát hiện vi khuẩn *Bacillus anthracis*



Hình 3.4.12. Phát hiện vi khuẩn *S. typhi*

Đường chạy 1: Mẫu nước của Viện Công nghệ Sinh học

Đường chạy 2: Thang ADN chuẩn 1Kb

Đường chạy 3: Mẫu đối chứng

Như vậy các thiết bị có khả năng thu được vi khuẩn từ nước và không khí, các bộ Kit có thể phát hiện được các vi khuẩn đặc hiệu. Các kết quả cụ thể được trình bày trong bảng 3.4.4.

Bảng 3.4.4. Thông tin về các bộ Kit đã sản xuất

Tên Kit	Vi khuẩn đích	Độ nhạy (pg/μl)	Ngưỡng phát hiện (Tế bào)
BacKit	<i>Bacillus anthracis</i>	1	1000
YerKit	<i>Yersinia pestis</i>	1000	10
VibKit	<i>Vibrio cholerae</i>	1	1000
SalKit	<i>Salmonella typhi</i>	0,07	10
ShiKit	<i>Shigella</i> sp.	700	10 ⁵

3.5. NỘI DUNG 5 - ÁP DỤNG THÀNH TỰU CÔNG NGHỆ SINH HỌC NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO THIẾT BỊ PHÁT HIỆN NHANH SỰ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI TRONG MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ

3.5.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Trong mục 3.4 đã giới thiệu kết quả nghiên cứu chế tạo các kit dùng cho việc xác định nhanh và chính xác 5 loại vi khuẩn độc hại (than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch) bằng kỹ thuật PCR. Đây là những kết quả bước đầu nhưng rất quan trọng trong lĩnh vực nghiên cứu kit phát hiện vi sinh vật độc hại. Tuy nhiên trong thực tế hiện nay ngoài hướng nghiên cứu về kit người ta còn rất chú ý tới việc thiết kế chế tạo, đưa vào ứng dụng các thiết bị chuyên dụng cho việc phát hiện nhanh các tác nhân sinh học đặc biệt là ở điều kiện dã ngoại. Thiết bị ACP của Nga là thiết bị chuyên dụng đã được trang bị cho quân đội ta nhằm mục đích báo động sớm sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí. So với các thiết bị phát hiện tác nhân sinh học hiện đại khác thì đây là mẫu thiết bị thuộc dạng đơn giản nhất. Xét trên phương diện tiềm lực KHCN của ta hiện nay, đặc biệt là với kinh phí hạn chế của đề tài thì việc giới hạn mục tiêu nghiên cứu của đề tài là nghiên cứu thiết kế chế tạo thử ở điều kiện trong nước loại thiết bị trình sát tác nhân sinh học theo mẫu ACP là phù hợp nhất hiện nay.

3.5.2. Kết quả nghiên cứu

3.5.2.1. Nguyên lý hoạt động và các thông số chính của thiết bị phát hiện tác nhân sinh học theo kiểu ACP

a. Nguyên lý hoạt động của máy phát hiện tác nhân sinh học kiểu ACP

Qua nghiên cứu khảo sát đã xác định máy ACP là loại máy tự động lấy mẫu son khí các tác nhân sinh học nhờ bộ phận ống tách công tác, theo nguyên lý sa lắng son khí kiểu lực ly tâm (lưu lượng từ $130 \div 225$ lít/phút).

+ Trong ống tách công tác, son khí các tác nhân sinh học bám bên thành trong của ống tách công tác trong quá trình lấy mẫu và sẽ được rửa trôi bằng dung dịch thuốc thử ($1,4 \pm 0,2$ ml) rồi đi xuống phễu phản ứng ở đáy của ống tách công tác.

+ Trong phễu phản ứng, tại đây xảy các phản ứng giữa thuốc thử với các tác nhân sinh học trong thời gian 11 ± 4 giây, phản ứng xảy ra hiện tượng quang hoá có năng lượng $E_{hv} = 70$ Kcal/mol.

+ Nhờ bộ phận ghi nhận ánh sáng và biến đổi quang năng thành điện năng, (đầu đo, bộ phận khuếch đại và đồng hồ đo) tín hiệu sẽ được ghi nhận trên đồng hồ micro ampe kế. Tín hiệu báo động sẽ được phát ra (còi kêu, đèn đỏ sáng) khi nồng độ các tác nhân sinh học vượt ngưỡng.

+ Khi có tín hiệu báo động, đồng thời máy tự động chuyển sang chế độ lấy mẫu (nhờ bộ phận phân phối) vào ống tách lấy mẫu trong thời gian 120 ± 15 giây.

+ Mẫu son khí chứa các tác nhân sinh học được đưa đi kiểm tra bằng các dụng cụ và các thiết bị phân tích.

Chu kỳ hoạt động của máy được lập lại tự động trong thời gian từ $50 \div 70$ giây, nếu trong không khí nồng độ của các tác nhân sinh học dưới ngưỡng hoặc máy sẽ ngừng làm việc sau khi lấy mẫu, nếu nồng độ các tác nhân sinh học vượt ngưỡng.

b. Các thông số kỹ thuật của máy

Kết quả xác định các thông số kỹ thuật chính của thiết bị ACP được trình bày trong bảng 3.5.1.

Bảng 3.5.1. Kết quả kiểm tra các thông số kỹ thuật chính của thiết bị

Thông số kỹ thuật	Tiêu chuẩn kỹ thuật
1. Khả năng làm việc của hộp phân phối, còi và thời gian lấy mẫu.	- Nam châm điện từ của hộp phân phối làm việc tốt. - Tín hiệu báo động tốt. - Thời gian lấy mẫu $120 \pm 15s$
2. Thể tích không khí trong 1 phút	130 - 225 lít
3. Thời gian chu kỳ cung cấp thuốc thử	50 - 75s
4. Thời gian lưu giữ thuốc thử	$11 \pm 4s$
5. Liều lượng thuốc thử	$1,4 \pm 0,2 \text{ ml}$
6. Đặt ngưỡng	$4 \pm 0,2 \mu A$
7. Điều chỉnh độ nhạy	Trị số như trong lý lịch máy 5È2.845.014.φO

c. Nguyên lý tác dụng của thuốc thử với tác nhân sinh học

Kết quả điều tra đã làm sáng tỏ được nguyên lý tác dụng của thuốc thử trong thiết bị ACP với tác nhân sinh học. Các tác nhân sinh học khi tác dụng với thuốc thử trong phễu phản ứng sẽ sinh ra hiện tượng quang hóa. Hiện tượng quang hóa được giải thích như sau: quá trình phản ứng hóa học giữa thành phần của thuốc thử số 1 với các tác nhân sinh học sinh ra năng lượng (ΔH), năng lượng (ΔH) này có tác dụng kích thích thành phần thuốc thử số 2 từ trạng thái phân tử ban đầu (cân bằng) chuyển sang trạng thái phân tử được kích thích. Khi trở lại trạng thái ban đầu các phân tử này phát ra năng lượng E_h , thiết bị sẽ tự động ghi lại năng lượng ánh sáng phát ra này.

3.5.2.2. Các kết quả nghiên cứu về thuốc thử

Hệ thuốc thử dùng cho máy phát hiện tác nhân sinh học ACP của Nga gồm 2 loại: thuốc thử số N^o1 và N^o2. Kết quả phân tích xác định thành phần 2 loại thuốc thử được ghi trong bảng 3.5.2 và 3.5.3. Dựa trên kết quả phân tích này đã chế tạo 2 mẫu thuốc thử mới có tính năng tương tự như loại của Nga (bảng 3.5.4). Điều

này cho thấy kết quả phân tích là đáng tin cậy và loại thuốc thử tự chế tạo có thể sử dụng để thay thế các thuốc thử của Nga đã hết hạn.

Bảng 3.5.2. Kết quả phân tích thành phần của thuốc thử số 1 của Nga

TT	Tên hoá chất	Thành phần	Tác dụng
1	NH ₄ Cl (P.a)	30 g/lit	Chất điện ly
2	Etylic (tuyệt đối)	50 ml/lit	Chất chống đông
3	metanol	30 ml/lit	Chất diệt trùng
4	Hydropeoxyt (28%)	30 ml/lit	Chất oxy hoá
5	Dung dịch H ₃ BO ₃ 0.05M trong NaOH 1N	55 ml/lit	Thành phần dung dịch đệm
6	Dung dịch HCl 1N	100 ml/lit	Thành phần dung dịch đệm
7	Nước cất	735 ml	Dung môi
Tổng số:		1000 ml	

Bảng 3.5.3. Kết quả phân tích thành phần của thuốc thử số 2 của Nga

TT	Tên hoá chất	Thành phần %	Tác dụng
1	Thuốc thử huỳnh quang (Pa)	30	Phát huỳnh quang
2	Kali clorua (Pa)	25	Chất điện ly
3	Axit tatric (Pa)	20	Chất điện ly
4	Axit boric (Pa)	15	Chất làm róc khuôn khi ép viên và làm chất độn
5	Amoniclorua (P.a)	10	Chất điện ly
Tổng cộng:		100 %	

Bảng 3.5.4. Kết quả thử nghiệm đối chứng hệ thuốc thử tự chế tạo với thuốc thử của Nga

TT	Các chỉ tiêu cần đánh giá	Thuốc thử của Nga	Thuốc thử tự chế tạo	Ghi chú
1	Dạng sản phẩm	ép viên	Kết tinh	
2	Thời gian phản ứng với tác nhân sinh học (phút)	Tức thời	Tức thời	
3	Thời gian giữ sáng (giây)	15	15	Sáng chói

4	Thời gian sử dụng hiệu quả sau khi pha thuốc thử (giờ)	12 - 14	12 - 14	
5	Khoảng nhiệt độ thuốc thử làm việc	5 - 40°C	5 - 40°C	Thuốc thử mùa hè
6	Độ nhạy của TT	Theo ngưỡng chuẩn của máy	Tương đương với TT của Liên Xô	
7	Tính tan trong dung môi (TT số 1)	5 - 7 phút	5 - 7 phút	Thuốc thử mùa hè
8	Nhiệt độ nóng chảy	38°C	> 70°C	
9	Điều kiện bảo quản	Phân hủy ở 38°C	Bền ở nhiệt độ và áp suất thường	

3.5.2.3. Thiết kế chế tạo thiết bị phát hiện vi sinh vật độc hai kiểu ACP

Trên cơ sở nghiên cứu về tính năng tác dụng, nguyên lý làm việc, cấu tạo của mẫu máy phát hiện tác nhân sinh học ACP của Nga, nhóm đề tài đã tiến hành thiết kế chế tạo và lắp ráp thiết bị phát hiện VSV độc hại từ nguyên vật liệu có sẵn trong nước. Sơ đồ thiết kế chế tạo các cụm chi tiết cơ khí và điện tử chính của thiết bị được thể hiện ở các hình vẽ theo các bản thiết kế sau.

a) Nghiên cứu xác định kết cấu của thiết bị ACP

Để thiết kế chế tạo được thiết bị theo mẫu ACP chúng tôi đã sử dụng phương pháp mô phỏng. Kết quả khảo sát cho thấy thiết bị này gồm các bộ phận chủ yếu sau:

1. Khối nguồn:

- Vật liệu chế tạo: vỏ đúc bằng hợp kim, vỏ đáy làm bằng thép lá, phía trong khối nguồn là các tấm panen lắp bộ dao động chủ, ổn áp, biến áp, rơ le. Trên vỏ có 4 lỗ để gắn khối nguồn trên xe.

- Công suất nguồn điện áp đầu ra là 26 ± 3 V, nguồn điện đầu vào là $13,8 \pm 1,6$ V (lấy điện từ thành xe YAZ 469 PX).

2. Thân máy bao gồm:

- Vỏ máy: làm bằng thép, có 2 nắp trước và sau. Ở nắp trước có các cửa sổ nhỏ để quan sát đèn báo nguy hiểm và vôn kế, micoampe kế, mặt trong gắn một tấm kim loại mỏng trên đó viết ngắn gọn các thao tác làm việc của máy.

- Dây cáp: nối liên kết giữa khối nguồn và thân máy.

- Ống tách công tác: là bộ phận tách bụi theo kiểu ly tâm, được làm bằng vật liệu inox, phía trong có van đường dẫn tác nhân và thuốc thử xuống phễu phản ứng.

- Ống tách lấy mẫu: là bộ phận lấy mẫu theo kiểu ly tâm, được làm bằng vật liệu compozit, phía dưới ống là bộ phận thu mẫu.

- Hộp phân phối: dùng để chuyển dòng khí từ ống công tác sang ống lấy mẫu. Khi xuất hiện tín hiệu nguy hiểm, nam châm điện điều chỉnh đóng mở để lấy mẫu.

- Bộ phân định lượng: dùng để cung cấp thuốc thử theo chu kỳ xác định, lượng thuốc thử cung cấp là $1,4 \pm 0,2$ ml. Bộ phận định lượng làm việc theo chương trình cơ học điều khiển của các nam châm điện và các van.

- Van không khí: để cân bằng áp suất giữa phễu phản ứng và bình dưới (bình đựng thuốc thử thải). Các van này là van nam châm điện.

- Bộ phận lập trình cơ học: dùng để lập trình cho máy làm việc ở các chế độ phân tích phát hiện và lấy mẫu.

- Khối điện tử: là bộ phận ghi lại quanh thông phát hiện khi trong không khí xuất hiện các sol khí tác nhân sinh học và để chuyển tín hiệu sang chế độ lấy mẫu tự động.

- FEU 84: là bộ phận thu quang năng và biến đổi thành điện năng.

- Bơm không khí: dùng để đưa không khí cần phân tích qua bộ phận phân ly (ống tách công tác và ống lấy mẫu). Bơm không khí kiểu ly tâm gồm: cánh quạt được gắn trên trục của động cơ điện và trục gối và nắp.

- Bộ giảm chấn (6 bộ): dùng để giá lắp máy trên xe.

b) Lựa chọn phương án kỹ thuật chế tạo thiết bị

Để thiết kế chế tạo thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm môi trường bởi các vi sinh vật độc hại trong điều kiện công nghệ hiện nay của Việt Nam, chúng tôi lựa chọn phương án kỹ thuật như sau.

- Toàn bộ máy được thiết kế thành 2 bộ phận là thân máy và bộ nguồn được nối với nhau bằng các dây cáp chuyên dụng.

1. Phần thân máy được đặt bên trong vỏ chống bụi bằng thép phủ sơn và lắp vào giá trên 6 bộ giảm chấn để có thể lắp trên các phương tiện cơ động.

Các chi tiết được thiết kế và gia công dựa trên mẫu của Nga và có kích thước tương tự như máy ACP. Thân máy bao gồm các bộ phận cơ bản sau:

- Khối điện tử: Dùng để ghi quang thông khi trong không khí xuất hiện sol khí các tác nhân sinh học và chuyển tín hiệu đưa máy sang chế độ lấy mẫu khi nồng độ tác nhân sinh học vượt giá trị ngưỡng.

- + Các chi tiết mua trên thị trường trong nước. Các mảng điện tử thiết kế chế tạo, riêng ống nhân quang điện có thể sử dụng 2 loại FEU do Nga sản xuất là FEU-84, FEU-84-3 hoặc FEU có chỉ số kỹ thuật tương tự.

- + Công suất làm việc của máy không lớn hơn 180w.

- Bộ phận lập trình: dùng để điều khiển chương trình làm việc cho máy ở 2 chế độ báo động và lấy mẫu. Bộ phận này được thiết kế theo nguyên lý điều khiển điện tử tương đương bộ điều khiển cơ học trong máy ACP của Nga.

- Bộ rơ le gồm 6 cụm tiếp điểm dùng để chuyển mạch theo chương trình do bộ phận lập trình đưa ra.

- Hệ thống cung cấp và phân phối khí. Mua các chi tiết và tự thiết kế.

- + Bơm không khí: Điện áp $24 \pm 3V$, lưu lượng khí 130-220 l/ph, vỏ bơm được gia công bằng vật liệu compozit

- + Hộp phân phối khí: Vỏ hộp làm bằng vật liệu compozit, các chi tiết khác làm bằng thép không gỉ

- + Các ống dẫn làm bằng nhựa $\phi = 6 \text{ mm}$

- Hệ thống cung cấp thuốc thử:

+ Bộ phận định lượng. Vỏ làm bằng thép không gỉ, các lõi của nam châm điện từ được làm bằng sắt non có độ nhiễm từ đạt tiêu chuẩn.

+ Bình chứa phía trên và dưới được làm bằng thép không gỉ

+ Các van khoá được gia công bằng thép không gỉ.

+ Các ống dẫn làm bằng nhựa $\phi = 6 \text{ mm}$

+ Lưu lượng cung cấp thuốc thử: $1,4 \pm 0,2 \text{ ml}$

+ Thời gian lưu giữ thuốc thử : $11 \pm 4 \text{ giây}$

- Các ống công tác và ống lấy mẫu được thiết kế theo dạng xyclon bằng thép không gỉ mạ crôm

2. Khối nguồn được đặt trong vỏ kim loại, phía ngoài có gắn công tắc và đèn tín hiệu. Khối nguồn sẽ cung cấp cho máy nguồn điện áp $26 \pm 3 \text{ V}$ khi điện áp đầu vào 220 V (đây là 1 trong những điểm khác biệt so với máy của Nga).

* Các chi tiết về cơ khí, điện tử được thiết kế bằng phần mềm trên máy Auto CAD 2000 và phần mềm chuyên dụng về điện. Sau đó tiến hành gia công lắp ráp điều chỉnh thử nghiệm tính tương đồng so với mẫu máy của Nga.

3.5.2.4. Kết quả thử nghiệm sản phẩm của đề tài

Qua kết quả khảo sát các phòng thí nghiệm ở Việt Nam, chúng tôi nhận thấy: hiện tại chưa có phòng thí nghiệm nào có thể tạo ra được không khí nhiễm các vi sinh vật độc hại hoặc tác nhân sinh học với một thể tích đủ lớn (hàng trăm m^3) để kiểm tra thiết bị ACP nhập ngoại cũng như mẫu thiết bị sản phẩm của đề tài được chế tạo. Do đó nhóm đề tài đã lựa chọn phương án thử nghiệm như sau:

1. Đánh giá hệ thuốc thử được chế tạo trên thiết bị ACP của Nga với mẫu tác nhân sinh học dùng cho huấn luyện (mẫu tác nhân giả). Kết quả thử nghiệm đã được trình bày trong bảng 3.5.5.

2. Để có thể đánh giá được khả năng phát hiện được các VSV độc hại của hệ thuốc thử được chế tạo. Nhóm nghiên cứu đã tiến hành thử nghiệm hệ thuốc thử với một số vi sinh vật sau:

- Eschelichia (E.coli)
- Staphylococol (khuẩn tụ cầu)
- Bacillus subtilis (trực khuẩn có bào tử)

- *Saccharomyces cerevisial* (nấm)

- *Bacillus anthracis* (bệnh than)

Phương pháp thử nghiệm: thử nghiệm được tiến hành trong các ống nghiệm có các vi sinh tồn tại trong dung dịch.

Kết quả thử nghiệm: độ nhạy của thuốc thử 10^6 con/ml.

Qua các thử nghiệm trên cho thấy: mẫu thuốc thử đã chế tạo hoàn toàn có khả năng thay thế thuốc thử của Nga, có thể dùng để làm thuốc thử cho máy phát hiện các tác nhân sinh học tự động ACP và thiết bị sản phẩm của đề tài.

3. Để đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật của thiết bị, nhóm đề tài đã đánh giá thông qua việc đối chứng với các chỉ tiêu của máy ACP của Nga. Kết quả cho thấy sản phẩm của đề tài có các chỉ tiêu đạt gần tương đương của Nga (trong điều kiện thử nghiệm với mẫu huấn luyện) (bảng 3.5.5).

3.6. NỘI DUNG 6 - NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH XỬ LÝ MÔI TRƯỜNG ĐẤT, NƯỚC, KHÔNG KHÍ VÀ THỰC PHẨM BỊ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

3.6.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Trong mục 3.4 và 3.5 đã giới thiệu các kết quả nghiên cứu chế tạo các Kit thử và thiết bị phát hiện sớm sự ô nhiễm môi trường bởi vi sinh vật độc hại. Trong chương này đề tài sẽ tập trung nghiên cứu một số phương pháp khử trùng, tẩy uế môi trường bị ô nhiễm 5 loại vi khuẩn độc hại: than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch.

Xét về nguyên lý có sự cố trong điều kiện sinh học, toàn bộ môi trường sống đều có nguy cơ bị ô nhiễm, việc khử trùng tẩy uế cần được tiến hành đồng bộ bằng nhiều biện pháp và phương pháp khử trùng phù hợp cho mỗi loại môi trường sống. Trong khi đó ở nước ta việc khử trùng dịch vẫn được tiến hành dựa theo các qui định của Bộ y tế cho từng loại dịch trên cơ sở sử dụng các dữ liệu của các Tổ chức sức khỏe thế giới, trên thực tế các qui trình này có thể không phù hợp với điều kiện Việt Nam vì có sự khác biệt về nhiệt độ, khí hậu, độ ẩm, môi trường khử trùng ..., đây là các yếu tố ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả khử trùng. Theo các số liệu báo cáo thì ở nước ta còn rất ít các công trình nghiên cứu về công tác

Bảng 3.5.5. Kết quả kiểm tra các thông số kỹ thuật của thiết bị phát hiện tác nhân sinh học
(So sánh với mẫu của Nga)

STT	Tính năng kỹ thuật	Mẫu ACP của Nga	Sản phẩm của đề tài
1	Tính năng tác dụng của máy	Phát hiện tạp chất đặc biệt (Phát hiện tác nhân sinh học)	Phát hiện tác nhân sinh học
2	Phương án chế tạo	Máy có khối nguồn lắp trên xe YAZ 469 PX	Máy có khối nguồn lắp vào mạng 220V
3	Điện áp cung cấp cho bộ nguồn	Lấy từ xe YAZ $13,8 \pm 1,6$ V	Lấy từ điện lưới 220 V
4	Nguồn cung cấp cho máy	26 ± 3 V	26 ± 4 V
5	Công suất làm việc của máy	≤ 180 W	≤ 180 W
6	Bơm không khí Lưu lượng không khí qua máy	Kiểu ly tâm 130- 225 lít/ phút	Kiểu ly tâm 120- 220 lít/ phút
7	Lượng thuốc thử vào ống công tác sau một chu kỳ	$1,4 \pm 0,2$ ml	$1,4 \pm 0,3$ ml
8	Thời gian lưu giữ thuốc thử trong ống công tác	11 ± 4 giây	11 ± 5 giây
9	Thời gian phát hiện tác nhân sinh học	≤ 2 phút	≤ 2 phút
10	Thời gian lấy mẫu tự động	120 ± 15 giây	120 ± 18 giây
11	Nhiệt độ làm việc của máy	$-20 \div +40^{\circ}\text{C}$	$15 \div 45^{\circ}\text{C}$
12	Thời gian chuẩn bị máy làm việc	≤ 40 phút (mùa hè) ≤ 120 phút (mùa đông)	≤ 40 phút

STT	Tính năng kỹ thuật	Mẫu ACP của Nga	Sản phẩm của đề tài
13	Thời gian nạp thuốc thử vào máy	≤ 5 phút	≤ 5 phút
14	Thời gian làm việc liên tục của máy - Không nạp thêm thuốc thử (nạp 1 lần) - Có nạp thêm thuốc thử	≥ 6 giờ ≥ 20 giờ	≥ 6 giờ ≥ 20 giờ
15	Chế độ làm việc	02 chế độ: + Phát hiện báo động; + lấy mẫu để phân tích khi tác nhân vượt quá ngưỡng.	02 chế độ: + Phát hiện báo động; + lấy mẫu để phân tích khi tác nhân vượt quá ngưỡng.
16	Ngưỡng làm việc của máy	$4\mu A \pm 0,2$	$4\mu A \pm 0,2$
17	Khối lượng thân máy	45 kg	44,5 kg
18	Kích thước máy	$615 \times 366 \times 380$ mm	$615 \times 366 \times 380$ mm
19	Trọng lượng khối nguồn	9 kg	7,5 kg
20	Kích thước khối nguồn	$124 \times 454 \times 167$ mm	$160 \times 200 \times 350$ mm
21	Bộ thuốc thử (KIT)	- Bộ thuốc thử mùa đông + Nhiệt độ làm việc $-20 \div +5^{\circ}C$ + Thuốc thử N ^o 1: 4 lọ + Thuốc thử N ^o 2: 1 hộp - Bộ thuốc thử mùa hè + Nhiệt độ làm việc $>5^{\circ}C$ + Thuốc thử N ^o 1: 4 lọ + Thuốc thử N ^o 2: 1 hộp	Một bộ thuốc thử dùng chung cả mùa hè và mùa đông - Thuốc thử N ^o 1: 8 lọ, dung tích 500 ml - Thuốc thử N ^o 2: 8 túi - Thuốc thử N ^o 3: 8 lọ, dung tích 15 ml.

STT	Tính năng kỹ thuật	Mẫu ACP của Nga	Sản phẩm của đề tài
22	Bộ nhân quang điện	FEU 84	FEU 84 (mua của Nga)
23	Bộ lập trình các chế độ làm việc của máy	Bộ lập trình cơ học	Bộ lập trình điện tử
24	Thiết bị báo động	Còi 26 V, đèn báo nguy hiểm	Còi 26 V, đèn báo nguy hiểm
25	Nguồn hiệu chỉnh máy	Nguồn phóng xạ Sr – Y, liều lượng 0,3 mR/h	Không sản xuất, dựa vào nguồn chuẩn của ACP (Nga)
26	Ống công tác kiểu ly tâm	Vật liệu Inox	Thép mạ Crom
27	Ống lấy mẫu kiểu ly tâm	Vật liệu composit	Thép mạ Crom

khử trùng, Bộ y tế Việt Nam chưa có qui định về qui trình khử trùng theo một văn bản chính thức nào. Theo chúng tôi đây là lĩnh vực còn mới ở Việt Nam, cần tiếp tục được nghiên cứu với quy mô và trình độ công nghệ ở mức độ cao hơn.

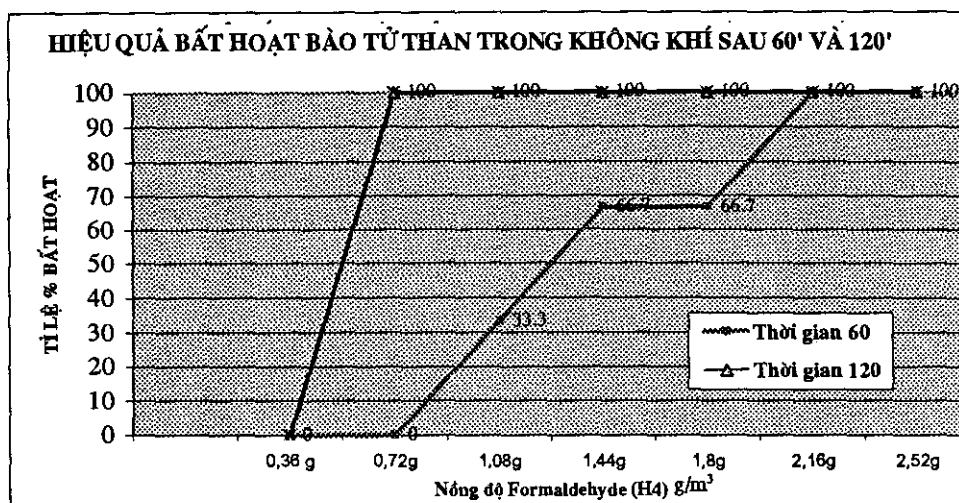
Trong phần nghiên cứu này của đề tài chúng tôi tiến hành xây dựng mô hình và quy trình khử trùng tẩy uế vi sinh vật độc hại trong môi trường đất, nước, không khí và thực phẩm (chủ yếu bằng hai phương pháp chính là phương pháp vật lý và hoá học) phù hợp với điều kiện Việt Nam và điều kiện trang thiết bị hiện có trong Quân đội. Các phương pháp này phải đáp ứng được yêu cầu là bộ đội dễ thực hiện trong điều kiện dã ngoại, các phương pháp phải đơn giản nhưng hiệu quả cao, giá thành rẻ và hạn chế được tồn lưu của hoá chất khử trùng trong môi trường sống.

3.6.2. Kết quả nghiên cứu

3.6.2.1. Kết quả thử nghiệm bất hoạt bào tử than trong không khí bằng formaldehyt

Để thử nghiệm khả năng bất hoạt bào tử than trong không khí đã sử dụng phương pháp gây nhiễm không khí và khử trùng bằng xông hơi hoá chất nêu trong mục 2.2.10.1.

Kết quả nghiên cứu cho thấy với nồng độ 6ml Formalin có 36% Formaldehyde (tương đương $2,16 \text{ gam/m}^3$) đã có tác dụng diệt bào tử Than ở điều kiện nhiệt $30-35^\circ\text{C}$, độ ẩm 81-85%. Tất cả các mẫu thử đều không có mẫu nào còn trực khuẩn Than sống sót. Nồng độ này của Formalin (6ml, tương đương $2,16 \text{ g/m}^3$) thấp hơn nồng độ 10-16ml Formalin đậm đặc (tương đương 3,6-5,76 g Formaldehyde/ m^3) mà một số tác giả khác đã đưa vào thường quy khử trùng tẩy uế. Theo chúng tôi, có lẽ do điều kiện nhiệt độ ở các nước phương Tây thấp hơn nhiều so với nhiệt độ trên nên trong thường quy khử trùng không khí các tác giả đưa ra hàm lượng cao hơn và do thí nghiệm của chúng tôi trong buồng hoàn toàn kín, khống chế được độ ẩm và nhiệt độ nên lượng hóa chất cần thiết để diệt khuẩn thấp hơn.



Hình 3.6.1. Kết quả bất hoạt bào tử than trong không khí

- Với nồng độ Formalin 0,36g/m³ không khí không thể diệt được bào tử, liều tối thiểu là 0,72g/m³ trong thời gian 2-3 giờ.
- Nếu thời gian khử trùng là 1 giờ phải cần tới 7 ml formaldehyde (36%) tức 2,52 mg/m³.
- Liều tốt nhất để khử trùng là từ 0,72g đến 2,25g/m³ không khí với thời gian 2-3 giờ.

3.6.2.2. Quy trình khử trùng bào tử than trong không khí

a. Lựa chọn hoá chất

Hóa chất cơ bản để khử trùng bào tử trực khuẩn than là Formaldehyde, Glutaraldehyde (ở pH 8,0-8,5), hydrogen peroxide và peracetic acid. Hypochlorit cũng có tính chất diệt bào tử nhưng bị trung hoà rất nhanh bởi các chất hữu cơ nên không phù hợp. Hydrogen peroxide và Ethylene oxide là chất rất dễ gây cháy nổ, khi dùng phải có thiết bị riêng và thực hiện nghiêm ngặt quy trình nên không phù hợp khi dùng trong trường hợp khẩn cấp. Peracetic acid có thể dùng khử trùng dụng cụ, tuy nhiên do tác dụng phá hủy các thiết bị kim loại nên khả năng ứng dụng rất hạn chế.

Để bảo vệ môi trường và sức khoẻ người và động vật nên sử dụng Formaldehyde trong khử trùng bề mặt, dụng cụ, không khí.

b. Phương pháp khử trùng

Khử trùng không khí là một khái niệm tương đối, vì không khí khi nhiễm mầm bệnh, độc tố hay phóng xạ thì tất cả các mọi vật đều bị nhiễm. Khi nói tới khử trùng, tẩy uế môi trường không khí có nghĩa là khử trùng trong một không gian giới hạn như: buồng kín, nhà ở, xe quân dụng...

Phần này chúng tôi trình bày qui trình xử lý trực khuẩn than vì đây là tác nhân chính thường được sử dụng trong khủng bố sinh học, hơn nữa đặc điểm của tác nhân này tồn tại ngoài môi trường dưới dạng bào tử, có sức đề kháng cao với ngoại cảnh, phương pháp diệt bào tử hoàn toàn có khả năng diệt những tác nhân gây dịch khác.

Những buồng kín không thể khử trùng bề mặt như phòng thí nghiệm, xe khí tài quân sự...có thể xông bằng hơi hoá chất sôi trong nước. Một buồng khoảng 25 – 30 m³ cần 4 lít nước có 400ml Formalin đậm đặc (37% W/V Formaldehyde), tương đương 135-160ml Formalin 10% (V/V) pha từ dung dịch đậm đặc 37% Formaldehyde/m³ dung tích buồng. Sử dụng bình xông tự động đặt thời gian hoặc tự động ngắt điện khi chất lỏng trong bình đến giới hạn, để qua đêm (hoặc không ngắn hơn 4 giờ kể từ thời điểm bắt đầu sôi đến khi hết hoá chất trước khi thông gió). Nhiệt độ phòng nên > 15°C.

Bước 1: Tính thể tích cần khử trùng: $m^3 = \text{chiều cao (m)} \times \text{chiều dài (m)} \times \text{chiều rộng (m)}$

Bước 2 : tính lượng hoá chất cần thiết:

Hiện nay hoá chất phổ biến thường được sử dụng khử trùng bào tử than trong không khí là formaldehyde (36%- 37% dạng thương phẩm). Từ kết quả các bảng trên có hệ số an toàn cho m³ không khí từ 0,72 g - 2,16 g tương đương với 2- 4 ml của formaldehyde nồng độ 36%- 37%, từ thể tích không khí cần khử trùng, tính lượng hoá chất cần thiết. Đông lượng hoá chất cần thiết tính tỷ lệ 1V hoá chất cộng với 9 thể tích nước, sau đó cho vào bình xông hơi

Bước 3: Chuẩn bị dụng cụ xông hoá chất

Tốt nhất sử dụng bình tự động ngắt, khi hoá chất bay hơi hết hoặc bình xông có ống dẫn hơi hoá chất vào các phòng cần khử trùng

Bước 4: Trước khi xông đóng tất cả cửa, dán chặt bằng băng keo, có ký hiệu an toàn các cửa ra vào, thời gian xông hơi khử trùng không khí khoảng 4 giờ, tính từ khi formaldehyde bay hơi hết, nếu có điều kiện có thể để trong thời gian qua đêm, cấm người và động vật vào khu vực xông hơi.

Bước 5: để kiểm tra tác dụng khử trùng dùng một miếng giấy thấm nhúng vào hỗn dịch bào tử (ngoại trừ điều kiện chuẩn dùng các chủng *B.subtilis* var *globigii* (NCTC 10073) hoặc *B.cereus* (ATCC 12826) nếu không có có thể dùng bào tử của chủng vaccin của *B.anthraxis* có nồng độ 10^9 CFU/cm², để khô rồi đặt vào vị trí bất kỳ xa bình xông.

Kết thúc quá trình xông lấy giấy nhúng bào tử thử cho vào ống canh thang dinh dưỡng. Nếu sau thời gian ủ 37°C/24 giờ không thấy vi khuẩn mọc thì việc khử trùng có kết quả. Dùng mặt nạ hoá học khi làm việc. Mở các cửa để thông gió hoặc mở nhiều quạt. Nếu có máy đo Formaldehyde thì thông gió cho tới khi chỉ còn < 2ppm, nếu không có máy đo thì phải không còn mùi của Formaldehyde trước khi vào phòng.

Với mục đích bảo vệ sức khoẻ và môi trường đã có những bước tiến trong việc thay thế Formalin bằng Hydrogen Peroxide trong việc xông khử trùng vi khuẩn. Việc sử dụng Formalin ngày càng bị nhiều nước cấm, thế nhưng thiết bị cần thiết cho việc xông hydrogen peroxide cồng kềnh, phức tạp và đắt nên chưa trở nên phổ biến và phù hợp cho kỹ thuật xông thường quy tại các phòng thí nghiệm.

Bước 6: trung hoà formaldehyde. Khi kết thúc qui trình khử trùng không khí, cần trung hoà lượng formaline tồn dư, tiến hành xông dung dịch amoniac 25% theo tỷ lệ : 1 thể tích amoniac cho 2 thể tích formalin. Nếu khử trùng không khí ở những vùng rộng rãi thoáng gió có thể mở rộng cửa phòng, bật quạt đuổi khí có formaldehyde ra khỏi phòng.

3.6.2.3. Xây dựng qui trình bất hoạt vi sinh vật độc hại trong môi trường nước

a. Kết quả xử lý các vi khuẩn tả, thương hàn, than bằng phương pháp nhiệt

Áp dụng phương pháp đã nêu trong mục 3.6.5.4 đã thử nghiệm khả năng diệt trực khuẩn tả, thương hàn bằng phương pháp nhiệt đun sôi ở 100°C.

Kết quả cho thấy rất dễ diệt phẩy khuẩn tả *V.cholerae* bằng nhiệt, ngay sau 1 phút kể từ khi sôi đã không có mẫu nào trong các mẫu thử còn vi khuẩn mọc. Riêng với trực khuẩn thương hàn thì phải hết phút thứ 3 mới diệt vi khuẩn trong các mẫu thử. Tuy nhiên do thí nghiệm thực hiện với thể tích nhỏ (invitro) nên khi áp dụng thực tế phải có hệ số an toàn (thời gian ít nhất gấp 2 –3 lần).

Kết quả thử nghiệm áp dụng phương pháp Tyndall để bất hoạt phẩy khuẩn tả và trực khuẩn thương hàn với nồng độ vi khuẩn 10^9 CFU/ml cho thấy *V.cholerae* bị diệt toàn bộ sau phút thứ 5 kể từ lúc đạt 60°C . Riêng với trực khuẩn thương hàn thì phải hết phút thứ 7 mới diệt vi khuẩn của tất cả mẫu thử. Tuy nhiên do thí nghiệm thực hiện với thể tích nhỏ (invitro) nên khi áp dụng thực tế phải có hệ số an toàn (thời gian ít nhất gấp 2 –3 lần).

Đối với trực khuẩn than kết quả thử bằng đun sôi (100°C) cho thấy cần tới 5 phút để bất hoạt 100% lượng trực khuẩn than thể dinh dưỡng và 10 phút đối với bào tử than. Kết quả thử nghiệm diệt vi khuẩn than bằng hoá chất có clo cho thấy rất khó diệt trực khuẩn Than cả 2 thể sinh dưỡng và bào tử bằng hoá chất có Clo, ở nồng độ 10mg/ml (10.000mg/lít, tương đương dung dịch mẹ thường dùng tại phòng thí nghiệm là 1% Clo) vẫn chưa diệt được cả thể sinh dưỡng lẫn bào tử trong vòng 30 phút, ở thể sinh dưỡng vẫn có 1/3 mẫu còn vi khuẩn sống sót. Thể bào tử trong vòng 30 phút không nồng độ nào diệt được. Khi thời gian tác dụng lâu hơn (18 giờ) có vẻ như đã xuất hiện tác dụng diệt khuẩn ở nồng độ 0,5mg/ml đối với thể sinh dưỡng, với thể bào tử nồng độ là 2mg/ml.

Nhìn chung kết quả thử nghiệm bất hoạt vi khuẩn bằng phương pháp nhiệt tiến hành với thể tích hạn chế và nồng độ vi khuẩn được xác định, nhưng trên thực tế khi thể tích khử trùng lớn và nồng độ vi khuẩn không xác định do đó phải có hệ số an toàn (thời gian gấp từ 2-3 lần số thời gian thử nghiệm).

Kết quả thử nghiệm khả năng khử trùng bằng hoá chất sinh clo cho thấy:

- Đối với phẩy khuẩn tả khi nồng độ Clo trong nước 0,002mg/ml (2mg/lít) đủ để diệt toàn bộ số vi khuẩn thử sau 30 phút. Với trực khuẩn thương hàn nồng độ Clo cần thiết là 0,005mg/ml (5mg/lít). Nồng độ 2mg/lít và 5mg/lít Clo đều cao hơn lượng Clo dư trong nước xử lý của các nhà máy nước.

- Thử nghiệm cũng cho thấy rất khó diệt trực khuẩn Than cả 2 thể sinh dưỡng và bào tử bằng hoá chất như Chloramin B. Với nồng độ Clo 10mg/ml (10.000mg/lít, tương đương dung dịch mẹ thường dùng tại phòng thí nghiệm là 1% Clo) vẫn chưa diệt được cả thể sinh dưỡng lẫn bào tử than trong vòng 30 phút. Tuy nhiên sau 18 giờ khử trùng bằng dung dịch chloramin ở nồng độ 0,5 mg/ ml và 2mg/ ml đã bất hoạt được 100% trực khuẩn than thể dinh dưỡng và thể bào tử, do đó muốn giảm thời gian xử lý thì cần tăng liều Clo hoạt tính đến 2,3-2,4 mg/lít với thời gian tiếp xúc tối thiểu là 1 giờ.

b. Quy trình khử trùng tẩy uế nước bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại

+ Lựa chọn hóa chất

Có rất nhiều loại hóa chất để khử trùng nước, tùy theo mỗi loại mầm bệnh mà người ta dùng một loại hóa chất khác nhau. Hoá chất khử trùng nước dùng cho ăn uống thường là: khí clo, ozon, các chất chứa clo hoạt như Cloramin B, canxi hypoclorit, thuốc tím, H_2O_2 ... Thông thường nhất người ta dùng các hóa chất có Clo để khử trùng nước sinh hoạt và nguồn nước (như giếng, bể chứa, nước nhà máy...) vì ít độc hại nhất đối với sức khỏe con người và môi trường.

Theo chúng tôi nên dùng Chloramin trong khử trùng nước vì đây là loại hóa chất phổ biến trên thị trường Việt Nam, giá thành rẻ, dễ sử dụng và có thể diệt được nhiều mầm bệnh khác nhau. Trong nghiên cứu của đề tài chúng tôi cũng thử với hóa chất này. Tuy nhiên trên thị trường có rất nhiều chất có clo hoạt dùng trong khử trùng nước, vì vậy tùy theo thực tế để lựa chọn hoá chất.

+ Quy trình khử trùng nước bằng các chất sinh Clo hoạt

***Bước 1 :** Phải xác định được % Clo trong hóa chất khử trùng. Bước này thực hiện đều hàng tháng thì khi cần sử dụng ngay đã biết được kết quả, không mất thời gian để định lượng.

***Bước 2 :** Tính thể tích nước cần khử trùng : Đối với bể thì đo trực tiếp và tính theo (Chiều rộng bể X chiều dài bể X Chiều cao mực nước trong bể). Giếng miệng hình tròn (Bán kính miệng giếng X Bán kính miệng giếng X 3,2 X Chiều cao mực nước).

- Chiều cao mực nước đo bằng thước hoặc tốt nhất là buộc một vật nặng (gạch hoặc cục sắt) vào đầu dây rồi thả xuống tới đáy. Kéo lên đo đoạn dây bị ướt.

- Đơn vị đo là mét.

Bước 3 : Pha dung dịch Clo mẹ 1%.

Bước 4 : Khử trùng bằng dung dịch Clo mẹ 1%.

Cho dung dịch mẹ vào nước cần khử trùng theo hướng dẫn được nêu ra trong bảng 3.6.1.

**Bảng 3.6.1. Hướng dẫn liều khử trùng tả, thương hàn, lỵ
bằng dung dịch Clo 1%**

Nước cần khử	Dung dịch mẹ
1 lít	5 ml
10 lít	50 ml
100 lít	500ml
1000 lít (1m ³)	5000ml

Trộn đều bằng que hoặc trong giếng, bể thì bằng cách thả gầu mức nước vào kéo lên xuống nhiều lần để trộn đều. Với liều khử trùng như bảng 12 đậm độ Clo từ 3- 5 mg/lít nước khử trùng tùy theo các chất (hữu cơ, các Ion kim loại...) có trong nước.

* *Chú ý* : Nếu nước vẫn đục (có nhiều hạt lơ lửng) nên lọc nước trước khi cho Clo.

Trong trường hợp không có hoặc không kịp pha dung dịch Clo 1% thì có thể thả trực tiếp hoá chất sinh Clo dạng bột vào bể hoặc giếng cần khử trùng. Để đạt lượng Clo từ 3 -5 mg/lít thì cách tính lượng hoá chất được trình bày theo bảng tính sẵn dưới đây.

Bảng 3.6.2. Bảng tính lượng hoá chất cho 1m³

Hoá chất (% Clo hoạt *)	Khối lượng cho 1m ³
Calci hypochlorit (70%)	7,2g
Chlorua vôi, CaClOH.Ca(OH) ₂ .xH ₂ O (30%)	17,0g
Monochloramin, C ₆ H ₅ SO ₂ NNaCl.3H ₂ O,(25%)	20,0g

Dichloramin B, $C_6H_5SO_2NCl_2$, (60%)	8,3g
Dichloramin T, $CH_3C_6H_4SO_2NCl_2$, (60%)	8,3g
Hexachlormelamin, $C_3N_6Cl_6$, (10%)	50g

Trộn lượng hoá chất cần dùng (tương đối chính xác) cho vào một xô, cho nước vào trộn đều cho tan sau đó đổ vào giếng hoặc bể cần khử trùng. Dùng que hoặc trong giếng, bể thì bằng cách thả gầu mức nước vào kéo lên xuống nhiều lần để trộn đều. Nước khử trùng bằng Clo thường có mùi hăng, nên để sau 1 giờ hoặc lâu hơn để bớt mùi trước khi dùng.

3.6.2.4. Nghiên cứu quy trình bất hoạt vi sinh vật độc hại trong thực phẩm

a. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Có nhiều dạng thực phẩm như:

- + Thực phẩm có nguồn gốc từ động vật (thịt gia súc gia cầm, sữa..)
- + Thực phẩm có nguồn gốc thực vật (hoa quả, củ, rau...)
- + Thực phẩm có nguồn gốc từ biển (cá, cua, sò...)

Đặc điểm chung của các loại thực phẩm là rất giàu chất dinh dưỡng (protein), khi tiếp xúc với tác nhân vi sinh học, thường gây nhiễm bề mặt và là điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật phát triển, đây là điều kiện thuận lợi hơn vì:

- + Thực phẩm giàu protein thường có nguồn gốc động vật, và vi khuẩn gây bệnh từ động vật rất có khả năng lây nhiễm cho thực phẩm.
- + Thực phẩm giàu chất dinh dưỡng, là yếu tố quan trọng nuôi dưỡng vi sinh vật độc hại phát sinh, phát triển.
- + Chế biến thực phẩm và dụng cụ nhà ăn nhà bếp không được khử trùng làm lây nhiễm mầm bệnh vào thực phẩm.

Hiện nay bao bì thực phẩm cung cấp trong quân đội và thị trường có nhiều dạng, nhưng chủ yếu xếp vào các loại chính là :

- Bao bì cấu tạo bởi 1 hoặc nhiều lớp polyethylen hoặc giấy tráng paraffin
- Loại đóng trong hộp kim loại
- Bao bì có chất liệu có nguồn gốc từ cao su
- Bao bì dạng chất dẻo

b. Kết quả nghiên cứu khử trùng tác nhân sinh học nhiễm trên các chất liệu bao bì bảo quản thực phẩm bằng phương pháp hoá học

♦ *Trực khuẩn than thể bào tử (Bacillus anthracis spore)*

- Nếu sử dụng dung dịch Hypoclorit ở điều kiện pH: 7,2 ; nhiệt độ 22°C:

+ Nồng độ 5.000ppm – 10.000 ppm trong thời gian 30 phút hoặc 500 ppm trong thời gian 60 phút. (chú ý chất liệu bao bì)

- Nếu sử dụng dung dịch chlorine hoạt tính :

+ Nồng độ 50.000 ppm tiếp xúc trong 10 phút

+ Nồng độ 12.500 ppm tiếp xúc trong thời gian 15 phút

♦ *Trực khuẩn than thể sinh dưỡng (Bacillus anthracis vegetative)*

+ Cần nồng độ hypochlorite 100 –500 ppm, thời gian diệt trong 30 phút

Trên thực tế mẫu thực phẩm nhiễm trực khuẩn than thường tồn tại dưới cả 2 thể bào tử và sinh dưỡng, do đó để đảm bảo tốt công tác khử trùng, tốt nhất sử dụng nồng độ hoá chất như là diệt thể bào tử.

♦ *Diệt vi khuẩn thương hàn (Salmonella typhi)* trong điều kiện nhiệt độ 22°C, thời gian diệt khuẩn 20 phút.

+ Nồng độ hypochlorite 1000 ppm – 5000 ppm

+ Nồng độ iodine : 50 ppm- 500 ppm

+ Nồng độ QACs : 500 ppm – 10.000 ppm ,tùy theo chất liệu bao bì

+ Nếu sử dụng chlorine hoạt tính trong thời gian khử trùng 5 phút cần nồng độ 6250 ppm –12.500ppm, với thời gian 10 phút đến 15 phút cần nồng độ 150ppm -3125 ppm tùy theo chất liệu bao bì.

c. Kết quả nghiên cứu khử trùng lương thực, thực phẩm bằng phương pháp nhiệt đối với thực phẩm nghi nhiễm tác nhân sinh học

• *Trực khuẩn than thể sinh dưỡng (Bacillus anthracis vegetative)*: bằng phương pháp đun sôi 100°C, diệt khuẩn trong thời gian 15-20 phút và phương pháp pasteurization ở nhiệt độ 62-64°C, thời gian diệt là 25 –30 phút

• *Trực khuẩn than thể bào tử (Bacillus anthracis spore)* ở nhiệt độ 100°C, bị diệt sau thời gian 30 phút

- Vi khuẩn thương hàn (*Salmonella typhi*) ở 100°C, bị diệt sau 6 phút, nếu sử dụng tiệt trùng bằng phương pháp Pasteur, bị diệt sau 8 phút
- Phẩy khuẩn tả (*Vibrio cholerae*) ở 100°C, bị diệt trong khoảng thời gian 4 phút, nếu sử dụng tiệt trùng bằng phương pháp pasteur, trong thời gian 5 phút -10 phút

d. Quy trình khử trùng lương thực, thực phẩm có nguồn gốc động vật (thịt), thực vật (rau, củ, quả...) và động vật biển (cá, sò...)

- **Làm sạch:** đối với các loại lương thực thực phẩm trực tiếp tiếp xúc với nguy cơ xâm nhập của các tác nhân sinh học và đất, cần phải làm sạch bằng rửa trong nước nhiều lần.

- **Khử trùng :** bằng phương pháp đun sôi (100°C)

- Đối với loại vi khuẩn có khả năng sinh bào tử như *B. anthracis*, cần đun 100°C, trong thời gian 30 phút tính từ thời điểm sôi, nhưng tốt nhất sau khi đun 30 phút để nguội nhanh, sau đó đun tiếp 30 mới có thể sử dụng ăn

- Đối với vi khuẩn gram (+) đại diện là vi khuẩn *B. anthracis* thể sinh dưỡng, khử trùng bằng phương pháp đun 15- 20 phút hoặc bảo quản thực phẩm ở nhiệt độ 62°C- 64°C

-Đối với vi khuẩn gram (-) như họ vi khuẩn đường ruột (*Salmonella, shigella, vibrio, yersinia*) đun sôi trong thời gian 5- 6 phút, hoặc khử trùng theo phương pháp pasteurization ở 62°C- 64°C trong thời gian 10 phút

3.6.2.5. Xây dựng quy trình bất hoạt vi sinh vật độc hại trong đất

a. Kết quả thử nghiệm bất hoạt bào tử than ô nhiễm đất

Kết quả thử nghiệm cho thấy:

- Toàn bộ các loại đất được khử trùng bằng formaldehyde nồng độ 2% ở thời gian sau khử trùng 4 giờ 100% bào tử bị bất hoạt, nhưng ở thời điểm 8 giờ phát hiện được từ 100- 200 CFU/ g đất.

-Tẩy uế môi trường đất bằng formaldehyde ở nồng độ 2% thì ở thời điểm sau khử trùng 8 giờ số lượng vi khuẩn phát triển cao hơn số lượng vi khuẩn than lúc 4 giờ, điều này chứng minh rằng với nồng độ formaldehyde 2% sử dụng để khử trùng không đủ để bất hoạt bào tử than trong đất, nồng độ tồn lưu của hoá

chất không đủ ức chế bào tử, vì việc kiểm định hiệu quả bất hoạt bào tử được tiến hành cấy trên thạch dinh dưỡng vào lúc này để hình thành khuẩn lạc, trực khuẩn than thể bào tử hình thành thể sinh dưỡng.

- Tẩy uế bào tử than bằng formaldehyde nồng độ 4% trên các loại đất sau thời gian 4 và 8 giờ số bào tử sống sót giao từ 1- 16 CFU/ g đất thường thấy ở độ sâu 10 cm và trên bề mặt 100% bào tử bị bất hoạt.

- Thời gian khử trùng sau 12 giờ ở nồng độ formaldehyde 4%, toàn bộ bào tử bị bất hoạt, điều này chứng minh rằng nồng độ formaldehyde 4% là nồng độ thấp đủ đảm bảo khả năng tồn dư để tiếp tục bất hoạt bào tử.

Lựa chọn được nồng độ và thời gian khử trùng là việc làm hết sức cần thiết vì formaldehyde là một chất có độc tính tương đối cao, nếu sử dụng ở nồng độ cao ảnh hưởng tới thực vật và động vật ở khu vực khử trùng.

b. Quy trình khử trùng đất nhiễm bào tử trực khuẩn than

**Khử trùng bằng phương pháp nhiệt:*

Phương pháp này chỉ thực hiện trong điều kiện khu vực ô nhiễm mầm bệnh ở giới hạn hẹp bị ô nhiễm bởi chất bài tiết của người hoặc động vật nhiễm bệnh như : phân, máu ... hoặc môi trường đất bão hoà nước không có khả năng sử dụng hoá chất diệt khuẩn.

Bước 1: Bóc toàn bộ lớp đất bề mặt nghi bị ô nhiễm (m^2), có chiều sâu khoảng 20 cm, đưa vào các thùng hoặc hộp (chú ý: khi tiến hành bóc lớp đất bề mặt cần có bảo hộ cá nhân tốt như: mũ, găng tay, dụng cụ, hoá chất khử trùng cá nhân như hypochlorine, nitrate) tránh lây nhiễm cho mầm bệnh sang khu vực khác trong quá trình vận chuyển đất.

Nếu có xác động vật chết tiến hành hoả thiêu tại chỗ , sau đó bóc toàn bộ lớp đất

Bước 2: Tiến hành khử trùng bằng phương pháp hấp ướt ở nhiệt độ tối thiểu $121^{\circ}C/ 20$ phút, nếu đất bão hoà trong nước nên ưu tiên khử trùng bằng phương pháp sấy khô ở nhiệt độ $170^{\circ}C/ 30$ phút, tính từ thời điểm đủ nhiệt độ.

Bước 3: Sau khi khử trùng xong, nếu có điều kiện khử trùng một lần nữa bằng formaldehyde nồng độ 4-5% hoặc glutaraldehyde nồng độ 2% trong nước.

** Khử trùng bằng hoá chất (formaldehyde hoặc glutaraldehyde)*

Bước 1:

- Xác định khu vực cần khử trùng, diện tích khử trùng (m^2). Cách tính diện tích khử trùng: $S(m^2) = [\text{Chiều dài (m)} \times \text{chiều rộng(m)}] \times 2$

- Xác định loại đất cần khử trùng (tính chất đất, độ ẩm của đất, điều kiện nhiệt độ của môi trường khử trùng) liên quan tới khả năng thẩm thấu của hoá chất.

Bước 2: Pha hoá chất.

Tính số lượng hoá chất (lít) dung dịch formaldehyde (36%) cần thiết để được nồng độ 4%- 5%, tính theo diện tích bề mặt khử trùng: số lượng khử trùng 50 lít formaldehyde/ m^2 diện tích bề mặt và 30 ml cho 10 cm chiều sâu.

Bước 3:

-Phun khử trùng bề mặt chứa dung dịch formaldehyde 4%-5% bằng máy phun áp lực không quá 12- 15 lít/ phút (tránh dùng phun ở áp lực quá mạnh gây phát tán mầm bệnh).

- Khử trùng chiều sâu: Đục các lỗ có chiều sâu khác nhau: 10 cm, 20 cm, 30, 40 cm, 50 cm, cứ khoảng 0,5 m chiều dài khu vực đất khử trùng cho một loạt các lỗ như trên và mỗi lỗ cho 30 ml dung dịch formaldehyde(4%-5%) /10 cm, tổng cộng 150 ml. Nếu mồi chôn xúc vật nhiễm trực khuẩn than thì tiến hành đục lỗ ở giữa và đưa lượng formaldehyde 5% xuống.

- Thời gian khử trùng diệt bào tử than cần thiết là 12 giờ.

Bước 4: Sau khi khử trùng xong cấm người không nhiệm vụ vào khu vực và nếu điều kiện có thể trung hoà formaldehyde trên bề mặt bằng dung dịch amoniac 25 %. Với tỷ lệ 1 thể tích amoniac với 2 thể tích formaldehyde khử trùng. Nếu không có điều kiện trung hoà thì sau 7- 10 ngày mới cho động vật vào khu vực khử trùng.

3.6.2.6. Nghiên cứu ảnh hưởng của việc xử lý khử trùng bằng hoá chất tới môi trường và sức khoẻ cộng đồng

a. Ảnh hưởng của quá trình khử trùng không khí bằng xông hơi formaldehyt

Như trong mục 3.6.2.1. đã giới thiệu, để bất hoạt bào tử than trong môi trường không khí của buồng thử khí dung đã được cô lập với bên ngoài, cần phải

tạo được nồng độ formaldehyt trong không khí đạt $2,16\text{g/m}^3$. Nồng độ này cao hơn rất nhiều so với nồng độ tối đa cho phép trong môi trường không khí xung quanh ($0,012\text{ mg/m}^3$, theo TCVN 5938-1995), so với giới hạn tối đa cho phép khí thải công nghiệp vào môi trường không khí (6 mg/m^3 , theo TCVN 5940-1995) và nồng độ cho phép trong 8 giờ lao động ($0,5\text{ mg/m}^3$) và từng lần tối đa (1 mg/m^3 , theo Tiêu chuẩn Vệ sinh lao động của Bộ y tế (2003)). Trong điều kiện sử dụng mô hình thử nghiệm là buồng khí dung thì ảnh hưởng của formaldehyt đến sức khoẻ người làm thí nghiệm có thể loại trừ bởi khí dung formaldehyt không thoát ra ngoài môi trường phòng thí nghiệm được. Tuy nhiên nếu ứng dụng mô hình xử lý vi sinh vật độc hại này ra ngoài môi trường dù ở bất kỳ không gian nào cũng đều ảnh hưởng đến sức khoẻ cộng đồng dân cư nơi xử lý.

Đó là bởi formaldehyt (CH_2O) ngoài khả năng khử trùng mạnh thì còn là chất có độc tính cao với cả người và động vật. Formaldehyt là chất kích thích ở dạng mù sương, khí hoặc hơi gây ra cảm giác bỏng rát khi tiếp xúc với đường hô hấp trên (mũi, họng), gây nên viêm phế quản, đôi khi có thể hủy hoại tới đường thở và mô phổi. Chính vì vậy khi áp dụng biện pháp khử trùng bằng xông hơi formaldehyt ở môi trường khó cô lập thì cần có các biện pháp để tổ chức sơ tán cư dân hoặc bộ đội ra khỏi khu vực ô nhiễm trước khi tiến hành xử lý, hoặc phải quy định rõ khoảng thời gian cần thiết sau khi xử lý mới cho người và động vật trở lại khu vực đó.

b. Ảnh hưởng của việc xử lý khử trùng đất ô nhiễm bằng hoá chất

Để xử lý đất bị ô nhiễm bào tử than đề tài đã đề xuất phương án sử dụng dung dịch formaldehyt có nồng độ 4%. Với nồng độ này formaldehyt cũng ảnh hưởng rất mạnh tới đời sống thực vật và động vật ở khu vực khử trùng cũng như ảnh hưởng tới nguồn nước dùng cho sinh hoạt. Do đó nếu có điều kiện thì cần phải trung hoà formaldehyt trên bề mặt bằng dung dịch amoniac 4% với tỉ lệ 1 thể tích amoniac : 2 thể tích formaldehyt. Nếu không có điều kiện trung hoà thì sau 7 - 10 ngày mới cho người hoặc động vật vào khu vực khử trùng.

c. Ảnh hưởng của việc khử trùng nước bằng hoá chất chứa clo hoạt

Như trong mục 8.2.2.2. đã giới thiệu, để khử trùng nước phương pháp thông dụng nhất, hiệu quả và rẻ tiền nhất vẫn là sử dụng các hoá chất có clo. Nhưng đi đôi với hiệu quả khử trùng tốt thì việc tạo thành những sản phẩm hữu cơ chứa halogen, đặc biệt là các hợp chất trihalometan (THMs) lại có ảnh hưởng xấu tới sức khoẻ con người. Từ những năm 70 thế kỷ trước, qua một số khảo sát dịch tễ, người ta đã nhận thấy có sự liên hệ giữa các bệnh ung thư bàng quang, ung thư mật và đột biến gen với những sản phẩm phụ của quá trình khử trùng nước bằng clo như triclometan, diclometan, clobenzen... Triclometan (CHCl_3) là một trong những chất hữu cơ dễ bay hơi, độc hại với sức khoẻ mà Hiệp hội BVMT Mỹ (EPA) đã đưa vào "danh sách đen" những chất hữu cơ cần kiểm soát. Tiêu chuẩn triclometan trong nước uống từ 50 - 300 ppb ($\mu\text{g/l}$) nhưng theo WHO thì đa số áp dụng là 300 ppb ($\mu\text{g/l}$). So với nguy cơ gây ung thư của triclometan thì lợi ích khử trùng nước uống của clo giá trị hơn nhiều cho nên hiện nay WHO vẫn đang ủng hộ việc sử dụng clo như một hoá chất khử trùng nước uống có hiệu quả hơn cả.

Như vậy việc sử dụng lượng dư clo để xử lý nước dùng cho sinh hoạt và ăn uống bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại sẽ luôn có nguy cơ tạo ra các hợp chất cơ clo dễ bay hơi trong nước, độc hại với con người. Chính vì vậy để hạn chế sự gia tăng các hợp chất độc hại này cần phải chú ý tới việc làm test clo để tính lượng clo thích hợp cho việc khử trùng nhằm hạn chế sự dư thừa clo trong nước sau xử lý.

3.7. NỘI DUNG 7 - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO PHƯƠNG TIỆN BẢO VỆ CÁ NHÂN CHỐNG LẠI TÁC ĐỘNG CỦA VI SINH VẬT ĐỘC HẠI THEO ĐƯỜNG HÔ HẤP

3.7.1. Đặc điểm nội dung nghiên cứu

Hiện nay loài người đang phải đối phó với nhiều loại dịch bệnh do vi sinh vật độc hại và các tác nhân sinh học khác gây ra. Một trong các con đường chủ yếu để vi sinh vật độc hại tác động tới con người là theo đường hô hấp. Chính vì vậy để phòng chống tác động của vi sinh vật độc hại trong quân sự và dân sự, để

bảo vệ bộ đội và nhân dân khi có sự cố sinh học, các nước đều phải sử dụng 2 loại phương tiện phòng độc cá nhân: phương tiện phòng da và phương tiện phòng hô hấp. Ở Việt Nam, hiện nay cả 2 phương tiện này đều dựa chủ yếu vào nguồn nhập ngoại và viện trợ của các tổ chức quốc tế.

Các công trình nghiên cứu về công nghệ chế tạo các phương tiện bảo vệ hô hấp chống vi sinh vật độc hại được công bố rất hạn chế. Chúng ta mới chỉ biết đến một số sản phẩm phòng hô hấp kiểu khẩu trang lọc bụi. Trong khuôn khổ đề tài này chúng tôi sẽ nghiên cứu thử nghiệm khả năng chế tạo một số phương tiện bảo vệ cá nhân dạng khẩu trang và bán mặt nạ lọc vi sinh vật nhằm mục đích có thể trang bị đại trà cho toàn dân, toàn quân để phòng sự cố sinh học.

3.7.2. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.7.2.1. Nghiên cứu xây dựng mô hình kết cấu, kiểu dáng khẩu trang và bán mặt nạ

Dựa trên cơ sở tổng quan tài liệu và việc khảo sát các loại mẫu khẩu trang, bán mặt nạ hiện có trên thị trường (nhập ngoại từ nước ngoài hoặc tự chế tạo trong nước) cũng như khảo sát nguồn nguyên liệu, vật liệu sẵn có và khả năng kỹ thuật - công nghệ trong nước, nhóm đề tài đã xây dựng mô hình kết cấu và kiểu dáng mẫu 2 loại sản phẩm như sau.

a. Khẩu trang lọc vi sinh vật

Sản phẩm khẩu trang gồm 2 chủng loại: khẩu trang gấp và khẩu trang định hình. Khẩu trang được đeo chụp kín lên phần mũi, miệng để bảo vệ cơ quan hô hấp người sử dụng bằng hai dây đeo.

*** Khẩu trang gấp:**

Khẩu trang gấp có lớp vỏ bên ngoài may từ các loại vải thông thường. Bên trong là tấm lọc độc. Tấm lọc độc được chế tạo từ màng sợi tổng hợp và vật liệu lọc sol khí chuyên dụng. Khẩu trang có khả năng bảo vệ tốt đối với các vi sinh vật độc hại và các loại bụi rắn lơ lửng. Khẩu trang có khả năng tái sử dụng nhiều lần. Khẩu trang có các chỉ tiêu kỹ thuật: trọng lượng, độ giảm trường nhìn, sức cản hô hấp, hiệu suất lọc sol khí, hiệu suất lọc vi sinh vật đáp ứng các yêu cầu đòi hỏi.

*** Khẩu trang định hình:**

Khẩu trang được tạo hình khối theo kiểu dáng chụp cao su của bán mặt nạ bằng công nghệ ép khuôn. Vật liệu chế tạo khẩu trang: màng sợi tổng hợp và vật liệu lọc sol

khí chuyên dụng. Để tăng độ kín khi đeo, khẩu trang định hình có thêm đệm kín mềm, đàn hồi bằng vật liệu polyme. Như vậy, khẩu trang định hình gồm phần chụp mặt bằng vật liệu lọc và đệm kín. Khẩu trang định hình có các chỉ tiêu chất lượng về sinh lý và bảo vệ cao hơn so với khẩu trang gấp. Khẩu trang định hình có một số chủng loại và được phân biệt với nhau theo kích thước, hình khối bên ngoài của khẩu trang và bản chất vật liệu lọc dùng chế tạo khẩu trang.

b. Bán mặt nạ lọc vi sinh vật

Bán mặt nạ có cấu tạo và kết cấu như sau:

- Cấu tạo bán mặt nạ gồm:

+ Chụp cao su che mũi, mồm với quai đeo và hệ thống van hít vào, van thở ra

+ Hộp lọc độc (dùng lọc vi sinh vật)

- Kết cấu bán mặt nạ:

+ Hộp lọc độc được lắp ráp với chụp cao su bằng cơ cấu vặn ren

+ Kết cấu hộp lọc: hộp lọc gồm vỏ hộp bên ngoài và tầng lọc vi sinh vật lắp bên trong. Trong tầng lọc sol khí có phin lọc chế tạo từ giấy lọc sol khí chuyên dụng. Các chi tiết được làm kín bằng keo dán, doăng đệm kín và cơ cấu vặn ren.

Bán mặt nạ có các chỉ tiêu kỹ thuật: trọng lượng, độ giảm trường nhìn, sức cản hô hấp, hiệu suất lọc sol khí, hiệu suất lọc vi sinh vật cao hơn so với khẩu trang và đáp ứng các yêu cầu đòi hỏi để trang bị cho các lực lượng đặc chủng, chuyên trách.

3.7.2.2. Nghiên cứu khảo sát lựa chọn vật liệu

Để lọc sol khí độc gồm sol vi trùng, sương, khói, bụi độc, trong quân sự và dân sự các nước trên thế giới đều dùng vật liệu lọc độc chuyên dụng là giấy lọc sol khí. Giấy lọc sol khí được chế tạo từ các sợi xenlulo, sợi amiăng, sợi đá bazan, sợi thủy tinh, sợi polymer... có cấu trúc tạo bởi các sợi với kích thước nhất định phân bố đan xen với nhau thành từng tầng, từng lớp nhưng có đặc trưng là phân bố hỗn loạn, không theo quy luật. Cấu trúc đó của giấy lọc cho phép không khí đi qua còn giữ lại tất cả các vi sinh vật độc hại và các hạt sol khí [46,47].

Trên cơ sở khảo sát nguồn vật liệu giấy lọc sol khí, đối chiếu với yêu cầu của đề tài, chúng tôi đã chọn giấy lọc FP của Nga làm vật liệu lọc sol khí để chế tạo khẩu trang và bán mặt nạ. Ngoài ra để chế tạo khẩu trang còn sử dụng màng sợi tổng hợp polyeste và keo kết dính loại polyacrylic có sẵn trên thị trường.

Kết quả đánh giá chất lượng một số loại vật liệu lọc sol khí được trình bày trên bảng 3.7.1.

Bảng 3.7.1. Chỉ tiêu kỹ thuật của màng sợi và giấy lọc FP

STT	Chỉ tiêu kỹ thuật	Màng sợi	FP N ⁰¹	FP N ⁰²	FP N ⁰³
1	Độ dày (mm)	0,18-0,20	0,12-0,15	0,10-0,12	0,06
2	Khối lượng 1 m ² (g/m ²)	40 - 50	25 - 35	20 - 25	10 - 15
3	Sức cản hô hấp (Pa)	4 - 10	10 - 15	15 - 20	6 - 10
4	Hiệu suất lọc sương dầu (%)	-	99,0	99,99	95,0
5	Hiệu suất lọc vi sinh vật (%)	-	100	100	Không đạt

Kết quả bảng 3.7.1 cho thấy:

- Hai loại giấy lọc FP N⁰¹ và N⁰² khảo sát có chất lượng tốt, đều có thể dùng làm vật liệu lọc vi sinh vật để chế tạo của các sản phẩm của đề tài.

- Vật liệu lọc FP N⁰² có hiệu suất lọc sol khí tốt hơn FP N⁰¹, nhưng lại có sức cản hô hấp cao hơn. Tùy theo yêu cầu về khả năng lọc vi sinh vật của sản phẩm ta có thể sử dụng vật liệu FP N⁰¹ hay FP N⁰².

- Vật liệu lọc FP N⁰³ có chất lượng không đạt yêu cầu, nhưng có ưu điểm là nhẹ, mỏng và có sức cản hô hấp thấp. Những ưu điểm này rất thích hợp cho việc chế tạo sản phẩm. Do vậy, trong nghiên cứu tiếp theo, đề tài sẽ tăng thêm một vài vật liệu phụ trợ khác cho vật liệu lọc FP N⁰³ để hy vọng có thể sử dụng vật liệu này trong chế tạo các sản phẩm của đề tài.

3.7.2.3. Nghiên cứu thiết kế mẫu

a. Thiết kế khẩu trang gấp (ký hiệu M1)

Khẩu trang gấp lọc vi sinh vật M1 được thiết kế như sau:

- Kết cấu: Khẩu trang M1 có kết cấu kiểu gấp. Khi không sử dụng khẩu trang được gấp lại theo đường sống chạy dọc chính giữa khẩu trang. Khi sử dụng mở ra và được đeo áp sát vào phần mũi, cằm và mặt bằng hai dây đeo qua hai tai. Dây đeo có chi tiết ống nhựa dùng điều chỉnh độ căng dây đeo để bảo đảm khẩu trang được đeo kín với mặt. Khẩu trang được làm kín với sống mũi bằng đệm mút xốp và thanh kim loại dẻo.

- Cấu tạo: Khẩu trang M1 gồm có lớp vỏ bao ngoài và tấm lọc vi sinh vật ở bên trong.

+ Vỏ ngoài: may từ vải cotton hoặc vải cotton pha. Bốn góc may dây đeo.

+ Tấm lọc vi sinh vật: là tấm lọc nhiều lớp chế tạo từ các lớp mex, màng sợi tổng hợp và vật liệu lọc FP N^o1. Tấm lọc gồm hai nửa giống nhau, được may ghép liền với nhau. Trên tấm lọc, ở mặt ngoài gắn thanh kim loại dẻo, mặt phía trong cùng vị trí gắn đệm mút xốp.

Đã tiến hành thiết kế bản vẽ sản phẩm khẩu trang gấp M1.

b. Thiết kế khẩu trang định hình (ký hiệu M4)

Khẩu trang M4 được thiết kế như sau:

- Kết cấu: Khẩu trang M4 có kết cấu định hình (với kiểu dáng giống với chụp cao su bán mặt nạ) gia công bằng công nghệ ép khuôn. Khẩu trang được đeo áp sát vào mặt, che kín phần mũi, mồm bằng hai dây đeo đàn hồi (dây chun). Một dây đeo ở đỉnh đầu, một dây đeo ở dưới tai sau gáy. Hai dây đeo có chi tiết điều chỉnh độ căng bằng ống nhựa. Khẩu trang định hình có đệm kín để đảm bảo độ kín khít phần tiếp xúc của khẩu trang với mặt người sử dụng khi đeo khẩu trang.

- Cấu tạo: Khẩu trang M4 có cấu tạo gồm 3 phần

+ Phần chụp mặt khẩu trang chính là tấm lọc độc lọc vi sinh vật. Tấm lọc độc chế tạo từ nhiều lớp vật liệu: mex, màng sợi tổng hợp, vật liệu lọc FP, vật liệu tạo hình khối.

+ Đệm kín bằng vật liệu polyme xốp. Đệm kín được cố định với phần chụp mặt bằng keo dán.

+ Hai dây đeo đàn hồi với chi tiết điều chỉnh độ căng hai dây đeo khi đeo.

Đã tiến hành thiết kế bản vẽ sản phẩm 3 chủng loại khẩu trang định hình M4.

c. Thiết kế bán mặt nạ lọc vi sinh vật (ký hiệu RP-1M)

+ Thiết kế bán mặt nạ lọc vi sinh vật

- Kết cấu: Là loại kết cấu một hộp lọc

- Cấu tạo bán mặt nạ gồm:

+ Chụp cao su với hệ thống van thở ra, van hít vào và quai đeo.

+ Hộp lọc vi sinh vật

- Chụp cao su được thiết kế theo số liệu nhân trắc đầu, mặt người Việt Nam

- Trên chụp cao su: hộp van thở ra đặt ở vị trí trước mũi, lắp ráp với chụp cao su theo cơ cấu gài. Hộp lọc độc đặt ở vị trí dưới cằm, lắp ráp với chụp cao su theo cơ cấu vận ren với cụm đế van hít vào. Lá van hít vào lắp ráp với cụm đế van hít vào đặt phía bên trong chụp cao su và lắp ráp với hộp lọc độc.

- Quai đeo bán mặt nạ có kết cấu kiểu một dây đeo liền bằng dây chun. Quai đeo được lắp với chụp cao su bằng 2 móc dây đeo ở 2 bên chụp cao su, cố định bằng chốt.

Khi đeo lên đầu quai đeo tách ra ở hai vị trí, một ở trên tai vòng qua đỉnh đầu, một ở dưới tai, vòng qua cổ. Điều chỉnh độ căng dây đeo bằng khóa điều chỉnh.

- Hộp lọc vi sinh vật gồm vỏ hộp bên ngoài và hộp giấy ở bên trong. Hộp giấy có thân và nắp đáy, bên trong chứa phin lọc vi sinh vật chế tạo từ giấy lọc sol khí FP. Phin lọc có kết cấu kiểu một hình rẻ quạt. Phin lọc được cố định trong hộp giấy. Thân và nắp hộp giấy được lắp ráp với nhau theo kiểu lắp căng kết hợp với keo dán. Vỏ hộp bên ngoài gồm thân và nắp hộp lắp ráp với nhau theo cơ cấu vặn ren. Hộp giấy được làm kín với vỏ hộp bên ngoài bằng đệm kín (doăng cao su).

- Vật liệu chế tạo:

+ Chụp cao su, đệm kín, các lá van hít vào, thở ra: chế tạo từ cao su chuyên dụng.

+ Quai đeo bán mặt nạ: Dây chun có độ đàn hồi tốt.

+ Hộp lọc, hộp giấy, hộp van thở ra, cụm đế van hít vào, chốt, móc, khoá điều chỉnh chế tạo từ nhựa PE, PP.

+ Thiết kế chế tạo tầng giấy lọc vi sinh vật (phin lọc)

◆ Lựa chọn kết cấu

Về mặt nguyên lý, tầng giấy lọc (phin lọc) trong các loại hộp lọc độc thường được kết cấu theo kiểu “Phát triển” nghĩa là tầng giấy được chế tạo từ một tấm giấy có diện tích hình học dạng phẳng lớn hơn gấp nhiều lần diện tích tiết diện ngang của tầng giấy (tương đương là tiết diện hộp lọc).

Từ trước tới nay trong các loại hộp lọc độc tầng giấy thường có một số kiểu kết cấu sau: kiểu hình sao - kiểu đèn xếp - kiểu đàn phong cầm - kiểu một rẻ quạt - kiểu hai rẻ quạt. Từ kinh nghiệm nghiên cứu trong lĩnh vực này, ở đây đối với hộp lọc vi sinh vật chúng tôi chọn kết cấu tầng giấy định thiết kế theo kiểu một hình rẻ quạt.

Tầng giấy - phin lọc được lắp ráp bên trong hộp giấy. Hộp giấy gồm 2 chi tiết: thân hộp giấy và nắp hộp giấy. Nắp và đáy thân hộp gồm các nan hướng tâm để giảm tối đa trở lực (sức cản hô hấp). Phin lọc được chế tạo sao cho khi đặt vào thân hộp thì 1/3 của múi ngoài cùng khi gập xuống ôm vừa khít toàn bộ thành của thân hộp. Phin lọc được làm kín với thân hộp bằng keo và bằng cách đáy nắp hộp vào thân hộp (đè lên đầu múi giấy ngoài cùng của phin lọc để làm kín). Nắp và thân hộp giấy được cố định chặt với nhau bằng keo dán.

♦ *Thiết kế phin lọc*

Trở lực tổng thể bán mặt nạ - ký hiệu ΔP_{BMN} gồm trở lực của toàn bộ các chi tiết: chụp cao su, van hít vào, hộp lọc ngoài, hộp giấy và phin lọc.

Tổng trở lực của chụp cao su, van hít vào và hộp lọc ngoài được gọi là trở lực kết cấu của bán mặt nạ - ký hiệu ΔP_{KC} . Qua kinh nghiệm nghiên cứu $\Delta P_{KC} \leq 20 \text{ Pa}$.

Do vậy để trở lực bán mặt nạ $\Delta P_{BMN} \leq 60$ thì trở lực hộp giấy chứa phin lọc ΔP_{HG} sẽ là: $\Delta P_{HG} \leq 60 - 20 = 40 \text{ Pa}$

Khi tính tới trở lực kết cấu của hộp giấy thì trở lực phin lọc $\Delta P_{FL} \leq 35 \text{ Pa}$

Từ kết quả bảng 9.1 với giấy lọc FP N^o1 của Nga ta tính được trở lực ≈ 2670 .

Do vậy ta tính được S_{hd} của phin lọc cần thiết kế

$$S_{hd} = K \cdot \frac{L.V}{\Delta P} = 1330 \times \frac{0,15 \cdot 30}{35} \approx 350 \text{ cm}^2$$

Giữa S_{hd} của phin lọc và diện tích hình học S_{hh} của tấm giấy dùng gấp thành phin lọc có quan hệ với nhau theo công thức kinh nghiệm sau:

$$S_{hd} = \alpha \cdot S_{hh}$$

Thông thường $\alpha \approx 0,70$, từ đó ta tính được S_{hh} của phin lọc cần thiết chế tạo:

$$S_{hh} = \frac{S_{hd}}{\alpha} = \frac{350}{0,70} \approx 500 \text{ cm}^2$$

Trên cơ sở thực nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố: chiều cao mũi giấy và số mũi giấy của phin lọc khi ấn định đường kính phin lọc là 80 mm, nhóm đề tài đã chế tạo được phin lọc dùng trong bán mặt nạ lọc vi sinh vật.

Thông số kỹ thuật của phin lọc thiết kế được trình bày trong bảng 3.7.2.

Bảng 3.7.2. Chỉ tiêu kỹ thuật của phin lọc

STT	Chỉ tiêu	Kết quả
1	Đường kính (mm)	80
2	Chiều cao mũi (mm)	19
3	Số mũi giấy	9,5
4	Diện tích cấu tạo (cm ²)	600
5	Sức cản hô hấp (Pa)	≤ 35
6	Hiệu suất lọc sương dầu (%)	$\geq 99,95$

3.7.2.4. Chế tạo mẫu và kiểm tra, đánh giá chất lượng sản phẩm

Đã tiến hành chế tạo 3 loại sản phẩm của đề tài:

- Khẩu trang gấp lọc vi sinh vật M1
- Khẩu trang định hình lọc vi sinh vật M401 - M403 - M405 - M407 - M409
- Bán mặt nạ lọc vi sinh vật RP -1M

Kết quả thử nghiệm đánh giá chỉ tiêu kỹ thuật của các sản phẩm được dẫn trong bảng 3.7.3 và bảng 3.7.4.

Bảng 3.7.3. Kết quả thử đánh giá sản phẩm khẩu trang

Tốc độ hút: 30 lít/phút

Chủng vi khuẩn thử: Tụ cầu vàng, kích cỡ 1µm

Thời gian hút: 10 phút

TT	Tên loại khẩu trang	Số mẫu thử	Nồng độ vi khuẩn trong box sinh học	Số ml vi khuẩn phun vào buồng sinh học	Kết quả thử nghiệm			Ghi chú
					Bình lấy mẫu số 1 (CFU/ml)	Bình lấy mẫu số 2 (CFU/ml)	Tổng số vi khuẩn qua màng (CFU/ 300 lít không khí)	
1	M403	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	Đạt
2	M405	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	Đạt
3	M407	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	Đạt
4	M409	Mẫu 1	$4,5 \times 10^9$	05	119	00	$1,19 \times 10^5$	Không đạt
		Mẫu 2	$4,5 \times 10^9$	05	159	00	$1,59 \times 10^5$	Không đạt
		mẫu 3	$4,5 \times 10^9$	05	161	00	$1,61 \times 10^5$	Không đạt
5	M1	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	Đạt

Nhận xét:

- Mẫu M403; M405; M407 và mẫu M1 giữ được vi khuẩn có kích thước 1µm, lưu lượng 30 lít/phút, thời gian 10 phút.
- Mẫu M409 không đạt yêu cầu, không ngăn được vi khuẩn.

Bảng 3.7.4. Kết quả thử bán mặt nạ RP - 1m

Tốc độ hút: 30 lít/phút Chủng vi khuẩn thử: Tụ cầu vàng, kích cỡ 1µm Thời gian hút: 10 phút

Ngày/Tháng	Số lượng VK đưa vào Box		Kết quả kiểm tra VK trong Box - Phương pháp đĩa thạch				Kết quả cấy VK sau khi hút qua bán mặt nạ, ml/đĩa thạch		Ghi chú
	Số lượng VK/ml	Số ml	Đĩa số 1 (9cm) vk/m ³ kk	Đĩa số 2 (9cm) vk/m ³ kk	Thời gian	Lượng vk trung bình	Bình số 1 (x1000 ml)	Bình số 2 (x 700 ml)	
17/8/2003	1,5x10 ⁸	20	4861650	3210480	15'	4036065	00	00	Kiểm tra khuẩn lạc sau 48 giờ
17/8/2003	00	00	00	00	15'	00	00	00	Kiểm tra khuẩn lạc sau 48 giờ
18/8/2003	1,5x10 ⁸	20	3612200	2796420	15'	3204310	00	00	Kiểm tra khuẩn lạc sau 24 giờ
18/8/2003	1,5x10 ⁸	20	4162310	4015650	15'	4088980	00	00	Kiểm tra khuẩn lạc sau 24 giờ

NHẬN XÉT: Không phát hiện thấy vi khuẩn (S.aureus) qua hộp lọc bán mặt nạ RP - 1M.

Từ kết quả ghi trong bảng 3.7.3 và 3.7.4 nhận thấy khẩu trang M409 sử dụng vật liệu lọc FP N^o 3 không có khả năng lọc vi sinh vật. Các sản phẩm khác của đề tài như khẩu trang gấp M1, khẩu trang định hình M403, M405, M407 và bán mặt nạ RP-1m đều có hiệu suất lọc vi khuẩn đạt 100%.

Ngoài khả năng lọc vi sinh vật đã kiểm tra, đánh giá toàn bộ các chỉ tiêu kỹ thuật khác của khẩu trang và bán mặt nạ như khối lượng, độ giảm trường nhìn, sức cản hô hấp, khả năng lọc sol khí dạng sương dầu tiêu chuẩn. Kết quả cho thấy về cơ bản những chỉ tiêu này đều tương đương với loại khẩu trang N95 của Mỹ hiện đang sử dụng khá phổ biến ở Việt Nam. Các loại khẩu trang gấp và định hình tự chế tạo khá thuận tiện và đơn giản trong sử dụng và bảo quản. Công nghệ sản xuất không phức tạp, giá thành không cao nên thuận lợi khi sản xuất loạt.

3.8. NỘI DUNG 8 - KẾT QUẢ ĐÀO TẠO SAU ĐẠI HỌC, HỢP TÁC KHOA HỌC VÀ CÁC HOẠT ĐỘNG KHÁC CỦA ĐỀ TÀI KC.04.10

Kết quả nghiên cứu của đề tài đã được công bố dưới dạng 32 bài báo và báo cáo khoa học trên các Tạp chí và Hội nghị khoa học chuyên ngành. Theo hướng nghiên cứu của đề tài đã hướng dẫn bảo vệ thành công và đang hướng dẫn thực hiện 01 luận án Tiến sĩ, 03 luận văn Thạc sĩ, 08 luận văn Tốt nghiệp đại học (chỉ tính riêng lĩnh vực công nghệ sinh học).

Đề tài đã tổ chức 1 Hội thảo khoa học với tiêu đề "Phương pháp luận nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại" vào tháng 3/2004 với sự tham gia của nhiều cán bộ khoa học, cán bộ quản lý thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học, môi trường trong và ngoài quân đội.

Theo kế hoạch Hợp tác quốc tế đã được phê duyệt, đề tài đã tổ chức 1 đoàn cán bộ đi khảo sát, thực tập trao đổi kinh nghiệm tại Viện các vấn đề sinh thái và tiêu hoá, Viện sinh học phân tử thuộc Viện hàn lâm khoa học Nga, Trung tâm

khoa học vi sinh ứng dụng Cộng hoà Liên bang Nga về các kỹ thuật phân tích, phát hiện vi sinh vật độc hại và các phương pháp sinh học xử lý môi trường.

Đã đăng ký giới thiệu công nghệ tại Chợ công nghệ Việt Nam 2002 - 2003.

Như vậy so với các chỉ tiêu đã đăng ký trong Thuyết minh đề tài đã hoàn thành tốt kế hoạch đào tạo và hợp tác khoa học.

Dưới đây là danh sách các công trình đã công bố và các luận văn, luận án mà các thành viên đề tài đã hướng dẫn hoặc tham gia hướng dẫn thực hiện trong giai đoạn 2001 - 2004.

3.8.1. DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

- [1]. Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Lê Tú Quỳnh, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Thị Tâm Thư. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân hủy 2,4,6-trinitrotoluen. Tạp chí Sinh học, 2001, số 23(3), tr. 43-45.
- [2]. Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Bình Minh, Nguyễn Thị Tâm Thư. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường đến sự chuyển hoá và phân hủy 2,4,6-trinitrotoluen bằng phương pháp HPLC. Tạp chí Phân tích Hoá-Lý-Sinh, 2003, tr. 17-20.
- [3]. Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Ngọc Khuê, Lê Thị Đức, Đỗ Bình Minh, Nguyễn Quang Toại. Ứng dụng các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại trong quan trắc môi trường quân sự và trong công nghệ xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 4-2003, tr. 391-395.
- [4]. Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Nhung, Bùi Thu Hà. Nghiên cứu xử lý nước thải chứa nitroglyxerin (NG) từ quá trình sản xuất thuốc phóng 2 gốc bằng công nghệ vi sinh. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 193-199.
- [5]. Lê Thị Đức, Phạm Sơn Dương, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Thị Tâm Thư, Tô Văn Thiệp. Nghiên cứu xử lý nước thải nhiễm dầu mỡ bảo quản vũ khí bằng phương

- pháp vi sinh. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 188-192.
- [6]. Đỗ Ngọc Lanh, Nguyễn Thu Hoài, Vũ Hoàng Giang, Nguyễn Quốc Khánh. Nghiên cứu và ứng dụng phương pháp sinh học trong xử lý nước thải chứa hàm lượng dầu và hợp chất hữu cơ cao trong ngành Hậu cần quân đội. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 183-187.
- [7]. Đỗ Ngọc Khuê. Hiện trạng và một số ý kiến về định hướng phát triển công nghệ xử lý các chất thải độc hại đặc thù quốc phòng. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 35-39.
- [8]. Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Thị Nhung, Trịnh Khắc Sáng, Nguyễn Xuân Trường. Ứng dụng phương pháp sắc ký - khối phổ để nghiên cứu quá trình phân hủy vi sinh 2,4,6-trinitrotoluen. Bài gửi đăng Tạp chí Phân tích Hoá-Lý-Sinh, 8-2004.
- [9]. Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Nguyễn Lê Tú Quỳnh, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Thị Tâm Thư. Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật để xử lý nước thải chứa TNT trong quá trình sản xuất thuốc nổ. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 4-2003, tr. 414-418.
- [10]. Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê. Nghiên cứu sử dụng vi sinh vật để xử lý nước thải chứa các chất độc hại là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc, 2003, NXB Khoa học kỹ thuật, tr. 61-65.
- [11]. Bùi Quang Vinh, Trần Minh Chí. Nghiên cứu xử lý TNT trong nước thải công nghiệp bằng công nghệ sinh học kết hợp UASB và FBR. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc, 2003, NXB Khoa học kỹ thuật, tr. 283-286.
- [12]. Lê Thị Đức, Nguyễn Văn Đạt, Nguyễn Thị Tâm Thư. Nghiên cứu khả năng phân hủy dinitrotoluen (DNT) của chủng SH13, vi khuẩn

- Pseudomonas sp.* . Tạp chí Nghiên cứu KHKT-CNQS, 12-2003, №5, tr. 88-90.
- [13]. Đỗ Thị Huyền, Dương Cẩm Thuý, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Trương Nam Hải. Phát hiện nhanh *Salmonella typhi* bằng phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR) dựa trên cặp mồi đặc hiệu cho gen VIPR mã hoá kháng nguyên vi ở vỏ vi khuẩn. Báo cáo Hội nghị khoa học Hoá sinh y dược năm 2002, Đồ Sơn - Hải Phòng, 8 - 2002, tr. 133-140.
- [14]. Trần Ngọc Tân, Đỗ Thị Huyền, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Trương Nam Hải. Nghiên cứu bộ KIT phát hiện nhanh vi khuẩn thương hàn dựa trên phương pháp PCR. Báo cáo Hội nghị khoa học Hoá sinh y dược năm 2004, Hà Nội, 8 - 2004, tr. 78-84.
- [15]. Trần Ngọc Tân, Đỗ Thị Huyền, Trương Nam Hải. Nghiên cứu tạo Kit phát hiện nhanh vi khuẩn thương hàn. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 340-345.
- [16]. Nguyễn Minh Anh, Nguyễn Ngọc Dũng, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Đỗ Ngọc Khuê. Sử dụng kỹ thuật phản ứng nhân bản phân đoạn ORF-3 của Locus SPA trong xác định *Shigella spp.*. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 346-352.
- [17]. Lê Thanh Hoà, Nguyễn Thị Bích Nga, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Đỗ Ngọc Khuê. Xây dựng phương pháp chẩn đoán nhanh vi khuẩn dịch hạch (*Yersinia pestis*) từ mẫu đất và nước nhiễm khuẩn. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 353-358.
- [18]. Nguyễn Minh Anh, Nguyễn Ngọc Dũng, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Đỗ Ngọc Khuê. Nghiên cứu xác định vi khuẩn *Shigella* bằng kỹ thuật gen. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc, 2003, NXB Khoa học kỹ thuật, tr. 16-17.

- [19]. Ngô Đình Bính, Nguyễn Thị Ánh Nguyệt, Nguyễn Quang Huy, Nguyễn Quỳnh Châu, Nguyễn Xuân Cảnh, Phạm Minh Hương, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Hoàng Đạo Phấn, Đỗ Ngọc Khuê. Phát hiện vi khuẩn gây bệnh than *Bacillus anthracis* bằng phương pháp sinh học phân tử. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc, 2003, NXB Khoa học kỹ thuật, tr. 150-154.
- [20]. Lê Thanh Hoà. Giám định phân tử vi khuẩn gây bệnh dịch hạch *Yersinia pestis* (Lenmann and newmann 1896) phân lập tại Việt Nam sử dụng gen PLA của Plasmid pPCP1. Tạp chí Y học Việt Nam, 4-2003, T.283, N^o4, tr. 1-11.
- [21]. Lê Thanh Hoà. Các loại Plasmid của vi khuẩn dịch hạch *Yersinia pestis* và ứng dụng chẩn đoán phân tử tại Việt Nam. Báo cáo khoa học Hội nghị sinh học phân tử và hoá sinh toàn quốc Hà Nội, 10- 2003, NXB Nông nghiệp, tr. 69-78.
- [22]. Hà Thị Quyến, Dương Hồng Quân, Lê Thị Tâm, Bạch Như Quỳnh, Phùng Đắc Cam, Đinh Duy Kháng. Tách dòng gen mã hoá hemolysin (HLY) của *Vibrio cholerae* phân lập ở Việt Nam. Di truyền học và ứng dụng, 2002, tr. 36-39.
- [23]. Dương Hồng Quân, Hà Thị Quyến, Lê Thị Tâm, Bạch Như Quỳnh, Đồng Văn Quyến, Phùng Đắc Cam, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Đỗ Ngọc Khuê, Đinh Duy Kháng. Tách dòng gen mã hoá độc tố (TOXAB) của *Vibrio cholerae* phân lập ở Việt Nam. Báo cáo Hội nghị khoa học Hoá sinh y dược năm 2002, Đồ Sơn - Hải Phòng, 8 - 2002, tr. 54-59.
- [24]. Hà Thị Quyến, Dương Hồng Quân, Nguyễn Thị Ngọc Diệp, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Đỗ Ngọc Khuê, Phùng Đắc Cam, Đinh Duy Kháng. Nghiên cứu gen mã hoá Malae dehydrogenaza của *Vibrio cholerae* Inaba phân lập ở Việt Nam. Báo cáo Hội nghị khoa học Hoá sinh y dược năm 2002, Đồ Sơn - Hải Phòng, 8 - 2002.
- [25]. Hà Thị Quyến, Dương Hồng Quân, Nguyễn Thị Ngọc Dao, Đỗ Ngọc Khuê, Phùng Đắc Cam, Đinh Duy Kháng. Nghiên cứu chế tạo bộ sinh

phẩm phát hiện nhanh vi khuẩn tả (*Vibrio cholerae*) trong nước và không khí. Báo cáo Hội nghị khoa học Hoá sinh y dược năm 2002, Đồ Sơn - Hải Phòng, 8 - 2002.

- [26]. Đoàn Trọng Tuyên, Võ Chiến Thắng và cộng sự. Bất hoạt bào tử trực khuẩn than. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 359-366.
- [27]. Nguyễn Hùng Phong, Đỗ Ngọc Khuê, Hoàng Ngọc Sơn, Nguyễn Đình Hoà, Lê Xuân Thảo. Nghiên cứu chế tạo phương tiện cá nhân bảo vệ cơ quan hô hấp phòng chống các vi sinh vật độc hại. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 367-371.
- [28]. Đinh Ngọc Tấn, Đỗ Ngọc Khuê. Nghiên cứu thiết kế chế tạo thiết bị phát hiện vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí theo mẫu của Nga. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 372-377.
- [29]. Lê Khắc Đức, Vũ Chiến Thắng, Lê Đức Thọ. Ảnh hưởng của một số yếu tố hoá, sinh học có nguy cơ cao tới môi trường và sức khoẻ cộng đồng. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 326-332.
- [30]. Trần Minh Chí, Lê Quang Hân, Thân Minh Hải. Xử lý nước thải dệt nhuộm ở quy mô công nghiệp. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 213-216.
- [31]. Nguyễn Văn Đạt, Lê Thị Đức, Trần Thị Thu Hương, Tô Văn Thiệp, Đỗ Bình Minh. Nghiên cứu phân hủy sinh học dầu trong nước thải bằng phương pháp trọng lượng và sắc ký khí. Tạp chí Hoá học, 2002, T.40, số đặc biệt, tr. 153-157.
- [32]. Nguyễn Văn Đạt, Lê Thị Đức, Đỗ Bình Minh. Ứng dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp trong quá trình nghiên cứu và xử lý chất thải quốc phòng

đặc chủng bằng công nghệ sinh học. Tạp chí Nghiên cứu KHKT-CNQS, 2002, N^o1, tr. 96-102.

3.8.2. DANH SÁCH CÁC LUẬN VĂN, LUẬN ÁN DO CÁC THÀNH VIÊN ĐỀ TÀI KC.04.10 HƯỚNG DẪN HOẶC THAM GIA HƯỚNG DẪN THỰC HIỆN (CHỈ TRÍCH RIÊNG LĨNH VỰC SINH HỌC)

- 1) Nguyễn Thị Nhung. "Nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi sinh vật phân hủy axit styphnic và ứng dụng chúng trong xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gọi nổ". Luận văn Thạc sĩ; Chuyên ngành : Vi sinh vật; Mã số: 1.05.12, 2004. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Người hướng dẫn: PGS.TS Tống Kim Thuần, Th.S Lê Thị Đức.
- 2) Nguyễn Thị Tâm Thư. "Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và khả năng phân hủy DNT của một số chủng vi sinh vật phân lập từ đất ô nhiễm". Luận văn Thạc sĩ khoa học; Chuyên ngành: Vi sinh học, 2003. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: GS.TS Nguyễn Đình Quyền.
- 3) Bùi Thị Thanh Vân. "Phân lập và tuyển chọn vi sinh vật có khả năng phân hủy nitroglycerin trong đất, nước nhiễm thuốc nổ". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Vi sinh vật học, 2003. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: GS.TS Nguyễn Lâm Dũng, Th.S Lê Thị Đức.
- 4) Hà Thị Quyến. "Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong việc định typ vi khuẩn thuộc chi *Vibrio* phân lập ở Việt Nam". Luận văn Thạc sĩ; Chuyên ngành: Vi sinh học, từ 2002. Viện CNSH, Trung tâm KHTN-CNQG. Người hướng dẫn: TS Đinh Duy Kháng, Th.S Lê Thị Đức.
- 5) Phạm Bằng Phương. "Định loại vi khuẩn *Vibrio Cholerae* bằng phương pháp PCR và Wertz Blot". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Hoá sinh, 2002. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: PGS.TS Đỗ Ngọc Liên, TS Đinh Duy Kháng.
- 6) Trịnh Quý Bôn. "Tách dòng gen mã hoá độc tố enterotoxin của *Vibrio Cholerae* tác nhân gây bệnh tả ở người". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Di truyền học, 2002. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: PGS.TS Nguyễn Thanh Hiền, TS Đinh Duy Kháng.

- 7) Đặng Thành Nam. "Tách dòng gen mã hoá Enzym hemolysin từ *Vibrio Cholerae* el Tor". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Lý sinh, 2002. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: PGS.TS Nguyễn Thị Kim Ngân, TS Đinh Duy Kháng.
- 8) Nguyễn Thị Ngọc Diệp. "Tách dòng và xác định trình tự gen mã hoá Malate dehydrogenase từ chủng vi khuẩn *Vibrio Cholerae* serotype inaba và ogawa phân lập ở Việt Nam". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Công nghệ sinh học, 2003. Đại học Bách khoa Hà Nội. Người hướng dẫn: TS Đinh Duy Kháng, TS Nguyễn Liên Ba.
- 9) Nguyễn Tiến Minh. "Tách dòng đoạn ADN đặc hiệu thuộc gen 16S Riboxone của *Vibrio Cholerae* serotype inaba và ogawa". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Vi sinh học, 2003. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: TS Lê Thanh Hoà.
- 10) Trần Kiến Quốc. "Giám định phân tử các tác nhân vi sinh vật gây bệnh nguy hiểm ở người Việt Nam". Luận văn Thạc sĩ; Chuyên ngành: Vi sinh học, 2003. Đại học KHTN, Đại học QGHN. Người hướng dẫn: TS Lê Thanh Hoà.
- 11) Nguyễn Quang Huy. "Sử dụng phương pháp sinh học phân tử để phát hiện vi khuẩn gây bệnh than *Bacillus Anthracis*". Khoá luận Tốt nghiệp đại học; Chuyên ngành: Công nghệ sinh học, 2002. Viện Đại học Mở Hà Nội. Người hướng dẫn: PGS.TS Ngô Đình Bính.

CHƯƠNG 4. TỔNG HỢP, ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ KẾT LUẬN

4.1. VỀ CÁC KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HOÁ LÝ HIỆN ĐẠI ĐỂ PHÂN TÍCH VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

Thành công có tính nổi bật của đề tài trong nội dung nghiên cứu này là đã chứng minh được ưu thế của các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại như HPLC, GC, GC-MS, UV-Vis so với các phương pháp phân tích hoá học truyền thống trong việc phân tích, đánh giá hiệu quả các giải pháp công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng. Chỉ trên cơ sở áp dụng kỹ thuật GC-MS mới có thể định danh chính xác các sản phẩm (đặc biệt là các sản phẩm trung gian) của quá trình phân hủy TNT, DNT, v.v... và chính vì vậy mới cho phép đánh giá đúng hiệu quả khử độc của giải pháp xử lý.

Đề tài đã xây dựng được các quy trình phân tích sắc ký có tính khả thi và đã áp dụng rất hiệu quả để phục vụ việc nghiên cứu công nghệ xử lý tất cả các chất thải quốc phòng đặc chủng là đối tượng nghiên cứu của đề tài. Đối chiếu với Thuyết minh đề tài chúng tôi nhận thấy đã hoàn thành tốt nội dung nghiên cứu này.

Hạn chế chính trong các kết quả nghiên cứu nội dung này là chưa đi sâu phân tích được các sản phẩm quá trình phân hủy kỵ khí hoặc kỵ khí kết hợp hiếu khí để làm rõ được tính triệt để của giải pháp này trong xử lý nước thải chứa TNT, DNT.

4.2. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ XỬ LÝ CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

Thành công nổi bật của đề tài trong nội dung nghiên cứu này là lần đầu tiên ở trong nước đã tiến hành nghiên cứu 1 cách tổng thể về các quy trình công nghệ sinh học (chủ yếu là vi sinh) xử lý các chất thải đặc thù quốc phòng là thành phần thuốc nổ, thuốc gọt nổ, thuốc phóng keo, thuốc nhuộm vũ khí, nhiên liệu tên lửa

lông. Đã nghiên cứu phân lập, tuyển chọn, định tên được nhiều chủng vi sinh bản địa có hiệu lực phân hủy cao các chất thải quốc phòng đặc chủng, chế tạo được 5 chế phẩm vi sinh có hàm lượng vi sinh vật đạt 10^9 - 10^{10} tb/mg/l có hiệu lực phân hủy chất thải quốc phòng đặc chủng đạt hiệu suất >75% sau thời gian ngắn, xây dựng được 10 quy trình xử lý sinh học có tính khả thi đối với nguồn nước thải có lưu lượng nhỏ và vừa và nồng độ chất ô nhiễm không cao (<30mg/l) ở các cơ sở ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần quân đội, hiệu quả xử lý giảm >90% nồng độ chất độc hại. Việc sử dụng các chế phẩm vi sinh, sản phẩm của đề tài, chủng vi sinh đã phân lập tuyển chọn vào các dây chuyền công nghệ xử lý chất thải hiện hành ở các cơ sở quốc phòng đã cho phép tiết kiệm được chi phí và nâng cao hiệu quả xử lý.

Hạn chế chính của các kết quả nghiên cứu ở đây là các chế phẩm vi sinh hiếu khí đã chế tạo tuy có hiệu lực chuyển hoá cao đối với các chất ô nhiễm là thành phần thuốc nổ (như TNT, DNT) nhưng việc phân hủy triệt để chúng đến các sản phẩm không độc với môi trường còn gặp khó khăn. Thực tiễn cho thấy phải áp dụng giải pháp sinh học kết hợp (kỵ khí và hiếu khí) mới có khả năng đạt được mục tiêu này. Tuy nhiên do thời gian cần thiết để thực hiện quy trình là khá dài (7 - 8 ngày hoặc hơn) nên để áp dụng cho các nguồn nước thải có lưu lượng lớn cần phải có đầu tư và mặt bằng xử lý lớn. Các kết quả nghiên cứu về công nghệ xử lý nước thải bị ô nhiễm dầu, nước thải có hàm lượng BOD cao, nước thải dệt nhuộm chưa được đánh giá thật đầy đủ về những điều mới mẻ, đột phá và tính hiệu quả so với các phương pháp xử lý khác.

Đối chiếu với Thuyết minh đề tài chúng tôi nhận thấy mặc dù còn một số hạn chế nhưng đã thực hiện đầy đủ các chỉ tiêu và sản phẩm nghiên cứu đã đăng ký. Phần lớn các kết quả của nội dung nghiên cứu này có tính mới mẻ và sáng tạo.

4.3. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU, THIẾT KẾ, CHẾ TẠO CÁC PILOT XỬ LÝ CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG

Kết quả nghiên cứu của đề tài trong nội dung nghiên cứu này là đã thiết kế, chế tạo được 1 pilot xử lý sinh học dạng modul công suất 30l/ngày. Pilot này đã được sử dụng rất hiệu quả như mô hình để áp dụng trong thực tiễn các nhà máy

quốc phòng và để thử nghiệm tất cả các quy trình công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng đã được xây dựng. Đã thiết kế, chế tạo lắp đặt 1 pilot xử lý nước thải có hàm lượng BOD cao công suất 3 - 7 m³/ngày tại Xí nghiệp 22 - Tổng cục Hậu cần, 1 pilot xử lý nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng công suất 5 - 7 m³/ngày tại K680-Cục quân khí. Các pilot trên đều hoạt động ổn định và đã góp phần hạn chế, khắc phục ô nhiễm môi trường ở các cơ sở quốc phòng.

Đối chiếu với Thuyết minh đề tài chúng tôi nhận thấy đã thực hiện đầy đủ các chỉ tiêu sản phẩm đã đăng ký. Hạn chế có thể thấy ở đây là các pilot này mới chỉ mang tính thử nghiệm và quy mô còn nhỏ, chưa được đánh giá đầy đủ về hiệu quả kinh tế. Tuy nhiên các pilot đã chế tạo và triển khai vẫn có thể coi là những mô hình dây chuyền công nghệ xử lý chất thải có thể tham khảo, học tập và áp dụng cho các cơ sở sản xuất quốc phòng vừa và nhỏ trong điều kiện chỉ có nguồn kinh phí đầu tư hạn chế.

4.4. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO KIT PHÁT HIỆN CHÍNH XÁC VI SINH VẬT ĐỘC HẠI GÂY Ô NHIỄM MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ VÀ NƯỚC

Kết quả của đề tài trong nội dung nghiên cứu này là lần đầu tiên ở Việt Nam đã nghiên cứu chế tạo được 5 bộ Kit (mỗi bộ 2 loại) dùng để phát hiện vi khuẩn than, dịch hạch, tả, lỵ, thương hàn trong không khí và nước với độ nhạy cao. Về giải pháp khoa học đề tài đã biết vận dụng các phương pháp sinh học phân tử hiện đại (như PCR) làm nền tảng kết hợp với các phương pháp truyền thống để bổ trợ và đạt được hiệu quả cao nhất. Về phương pháp nghiên cứu sáng tạo của đề tài là đã chọn được phương pháp an toàn (ADN) để nghiên cứu trên những đối tượng vi sinh vật rất nguy hiểm. Đề tài đã dựa chủ yếu vào phương pháp PCR, một phương pháp hiện đại có độ tin cậy cao và được sử dụng rộng rãi, hiệu quả trên nhiều lĩnh vực. Phương pháp này cũng được các nước tiên tiến như Mỹ, Anh, Pháp sử dụng để phát hiện vi khuẩn gây bệnh (than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch). Đây là lần đầu tiên phương pháp này được sử dụng ở Việt Nam. Các Kit đã chế tạo có độ chính xác và độ nhạy cao, tương đương với các Kit trên thế giới. Kết quả của đề tài mở ra triển vọng có thể chế tạo ở điều kiện trong nước các loại Kit dùng cho PCR để phát hiện các loại vi khuẩn độc hại khác. Đặc biệt khi kết hợp với việc sử

dụng thiết bị kiểu ACP của Nga có thể tạo được phương pháp mới rất hiệu quả dùng để phát hiện nhanh các tác nhân sinh học phục vụ công tác phòng chống chiến tranh và sự cố sinh học.

Như vậy so với Thuyết minh đề tài các chỉ tiêu về số lượng, chất lượng sản phẩm của nội dung nghiên cứu này đều đạt ở mức rất tốt.

Hạn chế của kết quả nghiên cứu ở đây là còn thiếu các sự kiểm chứng của cơ quan có trách nhiệm trong lĩnh vực này.

4.5. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO THIẾT BỊ PHÁT HIỆN VI SINH VẬT ĐỘC HẠI THEO MẪU MÁU ACP CỦA NGA

Kết quả đáng chú ý nhất của đề tài ở nội dung nghiên cứu này là lần đầu tiên ở trong nước đã tổ chức việc nghiên cứu khảo sát, lập được phương án thiết kế và chế tạo được thiết bị phát hiện tác nhân sinh học trong môi trường không khí có tính năng cơ bản tương đương thiết bị ACP của Nga. Ngoài ra đề tài còn nghiên cứu chế tạo được 2 bộ thuốc thử có thể thay thế được các bộ thuốc thử sử dụng cho máy phát hiện tác nhân sinh học ACP của Nga.

Như vậy so với Thuyết minh đề tài các chỉ tiêu về số lượng, chất lượng sản phẩm trong nội dung nghiên cứu này đề tài đều đã đạt được.

Hạn chế của các kết quả nghiên cứu ở đây là do kinh phí hạn chế nên thiết bị mới được chế tạo ở dạng đơn chiếc nên chưa đánh giá được tính ổn định và một số chỉ tiêu khác về thiết bị. Cũng như thiết bị đồng loại của Nga, thiết bị do đề tài chế tạo chưa có khả năng nhận diện được riêng biệt các loại vi sinh vật độc hại. Tuy nhiên nếu kết hợp khả năng lấy mẫu của thiết bị này với kỹ thuật PCR sử dụng các Kit đã nêu trên thì có thể tạo ra 1 phương pháp mới rất hiệu quả dùng để phát hiện nhanh và chính xác các tác nhân sinh học trong môi trường không khí. Kết quả đề tài đồng thời cũng đã mở ra triển vọng, nếu được tập trung đầu tư, chúng ta có thể chủ động nghiên cứu tự chế tạo được ở điều kiện trong nước các thiết bị dùng để phát hiện các tác nhân sinh học.

4.6. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH KHỬ TRÙNG, TẮY UẾ MÔI TRƯỜNG BỊ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

Kết quả chính của đề tài trong nội dung nghiên cứu này là đã xây dựng được các mô hình thử nghiệm khử trùng, tẩy uế vi sinh vật độc hại phù hợp với điều kiện trang thiết bị của quân đội ta hiện nay. Đã xây dựng được 04 quy trình xử lý sự ô nhiễm môi trường nước, không khí, đất và thực phẩm bởi 5 loại vi sinh vật độc hại (trực khuẩn than, phẩy khuẩn tả, vi khuẩn thương hàn, dịch hạch, lỵ) bằng phương pháp hoá học và vật lý. Các quy trình trên đều dễ thực hiện trong điều kiện tác chiến cơ động và phù hợp với điều kiện trang thiết bị, vật tư, hoá chất hiện có trong quân đội ta và trên thị trường Việt Nam. Đây là một trong những công trình đầu tiên ở trong nước nghiên cứu một cách tổng thể về quy trình khử trùng 5 loại vi sinh vật độc hại kể trên (đặc biệt là vi khuẩn than) trong môi trường không khí, đất, nước và thực phẩm.

Đề tài đã hoàn thành tất cả các chỉ tiêu về số lượng và chất lượng sản phẩm đã đăng ký trong Thuyết minh đề tài.

Hạn chế của các giải pháp xử lý đã đề xuất ở đây là để rút ngắn thời gian khử trùng đã sử dụng các hoá chất với nồng độ cao và một số có độc tính cao (như formaldehyt), do đó có nguy cơ tác động xấu đến môi trường và sức khoẻ cộng đồng, dân cư trong khu vực xử lý ô nhiễm. Ngoài ra hầu hết các phương án đề xuất đều mới được thử nghiệm trên mô hình phòng thí nghiệm do không được phép thử nghiệm ngoài hiện trường.

Do vậy các quy trình xử lý đã thiết lập có thể giới hạn là những quy trình thích hợp cho mục tiêu xử lý cục bộ môi trường bị ô nhiễm vi sinh vật độc hại.

4.7. VỀ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHẾ TẠO PHƯƠNG TIỆN BẢO VỆ CÁ NHÂN PHÒNG CHỐNG TÁC ĐỘNG VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

Kết quả chính của đề tài trong nội dung nghiên cứu này là trên cơ sở tạo được mô hình thử nghiệm lọc vi sinh vật thích hợp, đã nghiên cứu chế tạo được 3 loại phương tiện bảo vệ cá nhân chống tác động của vi sinh vật độc hại theo đường hô hấp, gồm 10 bộ khẩu trang gấp, khẩu trang định hình và bán mặt nạ kiểu lọc. Các phương tiện này có ưu điểm là có khả năng lọc được các vi sinh vật

độc hại và có thể sản xuất để trang bị đại trà cho bộ đội và nhân dân trong trường hợp có dịch bệnh hoặc sự cố sinh học.

Các sản phẩm có các chỉ tiêu chất lượng về cơ bản đạt theo tiêu chuẩn quốc tế quy định. Các chỉ tiêu sinh lý và bảo vệ của khẩu trang có thể so sánh với khẩu trang cùng loại của nước ngoài như loại N95 của Mỹ. Các bán mặt nạ có các chỉ tiêu chất lượng đạt cấp bảo vệ cao nhất (cấp 3) theo Tiêu chuẩn bán mặt nạ lọc hạt AS/NZS 1718 - 1994.

Hạn chế ở đây là sức cản hô hấp của khẩu trang tự chế tạo còn cao hơn so với loại N95 của Mỹ. Để khắc phục được điều này cần có loại vật liệu lọc tương đương loại vật liệu lọc trong khẩu trang N95.

4.8. VỀ KẾT QUẢ ĐÀO TẠO SAU ĐẠI HỌC, HỢP TÁC KHOA HỌC VÀ CÁC HOẠT ĐỘNG KHÁC

Đề tài đã vượt mức chỉ tiêu đề ra cho các nội dung đã đăng ký về đào tạo sau đại học, hợp tác khoa học và một số hoạt động khác. Đặc biệt là theo hướng của đề tài đã và đang thực hiện được nhiều luận văn Tốt nghiệp đại học, cao học và Luận án tiến sĩ. Đặc biệt là đã công bố được nhiều bài báo, báo cáo khoa học trên các Tạp chí và Hội nghị khoa học chuyên ngành (so với số lượng đăng ký vượt 4 lần).

Hạn chế ở đây là chưa công trình nào được công bố trên Tạp chí hoặc Hội nghị khoa học ở nước ngoài, điều này có lý do khách quan là do hầu hết các nội dung nghiên cứu đều có liên quan đến những vấn đề nhạy cảm.

4.9. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Sau 3 năm thực hiện đề tài KC.04.10 đã đạt được một số kết quả chính sau:

- ❶ Đã khảo sát đánh giá hiện trạng phát thải và công nghệ xử lý các chất thải độc hại đặc thù quốc phòng tại các cơ sở sản xuất quốc phòng trọng điểm của ngành CNQP, Kỹ thuật và Hậu cần, trên cơ sở đó làm rõ sự cần thiết của việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong xử lý sự ô nhiễm môi trường tại các cơ sở quốc phòng.
- ❷ Đã nghiên cứu xây dựng được các quy trình phân tích, xác định nhanh, nhạy và chính xác các chất thải quốc phòng đặc chủng và sản phẩm quá

trình sinh phân hủy chúng bằng các phương pháp hoá lý hiện đại như sắc ký lỏng cao áp, sắc ký khí, sắc ký khí - khối phổ... Đã chứng minh rằng đây là những phương pháp chính cần sử dụng trong nghiên cứu, xây dựng và đánh giá hiệu quả các giải pháp công nghệ sinh học trong xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng.

- ③ Lần đầu tiên ở điều kiện trong nước đã phân lập tuyển chọn được từ các mẫu đất, nước bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ... nhiều chủng vi sinh vật bản địa có hiệu lực phân hủy cao các chất thải quốc phòng đặc chủng là thành phần thuốc nổ, thuốc gỏi nổ, thuốc phóng như 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), 2,4-dinitrotoluen (DNT), nitroglycerin (NG), nitrocellulose (NC), 2,4,6-trinitroresorcinol (TNR), chế tạo và áp dụng thử nghiệm được 05 chế phẩm vi sinh có hiệu lực phân hủy đạt trên 75% trong thời gian ngắn với các chất thải trên.
- ④ Đã nghiên cứu xây dựng được 10 quy trình công nghệ sinh học (hiếu khí, kỵ khí hoặc kết hợp) hiệu quả và khả thi dùng để xử lý các loại nước thải nguy hiểm nhất, đó là nước thải nhiễm TNT, DNT, NG, NC, TNR,... của ngành CNQP; nước thải nhuộm đen vũ khí, nước thải chứa chất O, Γ, nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng của ngành Kỹ thuật; nước thải có hàm lượng hữu cơ (BOD) cao và nước thải dệt nhuộm của ngành Hậu cần quân đội. Trong đó các kết quả nghiên cứu về quy trình xử lý sinh học nước thải chứa TNT, DNT, TNR, NG, NC, thuốc nhuộm đen có nhiều tính khoa học, mới mẻ và sáng tạo. Công nghệ đã thiết lập có thể thay thế cho công nghệ nhập ngoại.
- ⑤ Kết quả nghiên cứu, thử nghiệm cho thấy để xử lý khử độc triệt để các nguồn nước thải bị ô nhiễm các hoá chất có độ bền hoá học, sinh học cao như thuốc nổ TNT, DNT, TNR, các loại thuốc nhuộm, v.v... thì cần thiết phải áp dụng giải pháp vi sinh kết hợp (hiếu khí với kỵ khí). Việc bổ sung công đoạn xử lý kỵ khí sẽ tạo điều kiện khoáng hoá tốt hơn các chất ô nhiễm hữu cơ kể trên nhưng sẽ làm cho thời gian xử lý tăng lên. Chính vì vậy quy trình công nghệ sinh học kết hợp đã thiết lập sẽ rất thích hợp để

áp dụng cho việc xử lý các nguồn nước thải có lưu lượng nhỏ và vừa với nồng độ chất ô nhiễm không cao.

- ⑥ Đã thiết kế, chế tạo, lắp đặt được 1 pilot dạng hợp khối công suất 30l/ngày có thể sử dụng như mô hình áp dụng trong thực tiễn các nhà máy quốc phòng và để thử nghiệm các quy trình công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng. Xây dựng 2 pilot xử lý nước thải nhiễm dầu mỡ đặc chủng và có hàm lượng hữu cơ cao bằng công nghệ sinh học công suất 5 - 7 m³/ngày tại 2 cơ sở thuộc ngành Kỹ thuật và Hậu cần quân đội. Đây là những dây chuyền công nghệ sinh học xử lý chất thải đầu tiên được triển khai ở các nhà máy quốc phòng.
- ⑦ Lần đầu tiên ở trong nước đã nghiên cứu chế tạo được 5 bộ kit phân tử (Kit) có độ nhạy, chính xác cao tương đương với các kit trên thế giới và thiết lập được 5 quy trình sử dụng Kit để phát hiện chính xác sự ô nhiễm môi trường khí, nước bởi 5 loại vi khuẩn độc hại (than, tả, lỵ, thương hàn, dịch hạch) bằng kỹ thuật PCR. Các bộ Kit có thể phát hiện được vi khuẩn với lượng ADN của chúng là 0,07 - 1700pg, ngưỡng phát hiện là 10 - 10⁵ tế bào, thời gian xác định mẫu là 6 - 8 giờ. Với việc trang bị máy PCR thế hệ mới có thể rút ngắn hơn nữa thời gian xét nghiệm. Kết quả này đã mở ra triển vọng có thể chế tạo được nhiều loại Kit phân tử mới để phát hiện nhanh, chính xác các vi sinh vật độc hại, các tác nhân sinh học khác bằng kỹ thuật PCR.
- ⑧ Đã nghiên cứu chế tạo được bộ thuốc thử có thể thay thế cho thuốc thử dùng để phát hiện vi sinh vật độc hại bằng thiết bị ACP (Nga). Thiết kế, chế tạo được thiết bị phát hiện nhanh sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại trong môi trường không khí có tính năng tương đương thiết bị ACP của Nga. Kết quả này đã tạo cơ sở bước đầu để thiết lập công nghệ chế tạo các thiết bị trình sát tác nhân sinh học ở điều kiện trong nước.
- ⑨ Đã nghiên cứu xây dựng được các mô hình đủ điều kiện để thử nghiệm gây nhiễm vi sinh vật và thiết lập được 4 quy trình khử trùng, tẩy uế môi trường đất, nước, không khí, thực phẩm bị nhiễm các vi sinh vật độc hại

(than, tả, ly, thương hàn, dịch hạch) phù hợp với điều kiện thực tiễn của quân đội và Nhà nước, trên cơ sở sử dụng các hoá chất, vật liệu thông dụng, phổ biến. Đã đánh giá tác động của việc xử lý khử trùng bằng hoá chất tới môi trường và sức khoẻ cộng đồng.

- ⑩ Đã nghiên cứu thiết kế chế tạo được 10 bộ phương tiện bảo vệ cá nhân chống tác động của vi sinh vật độc hại dưới dạng khẩu trang và bán mặt nạ phòng hô hấp có các chỉ tiêu kỹ thuật cơ bản tương đương với loại của nước ngoài, có khả năng lọc được vi sinh vật độc hại. Công nghệ sản xuất các phương tiện không phức tạp, giá thành sản phẩm không cao do đó có thể áp dụng để sản xuất trang bị đại trà cho dân chúng và bộ đội phòng sự cố sinh học.
- ⑪ Kết quả của đề tài đã được công bố trong 32 bài báo, báo cáo khoa học trên các Tạp chí, Hội nghị khoa học chuyên ngành. Theo hướng nghiên cứu của đề tài đã thực hiện được 01 luận án Tiến sĩ, 03 luận văn Thạc sĩ, 08 luận văn Tốt nghiệp đại học. Đã tổ chức 1 Hội thảo khoa học, 1 đoàn đi tham quan học tập tại Viện hàn lâm khoa học CHLB Nga.

Trên cơ sở các kết quả đã thu được chúng tôi xin đề xuất với Ban chủ nhiệm chương trình, Bộ KH-CN-MT và Bộ quốc phòng một số kiến nghị sau.

- ① Cho phép triển khai áp dụng thử các kết quả nghiên cứu của đề tài về các chế phẩm sinh học, các quy trình công nghệ sinh học xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng như nước thải chứa thành phần thuốc nổ, thuốc phóng, thuốc gọt nổ... để nâng cao hiệu quả công tác bảo vệ môi trường tại các cơ sở sản xuất quốc phòng và kinh tế. Đề nghị cho phép mở hướng nghiên cứu mới về ứng dụng công nghệ sinh học để xử lý, cải tạo môi trường đất bị ô nhiễm các hoá chất độc hại đặc thù quốc phòng.
- ② Tạo điều kiện và đầu tư để cải tạo các hệ thống xử lý môi trường đã xây dựng trước đây ở các cơ sở quốc phòng, kinh tế để bổ sung công đoạn xử lý sinh học, hoặc xây dựng các hệ thống xử lý mới quy mô công nghiệp

dựa trên cơ sở các giải pháp công nghệ sinh học đã thiết lập để nâng cao hiệu quả và giảm giá thành xử lý.

- ③ Tiếp tục đầu tư để hoàn thiện công nghệ và chế tạo các bộ sinh phẩm (Kit phân tử) mới dùng để phát hiện nhanh, chính xác các vi sinh vật độc hại hoặc tác nhân sinh học khác (ngoài 5 loại vi sinh vật mà đề tài đã nghiên cứu) bằng kỹ thuật PCR. Nghiên cứu khả năng kết hợp 2 phương pháp: sử dụng Kit PCR và thiết bị phát hiện tác nhân sinh học kiểu ACP để xây dựng 1 phương pháp mới có khả năng phát hiện sớm và chính xác các tác nhân sinh học.
- ④ Tiếp tục đầu tư để hoàn thiện công nghệ chế tạo thiết bị phát hiện nhanh tác nhân sinh học kiểu ACP của Nga cũng như các thiết bị dạng khác.
- ⑤ Tiếp tục đầu tư để hoàn thiện công nghệ chế tạo các phương tiện bảo vệ cá nhân chống tác động của vi sinh vật độc hại và cho phép áp dụng thử các sản phẩm đã chế tạo như khẩu trang và bán mặt nạ phòng độc.



LỜI CẢM ƠN

Phân viện CNM - BVMT thuộc Trung tâm KHKT - CNQS - cơ quan chủ trì thực hiện đề tài KC.04.10 và chủ nhiệm đề tài KC.04.10 xin bày tỏ sự biết ơn chân thành tới lãnh đạo Bộ khoa học và công nghệ, Bộ quốc phòng, lãnh đạo và cán bộ thuộc Vụ quản lý KHCN Nông nghiệp; Vụ Kế hoạch - Tài chính Bộ KH-CN; Cục KHCN-MT Bộ quốc phòng; Thủ trưởng và các cơ quan chức năng Trung tâm KHKT - CNQS; Chủ nhiệm chương trình KC.04; Ban chủ nhiệm chương trình, Văn phòng và Ban Thư ký chương trình đã ủng hộ, quan tâm chỉ đạo và tạo điều kiện thuận lợi để đề tài hoàn thành tốt các mục tiêu, nhiệm vụ đã đề ra.

Cơ quan chủ trì và Chủ nhiệm đề tài KC.04.10 đánh giá cao sự phối hợp có trách nhiệm và hiệu quả của các cán bộ chủ trì và tham gia thực hiện các Đề tài nhánh, các cơ quan chủ trì thực hiện các Đề tài nhánh như Viện Công nghệ sinh học thuộc Viện KHCN Việt Nam, Học viện Quân y, Viện Vệ sinh phòng dịch quân đội, Trung tâm Nhiệt đới Việt Nga, Viện Pháp y quân đội, Phân viện CNM - BVMT, Phân viện Phòng chống vũ khí NBC thuộc Viện Hoá học-Vật liệu, Phân viện Nhiệt đới môi trường quân sự thuộc Trung tâm KHKT - CNQS.

CƠ QUAN CHỦ TRÌ ĐỀ TÀI



Đại tá Phạm Sơn Dương

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI KC.04.10

GS.TSKH Đỗ Ngọc Khuê

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Tư lệnh hoá học. Thuyết minh kỹ thuật và hướng dẫn sử dụng máy phát hiện tác nhân sinh học tự động ACP. 10-2000.
- [2]. Đặng Thị Cẩm Hà và cộng sự. Nghiên cứu làm sạch ô nhiễm dầu mỡ bằng phương pháp phân huỷ sinh học. Đề tài Khoa học cấp Nhà nước KHCN 02-12, 2000.
- [3]. Đinh Ngọc Tấn, Đỗ Ngọc Khuê, Tô Văn Thiệp. Nghiên cứu công nghệ xử lý nước thải chứa TNT và crom ở một số cơ sở sản xuất quốc phòng. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 167-172.
- [4]. Cục Môi trường, Ngân hàng phát triển Châu Á - TW, 2704-VIE. Chiến lược quốc gia về quản lý chất thải nguy hại ở Việt Nam. 1998, EMR.
- [5]. Đỗ Ngọc Khuê và cộng sự. Nghiên cứu công nghệ xử lý các chất thải do hoạt động quân sự sinh ra. Báo cáo kết quả đề tài cấp Bộ quốc phòng, Cục KHCN-MT, 10-2004.
- [6]. Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Bình Minh, Nguyễn Quang Toại. Nghiên cứu cơ sở khoa học của việc ứng dụng phương pháp điện phân để xử lý nước thải công nghiệp thuốc phóng thuốc nổ. Tuyển tập báo cáo khoa học Hội nghị khoa học về môi trường lần 1, Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 5-2004, tr. 177-183.
- [7]. Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Quang Toại, Nguyễn Văn Đạt, Đinh Ngọc Tấn, Tô Văn Thiệp. Hiện trạng công nghệ xử lý một số chất thải độc hại đặc thù của sản xuất quốc phòng. Thông tin khoa học quân sự, 2001, số 5, tr. 83-87.
- [8]. Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Lê Tú Quỳnh, Trần Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Thị Tâm Thư. Phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ 2,4,6 Trinitrotoluen. Tạp chí sinh học, 2001, số 23 (3), tr. 43 - 45.

- [9]. Lê Thanh Hoà. Giám định phân tử vi khuẩn gây bệnh dịch hạch *Yersinia pestis* (Lehmann and Neumann 1896) phân lập tại Việt Nam sử dụng gen *pla* của plasmid pPCP1. Tạp chí Y học Việt Nam, 2003, 283(4), tr. 1-7.
- [10]. Lê Văn Khoa. Môi trường và ô nhiễm. Nhà xuất bản giáo dục, 1995.
- [11]. Lê Thị Thoa. Nghiên cứu sử dụng ozon để phân hủy styphnic axit. Luận văn Thạc sĩ hoá học, Trung tâm KHKT - CNQS, 2000.
- [12]. Nguyễn Thị Phương Chi. VSV học đại cương. Giáo trình cao học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Trung tâm KHTN & CNQG, 1997, Hà Nội.
- [13]. Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Lê Đình Lương, Nguyễn Thanh Hiền, Đoàn Xuân Mượu, Phạm Văn Ty. Một số phương pháp nghiên cứu VSV học. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 1976, Hà Nội.
- [14]. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty. Vi sinh vật học. Nhà xuất bản Giáo dục, 1997, Hà Nội.
- [15]. Nguyễn Văn Đạt. Nghiên cứu phương pháp làm sạch nước thải chứa thuốc nổ TNT tại các cơ sở sửa chữa đạn. Chuyên san nghiên cứu KHKTQS, 1995, (13), tr. 19-21.
- [16]. Nguyễn Văn Đạt, Nguyễn Văn Chất, Nguyễn Cao Tuấn. Nghiên cứu sự phân hủy của 2,4,6-trinitrotoluen bằng bức xạ tử ngoại và tử ngoại kết hợp với hydroperoxyt. Tạp chí Nghiên cứu KHKT-CNQS, 6-2004, số 7, tr. 94-99.
- [17]. Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Ngọc Khuê, Lê Thị Đức, Đỗ Bình Minh, Nguyễn Quang Toại. Ứng dụng các phương pháp phân tích hoá lý hiện đại trong quan trắc môi trường quân sự và xử lý các chất thải quốc phòng đặc chủng. Báo cáo khoa học Hội nghị khoa học Trung tâm KHKT - CNQS, Hà Nội, 4-2003, tr. 134 - 137.
- [18]. Nguyễn Văn Đạt, Nguyễn Quang Toại, Đỗ Ngọc Khuê. Nghiên cứu xử lý nước thải chứa TNT bằng phương pháp hấp phụ trên than hoạt tính. Chuyên san nghiên cứu KHKTQS, 1997, số 20, tr. 22-25.

- [19]. Nguyễn Thái, Nguyễn Ái Phương và cs. Lịch sử và kết quả nghiên cứu bệnh dịch hạch ở Tây Nguyên 1944-1975. Công trình NCKH 1983, Viện VSDT TW, 1983, tr. 9-24.
- [20]. Nguyễn Quang Toại. Nghiên cứu quá trình phân hủy TNT, DNT và TNR bằng phương pháp điện phân. Luận án Tiến sĩ hoá học, Trung tâm KHKT - CNQS, 2004.
- [21]. Nguyễn Quang Toại, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt. Nghiên cứu quá trình điện phân TNT bằng phương pháp HPLC. Tạp chí Hoá học, 2001, số 3, tr. 74-78.
- [22]. Nguyễn Quang Toại, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Bình Minh, Tô Văn Thiệp. Nghiên cứu đặc điểm quá trình điện phân styphnic axit bằng phương pháp HPLC. Tạp chí Phân tích Hoá-Lý-Sinh, 2001, số 2, tr. 14-17.
- [23]. Nguyễn Quang Toại, Lê Thị Thoa, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Bình Minh. Nghiên cứu quá trình ozon phân một số hợp chất nitro thơm độc hại với môi trường bằng phương pháp trắc quang và HPLC. Tạp chí Phân tích Hoá-Lý-Sinh, 2001, số 1, tr. 33-39.
- [24]. Tạp chí Thông tin Khoa học kỹ thuật quân sự. Trung tâm KHKT - CNQS, Bộ quốc phòng, 8-2000.
- [25]. Phạm Sơn Dương và cộng sự. Nghiên cứu ứng dụng công nghệ vi sinh làm sạch nước bị ô nhiễm dầu. Báo cáo kết quả đề tài cấp Bộ quốc phòng, Cục KHCN-MT, 2000.
- [26]. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4556-88 | 4583-88. Nước thải. Phương pháp phân tích lý hoá học.
- [27]. Tiêu chuẩn Việt Nam. TCVN 5945 - 1995. Nước thải công nghiệp - Tiêu chuẩn thải.
- [28]. TCVN 5071 - 90, Vật liệu vải sợi. Phương pháp xác định độ dày.
- [29]. TCVN 1752 - 86, Vật liệu vải sợi, phương pháp xác định khối lượng.
- [30]. TCVN 3154 - 79. Phương tiện cá nhân bảo vệ cơ quan hô hấp. Phương pháp xác định độ giảm thị trường.

- [94]. White G.F. and Snape J.R and Snicklin, Biodegradation of glycerol trinitrate and pentaerythriol tetranitrate by *Agrobacterium radiobacter*, *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, p. 637-642.
- [95]. White G.F. and Snape J.R and Snicklin, Bacterial degradation of glycerol trinitrate, *Int. Biodeterioration. Biodegradation*, 1996, 38, p. 77-82.
- [96]. Zhang Y.Z., Sudaram S.T. , Sharma A. and Bodman B.W. ,. Biodegradation of glycerol trinitrate by *Penicillium corylophilum* Dierckx. *Applied and Environmental Microbiology*, May.1997. Vol 63, N°5, p. 1712-1714.
- [97]. Басманов П.И., Кашиний С.Л., Средства индивидуальной защиты органов дыхания, Л. "Химия", стр. 31-56.
- [98]. Василев Л.Н. и Дубинин М.М. Средства защиты органов дыхания. Москва, 1995, стр 139-159, 223-271.
- [99]. Противогазовые респираторы. Методические рекомендации по выбору и применению, Ленинград, 1973, г. Стр.73-97.
- [100]. Руководство по лабораторным испытаниям фильтрующих противогазов, Москва, 1960, стр. 15-25, 102-110.

PHỤ LỤC

File D:\DATA\14100208.D
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121

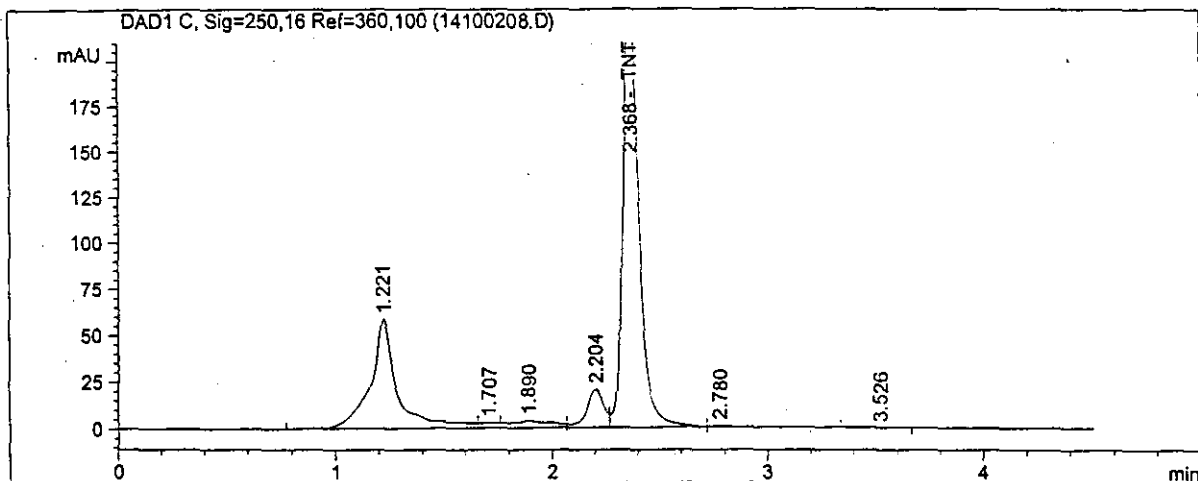
Sample Name: TNT

Sắc độ HPLC mẫu chưa xử lý

=====

Injection Date	: 10/14/02 4:36:18 PM	Vial	: 1
Sample Name	: TNT		
Acq. Operator	: Nguyen V Dat Le Thi Duc		
Acq. Method	: C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC5.M		
Last changed	: 10/9/02 5:30:00 PM by Nguyen V Dat Le Thi Duc		
Analysis Method	: C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC5.M		
Last changed	: 11/11/02 4:48:51 PM by Nguyen V Dat Le Thi Duc		

=====



External Standard Report

File D:\DATA\14100210.D
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121

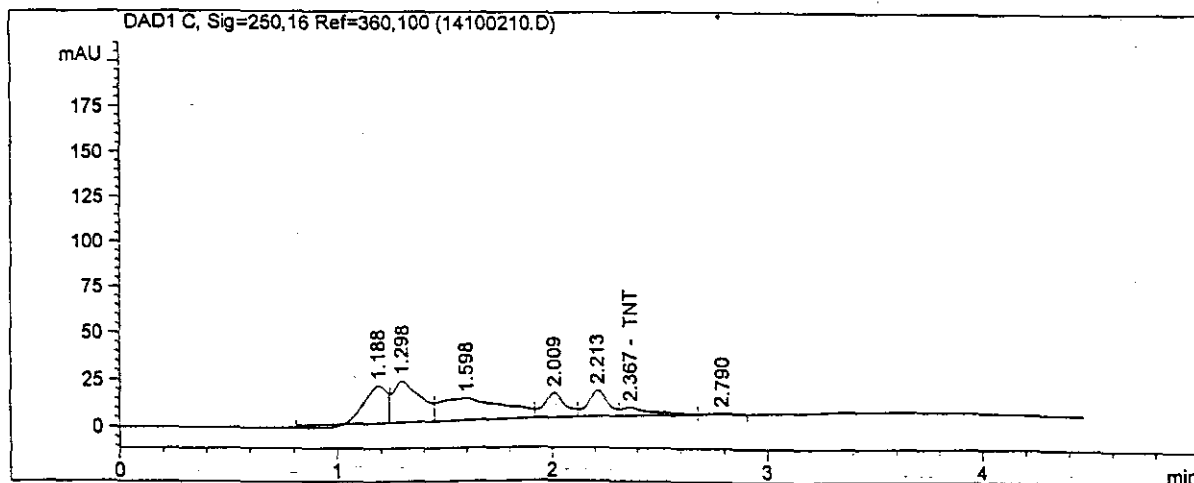
Sample Name: TNT

Sắc độ HPLC mẫu sau xử lý 4 ngày

=====

Injection Date	: 10/14/02 4:48:18 PM	Vial	: 1
Sample Name	: TNT		
Acq. Operator	: Nguyen V Dat Le Thi Duc		
Acq. Method	: C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC5.M		
Last changed	: 10/9/02 5:30:00 PM by Nguyen V Dat Le Thi Duc		
Analysis Method	: C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC5.M		
Last changed	: 11/11/02 4:48:51 PM by Nguyen V Dat Le Thi Duc		

=====



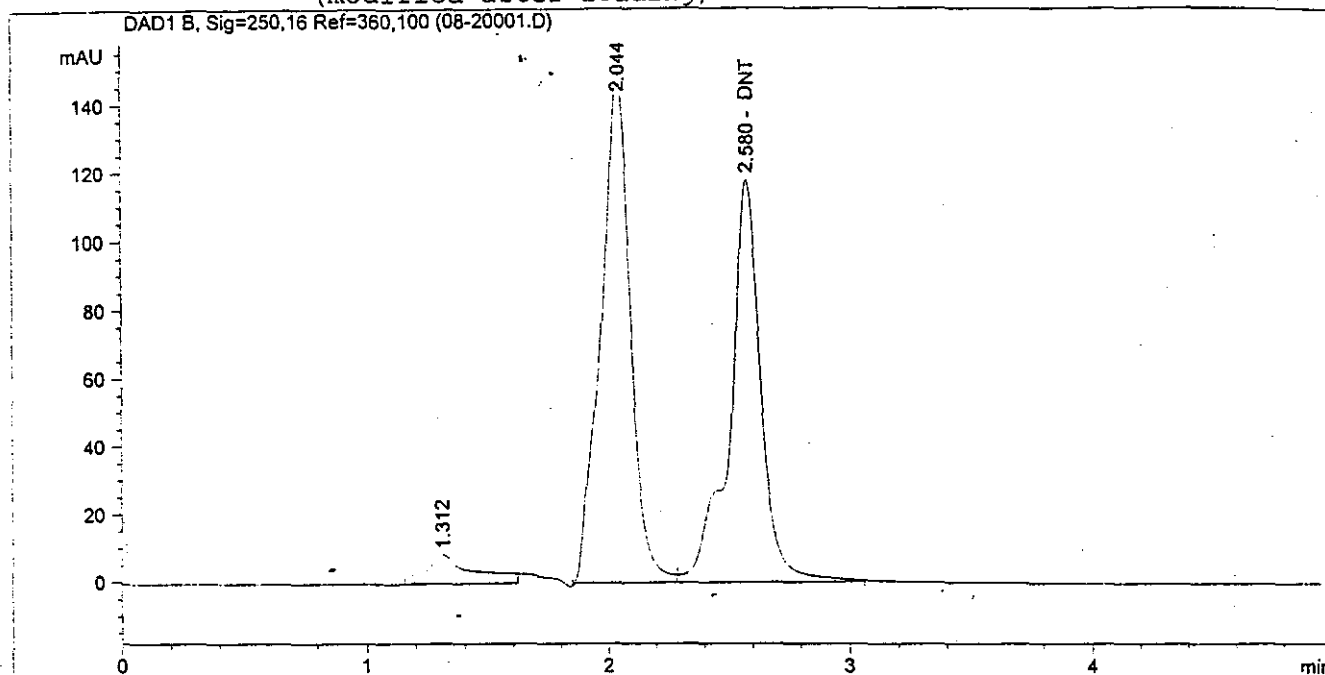
External Standard Report

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=0 gio

Sắc độ VPLC dung dịch DNT trước xử lý

=====

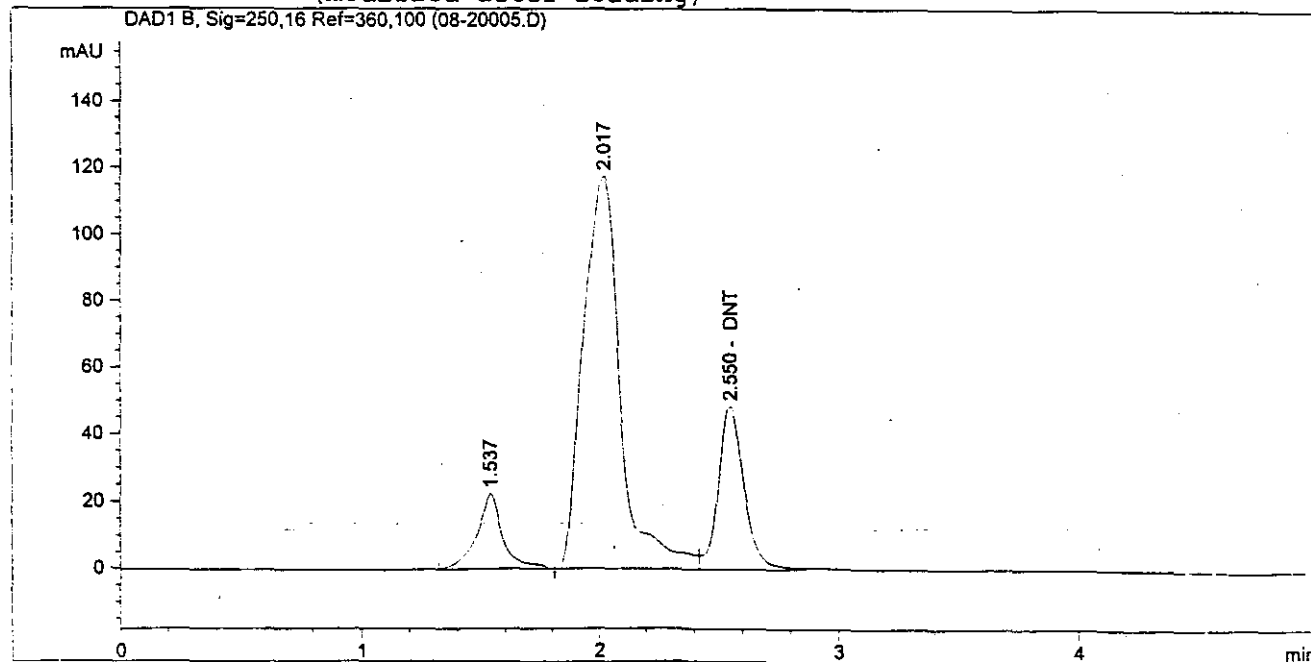
Injection Date : 8/20/01 3:02:34 PM
Sample Name : NT Vial : 1
Acq. Operator : Nguyen V Dat- Do Binh Minh
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DAT05.M
Last changed : 7/26/01 8:51:48 AM by Nguyen V Dat- Do Binh Minh
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DAT05.M
Last changed : 8/20/01 3:36:54 PM by Nguyen V Dat- Do Binh Minh
(modified after loading)



=====

Injection Date : 8/20/01 3:29:50 PM
Sample Name : NT Vial : 1
Acq. Operator : Nguyen V Dat- Do Binh Minh
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DAT05.M
Last changed : 7/26/01 8:51:48 AM by Nguyen V Dat- Do Binh Minh
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DAT05.M
Last changed : 8/20/01 3:36:54 PM by Nguyen V Dat- Do Binh Minh
(modified after loading)

Sắc độ VPLC d/d DNT sau 4 ngày xử lý



Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
Axit styphnic +Moi truong lan 2

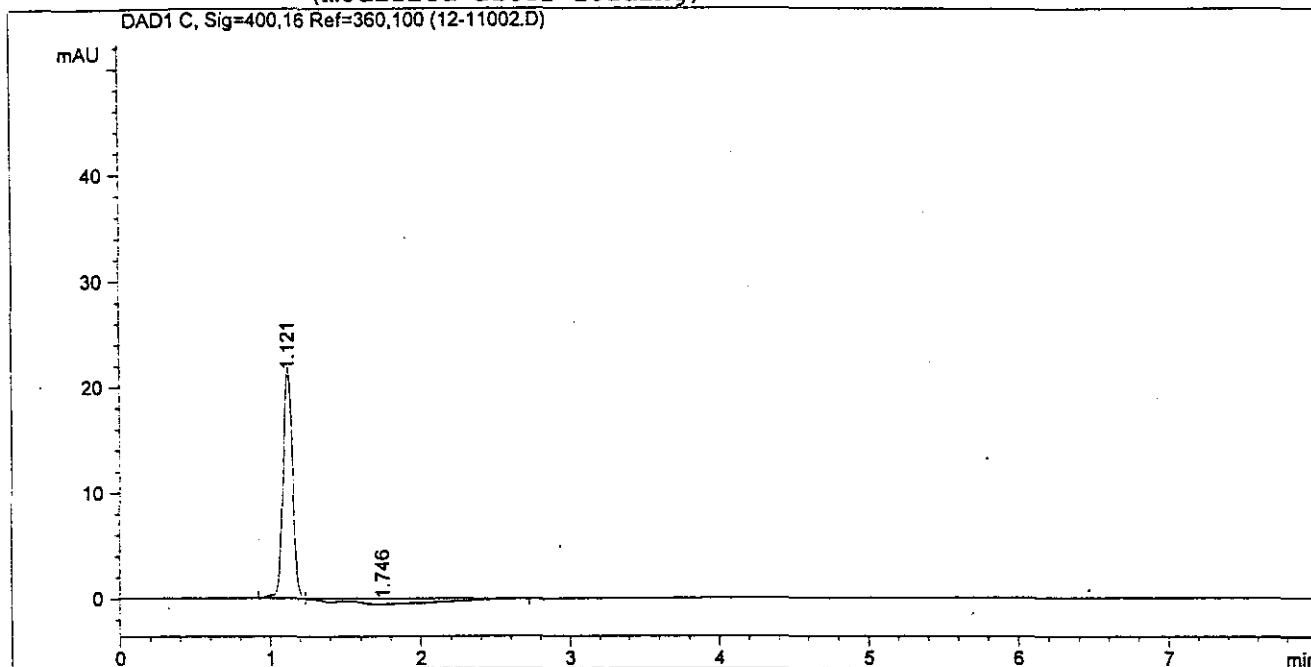
1/15 mg/l

Sắc độ HPLC d/d TNR trước xử lý

=====

Injection Date : 12/11/01 2:30:09 PM
Sample Name : Axit styphnic
Acq. Operator : Nguyen Van Dat
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC 1.M
Last changed : 11/30/01 3:48:54 PM by Nguyen Van Dat
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\RUACOT.M
Last changed : 3/4/02 4:43:28 PM by Nguyen Van Dat
(modified after loading)

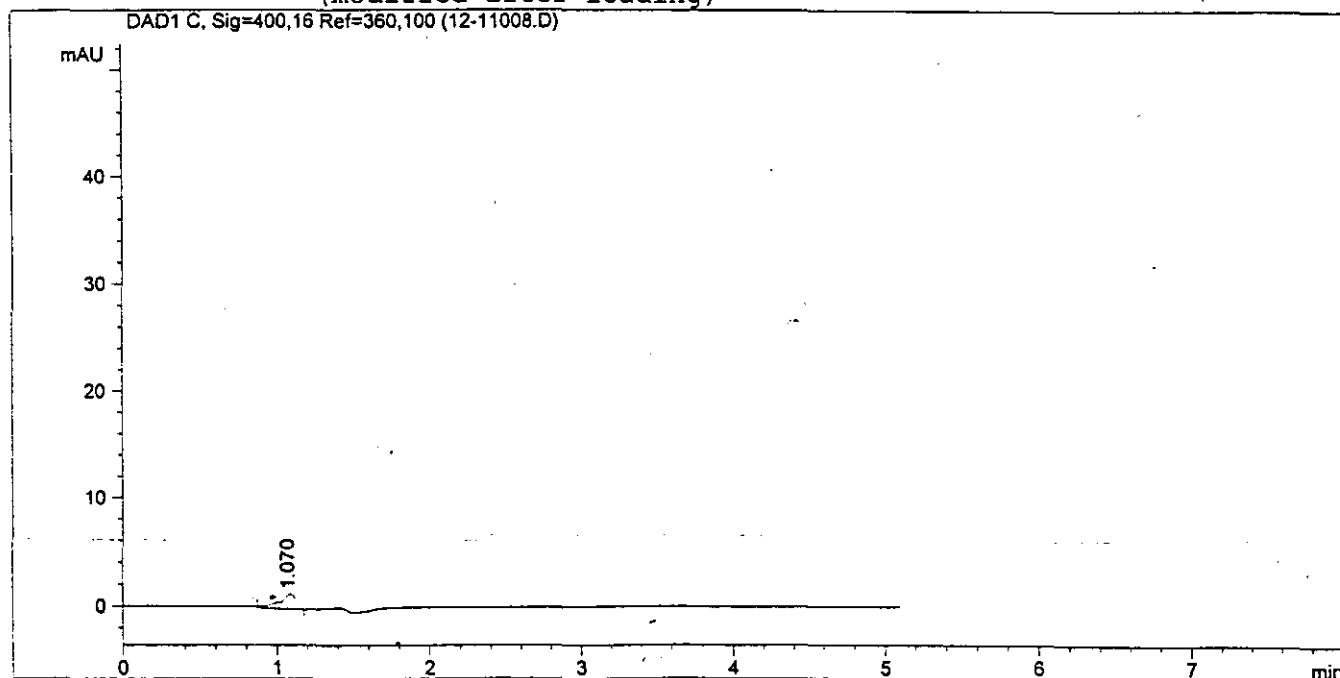
Vial : 1



=====

Injection Date : 12/11/01 4:23:48 PM
Sample Name : Axit styphnic
Acq. Operator : Nguyen Van Dat
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC 1.M
Last changed : 11/30/01 3:48:54 PM by Nguyen Van Dat
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\RUACOT.M
Last changed : 3/4/02 4:43:28 PM by Nguyen Van Dat
(modified after loading)

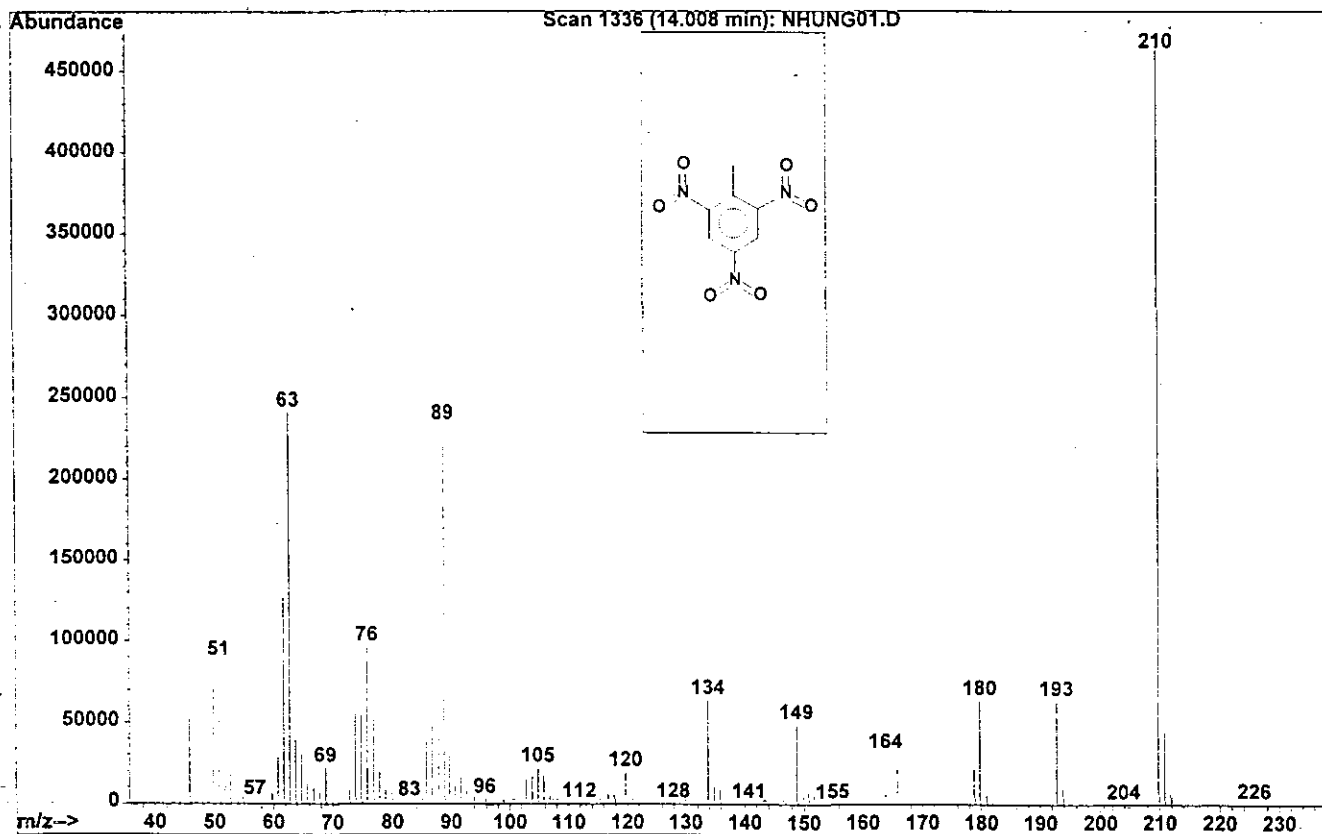
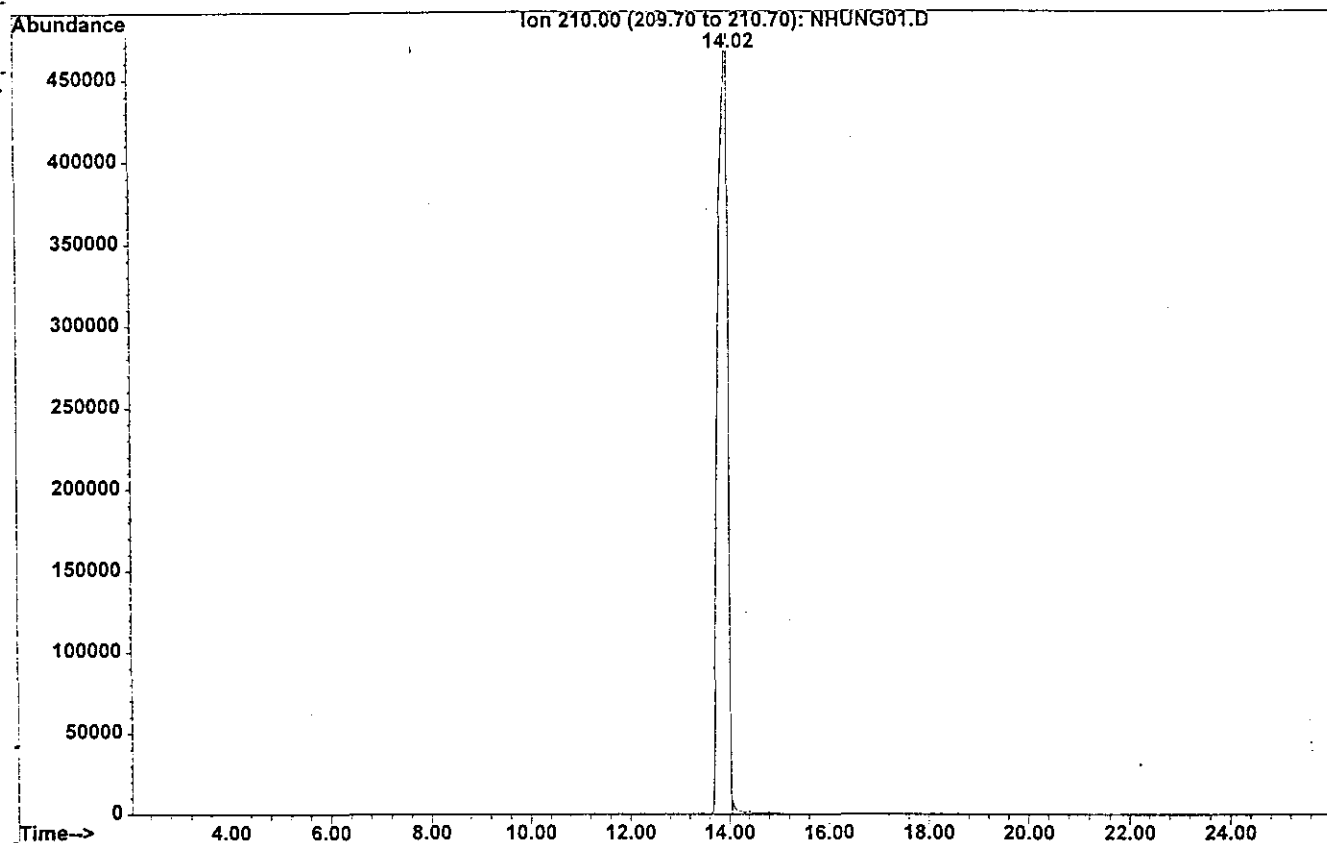
Vial : 1



File : C:\HPCHEM\1\DATA\NHUNG01.D
Operator : TRINH KHAC SAU
Acquired : 31 May 04 12:50 pm using AcqMethod CNSH
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: 1,ControlTNT25mg/L,Spls,HelmL/min,1/100ulMeOH
Misc Info : 60(1)-11-280(5), 270&280,Scan=45-450,EMV=1694
Vial Number: 1

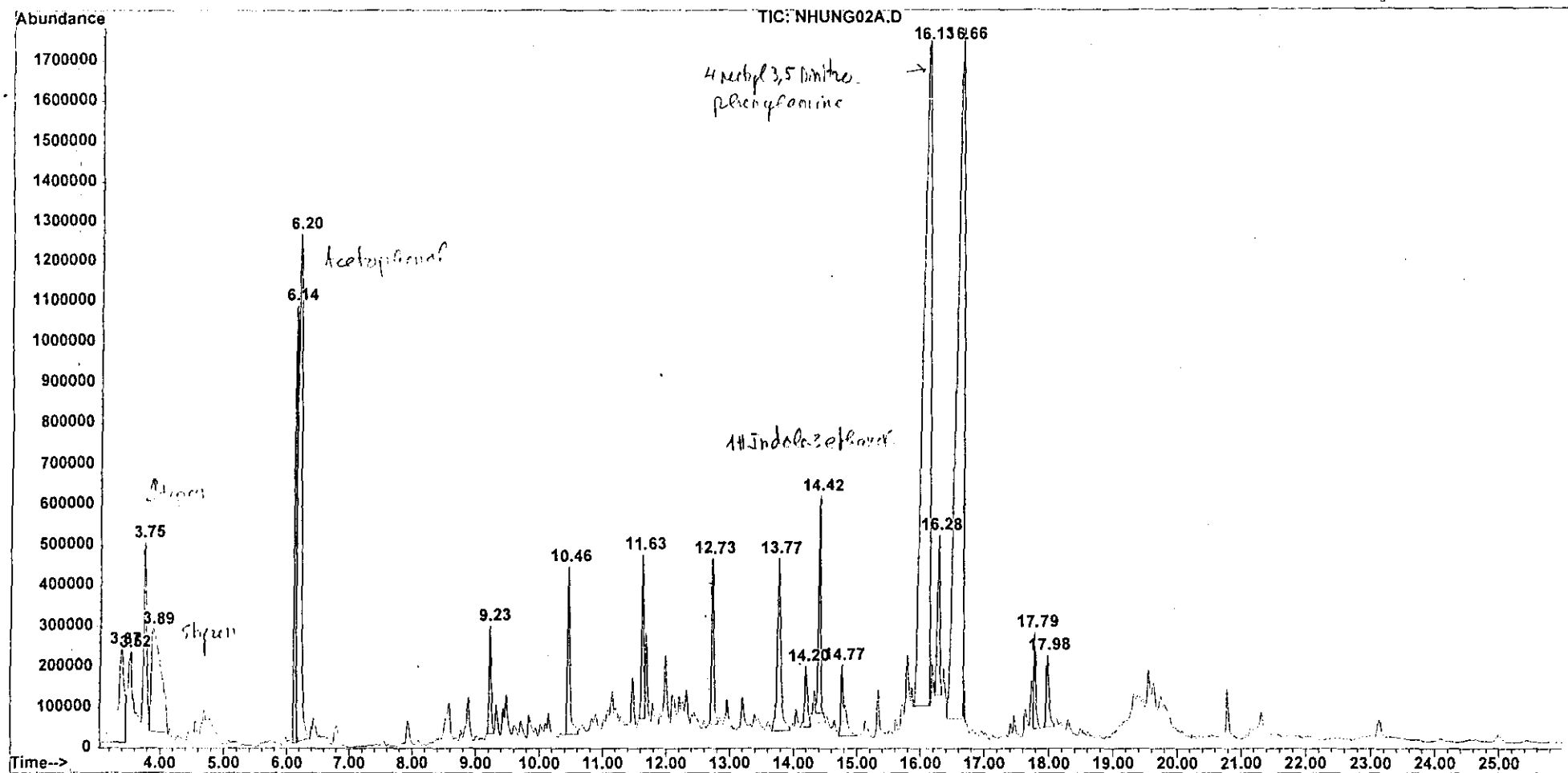
Sắc độ và phân tích TNT trước xử lý

Điểm sôi TNT = 6.447.40
tính với $C_{TNT} \approx 25 \mu\text{g/L}$



Sắc đồ dung dịch TNT sau
2 ngày xử lý vi sinh

File : C:\HPCHEM\1\DATA\NHUNG02A.D
Operator : TRINH KHAC SAU
Acquired : 31 May 04 2:38 pm using AcqMethod CNSH
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: 2,TNT25mg/L, 2days,Spls,HelmL/min,1/100ulMeOH
Misc Info : 60(1)-11-280(5), 270&280,Scan=45-450,EMV=1694
Vial Number: 1



Information from Data File:

File : C:\HPCHEM\1\DATA\NHUNG02A.D
 Operator : TRINH KHAC SAU
 Acquired : 31 May 04 2:38 pm using AcqMethod CNSH
 Sample Name: 2,TNT25mg/L, 2days,Spls,HelmL/min,1/100ulMeOH
 Misc Info : 60(1)-11-280(5), 270&280,Scan=45-450,EMV=1694
 Vial Number: 1

Search Libraries: C:\DATABASE\NIST98.L Minimum Quality: 100

Unknown Spectrum: Apex

Integration Params: current RTEINT parameters

Pk#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	3.37	3.42	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Ethylbenzene	117388	000100-41-4	70
			Ethylbenzene	37696	000100-41-4	47
			Butanoic acid, 3-methyl-	113385	000503-74-2	47
2	3.52	1.29	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Butanoic acid, 3-methyl-	113387	000503-74-2	58
			Pentanoic acid	113425	000109-52-4	53
			Pentanoic acid	20157	000109-52-4	50
3	3.75	2.86	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Styrene	118936	000100-42-5	97
			Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	118938	000694-87-1	96
			Styrene	118937	000100-42-5	96
4	3.89	5.31	C:\DATABASE\NIST98.L			
			1,3,5,7-Cyclooctatetraene	118939	000629-20-9	97
			Styrene	118936	000100-42-5	97
			Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene	118938	000694-87-1	96
5	6.14	5.00	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Acetophenone	119123	000098-86-2	94
			Acetophenone	119122	000098-86-2	94
			Acetophenone	119045	000098-86-2	91
6	6.20	10.47	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Acetophenone	119123	000098-86-2	94
			Acetophenone	119122	000098-86-2	94
			Acetophenone	119121	000098-86-2	91
7	9.23	1.25	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Tridecane	112309	000629-50-5	86
			Tridecane	16403	000629-50-5	80
			Eicosane	112344	000112-95-8	72
8	10.46	2.14	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Tetradecane	112357	000629-59-4	96
			Tetradecane	112356	000629-59-4	93
			Heptadecane	112319	000629-78-7	91
9	11.63	1.95	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Pentadecane	112370	000629-62-9	95
			Pentadecane	112371	000629-62-9	94
			Pentadecane	16493	000629-62-9	91
10	12.73	2.02	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Hexadecane	112409	000544-76-3	97
			Hexadecane	16554	000544-76-3	97
			Hexadecane	112410	000544-76-3	97
11	13.77	3.27	C:\DATABASE\NIST98.L			
			Heptadecane	112321	000629-78-7	96

Pho'Nski
thao

			Heptadecane	112319	000629-78-7	95	
			Heptadecane	16420	000629-78-7	94	
12	14.20	0.99	C:\DATABASE\NIST98.L				
			Heptadecane	16420	000629-78-7	91	
			Dodecane, 2,6,11-trimethyl-	112569	031295-56-4	90	
			Tetratriacontane	16431	014167-59-0	90	
13	14.42	2.37	C:\DATABASE\NIST98.L				
			1H-Indole-3-ethanol	58945	000526-55-6	87	Phis MS loc, the
			1H-Indole-3-ethanol	121951	000526-55-6	86	
			1H-Indole-3-ethanol	121952	000526-55-6	86	
14	14.77	1.41	C:\DATABASE\NIST98.L				
			Octadecane	112333	000593-45-3	98	
			Octadecane	112329	000593-45-3	97	
			Octadecane	112330	000593-45-3	97	
			<i>1-methyl-2,6-dinitrophenylamine</i>				
15	16.13	26.06	C:\DATABASE\NIST98.L				
			4-Methyl-3,5-dinitrophenylamine	77584	1000128-37-2	96	Phis MS loc, the
			Benzaldehyde, 4-nitro-, O-methylox	77396	033499-32-0	25	
			anti-Tricyclo[4.2.1.0(2,5)]deca-3,	44884	1000152-65-2	22	
16	16.28	2.16	C:\DATABASE\NIST98.L				
			Tetradecanoic acid	114897	000544-63-8	96	
			n-Hexadecanoic acid	6589	000057-10-3	92	
			Tetradecanoic acid	114898	000544-63-8	76	
17	16.66	25.98	C:\DATABASE\NIST98.L				
			2-Penten-4-yne, 2-methyl-	1340	1000222-95-2	90	✓
			Tricyclo[4.2.1.1(2,5)]decan-9-ol,	110153	066953-31-9	83	
			Cinnoline, 4-methyl-, 1,2-dioxide	45096	005004-33-1	83	
			<i>Acridine 9,10-dihydro-</i>	77553	92-81-9	90	Phis MS loc, the
18	17.79	1.03	C:\DATABASE\NIST98.L				
			9-Octadecenoic acid, (E)-	13227	000112-79-8	99	
			9-Octadecenoic acid, (E)-	111528	000112-79-8	98	
			Oleic Acid	108586	000112-80-1	91	
19	17.98	1.03	C:\DATABASE\NIST98.L				
			Docosane	16531	000629-97-0	60	
			Tetratriacontane	16431	014167-59-0	60	
			Heptadecane	16420	000629-78-7	53	

Mon May 31 15:43:42 2004

CỤC QUÂN Y
VIỆN VSPD-QĐ

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
ĐỘC LẬP- TỰ DO - HẠNH PHÚC

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ

Nơi gửi mẫu: Phòng công nghệ sinh học- Phân Viện Công nghệ mới và bảo vệ môi trường

Số lượng: 08 mẫu

Nguồn mẫu : Vi khuẩn phân lập từ đất và nước

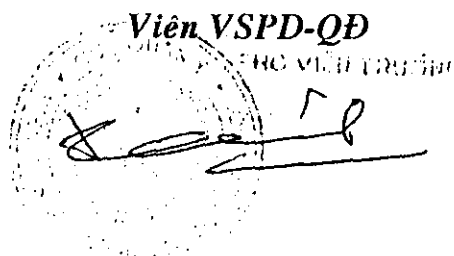
Yêu cầu: Định danh tên vi sinh vật.

TT	Ký hiệu	Tính chất khuẩn lạc và hình thể	OX	CI	Di động	Tên loài (kết quả đọc trên máy MINI-API)
1	T1	Khuẩn lạc thể S, trắng, bóng ướt. Trục khuẩn Gram (-), không lên men đường Glucose	+	-	+	Steno. Maltophilia, tên khác Stenoorophomonos xanthomonas
2	T2	Khuẩn lạc thể R, trắng, dai, khó tan. Trục khuẩn Gram (+), hình thành bào tử trên môi trường Natriumoxalat 1%.	-	+	+	Bacillus stearothermophilus
3	D5	Khuẩn lạc thể R, trắng, khô. Trục khuẩn gram (+) có dạng bào tử trên môi trường Natriumoxalat 1%	-	-	+	Bacillus cereus có tan máu beta
4	D13	Khuẩn lạc thể S, màu xanh, bóng ướt. Trục khuẩn Gram (-), không lên men đường glucose	+ yếu	+	+	Pseudomonas aeruginosa
5	S1	Khuẩn lạc thể R khô khó tan. Phát triển trên môi trường Sabouro	-	-	-	Geotrichum capitatum

6	S2	K1 thể S trắng mỡ khó tan. Hình cầu to, phát triển được trên môi trường Saburo	-	-	-	Candida pelliculosa
7	S3	K1 thể S hồng đỏ, ướt, dễ tan. Hình cầu, phát triển được trên môi trường Saburo	-	-	-	Rhodotorula glutinis
8	S4	K1 thể S trắng, bóng, mỡ. Hình cầu phát triển được trên môi trường Saburo	-	+	-	Kloeckera spp Có thể là C.lambica hoặc C.lipolytica

Hà Nội, ngày 3 tháng 10 năm 2002

KT Viện trưởng



Thượng tá
TS. NGUYỄN XUÂN THÀNH

Chủ nhiệm khoa

Vi sinh vật

Handwritten signature: Vũ Chiêm Thủy

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN
PHÒNG SINH HỌC THỰC NGHIỆM

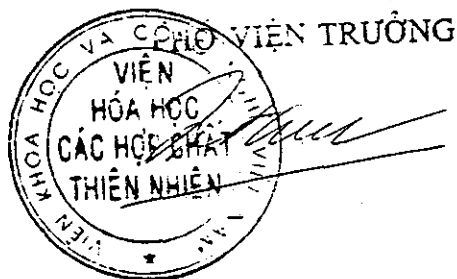
PHIẾU TRẢ LỜI KẾT QUẢ

Nơi gửi mẫu: Phân viện công nghệ mới và bảo vệ môi trường
Mẫu: 04 mẫu chế phẩm vi sinh
Yêu cầu: Xác định nồng độ vi sinh vật (CFU/g chế phẩm)
Ngày gửi mẫu: 20/8/2004
Ngày trả kết quả: 15/9/2004

KẾT QUẢ :

STT	Ký hiệu mẫu	Nồng độ VSV (CFU/g)	Ghi chú
1	TSF	$2,73 \times 10^{10}$	Mẫu rắn, xộp
2	DSF	$2,05 \times 10^{10}$	-
3	ASF	$9,14 \times 10^9$	-
4	NSF	$1,08 \times 10^{11}$	-

Xác nhận của cơ quan



Trương Lát Hiếu

Người đọc kết quả

TS Lê Mai Hiền



BỘ TƯ LỆNH HOÁ HỌC
TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ XỬ LÝ MÔI TRƯỜNG

Giấy phép hoạt động Khoa học Công nghệ số 679 Bộ KHCN&MT
Giấy chứng nhận Cơ sở KNCLMT số 502/QĐ-TĐC 24/4/2000 Cục TC&LCL, BQP

Trụ sở: 282 Lạc Long Quân
P. Bưởi - Q. Tây Hồ - Hà Nội
Fax: (84) 04.7532.773

Số: 822 / PPT

PHIẾU KẾT QUẢ PHÂN TÍCH MẪU

1. Cơ quan gửi mẫu: Phân viện CNM – BVMT
2. Địa chỉ: Số 6 - Lạng Hạ - Hà Nội
3. Số lượng mẫu: 12 mẫu nước
4. Phương pháp lấy mẫu: Trực tiếp
5. Phương pháp phân tích: Hoá học, Quang phổ tử ngoại, cực phổ
6. Ngày gửi mẫu: 16/08/2004 Ngày phân tích: 17-23/08/2004

TT	Mẫu	Chỉ tiêu (mg/l)						
		COD	BOD ₅	NG	TNT	As	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
1	TP _t	780	515	145	-	-	-	-
2	TP _s	72	20	0.9	-	-	-	-
3	TN _{hkt}	140	65	-	35	-	-	-
4	TN _{hks}	90	27	-	0.5	-	-	-
5	TN _{kkt}	394	76	-	97	-	-	-
6	TN _{kks}	95	35	-	0	-	-	-
7	GN _t	163	90	-	-	18	-	-
8	GN _s	91	32	-	-	2.5	-	-
9	NĐ _t	270	100	-	-	-	232	219
10	NĐ _s	65	10	-	-	-	5	5.5
11	TL _t	250	97	-	-	-	250	210
12	TL _s	55	15	-	-	-	7	5

Ghi chú: Kết quả này chỉ đúng đối với mẫu gửi phân tích.

KIỂM ĐỊNH VIÊN

TRƯỞNG PHÒNG

THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ

CN. NGUYỄN ĐỨC TOÀN

ThS. LÂM VINH ANH

Đại tá
PHẠM QUỐC ANH

GHI CHÚ

- 1 - TP_t : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng trước xử lý.
- 2 - TP_s : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng sau khi xử lý bằng quy trình và chế phẩm vi sinh vật PSF và DSF.
- 3 - TN_{hkt} : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ trước xử lý.
- 4 - TN_{hks} : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ sau khi xử lý bằng quy trình sinh học hiếu khí và chế phẩm vi sinh vật TSF và DSF.
- 5 - TN_{kkt} : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ có nồng độ TNT cao trước xử lý.
- 6 - TN_{kks} : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ có nồng độ TNT cao sau khi xử lý bằng quy trình sinh học kỵ khí và hiếu khí kết hợp.
- 7 - GN_t : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gỏi nổ trước xử lý.
- 8 - GN_s : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gỏi nổ sau khi xử lý bằng quy trình và chế phẩm vi sinh vật ASF.
- 9 - $NĐ_t$: Nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí trước xử lý.
- 10 - $NĐ_s$: Nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí sau xử lý bằng quy trình sinh học hiếu khí đã nghiên cứu.
- 11 - TL_t : Nước thải nhiễm nhiên liệu tên lửa lỏng trước xử lý.
- 12 - TL_s : Nước thải nhiễm nhiên liệu tên lửa lỏng được xử lý bằng quy trình công nghệ kết hợp hoá học và sinh học.

Ngày 20 tháng 6/ năm 2003.

KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM SỬ DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC
TRONG DÂY CHUYỀN XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA TNT
TẠI Z121 - TCCNQP

Trong thời gian từ tháng 9/2002 đến tháng 01/2003 các thành viên
nhánh đề tài KC.04.10 (5) đã tiến hành thử nghiệm đánh giá hiệu quả sử
dụng chế phẩm sinh học tổng hợp gồm 05 chủng (Đ2, Đ10,Đ11,M1,1m)
trong hệ thống xử lý nước thải chứa TNT thuộc khu vực 3 nhà máy
Z121/TCCNQP, kết quả thử nghiệm được trình bày trong bảng 1

Bảng 1: Kết quả sử dụng chế phẩm sinh học tổng hợp 05 chủng

STT	Thời gian xử lý sinh học (giờ)	Hàm lượng TNT còn lại trong nước thải (mg/l)	Hiệu suất phân huỷ (%)
1	0	32	
2	12	30,6	4,4
3	24	24,2	24,3
4	36	20,5	35,9
5	48	17,15	46,4
6	60	12,3	61,5
7	72	4,25	86,7

Ghi chú: - Công suất xử lý 40m³/ ca sản xuất
- Hàm lượng TNT trong nước thải đầu vào 20-25 mg/l
- Môi trường thử nghiệm trung tính (pH=7)

Việc sử dụng chế phẩm sinh học đã cho phép giảm được một phần hoá chất,
vật tư dùng trong xử lý (bảng 2)

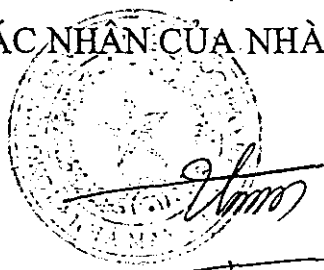
Bảng 2: Lượng hoá chất dùng cho quá trình xử lý nước thải chứa TNT trong trường hợp không và có sử dụng chế phẩm sinh học (tính cho 01 m³)

STT	Tên hoá chất	Không dùng chế phẩm vi sinh	Có dùng chế phẩm vi sinh
1	Hoá chất xử lý hoá học	0,2kg	0,1kg
2	Hoá chất hấp phụ	1,5kg	1,0kg
3	Hoá chất trung hoà	0,5kg	0,4kg
4	Hoá chất sa lắng	0,5kg	0,4kg

3. Nhận xét

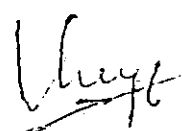
- Chế phẩm sinh học tổng hợp 05 chủng có khả năng phân huỷ cơ bản lượng TNT có trong nước thải của xưởng sản xuất thuốc nổ AD-1 nếu thời gian xử lý đảm bảo trên 03 ngày
- Khi sử dụng chế phẩm sinh học trên thì có khả năng giảm được giá thành xử lý .

XÁC NHẬN CỦA NHÀ MÁY



Thị trấn
CÁI LÂN THON

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI NHÁNH



CN. Tô Văn Thiệp

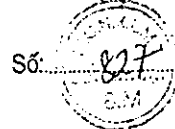


BỘ TƯ LỆNH HOÁ HỌC
TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ XỬ LÝ MÔI TRƯỜNG

Giấy phép hoạt động Khoa học Công nghệ số 679 Bộ KH&CN&MT
Giấy chứng nhận Cơ sở KNCLMT số 502/QĐ-TĐC 24/4/2000 Cục TC&DLCL, BQP



Trụ sở: 282 Lạc Long Quân
P. Bưởi - Q. Tây Hồ - Hà Nội
Fax: (84) 04.7532.773



Số: 827 / PPT

PHIẾU KẾT QUẢ PHÂN TÍCH MẪU

- 1 Tên mẫu: Mẫu nước thải
- 2 Nơi gửi mẫu: Nhà máy A31 - Quân chủng PKKQ
- 3 Vị trí lấy mẫu: Hệ thống xử lý nước thải dây chuyền phục hồi nhiên liệu tên lửa
- 4 Ngày lấy mẫu và phân tích: 09/09/2004

TT	Thông số	Đơn vị	Kết quả		TCVN 5945-1995 (loại B)
			M ₁	M ₂	
1	pH	-	12	7,9	5 ÷ 9
2	COD	mg/l	425	68	100
3	Chất rắn lơ lửng	mg/l	215	37	100
4	Chì	mg/l	Kphđ	Kphđ	0,5
5	Clo dư	mg/l	Kphđ	0,5	2
6	Sắt tổng số	mg/l	0,8	0,2	5
7	Tổng Nito	mg/l	280	21	60
8	Tổng Phốt pho	mg/l	2,0	0,7	6
9	Sunfua	mg/l	0,7	0,1	0,5
10	Xianua	mg/l	Kphđ	Kphđ	0,1
11	Coliform	MNP/ 100ml	0	0	10.000

Ghi chú:

M1: Nước thải trước khi xử lý

M2: Nước thải sau khi xử lý

Kphđ: Không phát hiện được

(Kết quả này chỉ có giá trị tại thời điểm lấy mẫu)

Nhận xét: Nước sau xử lý đạt tiêu chuẩn TCVN 5945 - 1995

KIỂM ĐỊNH VIÊN

TRƯỞNG PHÒNG

THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ

Đào Xuân Hoà

KẾT QUẢ PHÂN LOẠI CHỦNG VI KHUẨN

ĐƠN VỊ GỬI MẪU: Phòng công nghệ sinh học

TRUNG TÂM NHIỆT ĐỚI VIỆT-NGA

MẪU: Chủng vi khuẩn : ký hiệu : V6.1, V6.2, X1, X2

ĐƠN VỊ PHÂN TÍCH: BẢO TÀNG GIỐNG CHUẨN VI SINH VẬT

TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ SINH HỌC

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

1. Hình thái tế bào

- Chủng V6.1: tế bào cong hình vành khuyên, có bào tử
- Chủng V6.2: tế bào hình que ngắn, đứng riêng rẽ, không có bào tử
- Chủng X1: tế bào hình que ngắn, đứng riêng rẽ, không có bào tử
- Chủng X2: tế bào hình que ngắn, đứng riêng rẽ, không có bào tử

2. Các hoạt tính sinh lý, sinh hoá

Kí hiệu chủng	Đồng hoá các nguồn nitơ		Thủy phân ure	Thủy phân gelatin	Lên men glucoze	Phân giải tinh bột	Sinh lipaza	Sinh axit	Khả năng di động	Phản ứng catalaza
	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻								
V6.1	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
V6.2	+	+	+	-	-	-	+	++	+	+
X1	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
X2	-	-	-	-	-	-	-	++	+	+

Ghi chú: + Dương tính : ++ Dương tính (rất mạnh): - Âm tính

3. Khả năng đồng hóa các nguồn cacbon

STT	Nguồn cacbon	Chủng vi khuẩn			
		V6.1	V6.2	X1	X2
1	Glucose	+	+	+	+
2	L-Sorboza	-	-	-	-
3	D-Riboza	-	-	-	-
4	D-Xyloza	+/-	-	-	-
5	L-Arabinosa	-	-	-	-
6	L-Rhamnoza	-	-	-	-
7	Trehaloza	-	-	+	-
8	Lactose	-	-	-	-
9	Mannitol	-	-	+	-
10	Sucrose	-	-	+	-

11	Sorbitol	-	-	-	-
12	Melebioza	-	-	+	-
13	Cellobioza	-	-	+	-
14	Melezitoza	-	-	-	-
15	Cadaverin	-	-	-	-
16	Alanin	-	+	+	-
17	Hexandecan	-	+	-	-
18	Maltoza	+/-	-	+	-
19	Raffinoza	-	-	+	-
20	D-galactoza	+/-	-	+	-
21	Myo-inositol	+/-	-	-	-
22	Starch	-	-	-	-
23	Glycerol	-	-	+	+
24	D-gluconat	-	+	+	+
25	Galactitol	-	-	-	-
26	Histidin	-	-	+	+
27	Arginin	+	+	+	-
28	Sacilin	+	-	-	-
29	Fructoza	-	+	+	-
30	Inulin	+	-	+	-

Ghi chú: + Dương tính ; +/- Mọc yếu ; - Âm tính

4. Kết luận:

Chủng V6.1: *Bacillus* sp.

Chủng V6.2: *Brevibacterium* sp.

Chủng X1: *Acranobacterium* sp.

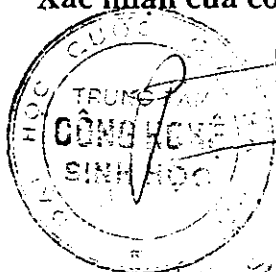
Chủng X2: *Gardnerella* sp.

Dựa theo khoá phân loại của Bergey 1986

Hà Nội, ngày 25 tháng 10 năm 2004

Xác nhận của cơ quan

Cán bộ phân tích

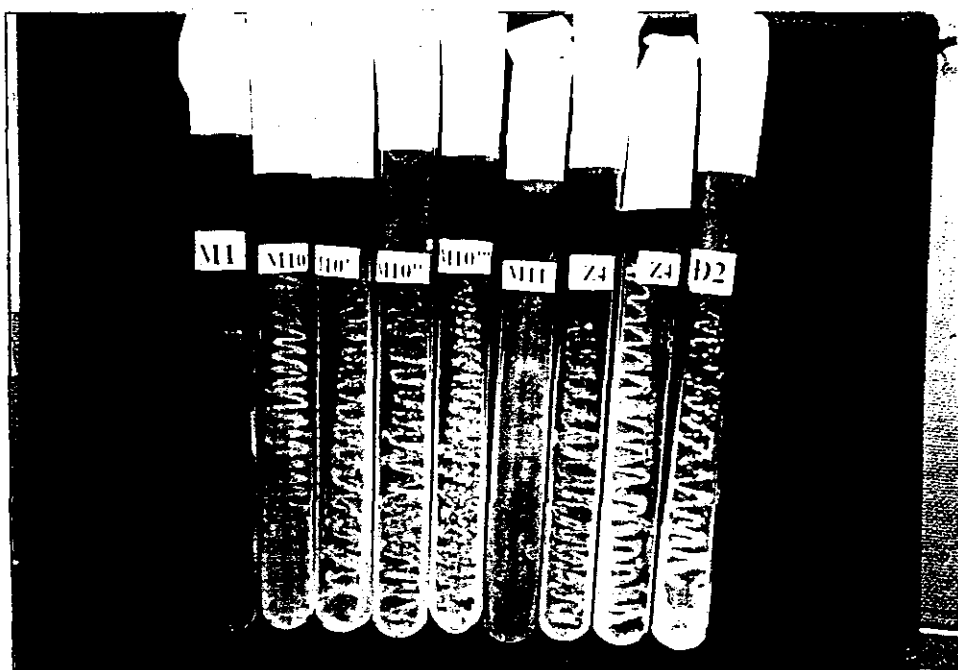
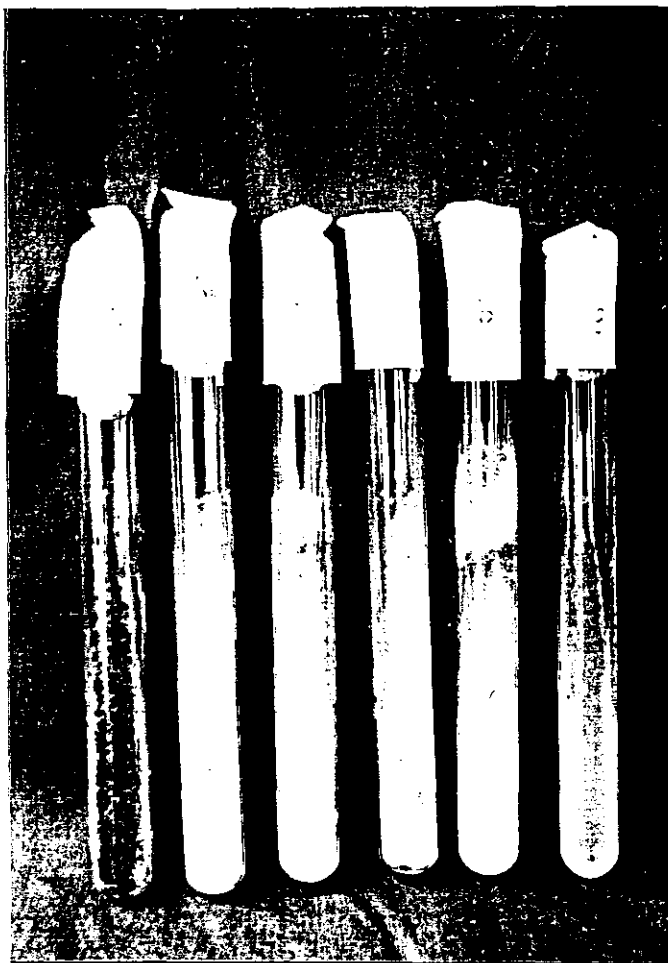


PHÓ GIÁM ĐỐC

T.S. Dương Văn Tiếp

Ths Nguyễn Thị Hoài Hà

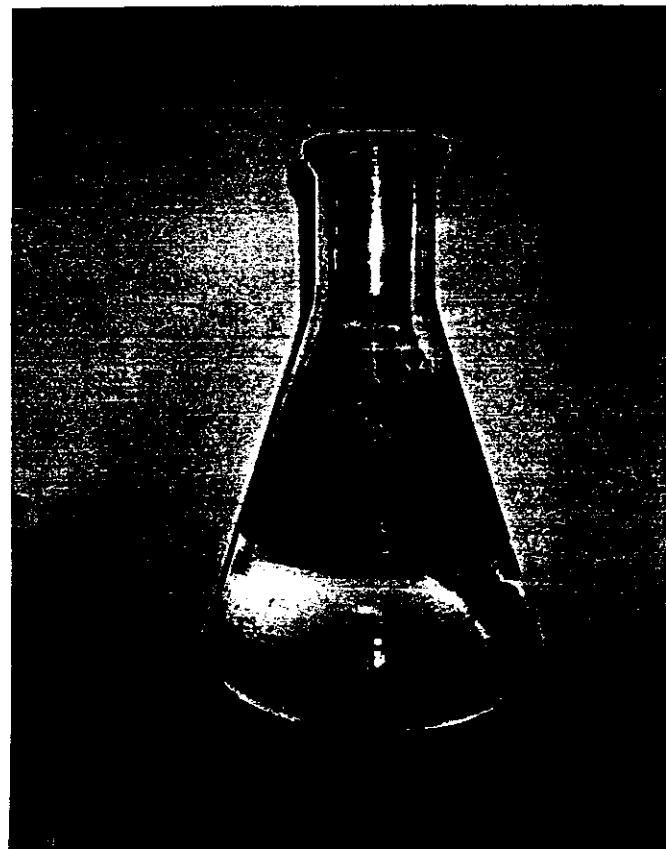
Ths Nguyễn Thị Hoài Hà



MỘT SỐ CHỦNG VSV ĐÃ PHÂN LẬP

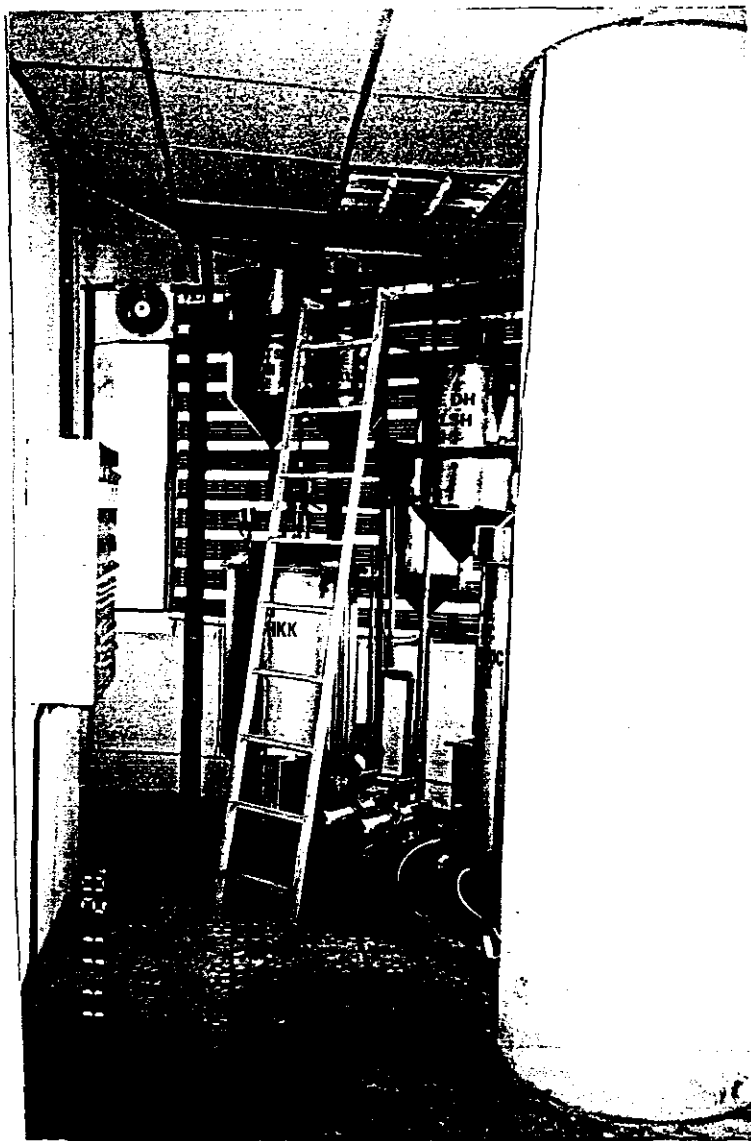


A



B

NƯỚC THẢI CHỨA TNT TRƯỚC (A) VÀ SAU XỬ LÝ (B)



HỆ THỐNG XỬ LÝ NƯỚC THẢI DẠNG MODUL
QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM, CÔNG SUẤT 30L/NGÀY

CỤC QUÂN KHÍ
KHO K680

Số 407/BBNT

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

.....

BIÊN BẢN NGHIỆM THU HỢP ĐỒNG
XÂY DỰNG HỆ THỐNG XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA DẦU MỠ
(triển khai thực hiện đề tài cấp nhà nước KC.04.10.)

Công trình: hệ thống xử lý nước thải chứa dầu mỡ kho k680 - Cục Quân khí

1. Căn cứ vào quyết định số 792/KH ngày 3/12/2003 của Cục trưởng Cục Quân khí phê duyệt thiết kế, dự toán Hệ thống xử lý nước thải chứa dầu mỡ tại K680
2. căn cứ vào Hợp đồng số 829/HĐKT ngày 18/12/2003 giữa kho K680 và Phân viện CNM&BVMT/TTKHKTCNQs

Hôm nay ngày 18 tháng 6 năm 2004 tại Kho K680 chúng tôi gồm:

ĐẠI DIỆN BÊN A KHO K680 CỤC- QK

- | | | |
|-----------------------|-----------|----------------------|
| 1. Nguyễn Duy Quang | Thượng tá | Phó chủ kho |
| 2. Phạm Huy Huyền | Trung tá: | Trưởng ban KH |
| 3. Nguyễn Việt Phương | Thiếu tá | Trưởng ban KT |
| 4. Nguyễn Xuân Tiến | Thiếu tá | Xưởng trưởng |
| 5. Nguyễn Kim Thủy | Trung tá | Trưởng ban tài chính |

ĐẠI DIỆN BÊN B: PHÂN VIỆN CNM VÀ BVMT

- | | | |
|----------------------|-----------|-----------------------|
| 1. Phạm Sơn Dương | Đại tá | Phân viện trưởng |
| 2. Phan Nguyễn Khánh | Thượng tá | Trưởng ban kế hoạch |
| 3. Lê Thị Đức | Thượng tá | Trưởng phòng sinh học |

ĐẠI DIỆN CỤC QUÂN KHÍ

- | | | |
|--------------------|----------|-------------------|
| 1. Lê trịnh Tường | Đại tá | Trưởng ban KHCMNT |
| 2. Nguyễn Hải Hùng | Thiếu tá | Trợ lý tài chính |

Đã tiến hành nghiệm thu hợp đồng xây dựng hệ thống nước thải chứa dầu mỡ tại K680 với những nội dung sau:

LKHỐI LƯỢNG CÁC CÔNG VIỆC BÊN B ĐÃ THỰC HIỆN:

1. Phần xây dựng cơ bản:

- 02 bể gom, vớt váng dầu:
- 03 bể xử lý sinh học hiếu khí
- 01 bể lắng, 01 bể chứa nước sử dụng lại
- 01 bể lọc cơ học
- bể đỡ thiết bị, lắng nền khu xử lý

2. Đã chế tạo, mua sắm và lắp đặt các thiết bị

- - máy thổi khí 2HP -220V : 01 cái
- Hệ thống phân phối khí: 03 hệ thống
- Máy bơm chịu MT Italia 4m³/h: 02 cái
- Hệ thống van, khoá, đường điện
- Tủ điều khiển trạm xử lý

3. Huấn luyện cho cán bộ , nhân viên K680 vận hành sử dụng thành thạo hệ thống xử lý

II. CHẤT LƯỢNG THIẾT BỊ VÀ CÁC HẠNG MỤC CÔNG TRÌNH:

- Hệ thống bể, các thiết bị được xây dựng, chế tạo và lắp đặt đảm bảo các thông số kỹ thuật được phê duyệt và hoạt động tốt

III. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Hệ thống xử lý nước thải chứa dầu mỡ tại kho K680 được xây dựng đảm bảo đầy đủ các yêu cầu kỹ thuật đề ra
2. Hệ thống đã hoạt động tốt, chất lượng nước sau xử lý đạt các chỉ tiêu theo TCVN 5945-1995(Do trung tâm CNXLMT -BTL hoá học phân tích)
3. Trong quá trình thi công căn cứ vào thực tế có một số thay đổi cho phù hợp đã được bên A đồng ý, đề nghị bên B giải trình chi tiết kinh phí trong thanh lý hợp đồng
4. Thống nhất nghiệm thu đưa hệ thống xử lý nước thải chứa dầu mỡ vào sử dụng và đề nghị hai bên thanh lý hợp đồng.

ĐẠI DIỆN BÊN A

ĐẠI DIỆN BÊN B

ĐẠI DIỆN CỤC QUẢN KHÍ

THỦ TRƯỞNG KHO K680

1.

[Signature]

1.

[Signature]

1.

[Signature]

2.

[Signature]

2.

[Signature]

2.

[Signature]

3.

[Signature]

3.

[Signature]

4.

[Signature]

5.

[Signature]



NGUYỄN HUY THÔNG



TỔNG CỤC HẬU CẦN
CÔNG TY 22
Số 554 /BBNT

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BIÊN BẢN NGHIỆM THU BÀN GIAO CÔNG TRÌNH (Triển khai thực hiện đề tài cấp nhà nước KC 04.10.)

Công trình: Trạm xử lý nước thải chế biến thực phẩm X22, TCHC
Căn cứ vào Hợp đồng số 15/HĐ ngày 18 tháng 12 năm 2003 giữa
X22 – TCHC và Phân viện CNM&BVMT/ TTKHKT&CNQS
Hôm nay ngày 20 tháng 7 năm 2004 tại X22, TCHC chúng tôi gồm:

ĐẠI DIỆN BÊN A: X22- TỔNG CỤC HẬU CẦN

Ông: Nguyễn Chiến Thắng

Cấp bậc: Thượng tá

Chức vụ: Phó giám đốc Công ty

ĐẠI DIỆN BÊN B: PHÂN VIỆN CNM&BVMT/ TTKHKT&CNQS

Ông: Đỗ Ngọc Khuê

Cấp bậc: Đại tá

Chức vụ: Phó Phân viện trưởng

Đã tiến hành nghiệm thu, bàn giao hệ thống xử lý nước thải chế biến thực phẩm Phân viện CNM&BVMT xây dựng tại X22, TCHC với những nội dung sau:

I. KHỐI LƯỢNG CÁC CÔNG VIỆC BÊN B ĐÃ THỰC HIỆN

1. Phần xây dựng cơ bản:

- 01 bể gom nước thải
- 01 bể xử lý sinh học kỵ khí
- 01 bể xử lý sinh học hiếu khí và lọc cơ học
- Hệ thống hố ga, đường dẫn nước thải và lán nền khu xử lý

2. Đã chế tạo, mua sắm và lắp đặt các thiết bị

- Máy thổi khí 0,75HP- 220V: 01 cái
- Hệ thống phân phối khí : 01 hệ thống
- Máy bơm chịu môi trường 4m³/h : 01 cái
- Hệ thống van, khoá, đường điện,
- Tủ điều khiển trạm xử lý

2. Huấn luyện cho Cán bộ và Nhân viên của Xí nghiệp chế biến thực phẩm Công ty 22 vận hành sử dụng thành thạo hệ thống xử lý

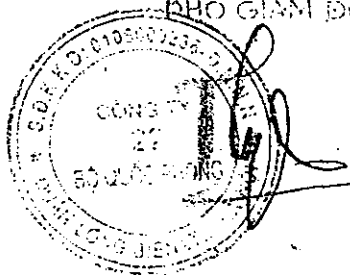
II. CHẤT LƯỢNG THIẾT BỊ VÀ CÁC HẠNG MỤC CÔNG TRÌNH:

- Hệ thống bể , các thiết bị được xây dựng, chế tạo và lắp đặt đảm bảo các thông số kỹ thuật đề ra và hoạt động tốt.

III. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Hệ thống xử lý nước thải Chế biến TP tại X 22, TCHC được xây dựng đảm bảo đầy đủ các yêu cầu kỹ thuật đề ra.
2. Hệ thống đã hoạt động tốt, Chất lượng nước sau xử lý đạt các chỉ tiêu theo TCVN 5945-1995.
3. Thống nhất nghiệm thu đưa hệ thống xử lý nước thải vào sử dụng và đề nghị hai bên thanh lý Hợp đồng.

ĐẠI DIỆN BÊN A
PHÓ GIÁM ĐỐC



Thượng tá: Nguyễn Chiến Thắng

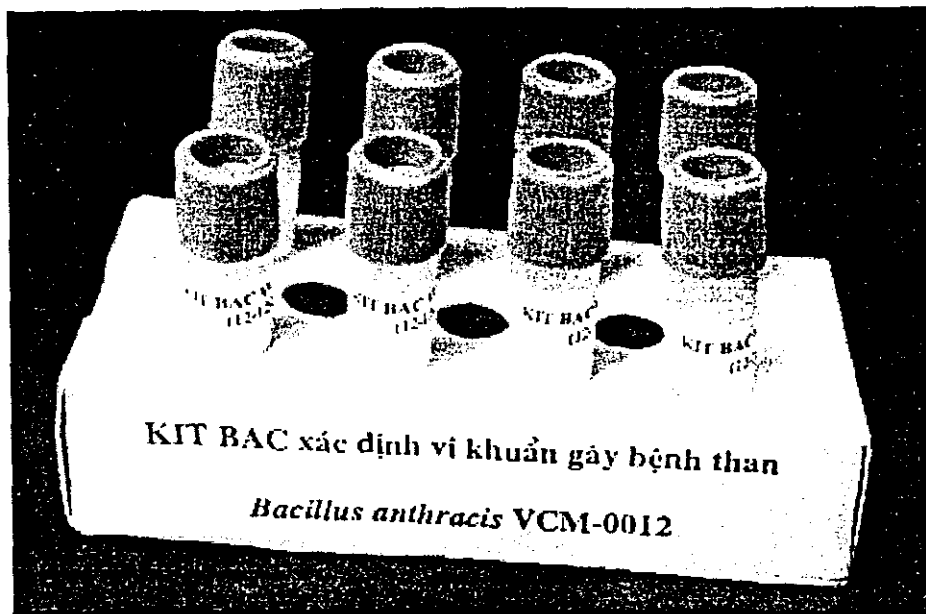
ĐẠI DIỆN BÊN B



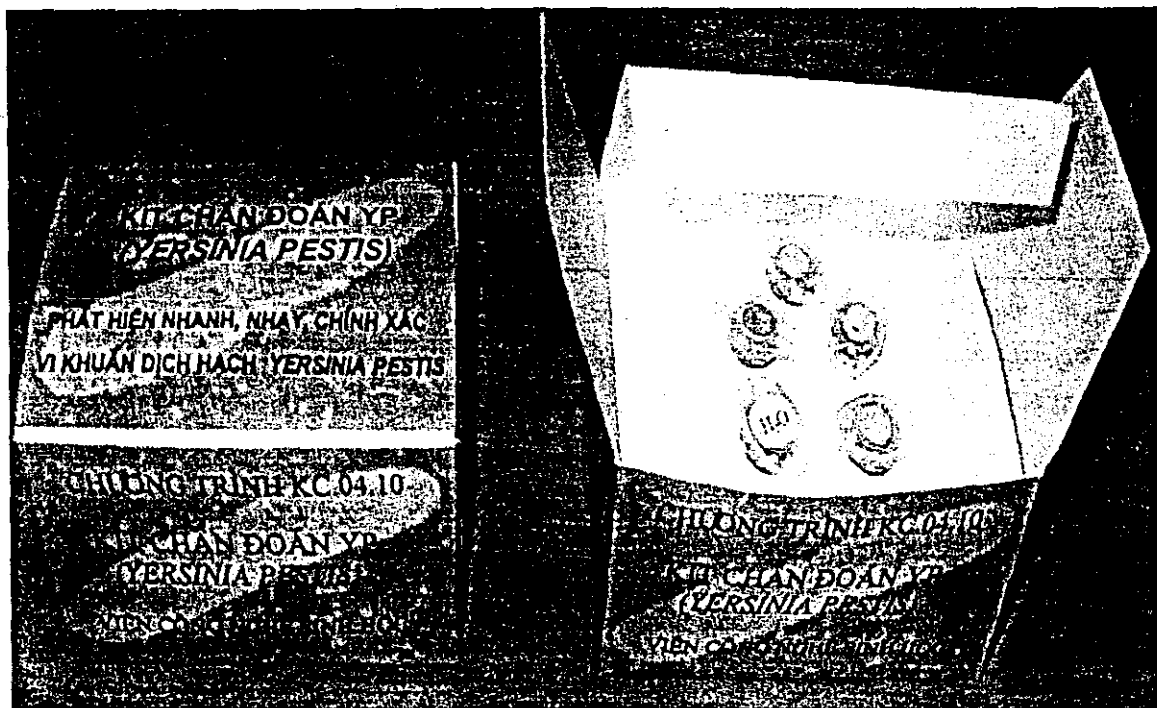
Đại tá: Đỗ Ngọc Khuê



PHỤ LỤC
CHƯƠNG 6



Hình 1. BacKit xác định vi khuẩn *B. anthracis* gây bệnh than



Hình 2. Bộ KIT chẩn đoán phân tử vi khuẩn dịch hạch *Yersinia pestis*

QUYẾT ĐỊNH CỦA VIỆN TRƯỞNG
VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC
về việc thành lập hội đồng nghiệm thu cấp cơ sở đề tài nhánh

VIỆN TRƯỞNG VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Căn cứ vào Quyết định số 21/KHCNQG - QĐ ngày 15 tháng 06 năm 1993 của Giám đốc Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia (nay là Chủ tịch Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam) quy định về nhiệm vụ, quyền hạn và tổ chức bộ máy của Viện Công nghệ Sinh học.

Xét đề nghị của Trưởng phòng Quản lý tổng hợp.

QUYẾT ĐỊNH

Điều 1: Thành lập hội đồng nghiệm thu cấp cơ sở đề tài nhánh " *Nghiên cứu chế tạo kit phát hiện nhanh, chính xác các vi sinh vật độc hại gây ô nhiễm môi trường không khí và nước*" thuộc đề tài KC04-10, gồm có các đồng chí:

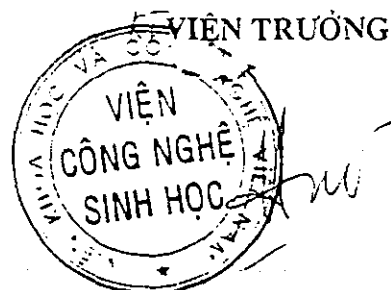
- | | | |
|---------------------------|-----------|-------------------|
| 1. PGS.TS. Lê Trần Bình | Viện CNSH | Chủ tịch hội đồng |
| 2. TS. Phan Văn Chi | Viện CNSH | Phản biện 1 |
| 3. PGS.TS. Lê Huy Chính | ĐH Y HN | Phản biện 2 |
| 4. TS. Nguyễn Văn Cường | Viện CNSH | Ủy viên, thư ký |
| 5. GS.TSKH. Đái Duy Ban | Viện CNSH | Ủy viên |
| 6. PGS.TS. Lại Thuý Hiền | Viện CNSH | Ủy viên |
| 7. PGS.TS. Nguyễn Văn Mùi | ĐHKHTN | Ủy viên |

Điều 2: Hội đồng tự giải thể khi kết thúc.

Điều 3: Các đồng chí có tên trên chịu trách nhiệm thi hành quyết định này

Nơi gửi:

- Như điều 3
- Lưu



PHÓ VIỆN TRƯỞNG

Trần Văn Hải

87

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

BIÊN BẢN NGHIỆM THU ĐỀ TÀI NHÁNH

1. *Tên đề tài:* Nghiên cứu chế tạo KIT phát hiện nhanh, chính xác các vi sinh vật độc hại gây ô nhiễm không khí và nước.
Chủ nhiệm đề tài nhánh: PGS. TS. Nguyễn Thị Ngọc Dao
Cơ quan chủ trì đề tài nhánh: Viện Công nghệ sinh học
2. *Quyết định thành lập hội đồng cấp cơ sở:*
QĐ Số 228/CNSH-QĐ, ngày 9 tháng 9 năm 2004.
3. *Ngày họp Hội đồng:* 13/9/2004
Địa điểm: Viện Công nghệ sinh học
4. *Số thành viên của Hội đồng theo quyết định:* 07
 - Số thành viên có mặt: 07
 - Số thành viên vắng mặt: 0
5. *Đại diện cơ quan chủ trì đề tài nhánh:* PGS.TS. Lê Trần Bình, Viện trưởng
6. *Người trình bày báo cáo:* PGS.TS. Ngô Đình Quang Bính
7. *Nhận xét đánh giá của các thành viên trong Hội đồng*
 - Phản biện 1: TS. Phan Văn Chi, Viện CNSH. Đề tài đã hoàn thành tốt các mục tiêu đề ra. Tuy nhiên báo cáo tổng hợp viết chưa tốt, còn nhiều lỗi cần phải sửa để hoàn chỉnh. Đề nghị đánh giá loại xuất sắc. (có bản nhận xét kèm theo)
 - Phản biện 2: PGS.TS. Lê Huy Chính, ĐH Y Hà Nội. Nhìn chung đề tài đã thu được các kết quả đáp ứng mục tiêu đề ra. Tuy nhiên các kết quả trên nếu được một cơ quan tin cậy xác nhận sẽ tốt hơn. Bản báo cáo cần phải được hoàn thiện về hình thức. (có bản nhận xét kèm theo)
 - PGS.TS. Nguyễn Văn Mùi. Các chủng vi sinh vật đã chọn để nghiên cứu là rất cần thiết trong thực tiễn. Phương pháp nghiên cứu (PCR) chính xác nên kết quả tin cậy. Kết quả của đề tài có nhiều khả năng ứng dụng thực tế. Đề tài đã hoàn thành tốt các mục tiêu đề ra, đặc biệt về đào tạo. Tuy nhiên để nâng cao độ tin cậy, các phép thử phải có đối chứng dương.
 - GS.TSKH Đái Duy Ban. Mục tiêu của đề tài rõ ràng, chế tạo 5 KIT chẩn đoán vi sinh vật độc hại. Các cán bộ tham gia có trình độ chuyên môn tốt nên kết quả tin cậy. Các tác giả nên có so sánh phương pháp PCR với các phương pháp khác ví dụ phương pháp miễn dịch để khẳng định tính ưu việt của phương pháp đã chọn. Cho biết thêm thông tin về tình hình nghiên cứu chế tạo các KIT này trên thế giới.
 - TS. Nguyễn Văn Cường. Đề tài đã hoàn thành tốt các mục tiêu đề ra. Một số nội dung như đào tạo, số công trình công bố vượt chỉ tiêu đăng ký. Tuy nhiên các thông số của bộ KIT chưa được thống nhất và xác định rõ ràng như: thời gian xác định, độ đặc hiệu, độ chính xác. Để xác định tính đặc hiệu cần tăng số lượng các chủng thử nghiệm. Nên tạo mẫu giả để kiểm định tính chính xác của phương pháp. Nếu so sánh được với một phương pháp khác thì tốt.
 - PGS.TS. Lại Thuý Hiền. Đề tài đã hoàn thành tốt nội dung nghiên cứu đề ra, một số nội dung còn vượt kế hoạch. Tuy nhiên phương pháp xác định vi sinh vật trong không khí chưa rõ. Các tác giả có thể cho biết giá thành phép thử là bao nhiêu ?



- PGS.TS. Lê Trần Bình. Sáng tạo của đề tài là đã chọn được phương pháp nghiên cứu an toàn (ADN) để nghiên cứu trên những đối tượng VSV rất nguy hiểm. Đã phát triển phương pháp để nhận biết các VSV trên từ không khí và nước: chế tạo bộ lọc VSV từ nước và không khí và tối ưu phản ứng PCR để nhận biết các VSV trên. Đề nghị chủ nhiệm đề tài viết lại báo cáo theo mẫu của Bộ KH&CN. Các kết quả nghiên cứu nên tổng hợp lại và theo quy định thống nhất. Nêu rõ nguồn gốc các chủng đã sử dụng.
- 8. Các thành viên trong đề tài đã trả lời thoả đáng các câu hỏi đặt ra
- 9. Kết quả bỏ phiếu đánh giá
 - Đạt: 07
 - Không đạt: 0
 (Có phiếu kèm theo)
- 10. Kết luận của Hội đồng
- 10.1. Đề tài đã hoàn thành tốt các mục tiêu đề ra cụ thể:
 - Đã thu thập được 5 chủng vi sinh vật độc hại (tự phân lập hoặc lấy từ Viện Vệ sinh dịch tễ Hà Nội)
 - Đã thiết kế, tổng hợp các môi và tối ưu được phản ứng PCR để nhận 5 chủng vi sinh vật độc hại.
 - Đã tạo được các bộ KIT gồm: i) bộ phận lọc VSV từ không khí và nước ii) phản ứng PCR để phát hiện 0 VSV độc hại: *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Salmonella paratyphis*, *Vibrio cholera* và *Shigella*
 - Các chỉ tiêu về đào tạo và công trình công bố đề tài đã hoàn thành vượt mức đề ra
- 10.2. Góp ý và đề nghị
 - Đề nghị viết lại báo cáo theo mẫu của Bộ KH&CN. Tổng hợp lại các kết quả nghiên cứu của từng nội dung.
 - Làm rõ nguồn gốc các chủng VSV chuẩn đã sử dụng
 - Nên thống nhất các thông số của từng bộ KIT: độ nhạy, thời gian xác định, mức độ đặc hiệu, đối chứng dương, âm trong từng bộ KIT. Nên bổ sung vào phần phụ lục quy trình sử dụng KIT.
 - Nếu tìm được một cơ quan có trách nhiệm xác nhận thì tốt.

Hà Nội, ngày 13 tháng 9 năm 2004

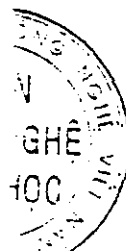
Thư ký hội đồng

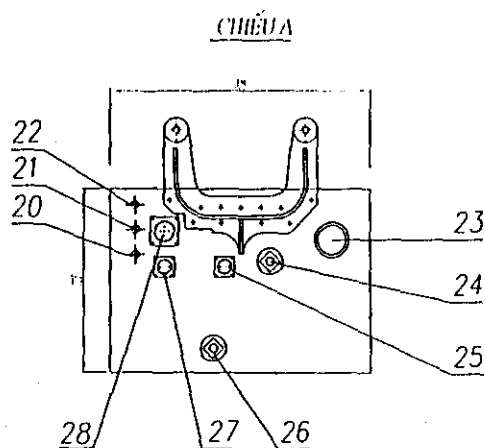
Chủ tịch Hội đồng

Nguyễn Văn Cường



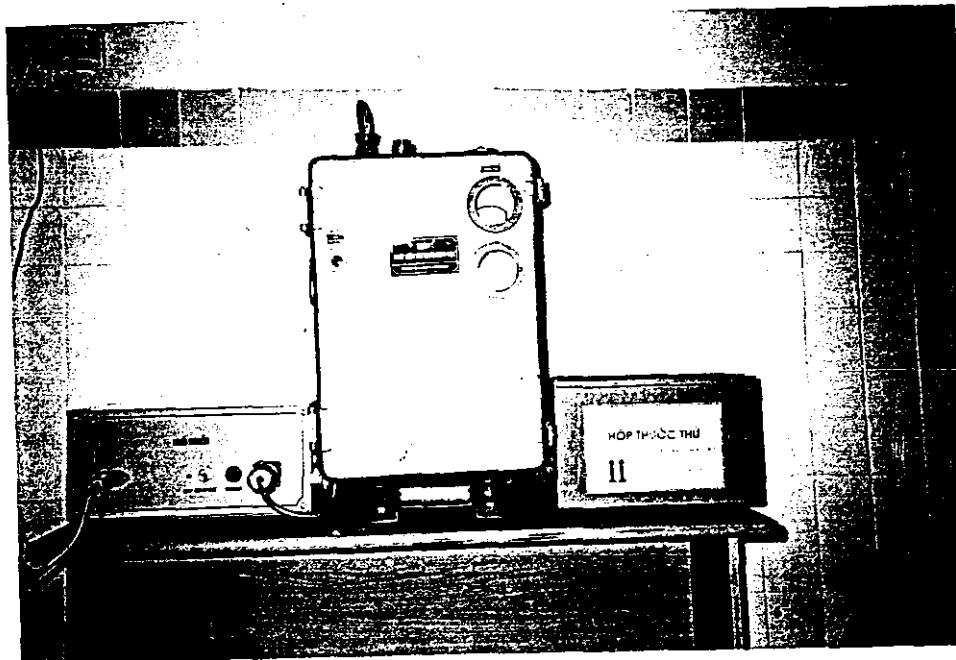
Bé Trần Bình





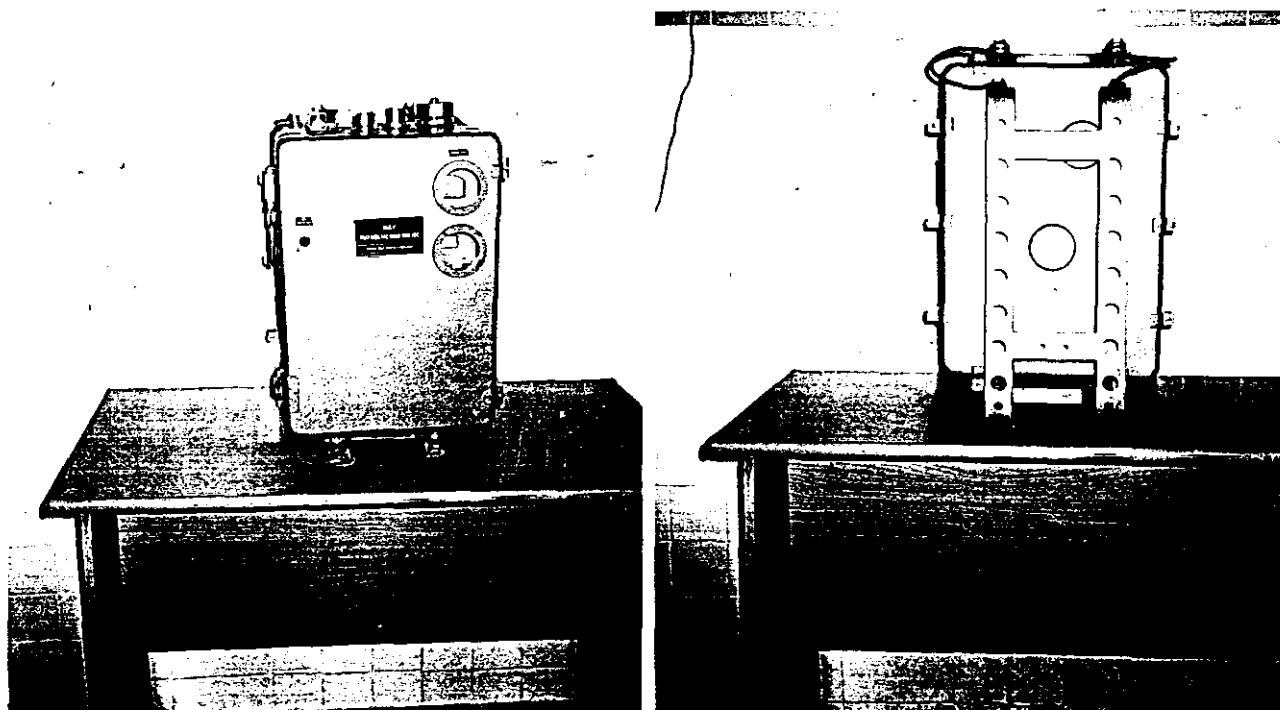
14	Nút cân kiểm tra các van	01	28	Ố cắm nguồn	01
13	Bộ phận hồi lưu	01	27	Ố cắm hộp tín hiệu rời	01
12	Van không khí	01	26	Ống nối đầu khí vào	01
11	Cách kẹp ống công tắc	01	25	Ố cứng cấp cầu	01
10	Van kế	01	24	Ống nối đầu khí ra	01
9	Ống công tắc	01	23	Miếng rời dung dịch thử	01
8	Ống kỹ mẫu	01	22	Cầu chì	01
7	Am pe kế	01	21	Cầu chì	01
6	Van lỏng	01	20	Công tắc dòng má mạch	01
5	Công tắc kim vào bộ phận chính	01	19	Nắp kiểu bán bộ	01
4	Các nút cân bộ phận định lượng	01	18	Công tắc cài	01
3	Đèn báo máy bơm	01	17	Bộ phận định lượng	01
2	Công tắc đèn vào sáng	01	16	Ring đuôi	01
1	Các cửa sổ quan sát	03	15	Khóa thời bình đuôi	01
Ký hiệu	Tên gọi	Số lượng	Ký hiệu	Tên gọi	Số lượng

				TUẦN 11 PHÁT HIỆN NHANH SỰ Ô NHIỆM MÔI TRƯỜNG KHÔNG KHÍ VÀ NƯỚC HƠI CÁC VSV ĐỘC HẠI	ĐT KC 04.10.11		
Chức vụ	Họ tên	Chữ ký	Ngày	BẢN LẤP (THÂN MÀY MỎ MÁP PHÍA TRƯỚC)	Số lượng	Kilogram	Tỉ lệ
Duyệt					01		M 1:4
1.kế	T.S Đinh Ngọc Tân				Tờ:	Số tờ:	
K.tra	Th.S Nguyễn Xuân Thanh				PHẦN VIỆN PHÒNG CHỐNG VŨ KHÍ NBC		
Về	K.S Bùi Bà Dung						



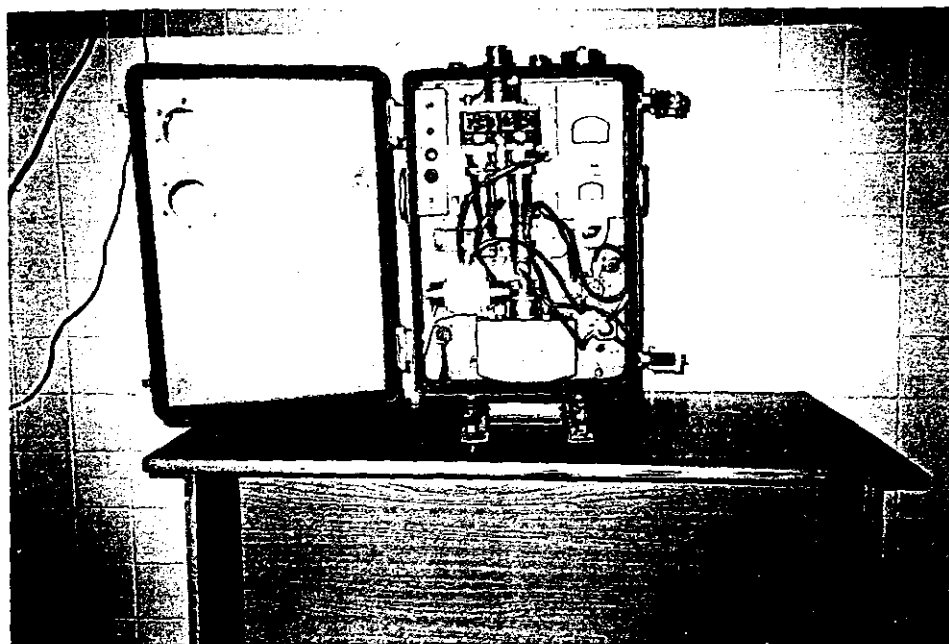
Ảnh 1. Sản phẩm đồng bộ của Đề tài

1. Thiết bị phát hiện tác nhân sinh học
2. Hộp thuốc thử dùng cho máy ACP

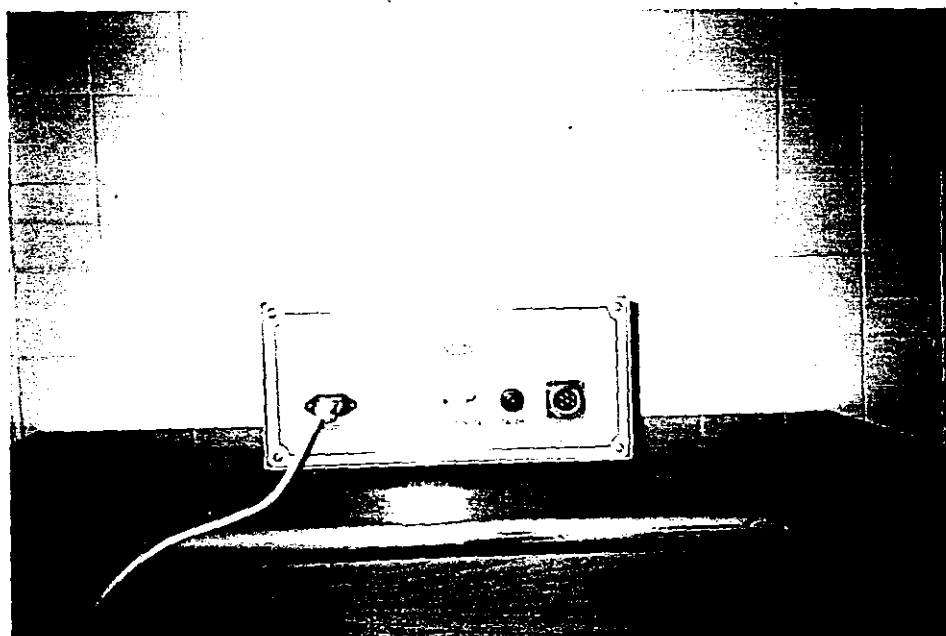


Ảnh 2. Thiết bị phát hiện tác nhân sinh học nhìn từ phía trước

Ảnh 3. Thiết bị phát hiện tác nhân sinh học nhìn từ phía sau



Ảnh 4. Cấu tạo của thiết bị phát hiện tác nhân sinh học nhìn từ phía trước



Ảnh 5. Bộ khởi nguồn của thiết bị



Ảnh 6. Hộp thuốc thử dùng cho máy ACP nhìn từ phía trên



Ảnh 7. Hộp thuốc thử dùng cho máy ACP trạng thái khai triển

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

**KIỂM ĐỊNH KẾT QUẢ XÂY DỰNG MÔ HÌNH THỬ NGHIỆM BẤT HOẠT VI SINH
ĐỘC HẠI TRONG MÔI TRƯỜNG ĐẤT, NƯỚC, KHÔNG KHÍ, THỰC PHẨM
THUỘC ĐỀ TÀI (KC 04-10-10)**

Hà nội, ngày 25 tháng 8 năm 2004

Cơ quan kiểm nghiệm : Bộ môn vi sinh vật- Học Viện Quân y

Địa điểm kiểm định: Khoa vi sinh vật- Viện Vệ sinh phòng dịch Quân đội

Thời gian kiểm định: 1/08/2004 – 20/08/2004

1. Các yếu tố cần thiết phục vụ nghiên cứu đề tài:

- Hệ thống phòng thí nghiệm an toàn mức độ II và trang thiết bị đủ đáp ứng yêu cầu cho nghiên cứu đề tài.
- Một số phòng xét nghiệm đã được sửa chữa nhỏ phục vụ cho mục đích nghiên cứu khử trùng các mầm bệnh nguy hiểm. Một số phương tiện làm việc như: xây dựng buồng sinh học, máy tạo khí dung, phương tiện thu thập mẫu để đánh giá hiệu quả khử trùng không khí, đất đã được cải tiến để nâng cao chất lượng của thử nghiệm.
- Đội ngũ cán bộ có trình độ chuyên môn, kinh nghiệm trong phòng chống các vụ dịch tối nguy hiểm (dịch hạch, tả, than, thương hàn, màng não cầu...), đủ khả năng thực hiện nội dung nghiên cứu của đề tài.

2. Các chủng vi sinh vật gây bệnh

Khoa Vi sinh vật Viện Vệ sinh phòng dịch hiện đang lưu giữ các chủng dưới dạng đông khô để thực hiện nội dung của đề tài. Cụ thể như sau :

- 3 chủng dịch hạch do Viện Pasteur Tây nguyên cung cấp phân lập từ năm 1989 và 1998 có đầy đủ các đặc tính sinh học

- 3 Chủng trực khuẩn than : 01 phân lập từ Điện biên, 02 chủng do Học viện Quân y cung cấp trong đó 01 chủng có độc lực. Cả 3 chủng đều có đông khô dưới dạng bào tử (spore)
- 05 chủng Salmonella typhi được phân lập từ các khu vực An giang, Hoà bình, Điện biên
- 9 Chủng phẩy khuẩn tả phân lập từ cộng đồng dân cư khu vực Thành phố Hồ Chí Minh từ năm 1990.

Số lượng và các dạng sinh học của chủng vi sinh vật như trên phù hợp với nội dung nghiên cứu, thực hiện đề tài.

3. Phương pháp thử nghiệm :

1. Phương pháp thử nghiệm các quy trình diệt khuẩn (bằng hoá chất, bằng nhiệt) thực hiện theo thường quy kiểm định các chất có tác dụng diệt khuẩn (bacteriocide) hoặc ức chế vi khuẩn hiện đang áp dụng tại các phòng thí nghiệm.
2. Trong nghiên cứu này, tác giả đã xây dựng 4 mô hình thử nghiệm khử trùng, tẩy uế môi trường đất, nước, không khí, thực phẩm trong điều kiện để phòng môi trường sinh thái bị ô nhiễm với thiết bị tạo khí dung vi khuẩn trong buồng sinh học là hoàn toàn hợp lý. Các thí nghiệm gây ô nhiễm môi trường bằng chủng vi sinh vật không được phép thử thực địa mà chỉ có thể thực hiện trong buồng sinh học.

4. Kết quả mô hình thử nghiệm khử trùng tẩy uế vi sinh vật độc hại

Trong các quy trình khử trùng, tẩy uế vi khuẩn độc hại thì bao giờ người ta cũng dùng nồng độ diệt khuẩn đối với tác nhân có sức bền vững, kháng hoá chất mạnh nhất. Vì vậy, để kiểm tra kết quả của đề tài chỉ thử ngẫu nhiên bằng hoá chất với các mầm bệnh Tả, Thương hàn và tập trung nhiều hơn đối với trực khuẩn than, B.anthraxis, dạng hoạt động và dạng bào tử vì vi khuẩn này có khả năng tồn tại lâu nhất ngoài môi trường và cũng khó diệt hơn cả.

Thử nghiệm để kiểm định được tiến hành với phương pháp, vật liệu, quy trình đúng như đề tài đã tiến hành. Kết quả kiểm tra phù hợp với số liệu báo cáo của đề tài (Xem phần phụ lục)

Kết luận:

Tác giả đã xây dựng mô hình thử nghiệm bất hoạt vi sinh vật độc hại gây ô nhiễm thực nghiệm trong buồng sinh học làm cơ sở triển khai các nghiên cứu gần giống điều kiện thực địa (do không được phép và không thể triển khai nghiên cứu thực địa với mầm bệnh). Các số liệu nghiên cứu đảm bảo tính khách quan và là cơ sở khoa học cho xây dựng các qui trình khử trùng, tẩy uế mầm bệnh độc hại phù hợp với điều kiện khả năng và trang thiết bị hiện có trong Quân đội hiện nay.

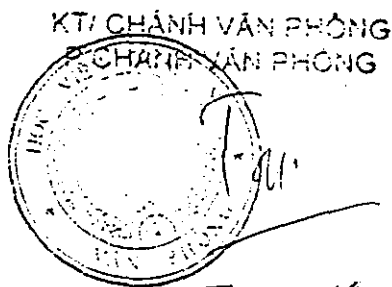
Kiểm định ngẫu nhiên một số mẫu và quy trình cho thấy với các nồng độ hoá chất, nhiệt độ, thời gian, đã thử đều có tác dụng diệt mầm bệnh, kết quả phù hợp với số liệu của đề tài.

Hà nội, ngày 25 tháng 8 năm 2004

BỘ MÔN VI SINH VẬT- HVQY

THỦ TRƯỞNG HVQY

Xác'nhos chos ký' cũ'
ĐB-STR Hoàng Ngọc Hiến
Chos nh'ên B.M. Vĩnh Lũy - HVQY



Thượng tá
SS: NGUYỄN BÁ TRÍ

PGS, TS. Hoàng Ngọc Hiến

PHỤ LỤC KẾT QUẢ KIỂM ĐỊNH :

BẢNG 1. KẾT QUẢ KIỂM TRA KHỬ TRÙNG, TẮY UẾ BẰNG PHƯƠNG PHÁP SỬ DỤNG CÁC CHẤT HOÁ HỌC

Tác nhân vi sinh vật	Môi trường khử trùng	Hoá chất khử trùng	Nồng độ hoá chất	Nồng độ vi khuẩn thử (CFU/ ml)	Thời gian khử trùng	Số vi khuẩn còn sống (CFU)/10g
Phẩy khuẩn tả, V. cholerae	Nước	Chlor hoạt tính	0,5 mg/ lít	1×10^5	30 phút	-----
Vi khuẩn thương hàn (Salmonella)	Nước	Chlor hoạt tính	1,25 mg/ lít	1×10^5	60 phút	-----
		Chlor hoạt tính	0,5 mg/ lít	1×10^5	30 phút	-----
Bào tử than (B. anthracis spores)	Đất	Formaldehyde	4% (50 lít/ m ²)	10^8	12 giờ	1-3 CFU (ở độ sâu 20 cm)
Bào tử than và than thể dinh dưỡng	Không khí	Formaldehyde	0,72g/ m ³	10^9	120 phút	-----

Ghi chú :

-----: Không có vi khuẩn sống sót trong 10g (hoặc 10ml) chất thử

BẢNG 2. MỘT SỐ KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM BẰNG PHƯƠNG PHÁP BẮT HOẠT NHIỆT VI SINH VẬT ĐỘC HẠI

Tác nhân vi sinh vật	Môi trường khử trùng	Nhiệt độ	Nồng độ vi khuẩn (CFU/ ml)	Thời gian khử trùng	Số vi khuẩn còn sống (CFU)/10g
Phẩy khuẩn tả (V. cholerae)	Nước	100°C	10 ⁹	3 phút	-----
Vi khuẩn thương hàn (Salmonella)	Nước	100°C	10 ⁹	5 phút	-----
Bào tử than (B. anthracis spores) và than thể dinh dưỡng	Thực phẩm	100°C	10 ⁸	20-25 phút	Trong 3 lần thử có 1 lần còn 2,3.10 ² /10ml thực phẩm

Ghi chú :

-----: Không có vi khuẩn sống sót trong 10g (hoặc 10ml) chất thử

VIỆN VỆ SINH PHÒNG DỊCH QUÂN ĐỘI
KHOA VI SINH

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG LỌC VI TRÙNG CỦA CÁC LOẠI KHẨU TRANG

I/ Mẫu nghiên cứu:

Mẫu khẩu trang: 05 loại (01 loại khẩu trang gấp ký hiệu M1 và 04 loại khẩu trang định hình M 403; M405; M407; M409)

II/ Trang bị sử dụng trong nghiên cứu:

Hotte vô trùng loại kích cỡ 1m³
Máy phun khí dung, tạo dung dịch dạng sương kích cỡ hạt 10 micron
Máy hút chân không loại 5lít/ phút và 100 lít/phút
Hệ thống lấy mẫu vô trùng (Phương pháp 2 bình), xử lý tiệt trùng bằng autoclave với nhiệt độ 121°C/ 20-30 phút.
Hệ thống đo lưu tốc khí với hệ thống van điều chỉnh.
Giá cố định các loại mẫu đo

III/ Hoá chất môi trường :

- Dung dịch formaline 36%
- Thạch dinh dưỡng, thạch máu
- Nước muối sinh lý 0,85% tiệt trùng
- Canh thang dinh dưỡng.
- Chủng vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu: Staphylococcus aureus, vi khuẩn Gram (+), hình cầu, kích cỡ 1 µm

IV/ Phương pháp tiến hành:

- Phương pháp đánh giá độ vô khuẩn của hệ thống không khí trong hotte và hệ thống lấy mẫu khí có mẫu thử và không có mẫu đo ở 2 tốc độ hút khác nhau. Hệ thống hotte được tiệt trùng bằng dung dịch xông formaline 36%, số lượng 10-12 g/ m³
 - + Loại vật liệu lọc hút ở lưu lượng 2,5 lít/phút trong thời gian 10 phút
 - + Loại khẩu trang, bán mặt nạ: hút ở lưu lượng 30 lít/ phút trong thời gian 10 phút
- Phương pháp xác định nồng độ tụ cầu trong 1m³ không khí:
Máy phun khí dung chứa 5ml (4 Macfaland) canh khuẩn, phun vào hotte trong thời gian 10 phút..Sau khi phun xong đặt đĩa thạch 4 góc và điểm giữa của hotte, mỗi vị trí 2 đĩa, thời gian đặt 15 phút, ủ các đĩa thạch ở nhiệt độ 37°C/ 24 giờ, tính số khuẩn lạc trung bình trên 2 đĩa theo vị trí, từ đó tính số lượng vi khuẩn trong 1m³ không khí theo phương pháp của tác giả Rober Koch.
- Phương pháp lấy mẫu không khí và đánh giá kết quả ủ của các mẫu đo:
Không khí từ buồng sinh học hút qua hệ thống giá đỡ kẹp khẩu trang được thu hồi vào 2 bình nước muối vô trùng được nối liên tiếp với nhau, Sau khi hút xong lấy 0,1 ml nước muối ở mỗi bình cấy vào môi trường thạch dinh dưỡng, kích cỡ đường kính đĩa thạch 9 cm, ủ đĩa thạch ở 37°C/ 24-48 giờ. Đếm số khuẩn lạc có trên đĩa. Xác định các dạng khuẩn lạc có trên đĩa thạch. Mỗi dạng khuẩn lạc cho 3 khuẩn lạc, tăng sinh trên môi trường thạch dinh dưỡng sau 24 giờ, bắt khuẩn lạc xác định lại tụ cầu vàng trên thanh định danh vi khuẩn ID 32 STAPH, đọc kết quả trên máy mini API, nếu kết quả trả lời không phải S.aureus, thì các dạng khuẩn lạc này bị loại bỏ không tính, đồng thời kiểm tra lại độ vô khuẩn của hotte.

Chú ý: Hệ thống hút không khí đảm bảo tuyệt đối vô trùng

V. KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM:

Bảng 1: KẾT QUẢ THỬ ĐÁNH GIÁ KHÍ KHÔNG CÓ KHẤU TRANG

Tốc độ hút: 30 lít KK / phút

Chủng vi khuẩn thử: Tụ cầu vàng, kích cỡ 1µm.

Thời gian hút: 10 phút. Lượng không khí hút qua : 300 lít

STT	SỐ ML PHUN KHÍ DUNG	NỒNG ĐỘ VI KHUẨN TRONG BOX SINH HỌC	KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM			GHI CHÚ
			Bình lấy mẫu số 1 (CFU/ ml)	Bình lấy mẫu số 2 (CFU/ ml)	Tổng số vi khuẩn qua màng (CFU/ 300 lít)	
1	05	$4,5 \times 10^{10}$	$1,15 \times 10^7$	00	$1,15 \times 10^{10}$	Thử không có hệ thống màng lọc
2	05	$4,5 \times 10^{10}$	00	00	00	Thử qua hệ thống màng lọc 0,45 µm

Kết quả bảng trên cho thấy:

Thử nghiệm không có hệ thống giấy lọc nồng độ tụ cầu (S.aureus) là $1,25 \times 10^8$ CFU/ 25 lít không khí. Trong khi đó thử qua màng lọc của hãng Satorius (Đức) có kích thước 0,45 µm không có vi khuẩn nào có thể lọt qua, điều này chứng minh rằng Hệ thống khử trùng từ buồng sinh học đến hệ thống phun vi khuẩn, bình thu thập mẫu đảm bảo sự thông suốt, trong hệ thống

BẢNG 2: KẾT QUẢ THỬ ĐÁNH GIÁ SẢN PHẨM KHẨU TRANG

Tốc độ hút: 30 lít KK / phút

Chủng vi khuẩn thử: Tụ cầu vàng, kích cỡ 1µm.

Thời gian hút: 10 phút. Lượng không khí hút qua : 300 lít

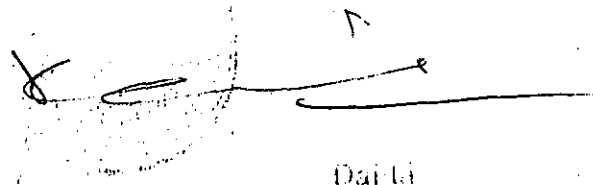
TT	TÊN LOẠI KHẨU TRANG	SỐ MẪU THỬ	NỒNG ĐỘ VI KHUẨN TRONG BOX SINH HỌC	SỐ ML VI KHUẨN PHUN VÀO BUỒNG SINH HỌC	KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM			GHI CHÚ
					Bình lấy mẫu số 1 (CFU/ ml)	Bình lấy mẫu số 2 (CFU/ ml)	Tổng số vi khuẩn qua màng (CFU/ 300 lít không khí)	
1	M403	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	đạt
2	M405	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	đạt
3	M407	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	đạt
4	M409	Mẫu 1	$4,5 \times 10^9$	05	119	00	$1,19 \times 10^5$	Không đạt
		Mẫu 2	$4,5 \times 10^9$	05	159	00	$1,59 \times 10^5$	Không đạt
		Mẫu 3	$4,5 \times 10^9$	05	161	00	$1,61 \times 10^5$	Không đạt
5	M1	03	$4,5 \times 10^9$	05	00	00	00	đạt

Nhận xét: Mẫu M 403, M 405 ; M407 và màng gấp giữ được vi khuẩn có kích thước 1µm với tốc độ hút 30 lít/phút với thời gian 10 phút.

- Mẫu M 409 không đạt tiêu chuẩn lượng vi khuẩn qua mạng giao động từ $1,19 \times 10^5 - 1,6 \times 10^5$ vi khuẩn sau 10 phút, lưu tốc 300 lít/ 10 phút.

Ngày 9 tháng 09 năm 2004

VIỆN TRƯỞNG VIỆN VSPDQH



Đại tá

B. NGUYỄN XUÂN THÀNH

CHỦ NHIỆM KHOA VSV

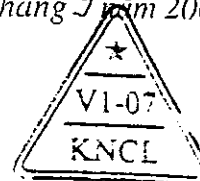


TS. ĐOÀN TRỌNG TUYÊN

Số 146/KĐ-NBC

Ngày 27 tháng 9 năm 2004

PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM ĐỊNH*



Đơn vị gửi mẫu: Đề tài KC. 04.10.12

Đơn vị kiểm tra: Phòng khí tài - Phân viện Phòng chống vũ khí NBC

Tên mẫu: Khẩu trang lọc vi sinh vật

Số mẫu: 04 loại mẫu (03 loại Việt Nam sản xuất, 01 loại của Mỹ), mỗi loại 03 mẫu

Yêu cầu kiểm tra: Xác định một số chỉ tiêu kỹ thuật

KẾT QUẢ KIỂM TRA

STT	Chỉ tiêu kỹ thuật	Đơn vị	Khẩu trang Việt Nam			Khẩu trang N-95(Mỹ)	Ghi chú
			M1	M401	M403		
1	Khối lượng	gam	18-19	11-12	8-9	10-11	Phương pháp cân
2	Độ giảm trường nhìn	%	≤ 7,0	≤ 8,0	≤ 5,2	≤ 6,2	TCVN 3154:1979
3	Sức cản hô hấp	Pa	70-75	60-65	60-65	30-40	GOST 12.4.005-85
4	Hiệu suất lọc sương dầu	%	≥ 95	≥ 95	≥ 95	≥ 95	GOST 20810-75



NGƯỜI KIỂM TRA

Trung úy KS. Nguyễn Hải Triều

TRƯỞNG PHÒNG KTĐP

Thượng tá ThS. Thân Thành Công

PHÂN VIỆN TRƯỞNG

Đại tá TS Lưu. Tam Bát

Số 147/KĐ-NBC

Ngày 27 tháng 9 năm 2004

PHIẾU KẾT QUẢ KIỂM ĐỊNH*

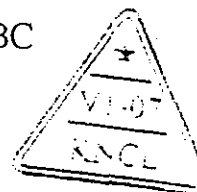
Đơn vị gửi mẫu: Đề tài KC. 04.10.12

Đơn vị kiểm tra: Phòng khí tài - Phân viện Phòng chống vũ khí NBC

Tên mẫu: Bán mặt nạ lọc vi sinh vật

Số mẫu: 03

Yêu cầu kiểm tra: Xác định một số chỉ tiêu kỹ thuật



KẾT QUẢ KIỂM TRA

STT	Chỉ tiêu kỹ thuật	Đơn vị	Kết quả kiểm tra	Ghi chú
1	Khối lượng	gam	135-137	Phương pháp cân
2	Độ giảm trường nhìn	%	≤ 15.8	TCVN 3154:1979
3	Sức cản hô hấp - Khi hít vào - Khi thở ra	Pa	50-55 25-30	GOST 12.4.005-85
4	Hiệu suất lọc sương dầu	%	≥ 99,95	GOST 20810-75



NGƯỜI KIỂM TRA

Trung úy KS. Nguyễn Hải Triều

TRƯỞNG PHÒNG KTĐP

Thượng tá ThS. Thân Thành Công

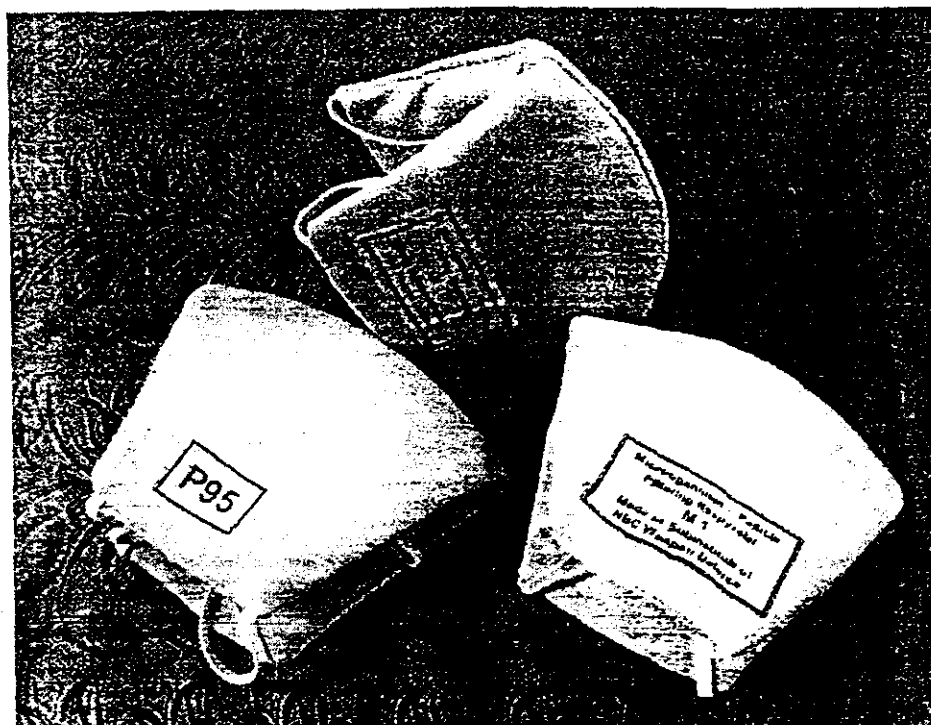
PHÂN VIỆN TRƯỞNG

Đại tá, TS Lưu Tam Bát

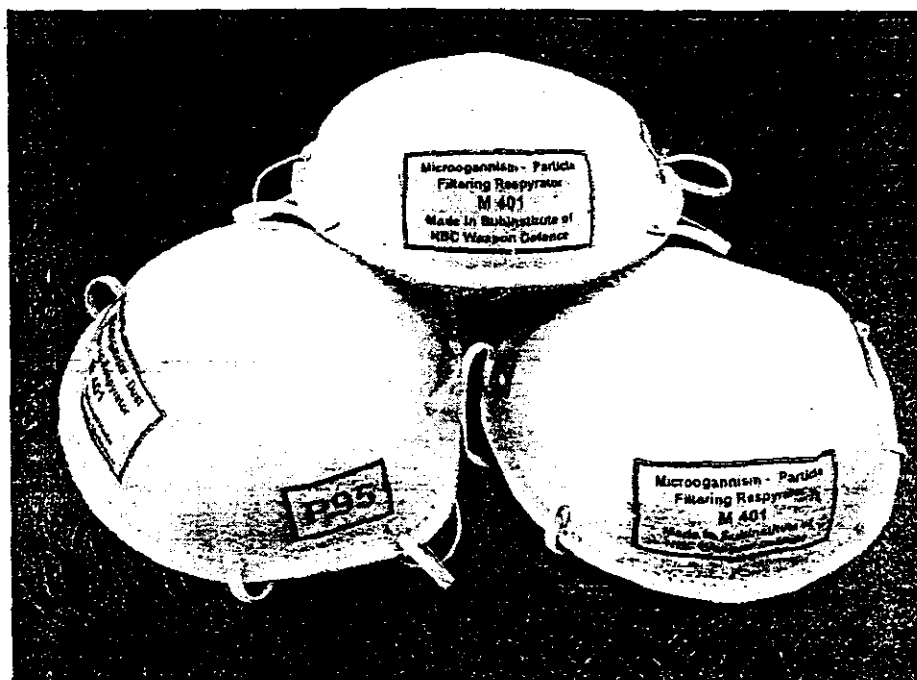
* - Kết quả chỉ có giá trị cho mẫu thử nghiệm

Bảng 3.10. Chỉ tiêu kỹ thuật của khẩu trang lọc vi sinh vật

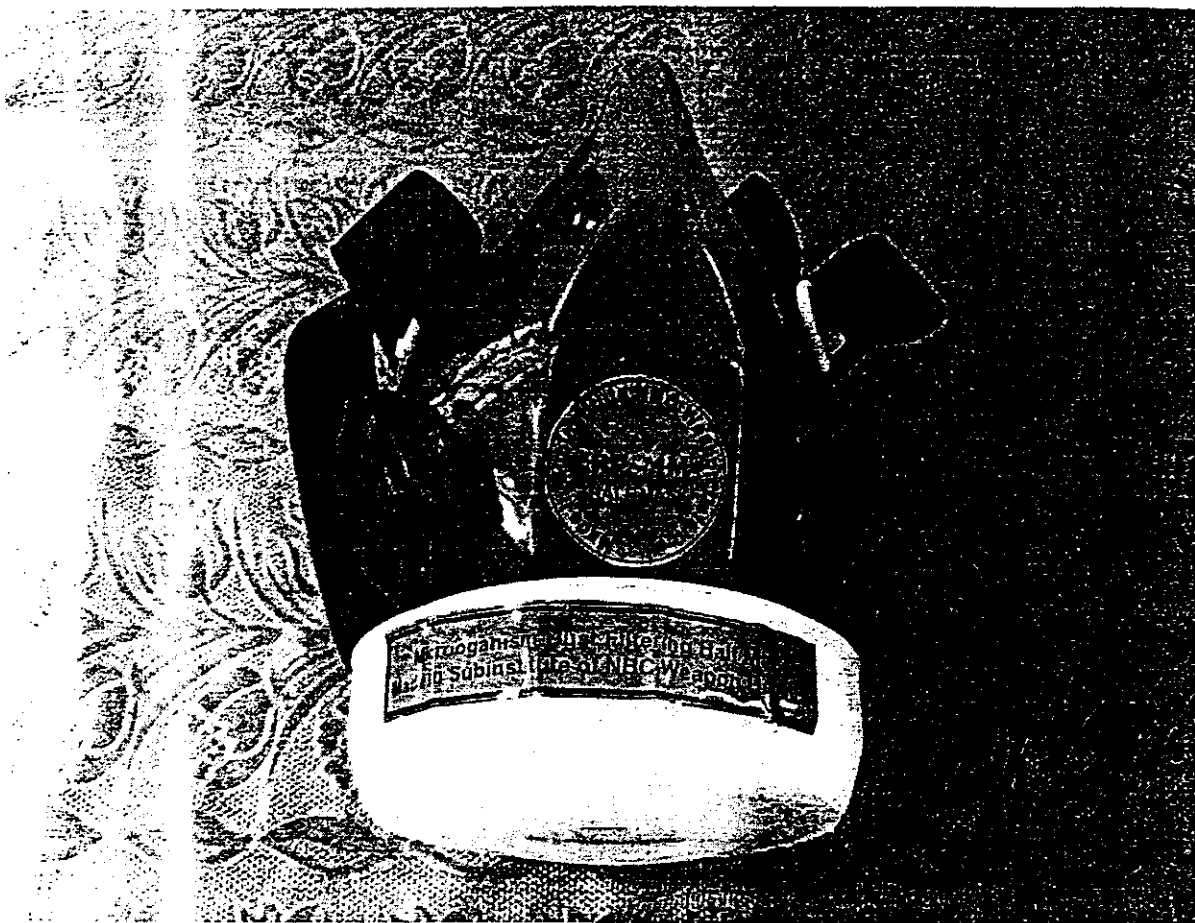
TT	Chỉ tiêu kỹ thuật	Khẩu trang Việt Nam					Khẩu trang N - 95 (Mỹ)
		M1	M401	M403	M405	M407	
1	Khối lượng (gam)	18 - 19	11-12	8-9	11-12	10-11	10-11
2	Độ giảm trường nhìn (%)	≤ 7	≤ 8,0	≤ 5,2	≤ 9,2	≤ 9,2	≤ 6,2
3	Sức cản hô hấp (Pa)	70 - 75	60-65	60-65	55-60	60-65	30-40
4	Hiệu suất lọc sương dầu (%)	≥ 95	≥ 95	≥ 95	≥ 95	≥ 99,93	≥ 95
5	Hiệu suất lọc vi khuẩn (%)	100	100	100	100	100	----



Hình 3.2. Khẩu trang gấp lọc vi sinh vật M 1



Hình 3.3. Khẩu trang định hình lọc vi sinh vật M 401



Hình 3.9. Bán mặt nạ lọc vi sinh vật RP - IM