TRUNG TÂM KHOA HỌC KỸ THUẬT CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ
PHÂN VIỆN CÔNG NGHỆ MỚI VÀ BẢO VỆ MÔI TRƯỜNG

----------o0o----------

BÁO CÁO TỔNG KẾT KHOA HỌC VÀ KỸ THUẬT

(Đề tài nhánh cấp Nhà nước)

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỂ XỬ LÝ NƯỚC THẢI CÓ CHỨA CHẤT ĐỘC HẠI LÀ THÀNH PHẦN THUỐC PHÓNG, THUỐC NỔ, THUỐC GỢI NỔ, THUỐC NHUỘM VŨ KHÍ VÀ NHIÊN LIỆU TÊN LỬA

(Đề tài cấp Nhà nước: Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm VSV độc hại KC - 04 - 10)

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI
Đại tá, Ths. Lê Thị Đức

Hà Nội - 9/2004

5445 - 5
818/05

BÁO CÁO KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU KHOA HỌC

Tên đề tài nhánh: *" Nghiên cứu áp dụng công nghệ sinh học để xử lý nước thải có chứa chất độc hại là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ, thuốc nhuộm vũ khí và nhiên liệu tên lửa"*

Thuộc đề tài cấp Nhà nước: *"Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm VSV độc hại"*

Cơ quan chủ quản: Bộ Khoa học Công nghệ

Cơ quan chủ trì: Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường, TT KHKT - CNQS
Số 8, Láng Hạ, Ba Đình, Hà Nội

Chủ nhiệm đề tài nhánh: Đại tá Lê Thị Đức

Học vị: Thạc sỹ

Chức vụ: Trưởng phòng Công nghệ Sinh học

Những người thực hiện:

1. Ths. Lê Thị Đức	Trưởng phòng CNSH - Pv CNM & BVMT
2. GS. TSKH. Đỗ Ngọc Khuê	Phó phân viện trưởng - Pv CNM &BVMT
3. TS. Nguyễn Văn Đạt	Trưởng phòng CNMT - Pv CNM & BVMT
4. Ths. Nguyễn Thị Nhung	Cán bộ nghiên cứu P. CNSH - Pv CNM & BVMT
5. Ths. Nguyễn Tâm Thư	Cán bộ nghiên cứu P. CNSH - Pv CNM & BVMT
6. CN. Trần Thị Thu Hường	Cán bộ nghiên cứu P. CNSH - Pv CNM & BVMT
7. CN. Bùi Thu Hà	Cán bộ nghiên cứu P. CNSH - Pv CNM & BVMT
8. CN. Lê Huy Hoàng	Cán bộ nghiên cứu P. CNSH - Pv CNM & BVMT
9. Ths. Nguyễn Lê Tú Quỳnh	Cán bộ nghiên cứu P. CNSH - Pv CNM & BVMT
10. CN. Đỗ Bình Minh	Cán bộ nghiên cứu P. CNMT - Pv CNM & BVMT

Những cơ quan phối hợp chính:

- Các nhà máy, cơ sở sản xuất thuộc Bộ Quốc phòng: Z121, Z115, Z192, Z113...
- Phòng Công nghệ Bảo vệ Môi trường - Phân viện CNM & BVMT.

Thời gian thực hiện: 10/2001 - 10/2004

Ngày 10 tháng 9 năm 2004

CƠ QUAN CHỦ TRÌ	CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI	CHỦ NHIỆM NHÁNH
Phân viện trưởng		
Đại tá Phạm Sơn Dương	*Đại tá GS.TSKH Đỗ Ngọc Khuê*	*Đại tá Ths. Lê Thị Đức*

CÁC CHỮ VIẾT TẮT TRONG TÀI LIỆU

2A4,6DNT	2-amino-4,6-dinitrotoluen
4A2,6DNT	4-amino-2,6-dinitrotoluen
2A4NT	2-amino-4-nitrotoluen
4A2NT	4-amino 2-nitrotoluen
AS	Axit Styphnic
ATC	Chu trình axit tricacboxylic (chu trình Krebs)
ATO	5-amino-1,2,4-triazol-3-one
C	Cacbon
COD	Nhu cầu ôxy hoá học
BĐT	Bột đậu tương
BOD_5	Nhu cầu ôxy sinh hoá
N	Nitơ
DNT	Dinitrotoluene
HMX	Octohydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetraazocine
LC_{50}	Lethal concentration - nồng độ gây chết 50% sinh vật
LD_{50}	Lethal dose - liều gây chết 50% sinh vật
MNT	Mononitrotoluene
NC	Nitrocelluloza
NB	Nitrobenzoat
NG	Nitroglyxerin
NP	Nitrophenol
NT	Nitrotoluen
NTO	5-nitro-1,2,4-triazol-3-one
OD	Mật độ quang học
RDX	Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine
TAT	2,4,6-triaminotoluen
TNB	Trinitrobenzen
TNT	Trinitrotoluen
VSV	Vi sinh vật

BÀI TÓM TẮT

" Nghiên cứu áp dụng CNSH để xử lý nước thải có chứa chất độc hại là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ, thuốc nhuộm đen vũ khí và nhiên liệu tên lửa" là một nhánh của đề tài Nhà nước KC.04.10: *"Nghiên cứu CNSH xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm VSV độc hại"*. Mục tiêu chính của đề tài nhánh là ứng dụng thành tựu Công nghệ vi sinh (dựa trên khả năng phân huỷ chất thải của VSV trong tự nhiên) để xây dựng quy trình công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm các chất độc hại khó phân huỷ của công nghiệp quốc phòng (TNT, DNT, AS... và các hợp chất độc hại khác). Các phương pháp nghiên cứu để thực hiện đề tài là các phương pháp nuôi cấy VSV cơ bản, các phương pháp nghiên cứu sinh phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm bởi VSV và các phương pháp phân tích nồng độ các chất độc hại trong môi trường nước [4, 6, 12, 19]. Các phương pháp đều cho kết quả đáng tin cậy.

Sau 3 năm nghiên cứu đề tài đã thu được một số kết quả sau:

- Đã đi khảo sát, thực địa và thu thập mẫu tại một số cơ sở sản xuất quốc phòng. Từ 105 mẫu đất, nước nhiễm thuốc súng đạn lâu năm đã phân lập được 113 chủng VSV có khả năng chuyển hoá và phân huỷ các chất nitro độc hại là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ như TNT, DNT, AS, NG, NC... ở các mức độ khác nhau.

- Sau hàng loạt các thí nghiệm sàng lọc trong 113 chủng VSV đã chọn được 42 chủng có khả năng chuyển hoá ≥ 50% các chất độc hại đặc thù quốc phòng có trong nước thải, trong đó số chủng có khả năng phân huỷ TNT là 7 chủng, DNT là 12 chủng, AS là 7 chủng, NC là 6 chủng và NG là 10 chủng. Các chủng VSV này được thuần chủng, giữ giống trên môi trường thạch nghiêng có thành phần thích hợp, bảo quản trong tủ lạnh ở 4^0C.

- Đã nghiên cứu các yếu tố ngoại cảnh ảnh hưởng tới sự sinh trưởng, phát triển và khả năng phân huỷ các chất ô nhiễm độc hại của các VSV đã tuyển chọn.

- Lần đầu tiên ở trong nước đã chế tạo được 4 loại chế phẩm VSV có nồng độ VSV đạt 10^9 - 10^{10} CFU/g chế phẩm, có khả năng chuyển hoá và phân huỷ được trên 85% chất ô nhiễm là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ và các chất ô nhiễm đặc thù quốc phòng khác (TNT, DNT, AS, NG) có trong nước thải. Thời gian bảo quản chế phẩm ở nhiệt độ phòng tốt nhất là 6 tháng kể từ khi sản xuất .

- Đã xây dựng được 6 quy trình xử lý các loại nước thải từ các quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ, quá trình nhuộm đen vũ khí và phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng (chất O). Nước thải sau khi xử lý theo các quy trình này đều đạt tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN). Giá thành xử lý theo các quy trình này phụ thuộc vào giá năng lượng điện tiêu thụ (giá chế phẩm VSV/m^3 chỉ vào khoảng 800 - 900 đồng).

- Đã xây dựng được 1 pilot thử nghiệm xử lý nước thải dạng modul quy mô phòng thí nghiệm (30l/ngày) để kiểm tra kết quả nghiên cứu trước khi đưa ra thử nghiệm ngoài hiện trường.

- Đã góp phần đào tạo được 2 thạc sỹ, 1 cử nhân và 7 bài báo đã được công bố theo hướng nghiên cứu của đề tài.

MỤC LỤC

trang

LỜI MỞ ĐẦU 10

NỘI DUNG CHÍNH CỦA BÁO CÁO.....

Chương I:

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CNSH ĐỂ XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA 2,4,6 TRINITROTOLUEN (TNT) VÀ DINITROTOLUEN (DNT) TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC NỔ..... 13

1.1. Tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước..... 13

1.1.1. Cơ chế phân huỷ, chuyển hoá 2,4,6 trinitrotoluen (TNT) và các hợp chất nitro vòng thơm bởi VSV 13

1.1.2. Các sản phẩm trung gian khi phân huỷ TNT và các hợp chất nitro vòng thơm..... 17

1.1.3. Các VSV có khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm..... 18

1.1.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự phân huỷ sinh học TNT, DNT và các hợp chất nitro vòng thơm khác..... 20

1.1.5. Các công nghệ xử lý môi trường bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ bằng phương pháp sinh học..... 23

1.1.5.1 Xử lý đất ô nhiễm thuốc nổ..... 23

1.1.5.2. Xử lý nước ô nhiễm thuốc phóng,thuốc nổ..... 24

1.2. Nguyên liệu và phương pháp..... 25

1.2.1. Nguyên liệu..... 25

1.2.2 Phương pháp 25

1.2.2.1. Phương pháp phân lập các chủng VSV có khả năng phân huỷ các chất TNT, DNT trong điều kiện hiếu khí..... 26

1.2.2.2. Phương pháp tuyển chọn các VSV có khả năng phân huỷ TNT, DNT..... 26

1.2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh tới sự sinh trưởng và khả năng phân huỷ TNT, DNT..... 27

1.2.2.4. Phương pháp phân tích TNT, DNT trong môi trường..... 28

1.2.2.5. Xây dựng quy trình sản xuất chế phẩmVSV xử lý môi trường..... 28

1.2.2.6. Đánh giá khả năng xử lý nước thải ở quy mô PTN..... 29
1.3. Kết quả và thảo luận..... 29
1.3.1. Phân huỷ TNT, DNT bằng phương pháp sinh học hiếu khí..... 29
1.3.1.1. Phân lập và sơ tuyển..... 29
1.3.1.2. Khả năng phân huỷ TNT, DNT của các chủng VSV đã phân lập..... 31
1.3.1.3. Ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh đến khả năng phân huỷ và chuyển hoá TNT, DNT..... 34
1.3.1.4. Lựa chọn thành phần chất mang VSV - sản xuất chế phẩm..... 40
1.3.1.5. Sơ đồ quy trình xử lý nước thải chứa TNT, DNT hiếu khí..... 43
1.3.1.6. Kết quả xử lý nước thải Z121..... 44
1.3.1.7. Kết luận..... 45
1.3.2. Phân huỷ TNT bằng phương pháp sinh học kỵ khí..... 45
1.3.2.1. Lựa chọn tập đoàn VSV kỵ khí có khả năng chuyển hoá TNT cao.... 45
1.3.2.2. Ảnh hưởng của một số yếu tố ngoại cảnh đến hiệu suất chuyển hoá TNT kỵ khí của VSV..... 46
1.3.2.3. Quy trình xử lý nước thải chứa thuốc nổ bằng phương pháp kỵ khí.. 49
1.3.2.4. Xử lý thử nghiệm nước thải chứa TNT của Z121 theo các điều kiện tối ưu đã nghiên cứu..... 50
1.3.2.5. Kết luận..... 51
1.3.3. Xử lý TNT bằng phương pháp kết hợp 2 quá trình sinh học hiếu khí và kị khí để loại bỏ sản phẩm trung gian..... 51
1.4. Một số kiến nghị khi xử lý nước thải chứa TNT, DNT từ quá trình sản xuất thuốc phóng thuốc nổ..... 52

Chương II:

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CNSH XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA AS TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC GỢI NỔ..... 54
2.1. Tình hình nghiên cứu..... 54
2.2. Nguyên liệu và phương pháp..... 55
2.2.1. Thiết bị..... 55
2.2.2. Nguyên liệu..... 55
2.2.3. Phương pháp..... 57
2.2.3.1. Phương pháp phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS..... 57

2.2.3.2. Định tên đến loài các chủng VSV đại diện có khả năng phân huỷ AS cao 58
2.2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường lên sinh trưởng và khả năng phân huỷ AS của các chủng VSV đã lựa chọn 58
2.2.3.4. Nghiên cứu khả năng xử lý nước thải bị ô nhiễm AS bằng các chủng VSV đã tuyển chọn 60
2.2.3.5. Phương pháp xác định AS trong môi trường nuôi cấy 61
2.3. Kết quả và thảo luận 62
2.3.1. Kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng VSV phân huỷ AS 62
2.3.1.1. Kết quả phân lập 62
2.3.1.2. Kết quả tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS cao .. 64
2.3.2. Kết quả định tên 2 chủng VSV đại diện có khả năng phân huỷ AS cao 66
2.3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các điều kiện môi trường lên sinh trưởng và khả năng phân huỷ AS của các chủng VSV đã lựa chọn 67
2.3.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ 67
2.3.3.2. Ảnh hưởng của pH 70
2.3.3.3. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng 72
2.3.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ AS 77
2.3.3.5. Động học quá trình sinh trưởng và phân huỷ AS 79
2.3.4. Kết quả xử lý nước thải nhiễm AS bằng các chủng đã tuyển chọn 83
2.3.5. Quy trình sản xuất chế phẩm VSV xử lý nước thải chứa AS 85
2.3.6. Xây dựng quy trình công nghệ xử lý sinh học nước thái chứa AS 86
2.3.7. Thử nghiệm xử lý nước thải ô nhiễm AS ở quy mô phòng thí nghiệm 87
2.3.8. Kết luận 88
Chương III:
NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CNSH XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA NITROGLYCERIN (NG) VÀ NITROCELLULOSE (NC) TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC PHÓNG 89
3.1. Tình hình nghiên cứu 89
3.1.1. Đặt vấn đề 89
3.1.2. Cơ chế phân huỷ NG 90
3.2. Nguyên liệu và phương pháp 91

3.2.1. Nguyên liệu 91
3.2.2. Phương pháp 92
3.2.2.1. Phân lập các chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NG, NC là nguồn hữu cơ duy nhất 92
3.2.2.2. Tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ NG, NC cao 92
3.2.2.3. Nghiên cứu đặc tính nuôi cấy 92
3.2.2.4. 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) 92
3.2.2.5. Phương pháp xác định NG, NC trong môi trường 92
3.3. Kết quả và thảo luận 93
3.3.1. Phân lập các chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NG, NC là nguồn hữu cơ duy nhất 93
3.3.2. Tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ NG, NC cao 94
3.3.3. Nghiên cứu đặc tính nuôi cấy của các VSV đã lựa chọn 96
3.3.4. 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) 99
3.3.5. Sản xuất chế phẩm 104
3.3.6. Quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng 106
3.3.7. Áp dụng kết quả đã nghiên cứu xử lý thử nghiệm nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng (1 và 2 gốc) 107
3.3.8. Kết luận 107
Chương IV:
NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CNSH XỬ LÝ NƯỚC THẢI TỪ QUÁ TRÌNH NHUỘM ĐEN VŨ KHÍ VÀ PHỤC HỒI NHIÊN LIỆU TÊN LỬA LỎNG 109
4.1. Tình hình nghiên cứu 109
4.2. Nguyên liệu và phương pháp 113
4.2.1. Nguyên liệu 113
4.2.2. Phương pháp 113
4.2.2.1. Phương pháp làm giàu VSV 113

4.2.2.2. Phương pháp nuôi cấy vi khuẩn nitrat hoá để nghiên cứu các đặc điểm nuôi cấy và các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng phân huỷ nitrat, nitrit của VSV 113
4.2.2.3. Phương pháp xác định số lượng vi khuẩn nitrat hoá..... 113
4.2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng nitrat, nitrit..... 113
4.3. Kết quả và thảo luận 113
4.3.1. Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng phát triển của vi khuẩn nitrat hoá.... 114
4.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chuyển hoá nitrat, nitrit của VSV.... 116
4.3.3. Quy trình xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí..... 119
4.3.4. Quy trình xử lý nước thải chứa nhiên liệu tên lửa..... 119
4.3.5. Thí nghiệm xử lý nước thải nhuộm đen tại một cơ sở sản xuất quốc phòng..... 119
4.4. Kết luận..... 120
Chương V:
THIẾT KẾ HỆ THỐNG XỬ LÝ NƯỚC THẢI DẠNG MODUL QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM CÔNG SUẤT 30L/NGÀY..... 121
5.1. Mở đầu..... 121
5.2. Phương pháp tính toán công nghệ..... 121
5.2.1. Tính toán các bể phản ứng 122
5.2.2. Tính toán thiết bị 125
5.2.3. Hệ thống thoát bùn 126
5.2.4. Hệ thống điện..... 126
5.3. Thiết kế và quy trình hệ thống 127
5.3.1. Thiết kế hệ thống 127
5.3.2. Quy trình hoạt động của hệ thống dạng modul..... 130
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ..... 131
LỜI CẢM ƠN..... 133
TÀI LIỆU THAM KHẢO..... 134
PHỤ LỤC..... 142

PHẦN CHÍNH BÁO CÁO

LỜI MỞ ĐẦU

Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ, nhuộm vũ khí ... là vấn đề ô nhiễm đặc biệt của quân đội. Thành phần chính của loại nước thải này là các chất độc hại như: 2,4,6-trinitrototoluene (TNT), dinitrotoluene (DNT), nitroglycerine (NG), axit styphnic (AS), nitrocellulose (NC), nitrit (NO_2), nitrat (NO_3)... Đa phần các hợp chất này là những hợp chất nitro vòng thơm, ngoài tính gây nổ, chúng còn là chất độc đối với con người và môi trường xung quanh.

Một trong những chất ô nhiễm chính của loại nước thải này là TNT. 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 [3, 6, 22, 56, 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 [3].

Khi làm việc trong điều kiện hàm lượng TNT trong khoảng 0,3 - 1,3mg/m^3 không khí, với thời gian 8 giờ/ngày liên tục, 5 - 6 ngày trong tuần đủ để dẫn đến sự thay đổi thành phần máu và gây bệnh cho cơ thể con người. Một cảm giác đắng miệng xảy ra nếu hàm lượng TNT đạt 7,1 mg/kg cơ thể hấp thụ được qua da trong thời gian làm việc 8 giờ. Hàm lượng TNT tối đa cho phép trong không khí là 0,1 mg/m^3 (Tiêu chuẩn của Nga), 0,5 mg/m^3 (Tiêu chuẩn của Mỹ). Đối với động vật có vú, liều lượng LD_{50} của TNT nằm trong khoảng từ 820 mg/kg đến 1010mg/kg. Với các loài chuột, liều lượng LD_{50} dao động từ 1014 mg/kg đến 1090 mg/kg [3, 84].

- 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, 1992, 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 [48].

Ngoài TNT, DNT, trong nước thải của quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ còn có NG, AS, NC... chúng đều là những chất độc đối với VSV, thực vật, động vật và con người. Nếu không được xử lý cẩn thận trước khi thải ra môi trường, chúng sẽ làm bẩn đất, ô nhiễm nước mặt, nước ngầm, đe dọa sức khoẻ của con người và hệ sinh thái tự nhiên [80, 81, 83]

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... Giá thành của các phương pháp này thường cao, thiết bị phức tạp, tuy xử lý được độ ô nhiễm cao nhưng phạm vi hẹp trong khi lượng nước thải ô nhiễm từ mức độ thấp đến trung bình của quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ lại rất lớn, do đó, sự tìm kiếm các biện pháp sinh hoá, dựa trên khả năng phân huỷ được các chất độc hại của VSV để xử lý ô nhiễm môi trường của các nhà máy sản xuất quốc phòng là vấn đề cần được các nhà nghiên cứu trong và ngoài Quân đội quan tâm và giải quyết.

Chính vì vậy, đề tài nhánh *"Nghiên cứu áp dụng công nghệ sinh học để xử lý nước thải có chứa chất độc hại là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ, thuốc nhuộm vũ khí và nhiên liệu tên lửa"* trong khuôn khổ đề tài Nhà nước KC - 04 - 10 *"Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm VSV độc hại"* đã được tiến hành với mục tiêu chính là ứng dụng công nghệ sinh học, để xây dựng quy trình công nghệ xử lý nước thải chứa các chất thải độc hại từ các quá trình sản xuất Quốc phòng. Đề tài có các nội dung chính sau:

- Phân lập các chủng VSV có khả năng phân huỷ mạnh các chất độc là các hợp chất nitro vòng thơm TNT, DNT, AS, NC, NG... từ các mẫu đất, nước nhiễm thuốc

phóng thuốc nổ, thuốc gợi nổ... lâu năm để chế tạo 4 loại chế phẩm VSV xử lý nước thải ô nhiễm từ các cơ sở sản xuất quốc phòng.

- Nghiên cứu thiết lập và hoàn thiện 6 quy trình công nghệ có sử dụng các chế phẩm VSV đã chế tạo để xử lý nước thải đặc thù quốc phòng (nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ, thuốc gợi nổ, nước thải nhuộm đen vũ khí và nước thải từ quá trình phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng).

- Xây dựng một pilot xử lý nước thải tổng hợp dạng modul quy mô phòng thí nghiệm.

CHƯƠNG I:

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỂ XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA 2,4,6-TRINITROTOLUENE (TNT) VÀ DINITROTOLUENE (DNT) TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC NỔ

1.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU TRONG NƯỚC VÀ NGOÀI NƯỚC

Sự oxy hoá các vòng thơm bằng VSV đã được nghiên cứu từ những năm đầu của thế kỷ 20. Stormer, năm 1908, đã phân lập được từ đất những chủng VSV có thể phân huỷ toluene, xylene, phenol và p.crezol. Sau đó vào năm 1911, Ardern và Lockett đã phân lập được một loài VSV có khả năng phân huỷ phenol đó là *B. helvolvus*, VSV này có khả năng sử dụng phenol trong quá trình sinh trưởng ở môi trường có nồng độ 0,1g/l. Và đến năm 1928 Thornton, Tattersfild đã phân lập được nhiều loại vi khuẩn có khả năng phân huỷ phenol, o-, m- và p.crezol, naphthalene, phloroglucinol, crezoreinol và toluene. Cho đến những năm 40 của thế kỷ 20, người ta đã tìm ra cơ chế của sự oxy hoá vòng thơm cũng như sự phân huỷ các aminoaxit nhân thơm của các VSV [32, 48, 84].

Với những hợp chất vòng thơm chứa nitro vấn đề lại phức tạp hơn. Đa phần chúng là những chất độc đối với VSV, vì thế sự phân huỷ chúng là rất khó khăn, đặc biệt ở nồng độ cao. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, đã có nhiều công trình nghiên cứu về sinh phân huỷ các hợp chất nitro nhân vòng thơm trong đó có các chất là thành phần của thuốc phóng, thuốc nổ được công bố [22, 28, 47, 48, 51].

1.1.1. Cơ chế phân huỷ, chuyển hoá 2,4,6 - trinitrotoluen và các hợp chất nitro vòng thơm bởi VSV

Theo các nhà nghiên cứu [60, 65], sự chuyển hoá các hợp chất nitro vòng thơm thường xảy ra đầu tiên ở các nhóm $-NO_2$. Sự khử các nhóm nitro thành các nhóm amino xảy ra thông qua các hợp chất nitroso và hydroxylamino theo phương trình sau:

$$R\text{-}NO_2 + H_2 \longrightarrow R\text{-}NO + H_2O \quad (1)$$

$$R\text{-}NO + H_2 \longrightarrow R\text{-}NHOH \quad (2)$$

$$R\text{-}NHOH + H_2 \longrightarrow R\text{-}NH_2 + H_2O \quad (3)$$

Như vậy cần 3 mol H_2 để khử mỗi nhóm nitro thành nhóm amin, tức là, nếu khử hợp chất mononitro cần 3 mol H_2, dinitrotoluen cần 6 mol H_2 và trinitrotoluen cần 9 mol H_2 [60].

Phản ứng của nhóm nitro xuất hiện không chỉ phụ thuộc vào các nhóm thế mà còn phụ thuộc vào vị trí của các nhóm nitro tương ứng với các nhóm thế này, Theo đó, nhóm para nitro bị khử nhanh hơn nhóm octo- trong trường hợp của nitrotoluen, nitrobenzoic axit và dinitrobenzen, trong khi điều đó là ngược lại đối với nitrophenol và nitroanilin; nhóm nitro của dinitrobenzoic axit và dinitrotoluen được khử nhanh hơn các nhóm đó của dinitrophenol và dinitroanilin; các dẫn xuất trinitro của benzoic axit bị khử nhanh hơn dẫn xuất của toluen hoặc phenol .

Sự khử nhóm nitro xảy ra bởi các VSV thực tế chỉ là quá trình trao đổi chất. Dịch chiết không tế bào của các VSV kỵ khí, bằng cách sử dụng hydro phân tử, khử 3 nhóm nitro tới các nhóm amino tương ứng. Các tế bào nghỉ của VSV kỵ khí nghiêm nghặt khử cả 3 nhóm nitro trong khi tế bào nghỉ của bọn kỵ khí tuỳ tiện (*E.Coli*) chỉ khử 2 nhóm nitro. Nuôi cấy *Veillonella alkalescen* và *E.Coli* trong điều kiện kỵ khí tuỳ tiện với sự có mặt của TNT nồng độ 100mg/l tạo thành 2,4 DA. Hình như khi vắng mặt chất cho hydro những VSV này không thể khử nhóm nitro còn lại. *E.Coli* và *Pseudomonas FR2*, phát triển hiếu khí trong môi trường có 100mg/l TNT chỉ có thể khử được 2 trong 3 nhóm nitro mà không khử được nhóm thứ 3 [22, 32, 52].

Về thứ tự tham gia phản ứng của các nhóm nitro, các nghiên cứu cho thấy: nhóm 4-NO_2 bị khử trước nhóm 2-NO_2 đối với TNT trong khi nhóm 2-NO_2 của 2,4 diphenol lại bị khử trước [54].

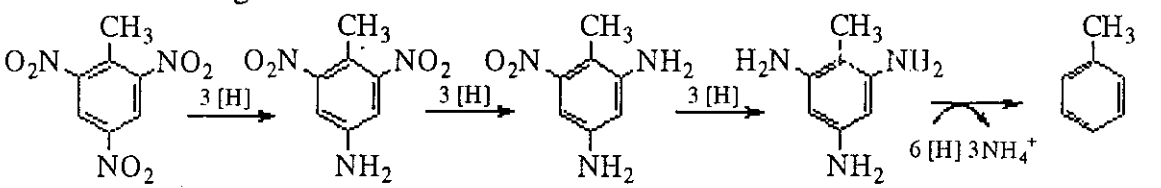
Tóm lại, sự phân huỷ sinh học của các hợp chất nitro vòng thơm bao gồm sự chuyển hoá ban đầu các nhóm nitro tới các nhóm hydroxyl. Hai phương thức tấn công vào các hợp chất nitro vòng thơm xuất hiện khi có mặt vi khuẩn. Một, bao gồm sự khử của nhóm nitro tới một nhóm amino, sau đó là sự đề amin oxy hoá tới phenol và giải phóng NH_3 và phương thức thứ hai là sự biến đổi một nhóm nitro thành nitrit với sự tạo thành đồng thời một phenol. Nitrit được tạo thành từ nitrophenol và nitrobenzoic axit, và tuỳ thuộc vào chủng vi khuẩn sử dụng mà NH_3 cũng đã được tạo thành từ axit nitrobenzoic. Cả 2 con đường chuyển hoá đều cho chất trung gian như nhau là 2,3,5 trihydroxytoluen, sau đó, bằng cách cắt vòng ở vị trí meta (giữa các nguyên tử C_1 và C_2) và cuối cùng các phân tử bị phá huỷ [82].

Các nghiên cứu cũng cho thấy, các nhóm nitro trên phân tử TNT cũng như các hợp chất nitro vòng thơm khác đều bị khử bằng cả hệ thống hiếu khí và kỵ khí, tuỳ thuộc vào khả năng khử của hệ mà 1, 2 hoặc cả 3 nhóm nitro có thể bị khử tới nhóm amino. Sự giải phóng nhóm nitro thành nhóm nitrit không phải là cách chủ yếu (ít nhất là ở *P.FR2*), lượng nitrit lớn nhất được phát hiện nhỏ hơn 6% nitơ có thể có từ các nhóm nitro của TNT đã bị biến mất vào môi trường. [22].

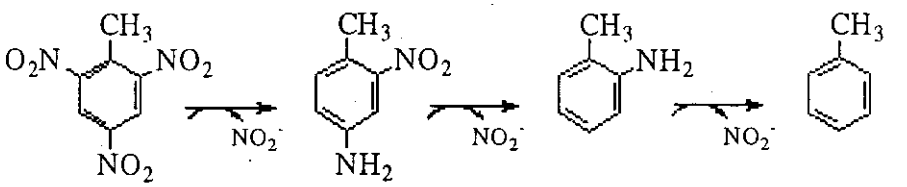
Hình 1. ***Con đường phân huỷ sinh học giả thiết đối với một số hợp chất nitro toluen*** [44, 72]

a, Con đường phân huỷ TNT

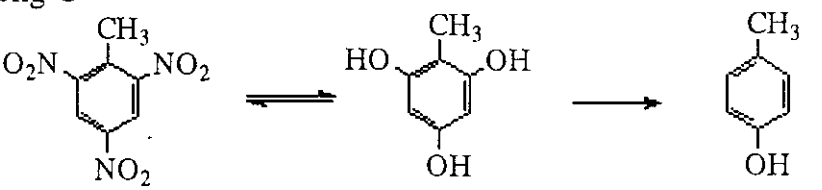
a1. Con đường A



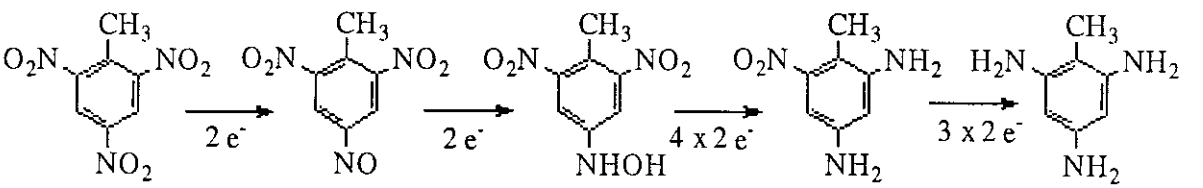
a2. Con đường B



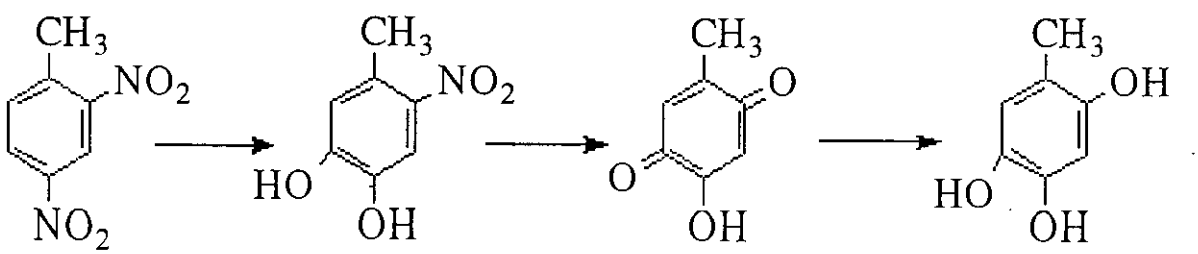
a3. Con đường C



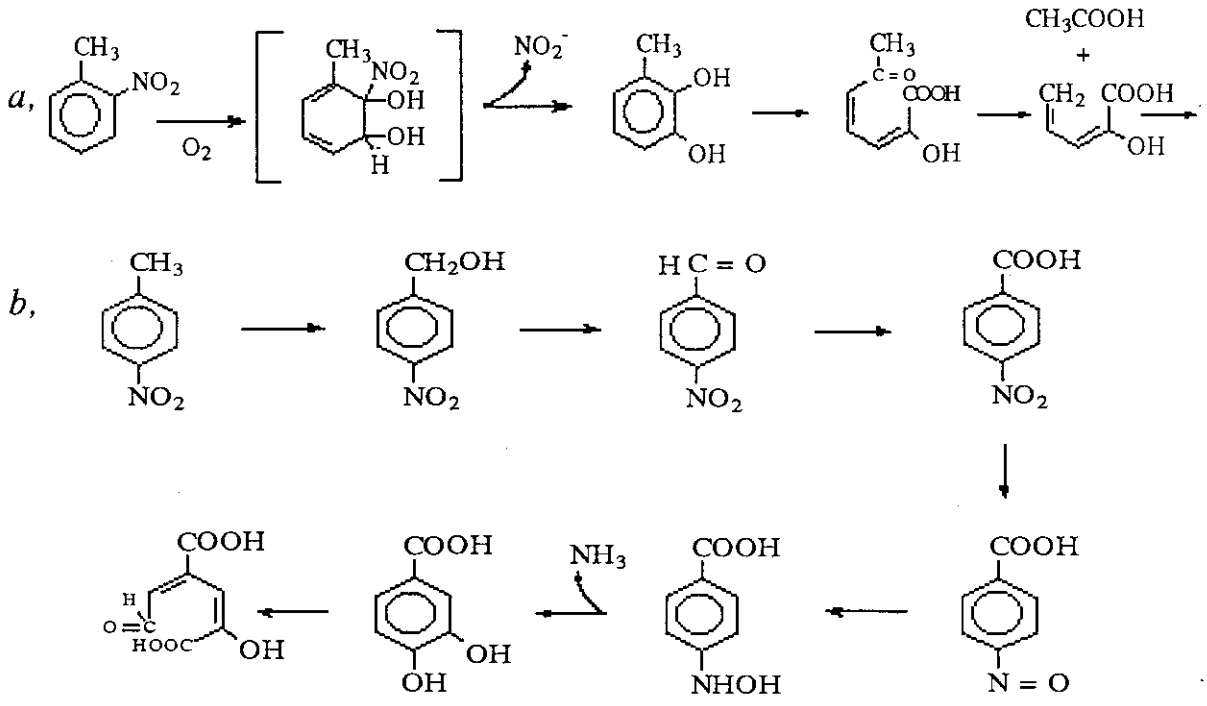
a4. Con đường khử TNT tạo TAT



b, Con đường phân huỷ DNT



c, Con đường phân huỷ MNT: a, 2NT b, 4NT



Sau khi bị khử tới toluen, nhiều vi khuẩn có thể chuyển hoá toluen - sản phẩm trao đổi chất của con đường phân huỷ TNT (A) và (B) thành các hợp chất trung gian của chu trình ATC dưới cả điều kiện hiếu khí và kỵ khí. Sự trao đổi chất hiếu khí xảy ra hoặc trực tiếp tấn công vào vòng bởi các enzym phụ thuộc oxy (con đường toluen A) hoặc thông qua sự hyđroxyl hoá nhóm metyl (con đường toluen B). Trong con đường toluen A, oxygenaza trực tiếp tấn công vòng thơm để tạo 3metyl catechol, sau đó một enzym phụ thuộc oxy khác cắt vòng metyl catechol trung gian. Con đường toluen B có sự hyđroxyl hoá nhóm metyl để tạo benzoat. Sự phân huỷ kỵ khí toluen cũng được thừa nhận bởi sự tạo thành toluat hay benzoat [72].

Một số VSV cũng có khả năng chuyển hoá p-cresol, sản phẩm trao đổi chất trung gian của con đường phân huỷ TNT, tạo thành các chất trung gian của chu trình ATC dưới cả điều kiện hiếu khí và kỵ khí. Sự phân huỷ p-cresol diễn ra thông qua sự tấn công trực tiếp vòng bởi enzym phụ thuộc oxy (con đường p-cresol A) hoặc thông qua sự hyđroxyl hoá nhóm metyl (con đường p-cresol B) để tạo thành 4-hyđroxyl benzoat. Sau đó, chất này phản ứng với CoA tạo ra benzoyl CoA- chất trung gian chủ yếu để đi vào con đường ATC [72].

Quá trình phân huỷ TNT bởi *Pseudomonas* được xúc tác bởi hai enzym flavoprotein xenobiotic reductaza (Xen A và Xen B). Xen A chỉ xúc tác cho sự khử

nhóm nitro còn XenB có thể xúc tác cho sự chuyển hoá TNT nhờ sự khử nhóm nitro và khử trực tiếp vòng thơm [50].

Đối với các hợp chất MNT, *Mycobacterium* và *Pseudomonas* cũng có khả năng khử chúng bằng cách khử các nhóm $-NO_2$ thành các nhóm amin hoặc oxy hoá nhóm metyl tạo thành hợp chất benzoat tương ứng. Các hợp chất trung gian này sau đó sẽ đi vào quá trình cắt vòng [47].

1.1.2. Các sản phẩm trung gian khi phân huỷ TNT và các hợp chất nitro vòng thơm

Từ con đường phân huỷ sinh học giả thuyết đối với một số hợp chất nitrotoluen đã trình bày trên cùng với sự quan trắc, theo dõi bằng thực nghiệm, người ta đã thu được một số sản phẩm trung gian từ quá trình phân huỷ và chuyển hoá TNT. Các sản phẩm trung gian được tạo thành liên quan đến sự có mặt của oxy không khí, cụ thể [67, 73, 44]:

* Quá trình sinh học hiếu khí cho các sản phẩm trung gian là:

1. 4-amino-2,6-dinitrotoluene (4ADNT).
2. 2-amino-4,6-dinitrotoluene (2ADNT).
3. 2,4-diamino-6-nitrotoluene (2.4DA6NT).
4. Hydroxylamino-2,6-dinitrotoluene (4-OHA-2,6DNT).
5. 2-amino-4-formanido-6-nitrotoluene.
6. Azoxytetra nitrotoluene.

Trong số 6 chất trung gian được hình thành từ quá trình sinh phân huỷ hiếu khí thì chất thứ 6: Azoxytetra nitrotoluene là chất độc đối với một số VSV và nó ức chế quá trình khoáng hoá tiếp theo nhưng nồng độ của nó lại thấp hơn nhiều so với 4-amino-2,6-dinitrotoluene và có thể khắc phục được bằng cách kết hợp nhiều loại VSV trong quá trình xử lý [69].

* Quá trình kị khí cho các sản phẩm trung gian là [52]:

1. 2,4-diamino-6-nitrotoluene (2.4DA6NT).
2. 2,6-diamino-4-nitrotoluene (2.6DA4NT).
3. 2,4,6-triaminotoluene (TAT)
4. Methylphloroglucinol (MPG).
5. Trihydroxytoluene.
6. P-cresol.

Sự khoáng hoá hoàn toàn TNT có thể đạt được dưới điều kiện khử sulphat và bởi chủng *Pseudomonas* trong điều kiện khử nitrat [22].

1.1.3. Các VSV có khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm

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 (1972), 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 [66].

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 [56].

Frederick W. Parrish (1977), 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) [40] .

Theo Fernando và cộng sự (1990) ; Stahl và Aust (1995) thì nấm gỗ *Phanerochaete chrysosporium* có khả năng khoáng hoá TNT với hiệu suất khá cao, ngoài ra nó cũng khoáng hoá tốt các hợp chất thơm và độc khác (Bumpus và cộng sự (1985); Yaday và Reddy (1993); Barr và Aust (1994)). Khả năng phân huỷ những hợp chất này được coi là do hai enzym phân huỷ cellulose không đặc hiệu: ligninperoxidaza và mangannese-dependent peroxidaza, mà thực chất là enzym phân huỷ lignin (Stahl và Aust, 1995). Tuy nhiên *Phanerocheate* có một số hạn chế về mặt thực hành sinh phân huỷ tại chỗ [38]:

Thứ nhất, hệ sợi của nó mẫn cảm với TNT ở nồng độ thấp (Spiker và cộng sự, 1992; Michels và Gottschalk,1994).

Thứ hai, enzym lignin peroxidaza của nó phải trải qua điều kiện ngặt nghèo, khó đạt đến hiệu quả cao trong trạng thái phân huỷ ngoài môi trường tự nhiên.

Thứ ba, nấm này có nguồn gốc từ gỗ nên hiệu quả phân huỷ sẽ không hoàn toàn tốt so với nấm có nguồn gốc từ đất.

Với mục đích tìm kiếm các nấm khác, khắc phục được các hạn chế của *Phanerochaete*, các tác giả Paul Bayman và Gauri V.Radkal [69] đã thử nghiệm khả năng chuyển hoá TNT của 8 chủng nấm trong môi trường dịch thể và đã thu được kết quả là: *Cladosporium resinae* và *Cunninghamella echinulata var elegans* làm biến đổi hầu như hoàn toàn TNT có nồng độ 200ppm trong môi trường sau 3 ngày nuôi cấy (tốc độ chuyển hoá cao, ở nồng độ lớn) tuy vậy, sản phẩm trung gian được xác định là aminodinitrotoluene, azoxytetranitrotoluene và hydroxylaminodinitrotoluene, chất trung gian azoxytetranitrotoluene không có lợi về mặt môi trường bởi chúng có thể chống lại sự sinh phân huỷ khác tiếp theo (Michels và Góttchalk, 1994). Tuy nhiên nồng độ của nó thấp hơn nhiều 4-amino, 2,6- dinitrotoluen và các tác giả đã đề xuất một quy trình 2 bước trong đó, bước 1, TNT bị biến đổi thành aminodinitrotoluen bởi nấm đất *C.resinae* và sau đó bị khoáng hoá tới CO_2 và H_2O bởi *P.chrysosporium* [27]. Theo Benoit và cộng sự (13T) chủng *Phlebia radiata* phân huỷ TNT với nồng độ 30mg/l đạt 95 và 100% sau 24 giờ và 48 giờ, tương ứng. Các hợp chất trung gian phân huỷ chậm hơn, 75% đối với 4A2,6DNT và 50% đối với 2A4,6DNT, giảm sau 48 giờ với điều kiện có lignin.

Ngoài vi nấm, vi khuẩn và xạ khuẩn có khả năng phân huỷ TNT cũng đã phân lập được từ đất, nước bị nhiễm thuốc nổ [27, 59, 68]. Nhiều vi khuẩn trong nhóm *Pseudomonas* có khả năng phát triển trên môi trường chứa các hợp chất hữu cơ độc hại mà các vi khuẩn khác không thể. Đặc biệt, khi nuôi cấy *Pseudomonas sp*, Dugue và cộng sự, 1993, đã nhận thấy nó có thể sử dụng TNT như nguồn nitơ. Đầu tiên, cơ chất được chuyển thành toluene bởi sự mất đi của nhóm nitơ. Tuy sản phẩm trung gian này không tham gia vào quá trình trao đổi chất của *Pseudomonas* nhưng nó lại bị đồng hoá bởi Plasmid TOL (loại plasmid có chứa gen sản xuất enzym phân huỷ toluene) sống cộng sinh với *Pseudomonas putida*, thành các đơn chất vô độc như: axetaldehyt, piruvat và những đơn chất này tiếp tục tham gia vào quá trình chuyển hoá của chính vi khuẩn chủ hoặc làm cơ chất cho các loại vi khuẩn thông thường khác [73]. Pasti và cộng sự [68] đã nghiên cứu các chủng xạ khuẩn *Streptomyces* phân lập từ đất ô nhiễm, không ô nhiễm hay xạ khuẩn do tái tổ hợp ADN đều có khả năng phân huỷ nitro thơm với các mức độ khác nhau. Tuy nhiên, các chủng phân lập được từ đất ô nhiễm có khả năng khoáng hoá tới CO_2 (10%) nhưng các chủng phân lập được từ đất không ô nhiễm chỉ chuyển hoá chúng thành các hợp chất trung gian mà không khoáng hoá chúng. Hơn

nữa, khi nồng độ nitro thơm lớn hơn 50mg/l kìm hãm sinh trưởng của hầu hết nấm mốc, nấm men, xạ khuẩn và các vi khuẩn Gram âm. Không chủng nào trong 31 chủng xạ khuẩn đã nghiên cứu phát triển được khi nitro thơm được bổ sung như nguồn C và nguồn N duy nhất ở bất kỳ nồng độ nào trên 25ppm [68].

Riêng đối với DNT có ít nghiên cứu được công bố hơn nhưng theo một số tác giả [61, 68] 2.4 DNT được chuyển hoá bởi nấm cũng sinh ra các hợp chất nitro vòng thơm khác nhau. Các VSV phân lập từ vùng ô nhiễm có thể sử dụng 2.4DNT như nguồn C và năng lượng chính. Hỗn hợp các chủng đã làm giàu có khả năng sinh trưởng trên môi trường chứa 100 - 200 ppm 2.4DNT. Cả đồng phân 2.4- và 2.6-DNT đều được khoáng hoá tới CO_2 và tốc độ khoáng hoá phụ thuộc vào nồng độ. Thông thường tốc độ tăng khi nồng độ tăng. Khi làm tăng dần nồng độ 2.4 và 2.6 DNT, VSV có khả năng phân huỷ ở nồng độ 130mg/l và đồng phân 2.4DNT có khả năng bị phân huỷ nhanh hơn trong nước so với 2.6DNT [48].

Các hợp chất dinitro của toluen và benzen có khả năng bị phân huỷ (cắt vòng hoặc khoáng hoá) nhanh hơn các hợp chất trinitro tương ứng. Các VSV phân lập từ vùng không ô nhiễm không có khả năng phân huỷ DNT [48].

Với các hợp chất MNT, cả vi khuẩn và nấm cũng có khả năng khoáng hoá hay chuyển hoá chúng. Các chủng *Mycobacterium* và *Pseudomonas* có thể sử dụng 2NT, 3NT, 4NT như nguồn C, N và năng lượng. Chúng sử dụng các hợp chất này bằng cách loại bỏ nhóm $-NO_2$ như gốc nitrit hay gốc amoni. Chủng *Pseudomonas* có thể sinh trưởng trên môi trường bổ sung MNT tới nồng độ 400mg/l. Ngoài các hợp chất MNT, *Pseudomonas* còn có khả năng khoáng hoá DNT, DNB [44, 45].

1.1.4. Các yếu tố ảnh hưởng đến sự phân huỷ sinh học TNT, DNT và các hợp chất nitro vòng thơm khác

Quá trình sinh trưởng và phát triển của của các VSV phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm cũng như mọi loài VSV khác đều chịu ảnh hưởng của các điều kiện môi trường. Đó là các tác nhân vật lý như nhiệt độ, pH, O_2, áp suất thẩm thấu; thành phần các chất dinh dưỡng: nguồn cácbon, nitơ, chất sinh trưởng... Trong các điều kiện khác nhau, khả năng sinh trưởng phát triển của VSV khác nhau, thời gian thế hệ của chúng cũng khác nhau do đó ảnh hưởng đến khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm của chúng. Vì vậy cần nghiên cứu chọn ra điều kiện tối ưu nhất cho quá

trình phân huỷ sinh học (Optimate - opt). Tùy từng phương pháp xử lý mà điều kiện tối thích (opt) cũng thay đổi [6, 13].

1.1.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ:

Hoạt động trao đổi chất của VSV có thể coi là kết quả của các phản ứng hoá học. Vì các phản ứng này phụ thuộc chặt chẽ vào nhiệt độ nên yếu tố nhiệt độ rõ ràng ảnh hưởng sâu sắc đến các quá trình sống của tế bào. Khi nhiệt độ thay đổi sẽ ảnh hưởng mạnh mẽ đến thành phần số lượng quần thể VSV, từ đó ảnh hưởng đến khả năng phân huỷ các chất ô nhiễm [2, 5]. Thông thường, nhiệt độ thích hợp cho sự sinh trưởng của VSV cũng là nhiệt độ thích hợp của quá trình phân huỷ sinh học.

Theo William và cộng sự (1992) [74], khi xử lý TNT bằng phương pháp dùng phân trộn thì điều kiện nhiệt độ phải là nóng hoặc ấm mới thúc đẩy quá trình xử lý vì VSV tham gia vào quá trình này là VSV ưa ấm và ưa nhiệt.

1.1.4.2. Ảnh hưởng của pH:

Thông thường, pH thích hợp nhất cho các vi khuẩn phát triển từ 6,0 - 7,5, còn phần lớn nấm men và nấm mốc pH tối ưu là 5,0 - 6,5 [4, 13]. Đối với VSV phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm thì pH thích hợp nhất cho quá trình sinh phân huỷ cũng tuỳ thuộc vào từng nhóm VSV khác nhau. Việc thay đổi pH sẽ ảnh hưởng tới hiệu suất phân huỷ của VSV. Đối với VSV phân huỷ TNT, DNT, việc xử lý ô nhiễm các hợp chất này đạt hiệu quả tốt nhất ở pH từ 6,5 -7 [66, 82].

1.1.4.3. Ảnh hưởng của nồng độ oxy

Ảnh hưởng của nồng độ oxy lên tốc độ phát triển của VSV đã được mô tả theo phương trình của Monod. Thay đổi nồng độ oxy hoà tan sẽ làm thay đổi tốc độ phát triển của VSV và thay đổi khả năng phân huỷ cơ chất của chúng. Giảm nồng độ oxy hoà tan trong nước không chỉ gây cản trở cho việc tiêu thụ các chất nhiễm bẩn hữu cơ mà còn làm tăng các sản phẩm trung gian của quá trình hoạt động của VSV trong nước thải [13].

Theo phương pháp xử lý TNT của Boopathy và cộng sự, ở các mẫu thí nghiệm có sự luân phiên giữa thông khí và làm khô thì hiệu quả phân huỷ TNT càng cao. Ông đã chứng minh được ý nghĩa của việc thông khí trong quá trình xử lý TNT, từ đó cho thấy nồng độ CO_2 và O_2 ảnh hưởng lớn đến tốc độ phân huỷ [31].

Sự phân huỷ sinh học có thể xảy ra cả trong điều kiện hiếu khí và kỵ khí nhưng tốc độ phân huỷ sinh học là khác nhau [32, 40, 67, 81]. Sự phân huỷ sinh học kỵ khí có thể xảy ra triệt để hơn nhưng cần thời gian dài hơn. Trong nhiều trường hợp, cần kết hợp cả hai phương pháp kỵ khí và hiếu khí [82].

1.1.4.4. Ảnh hưởng của chất dinh dưỡng

Ngoài cacbon (C), VSV còn cần nitơ (N), photpho (P) làm vật liệu để xây dựng nên tế bào và giữ vai trò quan trọng trong trao đổi năng lượng của chúng nhưng tỷ lệ C/N/P phải phù hợp để duy trì hoạt động hiệu quả của chúng. Tỷ lệ và nguồn N vô cơ hay hữu cơ, nguồn C ảnh hưởng mạnh đến quá trình sinh phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm.

Đối với xử lý nước thải, việc bổ sung thêm nguồn cơ chất nâng hiệu quả xử lý một cách rõ rệt [13]. VSV có thể sinh trưởng trong môi trường có hỗn hợp các cơ chất, tuy vậy mỗi chủng VSV có khả năng chọn các cơ chất đặc hiệu làm nguồn cung cấp năng lượng và cacbon cho tế bào. Khi nguồn cơ chất thích hợp nhất đã cạn kiệt thì VSV sẽ sử dụng nguồn cơ chất thứ cấp góp phần làm sạch nước thải [13].

Người ta đã xác định được, đối với từng loài VSV ở từng điều kiện thì khả năng phân huỷ hợp chất nitro thơm là khác nhau. Boopathy và cộng sự đã nghiên cứu sự phân huỷ sinh học TNT trong đất đạt hiệu quả cao nhất khi cơ chất là rỉ đường. Sucinate là cơ chất không mang lại hiệu quả phân huỷ tốt vì thiếu N, các vitamin và các khoáng chất thiết yếu khác [31].

Theo một số tác giả [26, 27, 33, 84], các VSV sinh trưởng trên môi trường khoáng Czapek cải tiến có khả năng phân huỷ các hợp chất nitro thơm tốt hơn các môi trường khác. Khi môi trường có mặt lignin cũng kích thích quá trình phân huỷ các hợp chất nitro thơm tốt hơn trong môi trường không có lignin. Có thể chính lignin là nhân tố cảm ứng cho việc sinh ra enzym xúc tác cho quá trình phân huỷ các hợp chất nitro thơm này [27].

1.1.4.5. Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm

Vì các chất ô nhiễm là hợp chất nitro vòng thơm, những chất rất độc đối với sinh vật nói chung và VSV nói riêng, nên nồng độ các chất này có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng sinh trưởng của VSV [28, 56, 83], từ đó gây ảnh hưởng lớn tới khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm của chúng.

Thông thường, các VSV không có khả năng chịu đựng và phát triển trong môi trường có nồng độ các chất ô nhiễm này ≥ 25mg/l khi chúng là nguồn hữu cơ duy nhất [69]. Khi môi trường có bổ sung thêm chất dinh dưỡng, khả năng chịu đựng và phân huỷ tăng lên nhưng khi nồng độ các chất này quá cao (≥ 50mg/l), nó có thể ức chế sự phát triển VSV ngay cả trong môi trường giàu dinh dưỡng [69].

1.1.5. Các công nghệ xử lý môi trường bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ bằng phương pháp sinh học

1.1.5.1. Xử lý đất ô nhiễm thuốc nổ

Qua thực nghiệm, mặc dù đã phân lập được một số chủng VSV có khả năng phân huỷ chất thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ, các nhà nghiên cứu cũng chưa tìm ra được VSV đặc trưng có khả năng đặc biệt phân huỷ chất thải loại này và một tổ hợp các sinh vật bản xứ thường cho hiệu quả cao trong sự phân huỷ.

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.

1.1.5.1.1. 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. Thêm vào đó, ủ compost 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.

1.1.5.1.2. Đất canh tác

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

1.1.5.1.3. Phân huỷ bằng thực vật :

Là quá trình trong đó sử dụng thực vật 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.

1.1.5.1.4. Xử lý bằng nấm mục trắng

Nấm mục trắng, *Phanerochaete chryosporium* đã được nghiên cứu một cách rộng rãi hơn cả so với các loài nấm khác trong phân hủy 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, hầu hết các ghi nhận về sự phân huỷ TNT đều được quy cho các quần thể vi khuẩn bản địa, Lohr (1993); Mefarland và cộng sự (1990).

1.1.5.1.5. Xử lý sinh học tại chỗ

Bao gồm 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.

1.1.5.2. 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 chứng 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 [7].

Một hướng đang được quan tâm là nghiên cứu sinh phân hủy 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 để xử lý những nơi bị ô nhiễm rộng nhưng nồng độ chất ô nhiễm không cao. 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.

1.2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

1.2.1. Nguyên liệu

- 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 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.....) ....

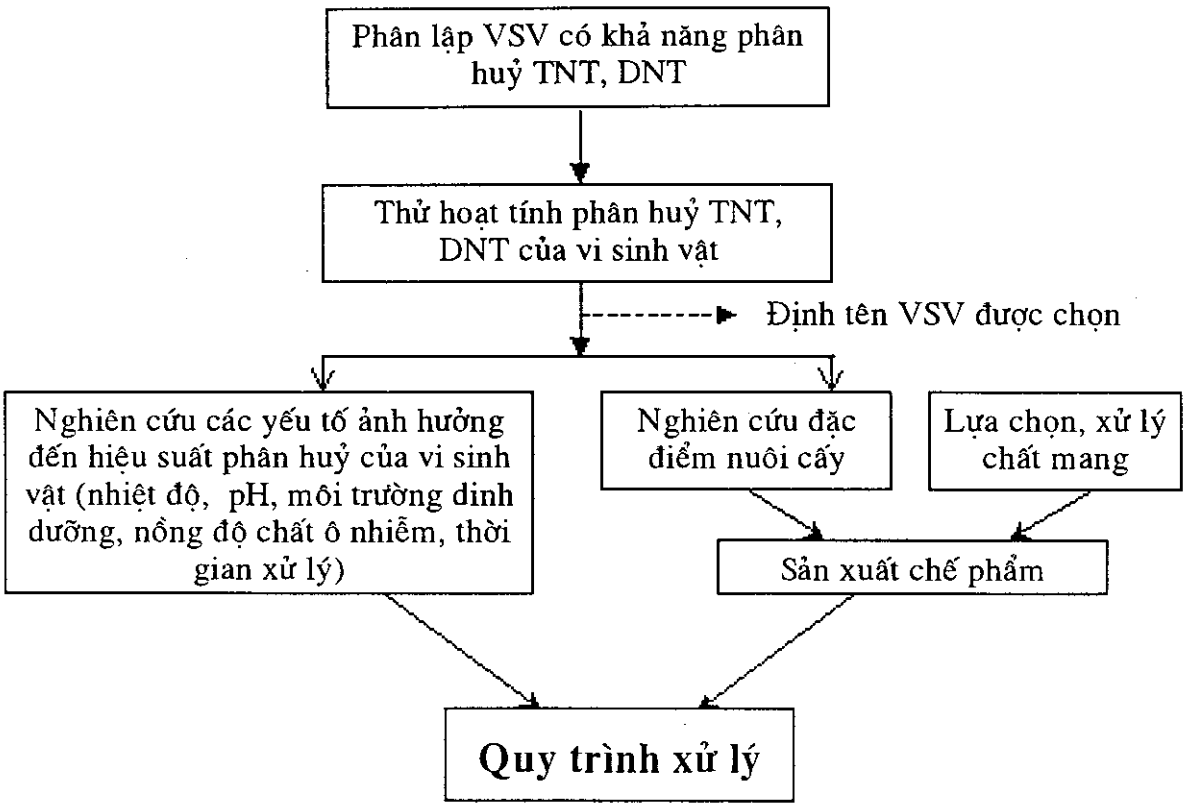
** Thiết bị:*

- 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 kị khí ELE (Anh)
- Máy ly tâm HETTICH (Đức)
- Máy so màu JENWAY 6300 (Anh)
- Sắc ký lỏng cao áp HPLC 1100

1.2.2. Phương pháp

Dựa trên nguyên tắc cơ bản của các phương pháp nghiên cứu VSV [2] song với đối tượng cụ thể của đề tài là VSV phân huỷ các chất ô nhiễm là thành phần thuốc phóng, thuốc nổ (TNT, DNT) (những chất tương đối khó cho quá trình phân huỷ bằng VSV), 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 như trong quá trình phân lập phải có bước làm giàu, trong quá trình nghiên cứu phải có thay đổi cụ thể tuỳ theo mục đích của thí nghiệm.

SƠ ĐỒ THÍ NGHIỆM



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

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

1.2.2.1. Phương pháp phân lập được các chủng VSV có khả năng phân huỷ các chất TNT, DNT trong điều kiện hiếu khí [2, 4, 5, 8, 17]

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 ($30^{o}C \pm 2^{o}C$), 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.

1.2.2.2. 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 kị khí (phương pháp kị khí), ở nhiệt độ phòng (30°C ± 2°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.

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

1.2.2.3.1. 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, saccaroza (3g/l) và TNT, DNT nồng độ 30mg/l và 100mg/l (tuỳ điều kiện hiếu khí hay kị 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.

1.2.2.3.2. 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 kị 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.

1.2.2.3.3. 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 kị 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.

1.2.2.3.4. 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 kị khí).

Nuôi cấy ở nhiệt độ 30 - 32^{0}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.

1.2.2.3.5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy

Nuôi cấy VSV trong thiết bị lên men Bioflo 2000 (hiếu khí) và Ele (kị 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.

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

Sự thay đổi TNT, DNT trong môi trường được đo bằng phương pháp SKLCA, 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.

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

1.2.2.5.1. 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^{0}C.

1.2.2.5.2. 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.

1.2.2.6. 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 1‰và sục khí 5 ngày. Đánh giá hiệu quả xử lý bằng cách đo lượng TNT, DNT còn lại trong môi trường.

1.3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

1.3.1.1. Phân lập và sơ tuyển

Từ các mẫu đất đã thu thập trên các bãi đất nhiễm thuốc nổ khác nhau, tiến hành phân lập và tuyển chọn các VSV có khả năng phát triển trên môi trường có TNT, DNT là nguồn hữu cơ duy nhất theo phương pháp đã nêu (mục 1.2.2.1). Kết quả được trình bày trên bảng 1.3.1.

Bảng 1.3.1. Khả năng phát triển trên môi trường có TNT, DNT của các chủng VSV đã phân lập

STT	Chủng VSV	Mức độ phát triển	
		Môi trường có TNT	Môi trường có DNT
1	2	3	4
1	$Đ_1$	+++	+++
2	$Đ_2$	+++	+++
3	$Đ_3$	+++	++
4	$Đ_4$	+++	+
5	$Đ_5$	+++	+++
6	$Đ_6$	+++	+++
7	$Đ_7$	+++	+
8	$Đ_8$	+++	++
9	$Đ_9$	+	+++
10	$Đ_{10}$	+++	++
11	$Đ_{11}$	+++	+++
12	$Đ_{12}$	+	+
13	$Đ_{13}$	+++	+++

1	2	3	4
14	1m	+++	+++
15	M1	+++	+++
16	M2	++	+++
17	M4	+	±
18	D1	+	+
19	D2	++	+++
20	D3	++	+++
21	D4	++	+++
22	D5	++	+++
23	D6	+	+++
24	D7	++	+++
25	D8	++	+++
26	D13	++	+++

+ : Phát triển yếu ++ : Phát triển trung bình +++ : Phát triển mạnh

Kết quả trên cho thấy:

- 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 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 các tác giả đã công bố [7, 27].

- 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 trên như Đ1, 1m, M1... 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 xác định khả năng phân huỷ các chất này bằng thí nghiệm tiếp theo.

1.3.1.2. 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 1.2.2.2, khả năng phân huỷ TNT được đánh giá thông qua việc xác định lượng TNT còn lại trong môi trường (mục 1.2.2.4).

Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 1.3.2.

Bảng 1.3.2. Sự thay đổi nồng độ TNT trong môi trường nuôi cấy

(Nồng độ TNT trong môi trường ban đầu là 20mg/l)

STT	Chủng VSV	Nồng độ TNT còn lại trong môi trường (mg/l)	% TNT còn lại	% TNT đã giảm
1	$Đ_1$	17	85	15
2	$Đ_2$	3,2	16,0	84,0
3	$Đ_3$	12,5	62,5	37,5
4	$Đ_4$	10,0	50,0	50,0
5	$Đ_5$	7,0	35,0	65,0
6	$Đ_6$	9,0	45,0	55,0
7	$Đ_7$	15	75,0	25,0
8	$Đ_8$	6,0	30,0	70,0
9	$Đ_{10}$	4,7	23,5	76,5
10	$Đ_{11}$	4,0	20,0	80,0
11	$Đ_{13}$	8,5	42,5	57,5
12	1m	2,5	12,5	87,5
13	M1	3,7	18,5	81,5
14	Đối chứng	19,5	97,5	2,5

Đối chứng: môi trường khoáng Czapek + TNT nồng độ 20mg/l, không cấy VSV.

Từ kết quả trên bảng 1.3.2 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 tuỳ chủng mà hiệu suất phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT từ 15% (chủng $Đ_1$) đến 87,5% (chủng 1m).

- TNT trong mẫu đối chứng cũng giảm 2,5% (tỷ lệ giảm không đáng kể) có lẽ là sự thất thoát TNT do nguyên nhân ngoài sự phát triển của VSV.

- 5 trong 13 chủng đã thử có khả năng phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT đạt 76,5% trở lên đã được thuê 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 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 1.2.2.2, khả năng phân huỷ DNT được đánh giá thông qua việc xác định lượng DNT còn lại trong môi trường (mục 1..2.2.4).

Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 1.3.3.

Bảng 1.3.3. Sự thay đổi nồng độ DNT trong môi trường nuôi cấy

(Nồng độ DNT trong môi trường ban đầu là 20mg/l)

STT	Chủng VSV	Nồng độ DNT còn lại trong môi trường (mg/l)	% DNT còn lại	% DNT đã giảm
1	2	3	4	5
1	Đ1	3,5	17,5	82,5
2	Đ2	3,4	17,0	83,0
3	Đ3	11,0	55,0	45,0
4	Đ5	13,0	65,0	35,0
5	Đ6	6,0	30,0	70,0
6	Đ9	10,5	52,5	47,5
7	Đ11	10,0	50,0	50,0
8	Đ13	5,0	25,0	75,0
9	1m	3,2	16,0	84,0
10	M1	3,35	16,75	83,25
11	M2	10,0	50,0	50,0
12	D2	6,4	32,0	68,0

1	2	3	4	5
13	D3	5,5	27,5	72,5
14	D4	9,0	45,0	55,0
15	D5	3,6	18,0	82,0
16	D6	12,0	60,0	40,0
17	D7	6,2	31,0	69,0
18	D8	6,4	32,0	68,0
19	D13	3,6	18,0	82,0
20	ĐC	19,0	95,0	5,0

Từ kết quả trên 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, tuỳ 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%).

- DNT trong mẫu đối chứng cũng giảm 5% có lẽ do sự thất thoát hoặc sai số khi tiến hành thí nghiệm.

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

1. Chủng Đ1 - *Pseudomonas sp2.*
2. Chủng Đ2 - *Bacillus stearothermophilus*
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 cao cả TNT và DNT đó đó ở các bước tiếp theo chúng tôi sử dụng chủng này để thí nghiệm.

1.3.1.3 Ảnh hưởng của điều kiện ngoại cảnh đến khả năng phân huỷ và chuyển hoá TNT, DNT

1.3.1.3.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến tốc độ sinh trưởng và khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV

Thí nghiệm được tiến hành theo mục 1.2.2.3.1. Nồng độ TNT, DNT được xác định theo mục 2.2.5.4. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 1.3.4.

Bảng 1.3.4. Sự thay đổi nồng độ VSV, TNT và DNT trong môi trường nuôi cấy ở các nhiệt độ khác nhau

(Số lượng VSV ban đầu 4,4 x 10^6 CFU/ml, nồng độ TNT, DNT ban đầu là 30mg/l)

STT	Nhiệt độ (^{0}C)	Số lượng VSV trong môi trường sau 3 ngày nuôi cấy (CFU/ml)	TNT còn lại trong MT (mg/l)	% TNT giảm	DNT còn lại trong MT (mg/l)	% DNT giảm
1	10	1,7 x 10^5	28,22	5,93	28,92	3,6
2	20	4,3 x 10^{10}	18,15	39,5	24,54	18,2
3	30	1,5 x 10^{12}	4,76	84,13	1,44	95,2
4	35	1,3 x 10^{12}	4,35	85,5	1,55	94,84
5	40	1,3 x 10^9	19,75	34,16	24,17	19,44
6	45	1,5 x 10^2	29,30	2,3	29,66	1,1

Kết quả bảng trên cho thấy ở trong dải nhiệt độ khảo sát từ 10 - 45^{0}C, VSV đều có khả năng tồn tại và phân huỷ TNT, DNT nhưng với tốc độ khác nhau. Ở 10^{0}C và 45^{0}C, số lượng VSV còn sống nhỏ hơn số lượng ban đầu, sau 3 ngày nuôi cấy. Điều này cho thấy ở nhiệt độ quá lạnh hoặc quá nóng, VSV không thể phát triển trên môi trường nghèo lại có chất độc hại, sự phân huỷ TNT, DNT do đó không đáng kể. Ở nhiệt độ 20^{0}C, nồng độ VSV tăng lên đến khoảng 10^{10}CFU/ml; đến 30 - 35^{0}C, nồng độ VSV đạt cực đại, khoảng10^{12} CFU/ml nhưng đến 40^{0}C nồng độ VSV giảm còn 10^9CFU/ml. Còn đến 45^{0}C, sau một ngày nghiên cứu còn rất ít tế bào nào có khả năng sống sót, điều này chứng tỏ VSV phân huỷ TNT, DNT thuộc VSV ưa ấm. Chúng có thể phát triển trong dải nhiệt độ từ 20 - 40^{0}C và t^0_{opt} là 30 ± 3^{0}C. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác [2, 5, 13].

Hiệu suất phân huỷ TNT tỷ lệ thuận với nồng độ VSV trong môi trường tức là t^0_{opt} của sự sinh trưởng cũng là t^0_{opt} cho sự phân huỷ TNT của VSV. Khoảng nhiệt độ này đủ rộng để ứng dụng vào việc phân huỷ sinh học các hợp chất độc hại có trong thuốc súng đạn ở những vùng ấm mà nhiệt độ trung bình năm không dưới 20°C, tức là các VSV mà chúng tôi phân lập phù hợp cho việc xử lý nước ô nhiễm thuốc súng đạn tại nơi sản xuất và cất giữ của nước ta.

1.3.1.3.2. Ảnh hưởng của pH môi trường ban đầu đến sinh trưởng và khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV

Thí nghiệm được tiến hành theo mục 1.2.2.3.2. Nồng độ TNT, DNT trong môi trường nuôi cấy cũng được xác định theo mục 1.2.2.4.Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 1.3.5.

Bảng 1.3.5. Sự thay đổi nồng độ VSV , TNT, DNT trong môi trường nuôi cấy ở các pH ban đầu khác nhau

(Số lượng VSV ban đầu là 4,4 x 10^6 CFU/ml; nồng độ TNT và DNT là 30mg/l)

STT	PH ban đầu	Số lượng VSV trong môi trường sau 3 ngày nuôi cấy (CFU/ml)	TNT còn lại trong MT (mg/l)	% TNT giảm	DNT còn lại trong MT (mg/l)	% DNT giảm
1	3	0	28,7	4,3	28,3	5,7
2	5	7,2 x 10^8	17,31	42,3	18,8	37,3
3	6	4,36 x 10^{11}	8,5	71,6	13,0	56,7
4	7	7,72 x 10^{12}	6,2	79,3	9,5	68,3
5	8	1,35 x 10^{10}	8,2	72,66	10,8	64,0
6	9	1,2 x 10^6	26,5	11,66	23,9	20,3

Từ bảng 1.3.5 cho thấy:

- pH ban đầu của môi trường có ảnh hưởng khá lớn đến khả năng sinh trưởng, phân huỷ TNT, DNT của VSV. Trong dải pH đã thí nghiệm, pH trong khoảng trung tính đến kiềm nhẹ (6 - 8) là pH thích hợp cho sự phát triển và đó cũng là dải pH thể hiện khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV .

- Tuy nhiên, pH ban đầu của môi trường thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phân huỷ TNT và DNT của VSV là pH 7. Ở pH này, nồng độ VSV đạt cực đại ($7,72 \times 10^{12}$) và hiệu suất phân huỷ TNT là 79,3%, DNT là 68,3%. Kết quả này cũng đã được thừa nhận [48, 52].

1.3.1.3.3. Ảnh hưởng của chất dinh dưỡng đến khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV

Thí nghiệm này, tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của hai loại đường thông dụng là: glucoza và sacaroza với nguồn nitơ là: bột đậu tương.

* *Ảnh hưởng của đường glucoza và saccaroza*

Trong 7 loại môi trường (MT) thử nghiệm có thành phần khoáng và lignin như nhau, được bổ sung thêm đường với các nồng độ khác nhau. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 1.3.6.

Bảng 1.3.6. Sự thay đổi lượng TNT, DNT trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy ở các nồng độ đường khác nhau

(Nồng độ TNT, DNT ban đầu là 30mg/l)

TT	Lượng đường bổ sung vào 1l MT	TNT còn lại trong MT (mg/l)	% TNT giảm	DNT còn lại trong MT (mg/l)	% DNT giảm
1	Glucoza 1g	6,12	79,6	8,3	72,33
2	Glucoza 3g	4,75	84,17	7,35	75,5
3	Glucoza 5g	4,45	85,17	7,2	76,0
4	Sacaroza 1g	1,97	93,43	6,6	78,0
5	Sacaroza 3g	1,3	95,7	1,9	93,7
6	Sacaroza 5g	1,22	96,0	1,6	94,7
7	ĐC (không bổ sung đường)	9,45	68,5	9,9	67,0

* *Ảnh hưởng của nguồn nitơ hữu cơ*

Trong 4 loại môi trường (MT) thử nghiệm có thành phần khoáng và lignin như nhau, được bổ sung thêm bột đậu tương (BĐT) với các nồng độ khác nhau. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 1.3.7.

Bảng 1.3.7. Sự thay đổi nồng độ TNT, DNT trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy ở các môi trường khác nhau

(Nồng độ TNT, DNT ban đầu là 30mg/l)

TT	Lượng bột đậu tương bổ sung vào 1l MT	TNT còn lại trong MT (mg/l)	% TNT giảm	DNT còn lại trong MT (mg/l)	% DNT giảm
1	0,0125g	8,5	71,7	7,9	73,7
2	0,025g	3,3	89,0	4,1	86,33
3	0,05g	2,1	93,0	3,3	89,0
4	ĐC (0g)	9,45	68,5	12,0	60,0

Từ bảng kết quả trên bảng 1.3.6 và 1.3.7 cho thấy:

Các chất dinh dưỡng với nồng độ khác nhau được bổ xung vào môi trường nuôi cấy, có tác động khác nhau đến khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV:

- Tất cả các mẫu bổ sung thêm nguồn hydratcacbon vào môi trường nuôi cấy VSV, hiệu quả phân huỷ chất ô nhiễm tăng đáng kể so với đối chứng (mẫu tăng ít nhất cũng được 11,1% (glucose 1g/l) và mẫu tăng nhiều nhất là 27,5% (saccarose 5g/l)).

- Môi trường bổ xung đường saccaroza cho hiệu quả phân huỷ cao hơn bổ sung glucoza với cùng nồng độ. Kết quả cũng cho thấy, trong khoảng nồng độ đường đã thử nghiệm (1 - 5g/l) nếu bổ sung càng nhiều đường thì hiệu suất phân huỷ càng lớn tuy không hoàn toàn là tỷ lệ thuận. Trong trường hợp với TNT và DNT, môi trường có nồng độ đường 5g/l, hiệu suất phân huỷ cao hơn môi trường có nồng độ đường 3g/l nhưng không đáng kể, để đảm bảo tính kinh tế và tiêu chuẩn ô nhiễm chất hữu cơ của nước thải theo TCVN (chỉ tiêu COD & BOD) chỉ nên bổ sung thêm đường vào môi trường với hàm lượng 3g/l.

- Bổ sung thêm bột đậu tương vào môi trường nuôi cấy với nồng độ 0,025g/l cho hiệu quả phân huỷ tăng rõ rệt.

- Có thể việc thêm chất dinh dưỡngvào môi trường sẽ kích thích sự phát triển mạnh mẽ của VSV làm tăng khả năng chịu đựng cũng như khả năng phân huỷ chất độc của VSV.

1.3.1.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ TNT và DNT

Thí nghiệm được tiến hành theo mục 1.2.2.3.4, nồng độ TNT, DNT trong môi trường được xác định theo mục 1.2.2.4. Kết quả được trình bày trên bảng 1.3.8.

Bảng 1.3.8 Sự thay nồng độ TNT, DNT trong môi trường nuôi cấy so với nồng độ ban đầu

TT	Nồng độ chất ô nhiễm trong MT (mg/l)	TNT còn lại trong MT (mg/l)	% TNT giảm	DNT còn lại trong MT (mg/l)	% DNT giảm
1	15	0	100	0,3	98,0
2	20	0	100	0,5	97,5
3	25	0,6	97,6	2,5	90,0
4	30	2,0	94,0	5,55	81,5
5	35	4,1	88,3	10,3	70,5
6	45	16,5	62,56	21,6	52,0
7	55	38,5	30,0	44,0	20,0

Kết quả cho thấy:

- Khi nồng độ quá cao, hiệu quả xử lý thấp vì chất độc đã làm cho phần lớn VSV bị chết hoặc bị ức chế, không phát triển được. Điều này phù hợp với các nghiên cứu đã công bố [56].

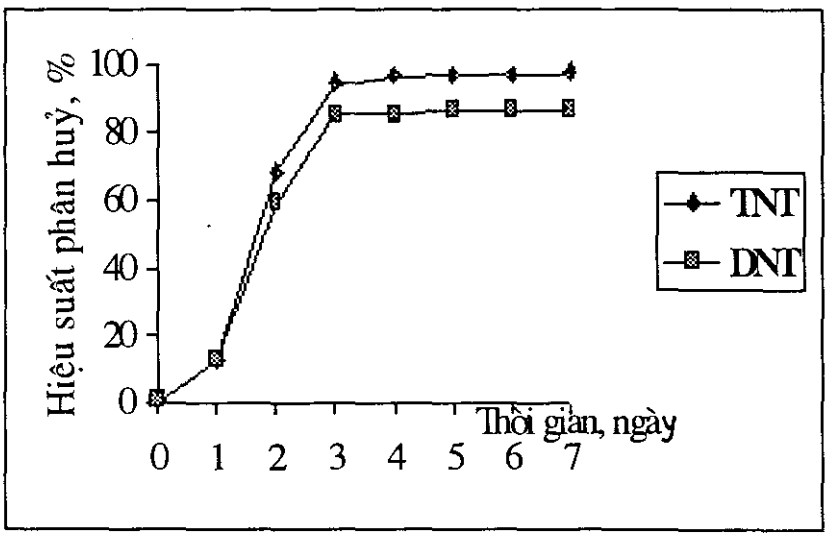
- Nồng độ thích hợp để xử lý TNT là ≤ 35 mg/l ; với DNT là ≤ 30mg/l. Điều này được giải thích bởi cấu trúc phân tử của các chất liên quan đến khả năng thâm nhập vào tế bào VSV, đến độ độc của từng nhóm chất và đến khả năng phân huỷ của VSV đối với chất ô nhiễm.

1.3.1.3.5. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy (động học quá trình phân huỷ)

Kết quả được trình bày trên bảng 1.3.9 và hình 1.3.1.

Bảng 1.3.9. Sự thay đổi nồng độ TNT, DNT trong môi trường theo thời gian nuôi cấy (nồng độ TNT, DNT ban đầu 30mg/l)

TT	Thời gian nuôi cấy (ngày)	TNT còn lại trong MT (mg/l)	% TNT giảm	DNT còn lại trong MT (mg/l)	% DNT giảm
1	1	26,1	13,0	26,25	12,5
2	2	9,6	68,0	12,33	58,6
3	3	1,8	94,0	4,35	85,5
4	4	1,2	96,0	4,3	85,67
5	5	1,05	96,5	4,1	86,4
6	6	1,0	96,7	4,0	86,7
7	7	0,9	97,0	4,0	86,7



Hình 1.3.1. Mối liên quan giữa thời gian nuôi cấy và hiệu suất phân huỷ TNT, DNT của VSV

Từ bảng 1.3.9, hình 1.3.1 cho thấy:

- Hiệu suất phân huỷ tăng nhanh sau 2 ngày nuôi cấy và chậm lại sau 4 ngày nuôi cấy, đến ngày thứ 5 và 6 nồng độ các chất ô nhiễm trong môi trường gần như không đổi.

- Tuỳ từng điều kiện, lưu lượng nước thải, nồng độ và tính kinh tế, nên lấy thời gian xử lý phù hợp cho TNT, DNT là 3 - 4 ngày.

* **Tóm lại:** 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 là:

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 ± 5^0C	30 ± 5^0C
Thời gian xử lý (ngày)	3 - 4	3 - 4

Tuy nhiên:

- Sau khi lên men để phân huỷ TNT, DNT nước thải trở nên đục hơn, 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 và phương án keo tụ. Kết quả cho thấy, khi đưa nước thải đã lên men phân huỷ TNT, DNT về pH ≥ 8, dùng chất keo tụ là phèn chua với nồng độ 0,05%, nước thải trong, COD, BOD giảm đạt được tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN), cụ thể:

Thời điểm xác định	COD (mg/l)	BOD_5(mg/l)
Sau lên men	220	43,9
Sau keo tụ, lắng, lọc	96	26

1.3.1.4. Lựa chọn thành phần chất mang VSV - Sản xuất chế phẩm

1.3.1.4.1. Khả năng duy trì số lượng VSV trong chất mang

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 celluloza 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 [48, 68], 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 rơm, trấu, mùn cưa và các phụ phẩm này được trộn theo những tỷ lệ khác nhau. Các cặp chất mang CM1 và CM2, CM3 và CM4, CM5 và CM6, CM7 và CM8 có thành phần như nhau và có độ ẩm tương ứng là 30% và 50%.

Sản xuất chế phẩm theo mục 1.2.2.5 giữ ở nhiệt độ phòng (30 ± 2°C), cứ sau 2 tuần kiểm tra số lượng VSV một lần, kết quả được trình bày trên bảng 1.3.10.

Bảng 1.3.10. Sự thay đổi số lượng (CFU/g) chủng VSV trên các chất mang khác nhau, với thời gian bảo quản khác nhau

CM / Thời gian, tuần	CM1	CM2	CM3	CM4	CM5	CM6	CM7	CM8
0	$1,75.10^9$	$2,14.10^9$	$1,93.10^9$	$1,15.10^9$	$1,62.10^9$	$1,05.10^9$	**$1,63.10^9$**	**$1,48.10^9$**
2	$1,93.10^9$	$9,83.10^9$	$4,52.10^9$	$7,23.10^9$	$6,02.10^9$	$5,27.10^9$	**$3,05.10^9$**	**$3,58.10^9$**
4	$2,63.10^7$	$7,43.10^7$	$2,16.10^7$	$6,03.10^7$	$8,72.10^7$	$1,13.10^7$	**$1,23.10^{11}$**	**$1,69.10^{11}$**
6	$8,23.10^5$	$4,72.10^5$	$3,86.10^5$	$1,12.10^6$	$4,32.10^5$	$1,56.10^5$	**$1,90.10^{11}$**	**$2,73.10^{11}$**
8	$9,72.10^3$	$5,83.10^4$	$5,72.10^3$	$7,03.10^4$	$6,52.10^3$	$2,63.10^3$	**$7,20.10^{10}$**	**$1,08.10^{11}$**
10	-	-	-	-	-	-	**$6,83.10^{10}$**	**$7,53.10^{10}$**
12	-	-	-	-	-	-	**$1,72.10^{10}$**	**$2,65.10^{10}$**
24	-	-	-	-	-	-	**$2,68.10^9$**	**$9,14.10^9$**

Kết quả ở bảng 1.3.10 cho thấy:

Ở các chất mang CM1 - CM6 sự tăng số lượng VSV không đáng kể sau 2 tuần, sau đó giảm nhanh ở các tuần tiếp theo và đến tuần thứ 8, số lượng chỉ còn khoảng 10^3 CFU/g chế phẩm. Điều này chứng tỏ các chất mang này không những không duy trì được số lượng VSV mà còn làm giảm số lượng VSV nhanh chóng sau 8 tuần. Và cũng do đó, từ tuần thứ 10 về sau, chúng tôi không đếm số lượng VSV còn lại ở các chất mang này.

Ngược lại, ở CM7 và CM8, số lượng VSV dao động trong khoảng 10^7 - 10^{11} CFU/g sau 6 tuần. Đến tuần thứ 8, số lượng tế bào bắt đầu giảm trong chế phẩm nhưng sau 12 tuần số lượng tế bào vẫn còn nhiều hơn số lượng ban đầu trong chế phẩm. Sau 24 tuần, số lượng VSV trong mỗi chế phẩm tương đương với số lượng VSV 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 chọn CM8 làm chất mang cho chế phẩm phân huỷ sinh học TNT và DNT.

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

*** Sản xuất giống VSV:**

- Các VSV phân huỷ mạnh TNT và DNT sử dụng để sản xuất chế phẩm bao gồm:

TSF	DSF
1. Đ11: *Alcaligenes sp.* 2. Đ2: *Bacillus stearothermophillus* 3. Đ10: *Pseudomonas sp.* 4. 1m: *Stenotrophomonas maltophilia* 5. M1: *Curvularia prasadii* R. L. & B. L. Mathus	1. Đ1: *Pseudomonas sp.* 2. Đ13: *Pseudomonas aeruginosa* 3. 1m: *Stenotrophomonas maltophilia* 4. M1: *Curvularia prasadii* R. L. & B. L. 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 ± 2^0C. 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 121^0C trong 30 phút, sấy khô ở 100^0C 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.

1.3.1.5. Sơ đồ quy trình xử lý nước thải chứa TNT, DNT hiếu khí

Từ tài liệu [11, 13] và kết quả các thí nghiệm (mục 1.3.1.3) có thể đề xuất quy trình xử lý nước thải chứa TNT, DNT theo các bước sau:

- Nước thải có chứa TNT, DNT có nồng độ $\leq$ 35mg/l và $\leq$ 30mg/l (tương ứng) được gom vào bể điều hoà, 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, tại đây bổ sung thêm khoáng và chế phẩm sinh học (TSF và DSF) với tỷ lệ 0,1%, sục khí liên tục 3 - 5 ngày với tốc độ dòng khí 30 m^3/giờ.

- Để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ, tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $Ca(OH)_2$ sao cho 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 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; TNT, DNT - 0,5mg/l.

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

1.3.1.6. Kết quả xử lý nước thải Nhà máy 121

Nước thải từ nhà máy 121 được pha loãng sao cho nồng độ TNT ≤ 35mg/l. Xử lý theo quy trình đã xây dựng. Kết quả được trình bày trên bảng 1.3.11.

Bảng 1.3.11. Sự thay đổi một số chỉ tiêu nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ của Nhà máy 121 trước và sau xử lý

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
34,6	0,45	98,7	136	93	65	28,7

Từ bảng trên cho thấy:

- Nồng độ TNT trong nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ ở nhà máy 121 là khá cao, nước thải không pha loãng có nồng độ TNT là 57,67mg/l (nước thải ở bể chứa chung).

- Xử lý nước thải theo quy trình đã lựa chọn cho hiệu xuất phân huỷ TNT khá cao. Trên 98% TNT có trong môi trường (nồng độ ban đầu là 34,6mg/l) đã bị phân huỷ hoặc chuyển hoá.

- Các chỉ tiêu khác về môi trường (COD, BOD_5) đạt tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN).

1.3.1.7. Kết luận

1. Từ các mẫu đất, nước bị nhiễm thuốc nổ đã phân lập,tuyển chọn được 26 chủng VSV, bao gồm: 20 chủng vi khuẩn chiếm 76,9% ; 4 chủng mốc chiếm 15,6% còn lại 2 chủng xạ khuẩn chiếm 7,7%, có khả năng phát triển trên môi trường có TNT, DNT như là nguồn hữu cơ duy nhất. Trong đó, môi trường chứa TNT là 13 chủng, DNT là 19 chủng (một số chủng phát triển tốt trên cả hai môi trường có TNT và DNT). Kết quả thí nghiệm cho thấy, VSV hoàn toàn có khả năng chấp nhận và chuyển hoá các chất độc là thành phần thuốc nổ, điều này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả đã công bố [7, 27, 65].

2. Trong 26 chủng đã phân lập có 11 chủng có khả năng phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT, DNT mạnh. Các chủng này đã được định tên và nghiên cứu tiếp để tạo chế phẩm sinh phân huỷ các chất ô nhiễm là thành phần thuốc nổ.

- Khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV phụ thuộc nhiều vào các yếu tố ngoại cảnh như nhiệt độ, pH, môi trường dinh dưỡng, nồng độ chất ô nhiễm và thời gian tiếp xúc của VSV với chất ô nhiễm. Theo đó, khả năng phân huỷ TNT, DNT của VSV đạt tối đa ở nhiệt độ 30 - 35^{0}C, pH 7 (trung tính), môi trường có thành phần khoáng bổ xung thêm đường saccarose nồng độ 3g/l, bột đậu tương 0,025g/l, nồng độ TNT ≤ 35 mg/l, DNT là ≤ 30 mg/l và thời gian nuôi cấy là 3 - 4 ngày.

- Đã sản xuất được chế phẩm VSV xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ, chế phẩm này bao gồm một số VSV có khả năng phân huỷ mạnh chất ô nhiễm và có thời gian bảo quản lớn hơn 6 tháng.

- Đã xây dựng được quy trình xử lý nước thải và đã áp dụng xử lý nước thải chứa TNT, DNT từ quá trình sản xuất thuốc nổ ở nhà máy 121 cho kết quả tốt: nồng độ TNT còn 0,45mg/l, COD: 93mg/l, BOD: 28,7mg/l (đạt tiêu chuẩn nước thải loại B - TCVN) [17].

1.3.2. Phân huỷ TNT bằng phương pháp sinh học kị 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 có nồng độ TNT ≤ 35 mg/l. Các 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 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. Do đó, chúng tôi tiến hành các thí nghiệm sinh chuyển hoá TNT trong điều kiện kị 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 kị khí, chúng tôi cố gắng lựa chọn tập đoàn VSV kị 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.

1.3.2.1. Lựa chọn tập đoàn VSV kị khí có khả năng chuyển hoá TNT cao

Các tài liệu tham khảo [6, 22, 24, 41, 52, 57] 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 kị 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 theo mục 1.2.2.2. trong thiết bị kị 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 được trình bày trên bảng 1.3.12.

Bảng 1.3.12: Sự thay đổi nồng độ TNT trong môi trường nuôi cấy với các loại bùn khác nhau (nồng độ TNT ban đầu 100mg/l)

Loại bùn	Lượng TNT còn trong môi trường	
	Lượng TNT còn (mg/l)	% TNT bị chuyển hoá
Bùn cống nước thải sinh hoạt	20	80
Bùn sông Tô Lịch	15	85
Bùn ao	35	65
Bùn kênh thoát nước thải của cơ sở chế biến thực phẩm Tương Mai	0	100

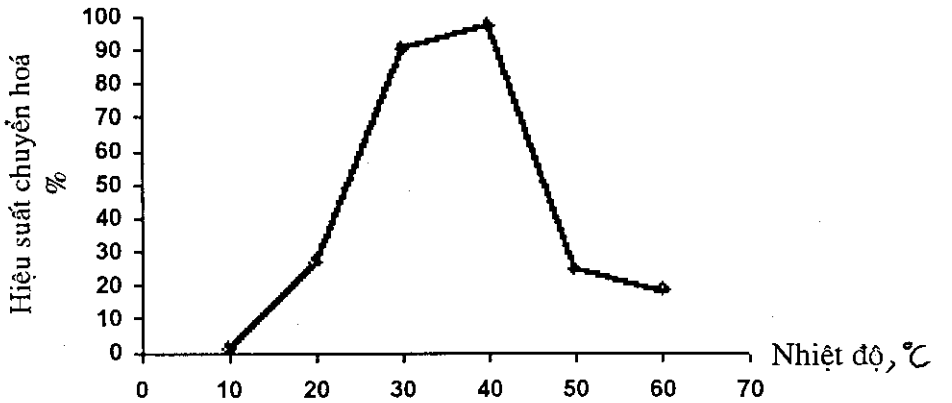
Kết quả trên cho thấy:

- 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 [32, 52, 57]: 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 [32] thì vi khuẩn khử sulphat này là *Desulfovibrio* species (chủng B) phân lập được từ bùn cặn của nhà máy sản xuất thức ăn.

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

1.3.2.2.1.Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chuyển hoá kị khí TNT của VSV

Nuôi cấy kị khí bùn hoạt tính nồng độ 5g/l trong môi trường khoáng pH8 chứa TNT nồng độ 100mg/l ở các nhiệt độ 10, 20, 30, 40, 50, 60^{0}C. Sau 5 ngày lấy mẫu, đo lượng TNT còn lại trong môi trường. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chuyển hoá kị khí TNT được xác định thông qua nồng độ TNT còn lại trong môi trường. Kết quả được trình bày trên hình 1.3.3.



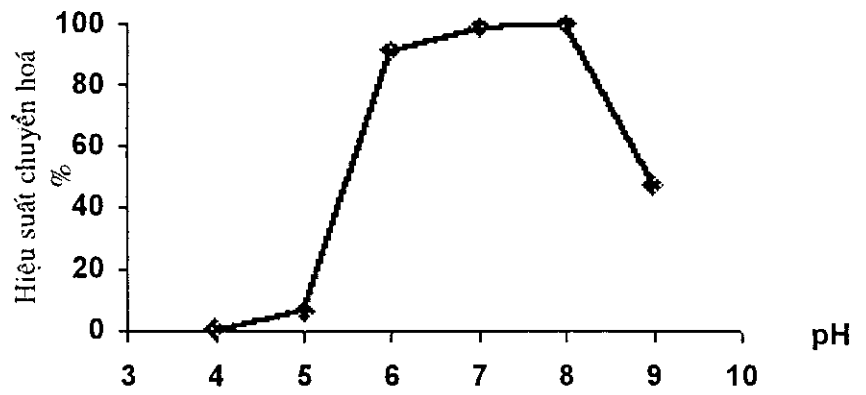
Hình 1.3.3: Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hiệu suất chuyển hoá kị khí

Trên hình 1.3.3 cho thấy:

- Nhiệt độ trong khoảng 30 - 40^{0}C là thích hợp cho quá trình lên men kị khí chuyển hoá TNT, nhiệt độ tối thích là 40^{0}C. Điều này chứng tỏ tập đoàn VSV trong bùn hoạt tính là nhóm ưa nhiệt.

1.3.2.2.2. Ảnh hưởng của pH ban đầu

Nuôi cấy kị khí bùn hoạt tính nồng độ 5g/l trong môi trường khoáng chứa TNT 100mg/l ở nhiệt độ 40^{0}C, điều chỉnh pH ban đầu của môi trường đạt pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 bằng H_2SO_4 và NaOH. Sau 5 ngày lấy mẫu, xác định nồng độ TNT còn lại trong môi trường. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên hình 1.3.4.



Hình 1.3.4: Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất chuyển hoá TNT của VSV dưới điều kiện kỵ khí

Từ hình 1.3.4 cho thấy:

Trong khoảng pH từ trung tính đến kiềm nhẹ (6 - 8), khi pH càng tăng, khả năng chuyển hoá TNT càng mạnh. pH tối thích là pH8, tại pH này hiệu suất chuyển hoá đạt 100%. Trong thực tế, ở pH9, sau 5 ngày ủ, nồng độ TNT trong nước thải cũng không xác định được nhưng từ đối chứng và quan sát sự phát triển của VSV cho thấy ở pH kiềm, TNT cũng bị phân huỷ hoá học nên sự mất đi của TNT ở pH này không phải chỉ là sự sinh phân huỷ.

1.3.2.2.3. Ảnh hưởng của thời gian đến hiệu suất chuyển hoá kị khí TNT của VSV

Nuôi cấy kị khí bùn hoạt tính nồng độ 5g/l trong môi trường khoáng có nồng độ TNT tương đương 100mg/l, nhiệt độ 40^0C sau 1, 2, 3, 4, 5, 6 ngày lấy mẫu, hiệu suất chuyển hoá TNT được xác định bằng sự mất đi của TNT trong môi trường nuôi cấy. Kết quả được trình bày trên bảng 1.3.13.

Bảng 1.3.13: Hiệu suất chuyển hoá TNT của VSV sau thời gian nuôi cấy khác nhau (nồng độ TNT ban đầu 100mg/l)

Thời gian	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
Nồng độ TNT còn (mg/l)	82,6	15,5	2,9	1,5	0	0
Nồng độ TNT bị chuyển hoá(mg/l)	27,4	84,5	97,1	98,5	100	100
Hiệu suất chuyển hoá (%)	27,4	84,53	97,1	98,5	100	100

Kết quả bảng trên cho thấy, sau 5 ngày lên men kị khí với 0,5% bùn hoạt tính (nồng độ VSV 10^7 - 10^8 CFU/g bùn), 100% TNT trong môi trường đã bị chuyển hoá. Tuy vậy, thời gian 5 ngày ủ là hơi lâu, khó áp dụng cho những nơi có mặt bằng xử lý hẹp cũng như những nơi có hệ thống xử lý nhỏ. Các thí nghiệm tiếp theo nhằm rút ngắn thời gian xử lý.

1.3.2..2.4. Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm (TNT) và VSV (bùn hoạt tính)

Nuôi cấy kị khí bùn hoạt tính nồng độ 5, 10, 15 g/l trong môi trường khoáng có nồng độ TNT: 50, 100, 150 mg/l, nhiệt độ 40^0C. Sau 3 ngày lấy mẫu, xác định lượng TNT còn lại trong môi trường. Kết quả trình bày ở bảng 1.3.14.

Bảng 1.3.14. Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm (TNT) và VSV (bùn)

N.độ TNT, mg/l / Bùn, g /l / Ngày	50			100			150		
	5	10	15	5	10	15	5	10	15
1	35,0	0,45	0,2	76	11,6	6,1	135	16,7	16.4
2	11,7	0	0	16,2	2,01	1,01	68	6,5	6,5
3	5,5	0	0	6,84	0	0	28	2.94	4,2
5	3,3	0	0	3,6	0	0	10,7	1,5	0,94

Từ bảng trên có thể thấy rõ, ảnh hưởng của nồng độ TNT và VSV trong quá trình xử lý bằng phương pháp sinh học kị khí:

- Nếu nồng độ VSV (bùn hoạt tính thấp 5g/l), sau 5 ngày ủ TNT chưa bị chuyển hoá hết ở cả 3 nồng độ, ở các nồng độ bùn cao hơn (10, 15g/l) không xác định được TNT trong môi trường sau 2 ngày nuôi cấy ở các mẫu có nồng độ TNT là 50 và 100mg/l, tuy nhiên sắc đồ cho thấy, sau lên men khị khí vẫn còn sản phẩm trung gian.

- Khi nồng độ TNT là 150mg/l với nồng độ bùn 15g/l, sau 5 ngày ủ vẫn còn TNT với nồng độ 0,94mg/l.

Do đó trong quá trình xử lý, tùy nồng độ TNT trong nước thải để sử dụng nồng độ bùn hoạt tính tương ứng sẽ cho hiệu suất xử lý tốt hơn.

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

Từ tài liệu và các kết quả thực nghiệm, chúng tôi xây dựng quy trình xử lý nước thải chứa thuốc nổ bằng phương pháp sinh học kị 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 sulfit có thành phần sau (g/l): KCl - 0,3; $CaCl_2$- 0,07; K_2HPO_4- 0,25; KH_2PO_4. - 0,25; NaCl - 0,035; $MgCl_2$ - 0,01 ; Na_2CO_3 - 0,16; Na_2SO_4 - 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 chuyền sang bình môi trường mới. Sau 3 lần chuyển (nồng độ VSV trong bình đạt 10^8-10^9 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 .

Qui trình xử lý nước thải chứa TNT bằng phương pháp sinh học kị khí:

- Nước thải chứa TNT, DNT có nồng độ ≥ 35mg/l đến 150mg/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 kị khí, 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 1 để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ 1, tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $Ca(OH)_2$ sao cho pH ≥ 8, khuấy đều, để lắng 24 giờ.

- Phần nước trong sau keo tụ được được chuyển sang bể điều hoà 2 (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 bổ sung 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 30m^3/giờ.

- Tiếp theo để lắng 6 giờ tại bể lắng 2, rồi lọc qua 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 kị khí (bể lắng 1) được tuần hoàn lại hệ thống xử lý sinh học kị khí.

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

1.3.2.4. Xử lý thử nghiệm nước thải chứa TNT của Z121 theo các điều kiện tối ưu đã nghiên cứu

Để kiểm chứng kết quả đã nghiên cứu, chúng tôi tiến hành lên men kị khí với

điều kiện sau: nước thải chứa TNT nồng độ 98,8mg/l + khoáng sulffit + bùn hoạt tính (10g/l, với nồng độ VSV 10^8CFU/g), pH8, ủ ở 40^0C. Sau 3 ngày, xác định một số chỉ tiêu môi trường cơ bản. Kết quả được trình bày ở bảng 1.3.15.

Bảng 1.3.15: Các chỉ tiêu môi trường của nước thải trước và sau xử lý kị khí

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	35,8

Sau 3 ngày ủ kị khí, TNT đã bị chuyển hoá hoàn toàn. Các chỉ tiêu về BOD, COD đều đạt tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN) [18].

1.3.2.5. Kết luận

- Tập hợp các VSV trong bùn hoạt tính từ các cống nước thải của các cửa hàng ăn, các cơ sở sản xuất thức ăn có nhiều vi khuẩn khử sulphat có khả năng chuyển hoá TNT cao, có thể được lựa chọn để dùng trong quá trình xử lý nước thải chứa TNT bằng phương pháp kị khí.

- Các yếu tố môi trường ảnh hưởng lớn đến hiệu suất chuyển hoá TNT của VSV kị khí. Môi trường khoáng sulfit là môi trường thích hợp cho sự phân huỷ TNT kị khí. Điều kiện thích hợp cho hiệu suất chuyển hoá tối đa là: nhiệt độ 40^0C, pH8, thời gian nuôi cấy 2 - 5 ngày tuỳ nồng độ TNT. Nếu nồng độ TNT cao có thể điều chỉnh lượng bùn hoạt tính (VSV) trong bình ủ để rút ngắn thời gian lên men và TNT được chuyển hoá hoặc phân huỷ hoàn toàn.

- Có thể áp dụng kết quả nghiên cứu này vào xử lý nước thải chứa TNT ở nồng độ cao (> 100mg/l) cho các cơ sở hoặc các dây chuyền sản xuất thuốc nổ chứa TNT trước khi thải ra ao hồ tự nhiên.

1.3.3. Xử lý TNT bằng phương pháp kết hợp 2 quá trình khị khí và hiếu khí để loại bỏ sản phẩm trung gian

Nước thải chứa TNT nồng độ 100mg/l, bổ sung khoáng sulphit, bùn hoạt tính (10g/l), điều chỉnh pH đến 8, lên men khị khí 5 ngày sau đó bổ sung các nguyên tố vết,

các muối vô cơ (tạo điều kiện nitrat hoá tốt), VSV ... theo mục đích của thí nghiệm. Kết quả được trình bày trên bảng 1.3.15.

Bảng 1.3.15. Kết quả phân tích nồng độ TNT trong nước thải

(Kết quả do Viện pháp y Quân đội phân tích)

Tên mẫu	Mẫu 1 G + K^+)	Mẫu 2 (K^+)	Mẫu 3 (Na^+)	Mẫu4 (vsv+ Mn^{+2})	Mẫu 5 (Mn^{+2})	Mẫu 6 (sau KK)
Nồng độ TNT (mg/l)	0,0085	0,0073	0,0087	KPH	0,0075	0,0104

* KPH- không phát hiện

- Kết quả trên bảng cho thấy ở tất cả các mẫu thử nghiệm nước thải đều có hàm lượng TNT rất ít (<10μg/l).

- Mẫu bổ sung VSV hiếu khí và Mn^{+2} cho kết quả tốt nhất (không phát hiện được TNT trong môi trường)

- Kết quả sắc kí khối phổ tại Viện pháp y Quân đội cho thấy không còn sản phẩm trung gian (xem phần phụ lục).

1.4. MỘT SỐ KIẾN NGHỊ KHI XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA TNT, DNT TỪ QUY TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC NỔ

Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ là một loại nước thải chứa nhiều hợp chất nitro vòng thơm độc hại như TNT (chủ yếu), DNT, một số tạp chất và các sản phẩm tự phân huỷ chưa hoàn toàn của TNT trong tự nhiên. Do đó, muốn xử lý triệt để nước thải loại này đòi hỏi một quy trình kết hợp nhiều yếu tố môi trường cũng như sinh vật.

Sự phân huỷ TNT bằng VSV đã được nghiên cứu và là phương pháp tiên tiến, hiệu quả. Sự biến đổi sinh học của TNT đã được nhiều nhà khoa học nghiên cứu [25, 32, 33, 36, 59, 60...]. Fernando [38] chỉ ra rằng, TNT có nồng độ ban đầu 30mg/l trong môi trường nuôi cấy nấm *Phanerochatae chrysosporium* (hiếu khí), khoảng 50% bị phân huỷ tới CO_2 trong 30 ngày và chỉ còn 2,8% TNT có thể thu hồi được. Trong nuôi cấy kị khí, 2 loại VSV là *Pseudomonas sp.* và vi khuẩn khử sulfat *Desulfovibrio sp.* Có khả năng chuyển hoá TNT ở nồng độ ban đầu 100mg/l thành triaminotoluene hoặc toluene bằng quá trình đề amin hoá khử sản phẩm trung gian diaminonitrotoluene.

Tuy nhiên, các nghiên cứu đều phát hiện ra các sản phẩm chuyển hoá trung gian nhưng không có bằng chứng về sự bẻ gẫy vòng hoặc khoáng hoá. Điều này chứng tỏ sự hạn chế khi sử dụng phân huỷ sinh học TNT và các hợp chất nitro có vòng thơm bằng các VSV đơn lẻ.

Nhiều ý tưởng của các nhà nghiên cứu đã được đưa ra nhằm khắc phục hạn chế đã nêu khi sử dụng phân huỷ sinh học TNT bằng các VSV đơn lẻ. Andrea và cộng sự [22] đã nghiên cứu sự chuyển hoá triaminotoluene (TAT) được tạo thành trong quá trình khử TNT bằng VSV và giả định rằng VSV chuyển hoá TAT bằng tế bào của vi khuẩn sulfit hoá, chỉ xảy ra trong điều kiện hiếu khí có sự xúc tác của các nguyên tố vết. Sản phẩm của sự chuyển hoá TAT chưa biết rõ nhưng trong dịch huyền phù tế bào hiếu khí, khoảng 1/3 nhóm amino đã được giải phóng thành amoni. Một số tác giả khác đề nghị kết hợp nhiều loại VSV (nấm, vi khuẩn, xạ khuẩn) trong nhiều công đoạn xử lý [45, 50, 60, 67...].

Từ nghiên cứu tài liệu, kế thừa kết quả nghiên cứu của các tác giả đã công bố, từ quá trình thực nghiệm trong khuôn khổ đề tài nhánh KC - 04 - 10, chúng tôi có một số kiến nghị sau:

1. Với nước thải từ quá trình sản xuất thuốc nổ có nồng độ TNT $\leq$ 35mg/l sẽ được xử lý bằng quy trình phân huỷ hiếu khí. Nước thải sau xử lý được thải ra ao, hồ chứa hoặc cánh đồng sinh học có trồng ngổ dại, bèo tây hoặc cỏ lác... là những thực vật ngập nước có tác dụng làm sạch nước rất hiệu quả.

2. Với nước thải có nồng độ TNT lớn hơn 35mg/l đến dưới 150mg/l được xử lý bằng công nghệ phân huỷ kị khí với bùn hoạt tính chứa nhiều vi khuẩn sulfat (như trong báo cáo đã nêu), sau đó xử lý tiếp theo quy trình phân huỷ hiếu khí có bổ sung nguyên tố vết (Mn^{2+}) 3 - 4 ngày rồi thải ra cánh đồng sinh học, ao, hồ có thực vật ngập nước .

CHƯƠNG II.

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA AXIT STYPHIC TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC GỢI NỔ

2.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU

Thuốc gợi 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 gợi nổ là các loại chất thải đặc biệt có tính độc hại nguy hiểm và có tính nhạy nổ rất cao. Một trong những thành phần chính của thuốc gợi nổ là axit styphnic.

Cho đến nay chưa có tài liệu nào nói đến ảnh hưởng cụ thể của AS đối với môi trường, nhưng nó nằm trong danh sách 429 chất độc nguy hại cần được xử lý [54]. Khi có mặt trong nước, AS 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 [70]. Theo tài liệu của Urbanski [77], AS có tính chất và độ độc hại tương tự trinitrophenol (TNP). Khi tồn tại trong không khí với nồng độ 1 - 17,5mg/m^3 trong 6h, TNP gây nhiễm độc nặng cho người. TNP gây bệnh eczema, viêm thận, gây mất ngủ, làm suy giảm chức năng cơ quan tiêu hoá và hô hấp. Liều gây chết của TNP đối với chuột là 0,5g/kg. Khi bị nhiễm độc TNP 0,05g/kg liên tục trong 9 ngày chuột sẽ chết. Dung dịch TNP 0,04% gây chết sau 30 phút đối với các vi khuẩn *Staphylococcus, Typhusbakterier, Streptococcus...* TNP an toàn đối với động vật thuỷ sinh ở nồng độ $\leq$ 3,8mg/l [79].

AS là một trong những hợp chất nitro vòng thơm vì thế các nghiên cứu về sinh phân huỷ các hợp chất này cũng đã được nghiên cứu từ lâu (lịch sử nghiên cứu các công trình và cơ chế phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm đã được nói tới trong chương I). Tuy nhiên, về cấu tạo AS có vòng phenol nên có thể quá trình sinh phân huỷ gần giống với quá trình sinh phân huỷ trinitrophenol.

Theo Lenke và cộng sự, 1992; Vorbeck và cộng sự, 1994, 1998, trinitrophenol bị phân huỷ bằng cách khử một phần vòng benzen tạo hỗn hợp Meisenheimer nhờ việc gắn hydride ion vào vòng thơm và tách nhóm nitro khỏi vòng dưới dạng nitrit [55].

Theo J.C. Spain, Gibson, Jain và cộng sự, Chauhan và cộng sự [73], các hợp chất nitro vòng thơm bị khử nhóm nitro nhờ enzym mono-oxygenaza từ VSV.

Moraxella sp. có thể sử dụng 4-NP như nguồn cacbon và nitơ duy nhất. Chủng JS443 *Arthobacter sp.* và *Arthobacter protophormiae* RKJ 100 có thể sử dụng 4-NP và 4-NC như nguồn cacbon duy nhất.

Hugh McTavish, Gunjan Pandey and Prasad Kotharu [49] đã xây dựng sơ đồ con đường chuyển hoá 4-NP và resorcinol nhờ VSV. Ở đây, resorcinol bị hydroxyl hoá nhờ enzym phenol 2-monooxygenaza bằng cách giảm flavin và oxy. Trong con đường chuyển hoá này, một nhóm VSV có thể tham gia vào bước đầu tiên của quá trình chuyển hoá và các nhóm VSV khác có thể tiến hành các bước tiếp theo nhờ các enzym của chúng.

Hiện nay, trên thế giới các tài liệu về xử lý AS bằng phương pháp sinh học được công bố rất ít, hầu như chưa có.

Tại Việt Nam, việc xử lý AS của nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ bằng phương pháp sinh học cũng chưa được nghiên cứu và áp dụng nhiều. Đứng trước thực trạng ô nhiễm môi trường do AS có trong nước thải gây ra, chúng tôi tiến hành phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS mạnh để chế tạo chế phẩm và xây dựng quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ.

2.2.NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.2.1. Thiết bị:

- Các thiết bị nghiên cứu đều có độ chính xác tin cậy đã nêu ở chương I.

2.2.2. Nguyên liệu:

2.2.2.1. Các mẫu đất và nước:

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

- Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ chứa AS để xử lý ở quy mô phòng thí nghiệm.

2.2.2.2. Các hoá chất:

AS 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 VSV.

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...

2.2.2.3. Các môi trường

2.2.2.3.1. 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 VSV có khả năng phân huỷ AS có thành phần như sau [9]:

KH_2PO_4	0,4 g/l
$(NH_4)_2SO_4$	0,6 g/l
$MgSO_4.7H_2O$	0,06 g/l
$CaCl_2$	0,08 g/l
$FeSO_4$	0,01 g/l
Nước	1 lít

2.2.2.3.2. 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 AS của các chủng VSV đã tuyển chọn:

KH2PO4	0,4 g/l
(NH4)2SO4	0,6 g/l
MgSO4.7H2O	0,06 g/l
CaCl2	0,08 g/l
FeSO4	0,01 g/l
Rơm	0,1 g/l
Bột đậu tương	0,025 g/l
Nước	1 lít

2.2.2.3.3. Môi trường giữ giống

Để giữ giống VSV, môi trường có nguồn C và N hạn chế được bổ sung:

AS	5mg/l
Sacaroza	4 g/l
Thạch	20 g/l

2.2.3. Phương pháp

2.2.3.1. Phương pháp phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS

2.2.3.1.1. Phương pháp phân lập

VSV phân huỷ AS được phân lập theo phương pháp làm giàu VSV [8].

Đất và nước lấy từ các nguồn chứa chất thải là AS ở các nhà máy quốc phòng sản xuất thuốc gợi nổ.

Cân 10g đất cho vào bình tam giác 250ml có chứa 90 ml môi trườngkhoáng tối thiểu (mô tả ở mục2.2.3.1). Nguồn cacbon duy nhất là AS 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 AS cũng là 5mg/l.

Sau đó các bình tam giác được nuôi cấy trên máy lắc tốc độ 200vòng/phút ở nhiệt độ phòng (30°C ± 2°C). Thời gian nuôi cấy 7 ngày. Sự sinh trưởng của VSV phân huỷ AS được đánh giá theo độ đục của dịch nuôi cấy. Bình nào có VSV 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 AS giảm nhiều nhất tức VSV phát triển tốt nhất thì được lấy để phân lập theo phương pháp cấy gạt trên đĩa thạch. Các đĩa thạch được nuôi trong tủ ấm ở nhiệt độ 30°C ±2°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 (mục2.2.3.3). 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 AS 5mg/l là nguồn hữu cơ duy nhất.

2.2.3.1.2. Tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS cao

Các chủng sinh trưởng tốt trên môi trường thạch nghiêng có AS là nguồn hữu cơ duy nhất được lựa chọn để nuôi cấy trên môi trường dịch thể khoáng tối thiểu (mô tả ở mục2.2.3.1) có bổ sung AS với nồng độ 20mg/l. Các mẫu trên được nuôi cấy trên máy lắc tốc độ 200vòng/phút, ở nhiệt độ phòng (30°C ± 2°C).

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

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

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

2.2.3.2.1. 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 [26] 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.

2.2.3.2.2. Định tên nấm men

Nghiên cứu các đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh lý, sinh hoá của chủng nấm men M10 [17]. 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.

2.2.3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện môi trường lên sinh trưởng và khả năng phân huỷ AS của các chủng VSV đã lựa chọn

* Tiến hành nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trong môi trường dịch thể có khoáng, lignin (rơm), bột đậu tương (mô tả ở mục2.2.3.2), 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 học 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 [4] sau 5 ngày nuôi cấy.

* Để xác định ảnh hưởng của các điều kiện môi trường lên khả năng phân huỷ AS, tiến hành nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trong môi trường dịch thể có khoáng, rơm, bột đậu tương (mô tả ở mục2.2.3.2) và saccaroza 3g/l rồi bổ sung AS 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 AS ban đầu và nồng độ AS còn lại trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy.

Để xác định nồng độ AS có trong môi trường nuôi cấy, lấy 10ml dịch nuôi cấy

cho vào ống ly tâm, ly tâm 5000vòng/phút trong 15 phút. Loại bỏ cặn và sinh khối, lấy phần dịch trong xác định nồng độ AS bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp - HPLC (mục 2.3.6). Sau đó tính ra phần trăm (%) lượng AS đã giảm so với ban đầu theo công thức:

$$\% \text{ AS giảm} = 100 - \frac{\text{nồng độ AS còn lại trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy}}{\text{nồng độ AS ban đầu trong môi trường nuôi cấy}} \times 100$$

2.2.3.3.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nuôi cấy VSV trong môi trường như đã mô tả ở trên tại các nhiệt độ 15, 20, 25, 30, 35, 40°C. Đánh giá khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS của các chủng M1, M10 ở các nhiệt độ này.

2.2.3.3.2. Ảnh hưởng của pH ban đầu

Nuôi cấy VSV trong môi trường như đã mô tả ở trên tại các pH 3; 5; 6; 7; 8 (được điều chỉnh bằng NaOH và H_2SO_4). Đánh giá khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS của các chủng M1, M10 ở các pH này.

2.2.3.3.3. Ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng

* Ảnh hưởng của các nguồn Cacbon

Các nguồn cacbon được sử dụng để nghiên cứu sự sinh trưởng của 2 chủng M1 và M10 là glucoza và sacaroza nồng độ 4g/l. Sở dĩ chúng tôi chọn 2 loại đường này là vì đây là 2 loại đường thông dụng, dễ kiếm, giá thành hạ, dễ áp dụng trong thực tế.

Để đánh giá ảnh hưởng của các nguồn cacbon lên khả năng phân huỷ AS của 2 chủng trên, sử dụng sacaroza và glucoza với các nồng độ được đưa vào môi trường như sau:

- Sacaroza: 1, 2, 3, 4, 5 g/l.
- Glucoza: 1, 2, 3, 4, 5 g/l.

* Ảnh hưởng của các nguồn nitơ

Cấy VSV trên môi trường dịch thể như mô tả ở trên nhưng không có $(NH_4)_2SO_4$ và bột đậu tương. Sau đó, môi trường được bổ sung các nguồn nitơ một cách riêng rẽ với nồng độ như sau:

- $(NH_4)_2SO_4$: 0,6g/l
- $(NH_4)_2HPO_4$: 0,6g/l
- Bột đậu tương: 0,5g/l

Để đánh giá ảnh hưởng của nồng độ các nguồn nitơ lên khả năng phân huỷ AS của 2 chủng trên, 2 nguồn nitơ được bổ sung với nồng độ như sau:

- Nguồn nitơ hữu cơ (bột đậu tương) : 0; 0,01; 0,025; 0,05g/l.
- Nguồn nitơ vô cơ $(NH_4)_2SO_4$: 0; 0,3; 0,6; 1g/l.

2.2.3.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm

Sau khi xác định được môi trường dinh dưỡng, giá trị nhiệt độ, pH tốt nhất cho sự sinh trưởng và phân huỷ AS của VSV, chúng tôi sử dụng môi trường này để nghiên cứu tiếp ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm đến khả năng phân huỷ AS của chúng. AS được bổ sung vào môi trường với các nồng độ là 10; 20; 30; 40; 50mg/l.

2.2.3.3.5. Nghiên cứu động học quá trình sinh trưởng và phân huỷ AS của các chủng đã lựa chọn

* Động học quá trình sinh trưởng

Sau khi đã xác định được môi trường dinh dưỡng, giá trị nhiệt độ và pH thích hợp nhất cho sinh trưởng của VSV, nuôi cấy VSV ở các điều kiện đó trên thiết bị lên men hiếu khí Bioflo - 2000 (thể tích dịch nuôi: 2 lít). Để nghiên cứu động học quá trình sinh trưởng:

- Đối với nấm mốc, sử dụng phương pháp xác định trọng lượng sinh khối khô của 100ml mẫu sau 0; 1; 2; 3; 4; 5 ngày nuôi cấy.

- Đối với nấm men, sử dụng phương pháp đếm số lượng tế bào ban đầu và sau 1, 2, 3, 4, 5 ngày nuôi cấy bằng phương pháp pha loãng tới hạn của Cok [4].

* Động học quá trình phân huỷ AS

Nuôi cấy VSV trong thiết bị lên men hiếu khí Bioflo 2000 trong môi trường và điều kiện nuôi cấy như thí nghiệm trên với nồng độ AS 20mg/l (thể tích 2 lít). Xác định nồng độ AS còn lại trong môi trường nuôi cấy sau 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7 ngày. Động học quá trình phân huỷ AS được xác định bằng sự thay đổi nồng độ AS trong môi trường sau 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7 ngày nuôi cấy so với ban đầu.

2.2.3.4. Nghiên cứu khả năng xử lý nước thải bị ô nhiễm AS bằng các chủng VSV đã tuyển chọn

Dựa vào những đặc điểm nghiên cứu về khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS

của các chủng đã tuyển chọn, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng xử lý nước thải chứa AS của chúng:

- Nước thải được lấy từ nơi phát thải của dây chuyền sản xuất thuốc gợi nổ, xác định nồng độ AS có trong nước thải, sau đó đặt các mẫu thí nghiệm:

+ Mẫu 1 (đối chứng): 6 lít nước thải

+ Mẫu 2: 6 lít nước thải + các thành phần khoáng như trong môi trường phân lập VSV phân huỷ AS + VSV đã tuyển chọn.

+ Mẫu 3: 6 lít nước thải + các thành phần tối ưu cho sự phân huỷ AS đã nghiên cứu ở trên + VSV đã tuyển chọn.

Mẫu 2 và 3 được cấy 5% dịch nhân giống 2 chủng M1, M10 rồi nuôi sục khí ở các điều kiện tối ưu cho quá trình phân huỷ AS đã nghiên cứu ở trên. Xác định nồng độ AS từng mẫu theo thời gian. Từ đó đánh giá khả năng xử lý nước thải chứa AS của các chủng đã tuyển chọn và đưa ra quy trình xử lý AS ở quy mô phòng thí nghiệm; xác định một số chỉ tiêu hoá lý của nước thải trước và sau khi xử lý: nồng độ AS, pH, COD, BOD.

2.2.3.5. Phương pháp xác định AS trong môi trường nuôi cấy

Nồng độ AS trong môi trường nuôi cấy được xác định bằng phương pháp SKLCA [20]. Nguyên tắc của phương pháp HPLC là dựa trên sự hấp phụ và dải hấp phụ chọn lọc của các hợp chất trong cột sắc ký với pha động nhất định trong điều kiện áp suất cao. Nhờ đó người ta có thể tách riêng từng cấu tử của hỗn hợp và sử dụng Detector UV hoặc Detector - Diode Array để đo phổ hấp thụ của các cấu tử.

Điều kiện đo: Cột Hypersil c18 (200 x 4 mm); Tỷ lệ pha động MeOH : H_2O = 60 : 40 (theo thể tích); Tốc độ dòng: 0,8ml/phút; Áp suất: 280 bar.

Cách tiến hành đo: Sau khi đặt xong các thông số cần thiết, tiến hành rửa bơm, rửa cột, đợi đường nền và áp suất ổn định khoảng 30 - 45 phút. Dùng microxilanh lấy 5Ml dung dịch phân tích đưa vào buồng mẫu. Máy sẽ tự động ghi các thông số: thời gian lưu (RT), chiều cao pic (peak), diện tích cũng như thành phần phần trăm (%) và nồng độ của từng cấu tử trong hỗn hợp.

2.3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

2.3.1. Kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng VSV phân huỷ AS

2.3.1.1. Kết quả phân lập

Từ các mẫu đất và nước lấy từ các nguồn ô nhiễm AS khác nhau, tiến hành phân lập các chủng VSV có khả năng sinh trưởng trên môi trường chứa AS là nguồn hữu cơ duy nhất bằng phương pháp làm giàu VSV được mô tả ở mục 2.2.3.1.1. Kết quả được trình bày ở bảng 2.1:

Bảng 2.1. 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.

Kết quả ở bảng trên cho thấy:

- Từ 12 mẫu đất và nước bị ô nhiễm AS, phân lập được 23 chủng VSV có khả năng sinh trưởng trên môi trường có AS 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 VSV có khả năng phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm [60].

- Ở các mẫu nước, số lượng chủng VSV phân lập được là 15 chủng (chiếm 65%), nhiều hơn so với các mẫu đất (8 chủng, chiếm 35%). Điều này cho thấy VSV phân huỷ AS 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 AS là nguồn hữu cơ duy nhất, ở nhiệt độ phòng (30 ± 2°C). Kết quả được trình bày trên bảng 2.2:

Bảng 2.2. Một số đặc điểm và mức độ sinh trưởng của các chủng VSV phân lập từ đất và nước ô nhiễm AS

Nhóm VSV	Chủng VSV	Màu sắc, hình thái, kích thước khuẩn lạc	Mức độ sinh trưởng
Vi khuẩn	Z1	Khuẩn lạc trắng trong, hơi lồi, hình tròn có 2 vòng đồng tâm,.	+++
	Z2	Khuẩn lạc màu trắng sữa, tròn nhỏ.	+
	Z3	Khuẩn lạc trắng đục, tròn to	++
	Z4	Khuẩn lạc hơi vàng, bóng, tròn to.	+++
	Z5	Khuẩn lạc vàng óng, tròn nhỏ, nhầy.	+
	Z6	Khuẩn lạc trắng trong, tròn to, lồi.	++
	Z7	Khuẩn lạc trắng tròn, nhỏ li ti.	+
	1	Khuẩn lạc vàng, lồi, tròn nhỏ.	+++
	1m	Khuẩn lạc trong, tròn nhỏ, lồi.	+++
Nấm men	Z8	Khuẩn lạc hồng đỏ, hình cầu, nhỏ, ướt.	+
	Z9	Khuẩn lạc trắng, bóng mỡ, tròn nhỏ.	++
	Z10	Khuẩn lạc trắng, khô.	+++
	M3	Khuẩn lạc màu vàng nâu, rất nhỏ, nhầy bóng.	+++
	M4	Khuẩn lạc trắng kem, bóng, tròn nhỏ.	+++
	M5	Khuẩn lạc trắng mỡ, bề mặt khô, hình cầu to.	+++
	M10	Khuẩn lạc trắng kem, bề mặt khô, tròn nhỏ.	+++
	Đ1	Khuẩn lạc trắng đục, dẹt, to	+
	Đ2	Khuẩn lạc hồng, tròn nhỏ, bóng	+++
Nấm mốc	M1	Khuẩn lạc lớn, màu xám lông chuột, xung quanh đen	+++
	M2	Khuẩn lạc có hình chổi, màu vàng đậm	+++
	M9	Khuẩn lạc dạng nhung, sợi nhẹ, có khía ở vùng mép, to	+++
	M11	Khuẩn lạc hình tròn, màu xanh lục	+++
	M12	Khuẩn lạc to, xốp, màu vàng nâu	+++

+: phát triển yếu ++: phát triển trung bình +++: phát triển mạnh

Qua bảng 2.2 có thể thấy:

- Mức độ sinh trưởng của 23 chủng VSV phân lập trên môi trường có AS là nguồn hữu cơ duy nhất là khác nhau. Có những chủng phát triển tốt như M10, M1 nhưng cũng có những chủng phát triển yếu (Z1, Z2). Điều này nói lên khả năng sử dụng AS như nguồn hữu cơ duy nhất của các chủng là không giống nhau.

- Trong 3 nhóm VSV, nhóm nấm mốc có 5 chủng thì tất cả đều sinh trưởng mạnh. điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu nước ngoài [24, 60]. Nhóm nấm men có 6 trên 9 chủng có mức độ sinh trưởng mạnh, còn nhóm vi khuẩn sinh trưởng yếu: chỉ có 4 trên 9 chủng có mức độ sinh trưởng mạnh.

- Về hình thái:

+ Trong 9 chủng nấm men phân lập được, phần lớn đều có khuẩn lạc nhỏ, màu trắng. Một số có khuẩn ty giả, bề mặt khô. Một số có màu hơi hồng hoặc vàng nâu, bóng hoặc ướt...

+ Các chủng nấm mốc phân, lập được có màu sắc, hình thái đa dạng. Một vài chủng có màu vàng nâu, một chủng có màu xanh lá cây, hệ sợi phát triển, 1 chủng có màu xám lông chuột, khuẩn ty bám sâu vào mặt thạch ...

+ Các chủng vi khuẩn đa số có khuẩn lạc hình cầu nhỏ, màu trắng, mức độ sinh trưởng yếu.

- 15 chủng có mức độ sinh trưởng mạnh trên môi trường có AS là nguồn hữu cơ duy nhất sẽ được đánh giá khả năng phân huỷ AS trong môi trường dịch thể bằng thí nghiệm tiếp theo.

2.3.1.2. Kết quả tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS cao

- Để tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ AS cao, chúng tôi tiến hành nuôi cấy 15 chủng đã chọn trên môi trường khoáng tối thiểu có bổ sung AS nồng độ 20mg/l là nguồn hữu cơ duy nhất (theo mục 2.3.1.2). Sở dĩ chúng tôi chọn nồng độ AS 20mg/l để nghiên cứu là vì không VSV nào có thể sinh trưởng được ở nồng độ chất này trên 25mg/l như nguồn cacbon và nitơ duy nhất [61]. Khi nồng độ AS cao sẽ ức chế sự sinh trưởng của VSV.

- Khả năng phân huỷ AS của VSV được đánh giá dựa trên việc xác định hàm lượng AS còn lại trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC) đã mô tả ở mục 2.3.6.1.

Kết quả trình bày trên bảng 2.3.

Bảng 2.3. Sự thay đổi nồng độ AS trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy

Stt	Chủng VSV	Nồng độ AS còn lại trong môi trường nuôi cấy (mg/l)	% AS còn lại	%AS giảm
1	Z1	12.6	63.0	37.0
2	Z4	12.4	62.0	38.0
3	1	14.4	72.0	28.0
4	1m	15.6	78.0	22.0
5	Z10	19.3	96.5	3.5
6	Đ2	14.9	74.0	26.0
7	M3	7.8	39.0	61.0
8	M4	7.9	39.5	60.5
9	M5	7.9	39.0	61.0
10	M10	7.4	35.0	65.0
11	M1	8.9	44.0	56.0
12	M2	11.8	58.0	42.0
13	M9	14	70.0	30.0
14	M11	11.4	57.0	43.0
15	M12	15.6	78.0	22.0
16	Đối chứng	19.9	99.5	0.5

Kết quả trên bảng cho thấy:

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

- Trong số 15 chủng thử hoạt tính phân huỷ AS 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 AS trong môi trường giảm tới 65%).

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

2.3.2. Kết quả định tên các VSV có khả năng phân huỷ AS 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, đặc điểm hình thái của chủng nấm mốc M1 như sau:

Bảng 2.4. 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 2-5µ.
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 3-8µ.
Hình dạng, màu sắc của bào tử	Bào tử chuỗi hướng ngọn, cong nhẹ, hình thon dài, 3-4 vách ngăn, nhẵn 25-40µ x 12-17µ

Từ các đặc điểm trên, tra theo khoá phân loại nấm mốc của Bernett và Hunter [26], 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 2.5.

Bảng 2.5. 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.*

Các chủng còn lại được tiến hành tương tự, kết quả 5 chủng VSV phân huỷ AS mạnh là:

1. M1 : *Curvularia prasadii* R.L & B.L Mathur
2. M10 : *Geotrichum capitatum*
3. S2 : *Candida pelliculosa*
4. S3 : *Rhodotorula glu tinis*
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).

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

2.3.3.1 Ảnh hưởng của nhiệt độ

* Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng:

2 chủng M1, M10 được nuôi cấy trên môi trường có khoáng, lignin (rơm), bột đậu tương và đường (như mô tả ở mục 2.2.3.3.1). Xác định trọng lượng sinh khối khô chủng nấm mốc M1 và đo mật độ quang học chủng nấm men M10 ở thời điểm ban đầu và sau 5 ngày. Kết quả trình bày trên bảng 2.6.

Bảng 2.6. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy lên sinh trưởng của chủng nấm mốc M1 và nấm men M10

Nhiệt độ	Chủng M1 (g/50ml dịch nuôi)		Chủng M10	
	0h	Sau 5 ngày	OD_0	OD_5
15^{0}C	0,008	0,092	0,154	0,989
20^{0}C	0,007	0,106	0,159	1,473
25^{0}C	0,008	0,123	0,162	1,982
30^{0}C	0,008	0,168	0,151	1,957
35^{0}C	0,008	0,156	0,161	1,438
40^{0}C	0,007	0,015	0,153	0,191

Kết quả trên bảng cho thấy:

- Nhiệt độ có ảnh hưởng rõ rệt tới khả năng sinh trưởng của 2 chủng VSV. Trong khoảng từ 15°C đến 35°C cả 2 chủng M1 và M10 đều có khả năng sinh trưởng nhưng với mức độ khác nhau.

- Chủng M1 cho sinh khối nhiều nhất khi nhiệt độ nuôi cấy là 30 và 35°C (tăng khoảng 20 lần so với ban đầu). Khi nhiệt độ giảm còn 25, 20, 15°C, sinh khối chủng M1 cũng giảm dần, chỉ tăng từ 10 - 15 lần. Khi nhiệt độ lên tới 40°C thì sinh khối tăng rất ít chứng tỏ ở nhiệt độ này M1 gần như không còn khả năng sinh trưởng.

- Đối với M10, giá trị OD_5 đạt cực đại tại nhiệt độ 25°C (đạt 1,982). Ở 30°C, giá trị OD_5 cũng lên tới 1,956. Ở các nhiệt độ khác, mật độ quang học chủng M10 giảm nhiều, chỉ đạt 0,9 - 1,4. Còn ở 40°C, sự sinh trưởng bị ức chế hầu như hoàn toàn, OD_5 gần như không đổi so với ban đầu và chỉ đạt 0,19. Như vậy, nhiệt độ tốt nhất cho sinh trưởng của chủng nấm men M10 là 25 - 30°C.

- Từ kết quả trên chứng tỏ hai chủng M1 và M10 đều là VSV 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 30-35°C. Chủng nấm men có nhiệt độ sinh trưởng tối ưu dao động từ 25-30°C. Kết quả này phù hợp với kết quả của các tác giả đã công bố [52]

** Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng phân huỷ AS*

Hai chủng M1 và M10 được nuôi trên môi trường có AS nồng độ 20mg/l như mô tả ở mục2.2.3.3.1. Sau 7 ngày, xác định nồng độ AS còn lại trong môi trường nuôi cấy bằng phương pháp HPLC. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.7.

Bảng 2.7. Sự thay đổi nồng độ AS trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ (°C)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
15	17,4	13,0	16,2	19,0
20	13,7	31,5	12,7	36,5
25	6,5	67,5	5,0	75,0
30	5,7	73,5	3,6	82,0
35	9,5	52,5	9,3	52,5
40	19,5	2,5	19,9	0,5

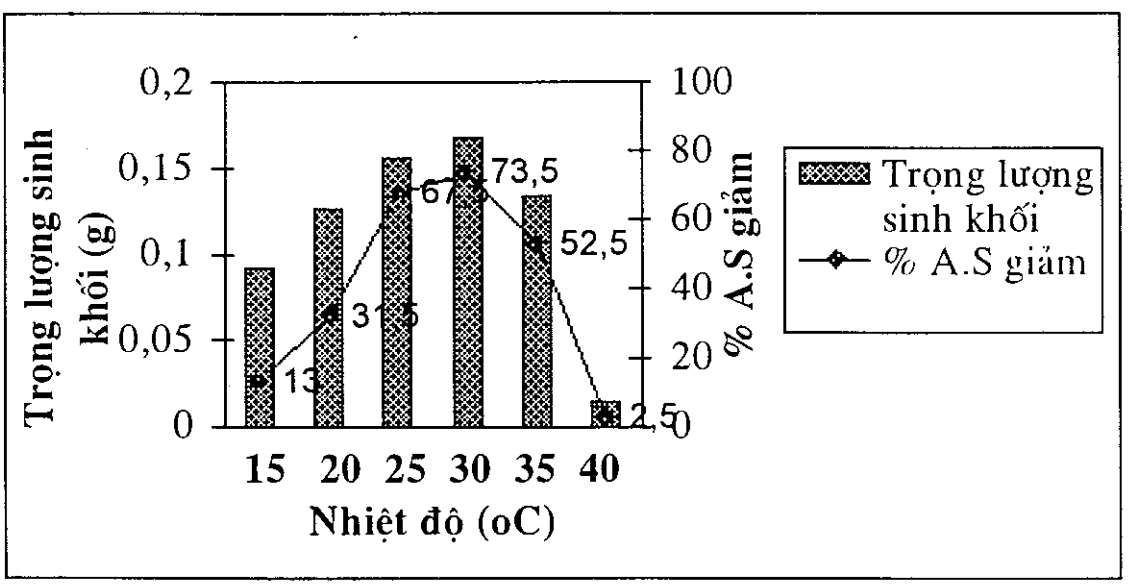
Kết quả trên bảng cho thấy:

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

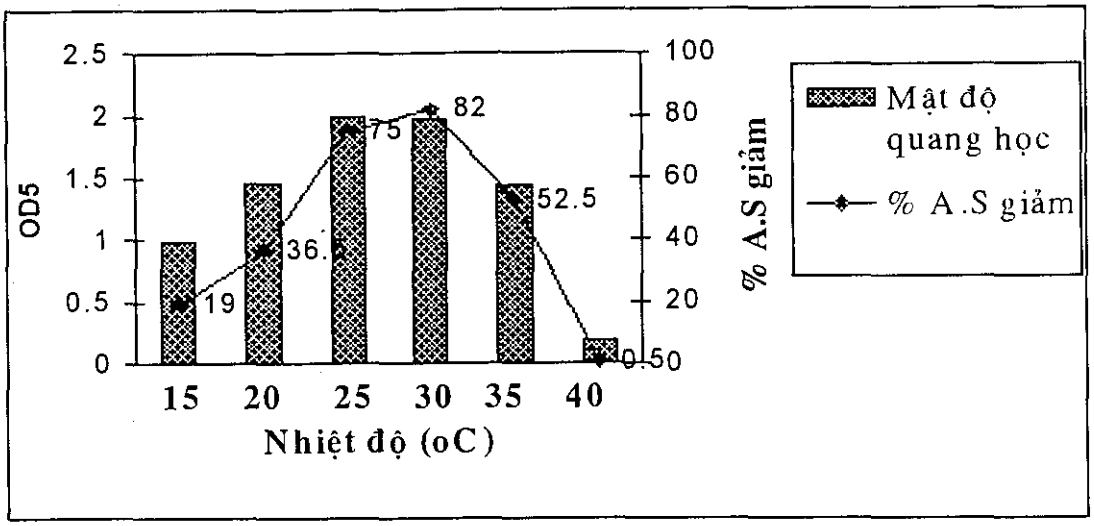
- Hiệu suất phân huỷ AS của cả 2 chủng đạt cao nhất ở 30°C, nồng độ AS giảm tới 73,5 và 82% so với ban đầu. Hiệu suất này cao hơn ở 25 và 35°C tới 1,1 - 1,6 lần. Ở 40°C, 2 chủng VSV không còn khả năng phân huỷ AS. Điều này liên quan đến khả năng sinh trưởng của chúng ở các nhiệt độ trên. Ở các nhiệt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

- 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 [70]. 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.

Kết quả trên bảng 2.6, 2.7 được biểu diễn bằng đồ thị trên hình 2.1 và 2.2:



Hình 2.1: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS của chủng M1



Hình 2.2: Ảnh hưởng của nhiệt độ lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS của chủng M10

2.3.3.2. Ảnh hưởng của pH

* Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng

- Nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trên môi trường có khoáng, lignin, bột dậu tương và đường ở các pH khác nhau theo phương pháp mô tả ở mục 2.2.3.3.2. Xác định trọng lượng sinh khối chủng nấm mốc M1 và đo mật độ quang học chủng nấm men M10 ở thời điểm ban đầu và sau 5 ngày để xác định ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.8.

Bảng 2.8. Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng của chủng M1, M10

Nhiệt độ	Chủng M1 (g/50ml dịch nuôi)		Chủng M10	
	Ban đầu	Sau 5 ngày	OD_0	OD_5
3	0,007	0,137	0,155	1,713
5	0,007	0,159	0,162	1,977
6	0,008	0,132	0,153	1,965
7	0,007	0,121	0,155	1,611
8	0,008	0,083	0,161	1,406

Kết quả ở bảng trên cho thấy:

- pH môi trường có ảnh hưởng tới sự sinh trưởng của VSV phân huỷ AS.

- Chủng M1 sinh trưởng tốt trong dải pH từ 3-6, sinh khối đều tăng từ 16 - 23 lần và tăng nhiều nhất ở pH5. Ở các pH7- pH8, mức độ sinh trưởng của M1 giảm,

trọng lượng sinh khối chỉ tăng từ 10 -14 lần. Điều này phù hợp với đặc điểm sinh trưởng của nấm mốc [5].

- Chủng M10 sinh trưởng tốt ở tất cả các pH đã thử nghiệm, giá trị OD tăng từ khoảng 0,14-0,18 lên đến 1,4 - 1,9. Tuy nhiên ở pH 5 và 6, dịch nuôi có giá trị OD_5 cao nhất, lên tới >1,9 . Chứng tỏ đây là các pH tối ưu cho sinh trưởng của M10.

- Từ đó cho thấy VSV phân huỷ AS sinh trưởng ở phạm vi pH rất rộng từ pH 3 - 8. pH thích hợp nhất cho sinh trưởng của nấm mốc là pH5, nấm men là pH 5 - 6.

** Ảnh hưởng của pH lên khả năng phân huỷ AS:*

- 2 chủng M1 và M10 được nuôi trên môi trường có AS 20mg/l như mô tả ở mục 2.2.3.3.1. Sau 7 ngày, xác định nồng độ AS còn lại trong môi trường nuôi cấy bằng phương pháp HPLC. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.9.

Bảng 2.9. Sự thay đổi nồng độ AS trong môi trường sau 7 ngày nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 ở các pH khác nhau

pH	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
3	10.7	47.5	11.6	42.5
5	**6.1**	**69.5**	4.5	77.5
6	8.0	60.0	**4.2**	**79.0**
7	11.9	40.5	5.9	70.5
8	18.0	10.0	15.3	23.5

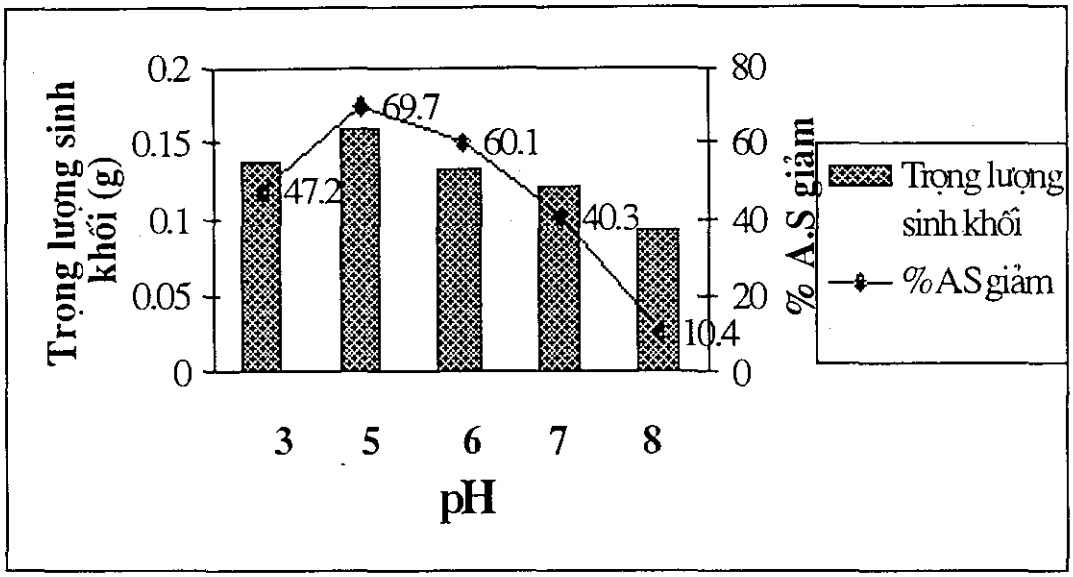
Kết quả trên bảng cho thấy:

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

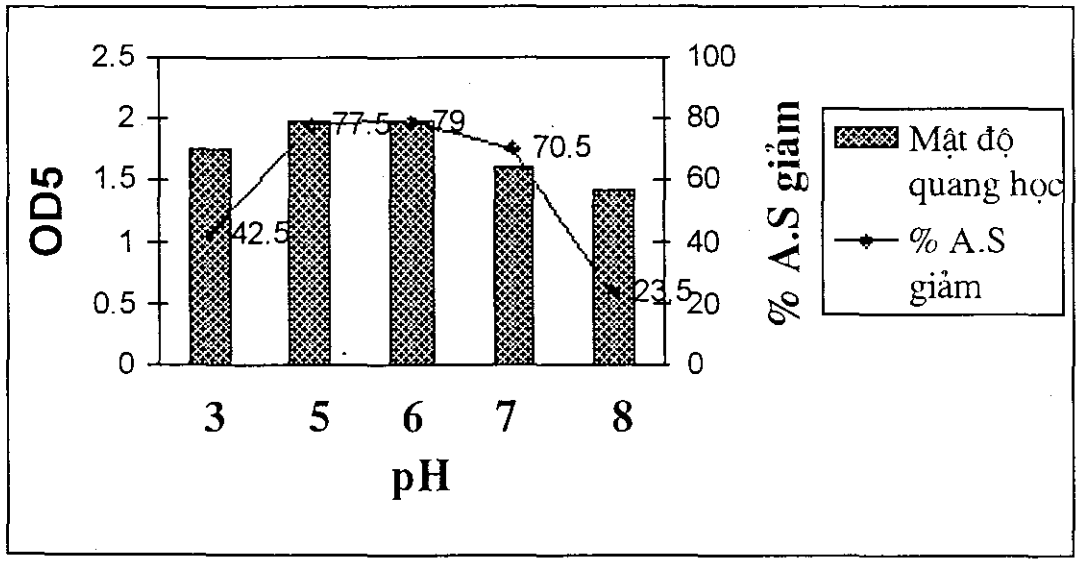
- Đối với chủng M1, hiệu suất phân huỷ AS đạt cao nhất ở pH 5 (69,5%). Còn chủng M10, hiệu suất phân huỷ cao nhất ở pH 5 - 6 (nồng độ AS giảm 77,5 - 79%). Tại pH 7, hiệu suất phân huỷ có giảm so với pH 5 - 6 nhưng không đáng kể. Ở các pH khác, hiệu suất phân huỷ AS của cả 2 chủng giảm rõ rệt. Đặc biệt, ở pH 8, cả 2 chủng có hiệu suất phân huỷ AS 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 VSV phân huỷ hợp chất nitro thơm ở các pH khác nhau [82].

- Như vậy, khả năng phân huỷ AS của các chủng tại các pH khác nhau có mối liên quan chặt chẽ tới khả năng sinh trưởng của chúng khi pH thay đổi.

Kết quả trên bảng 8, 9 được minh hoạ bằng đồ thị trên hình 2.3, 2.4.



Hình 2.3: Ảnh hưởng của pH lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS của chủng M1



Hình 2.4. Ảnh hưởng của pH lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ AS của chủng M10

2.3.3.3. Ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng:

2.3.3.3.1. Ảnh hưởng của các nguồn cacbon:

** Ảnh hưởng của các nguồn cacbon lên sinh trưởng:*

- Nuôi cấy 2 chủng M1, M10 trên các môi trường có các nguồn cacbon khác nhau (như mô tả ở mục 2.3.3.3). Đối chứng là môi trường không có nguồn cacbon. Sau

5 ngày, xác định trọng lượng sinh khối chủng M1 và đo mật độ quang học chủng M10. Kết quả trình bày trên bảng 2.10.

Bảng 2.10. Ảnh hưởng của các nguồn cacbon lên sinh trưởng của chủng M1 và M10

Nguồn cacbon	Chủng M1 (g/50ml dịch nuôi)	Chủng M10 (OD)
Đối chứng	0, 01	0,143
Glucoza	0,179	1,951
Sacaroza	0,165	1,922
Lactoza	0,138	1,416
Tinh bột tan	0,144	1,502

Kết quả bảng 10 cho thấy: Cả 2 chủng đều sinh trưởng tốt trên 4 nguồn C khác nhau: trọng lượng sinh khối chủng M1 tăng 13 - 18 lần và giá trị OD chủng M10 cũng tăng từ 10 - 14 lần so với đối chứng. Tuy nhiên, khi nuôi cấy trên nguồn C là lactoza và tinh bột tan, mức độ sinh trưởng của 2 chủng không tốt bằng trên glucoza và saccaroza. Đặc biệt, khi nguồn C là glucoza thì 2 chủng M1 và M10 có mức độ sinh trưởng tốt nhất. Điều này có thể giải thích vì glucoza là nguồn C dễ hấp thụ nhất đối với VSV.

* Ảnh hưởng của các nguồn cacbon lên khả năng phân huỷ AS:

- Nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trên các môi trường có AS 20mg/l và bổ sung các nguồn đường với các nồng độ khác nhau (như mô tả ở mục 2.2.3.3.3).

- 2 loại đường được chọn để nghiên cứu là saccaroza và glucoza vì đây là 2 loại đường dễ kiếm, giá thành rẻ và dễ áp dụng trong thực tế. Hơn nữa, mức độ sinh trưởng của M1 và M10 trên 2 nguồn C này tốt hơn cả so với các nguồn C đã nghiên cứu ở thí nghiệm trên. Ngoài ra, việc bổ sung nguồn C và N dễ sử dụng có thể giúp các VSV chống chịu và phát triển được trong môi trường có nồng độ cao chất ô nhiễm [30, 67, 82]. Sau 7 ngày, xác định nồng độ AS còn lại trong môi trường bằng phương pháp HPLC. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.11.

Bảng 2.11. Sự thay đổi nồng độ AS trong môi trường (MT) sau 7 ngày nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 ở các nồng độ saccaroza khác nhau

Nồng độ Sacaroza (g/l)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
1	8.1	59.5	6.3	68.5
2	7.3	63.5	4.9	75.5
3	6.4	68.0	4.5	77.5
4	5.4	73.0	3.5	82.5
5	5.1	74.5	3.2	83.0

Kết quả trên bảng 11 cho thấy:

- Nồng độ đường saccaroza ảnh hưởng mạnh mẽ đến khả năng phân huỷ AS của 2 chủng VSV: nồng độ đường càng cao, hiệu suất phân huỷ càng lớn.

- Đối với cả 2 chủng, 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%). Tuy nhiên tại nồng độ 4g/l, hiệu suất phân huỷ AS 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.

Bảng 2.12. Sự thay đổi nồng độ AS trong MT sau 7 ngày nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 ở các nồng độ glucoza khác nhau

Nồng độ Glucoza (g/l)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
1	10.9	45.5	7.9	61.5
2	9.7	52.0	6.6	67.0
3	8.6	57.0	5.6	72.0
4	6.3	68.5	5.2	74.0
5	5.9	70.5	4.9	75.5

Từ kết quả ở bảng 2.12 nhận thấy:

- Cũng như đối với saccaroza, nồng độ glucoza có ảnh hưởng tương tự đến hiệu suất phân huỷ AS của 2 chủng M1, M10 và cũng đạt cao nhất khi nồng độ glucoza tăng

lên 5g/l (đạt 70,5 và 75,5%). Tuy nhiên, so với môi trường có nguồn C là sacaroza thì hiệu suất phân huỷ AS của 2 chủng trong môi trường chứa glucoza là thấp hơn. Điều này có thể giải thích vì đối với VSV, glucoza là nguồn C dễ hấp thu nhất nên lượng AS chúng cần thêm cho sinh trưởng sẽ ít hơn so với trường hợp môi trường có saccaroza.

Như vậy, khi xử lý nước thải chứa AS nên bổ sung vào môi trường đường sacaroza với nồng độ 4g/l để nuôi cấy VSV phân huỷ AS (vừa hiệu quả kinh tế vừa hiệu quả phân huỷ AS cao).

2.3.3.3.2. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ

** Ảnh hưởng của các nguồn N lên sinh trưởng:*

- 2 chủng M1 và M10 được nuôi trên các môi trường có các nguồn N khác nhau (như mô tả ở mục2.3.3.3). Đối chứng là môi trường không có nguồn N. Sau 5 ngày, xác định trọng lượng sinh khối chủng nấm mốc M1 và đo mật độ quang học chủng M10 . Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.13:

Bảng 2.13. Ảnh hưởng của các nguồn N lên sinh trưởng của chủng M1 và M10:

Nguồn Nitơ	Chủng M1 (g/50ml dịch nuôi)	Chủng M10(OD)
Đối chứng	0, 006	0,157
$(NH_4)_2SO_4$	0,155	1,805
$(NH_4)_2HPO_4$	0,132	1,751
Bột đậu tương	0,161	1,956

Kết quả bảng trên cho thấy:

- Cả 2 chủng đều sinh trưởng tốt trên cả 3 nguồn N khác nhau. Đặc biệt, khi nguồn N là bột đậu tương, chúng sinh trưởng tốt nhất. Có thể ngoài việc cung cấp nguồn N cần thiết, bột đậu tương còn cung cấp thêm một số nguyên tố vi lượng và vitamin rất tốt cho VSV nên đã làm tăng khả năng sinh trưởng của chúng.

** Ảnh hưởng của các nguồn N lên khả năng phân huỷ AS*

- Nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trên các môi trường có AS nồng độ 20mg/l và bổ sung các nguồn N khác nhau (như mô tả ở mục2.3.3.3). Sau 7 ngày, xác định nồng độ AS còn lại trong môi trường nuôi cấy bằng phương pháp HPLC để đánh giá ảnh hưởng của các nguồn N lên khả năng phân huỷ AS của VSV.

- Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.14:

Bảng 2.14. Sự thay đổi nồng độ AS trong MT sau 7 ngày nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 ở các nồng độ bột đậu tương khác nhau

Nồng độ bột đậu tương (g/l)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
0	5.9	70.5	9.8	51.0
0.01	5.8	71.0	8.5	57,5
0.025	5.6	72.0	5.1	74.5
0.05	5.4	73.0	5.0	75.0

Kết quả ở bảng trên cho thấy: Nồng độ bột đậu tương (BĐT) có ảnh hưởng khác nhau tới hiệu suất phân huỷ của từng chủng.

- Đối với chủng M1, nồng độ BĐT ảnh hưởng không nhiều đến hiệu suất phân huỷ AS của VSV (nồng độ AS trong môi trường nuôi cấy vẫn giảm 70,5% kể cả khi trong môi trường không có BĐT).

- Đối với chủng M10, BĐT kích thích mạnh tới quá trình sinh phân huỷ AS: Nồng độ BĐT càng tăng, hiệu suất phân huỷ AS của M10 càng lớn. Tuy nhiên, sự tăng lên này không tỷ lệ thuận với sự tăng nồng độ BĐT. Khi tăng nồng độ BĐT từ 0,025g/l đến 0,05g/l (khi đó nồng độ BĐT cao gấp 2) nhưng hiệu suất phân huỷ lại chỉ tăng rất ít. Vì vậy, thực tế khi sử dụng chỉ cần bổ sung BĐT vào môi trường nuôi cấy với nồng độ 0,025g/l.

Bảng 2.15: Sự thay đổi nồng độ AS trong MT sau 7 ngày nuôi cấy VSV ở các nồng độ $(NH_4)_2SO_4$ khác nhau:

Nồng độ $(NH_4)_2SO_4$ (g/l)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
0	20.0	0.0	20.0	0.0
0.3	8	60.0	3.8	81.0
0.6	5.4	73.0	4.2	79.0
0.9	4.5	77.5	4.1	79.5

Kết quả trên bảng cho thấy:

- Tại 2 mẫu thí nghiệm không chứa $(NH_4)_2SO_4$ thì sau 7 ngày nuôi cấy, nồng độ AS trong môi trường không giảm. Điều này cho thấy cả 2 chủng không có khả năng phân huỷ AS 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 AS 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 AS 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 VSV phân huỷ AS.

2.3.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ AS

** Ảnh hưởng của nồng độ AS lên sinh trưởng:*

- Nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trên môi trường có khoáng, lignin, bột đậu tương, đường (như mô tả ở mục 2.3.3.4) và bổ sung AS với các nồng độ khác nhau. Sau 5 ngày, xác định trọng lượng sinh khối chủng nấm mốc M1 và đo mật độ quang học dịch nuôi chủng M10 (OD_5). Kết quả trình bày trên bảng 2.16:

Bảng 2.16: Ảnh hưởng của nồng độ AS lên sinh trưởng của chủng M1, M10

Nồng độ AS (mg/l)	Chủng M1 (g/50ml dịch nuôi)		Chủng M10	
	Ban đầu	Sau 5 ngày	OD_0	OD_5
10	0,005	0,177	0,147	1,956
20	0,008	0,152	0,123	1,642
30	0,006	0,105	0,136	1,113
40	0,006	0,071	0,154	0,359
50	0,007	0,014	0,131	0,114

Kết quả trên bảng 2.16 cho thấy:

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

- Ở nồng độ AS 10mg/l, sinh khối 2 chủng tăng nhiều nhất. Ở các nồng độ AS 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 trên thế giới [38, 45]. Ở nồng độ AS 50mg/l, 2 chủng gần như

không sinh trưởng được. Từ đó cho thấy nồng độ AS quá cao đã ức chế sự sinh trưởng của VSV. Điều này phù hợp với các kết quả nghiên cứu đã công bố [31, 60, 84].

** Ảnh hưởng của nồng độ AS lên khả năng phân huỷ của VSV*

- Nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 trên môi trường có khoáng, lignin, bột đậu tương, đường (như mô tả ở mục2.2.3.4) và bổ sung AS với các nồng độ khác nhau. Sau 7 ngày, xác định nồng độ AS còn lại trong môi trường (theo mục2.2.3.6). Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.17:

Bảng 2.17. Sự thay đổi nồng độ AS trong MT sau 7 ngày nuôi cấy 2 chủng M1, M10

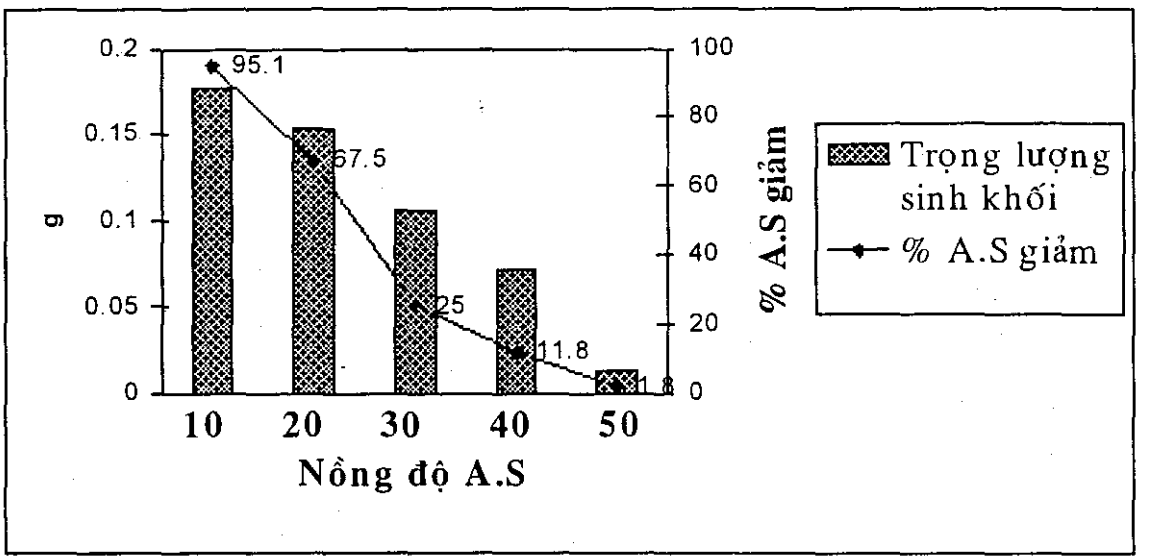
Nồng độ AS ban đầu (mg/l)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
10.1	0.5	95.1	0.3	97.0
20.0	6.5	67.5	5.2	74.0
30.0	22.5	25.0	21.9	27.0
40.1	35.8	11.8	35.2	12.5
50.1	49.2	1.8	49.8	0.4

Kết quả trên bảng 2.17 cho thấy:

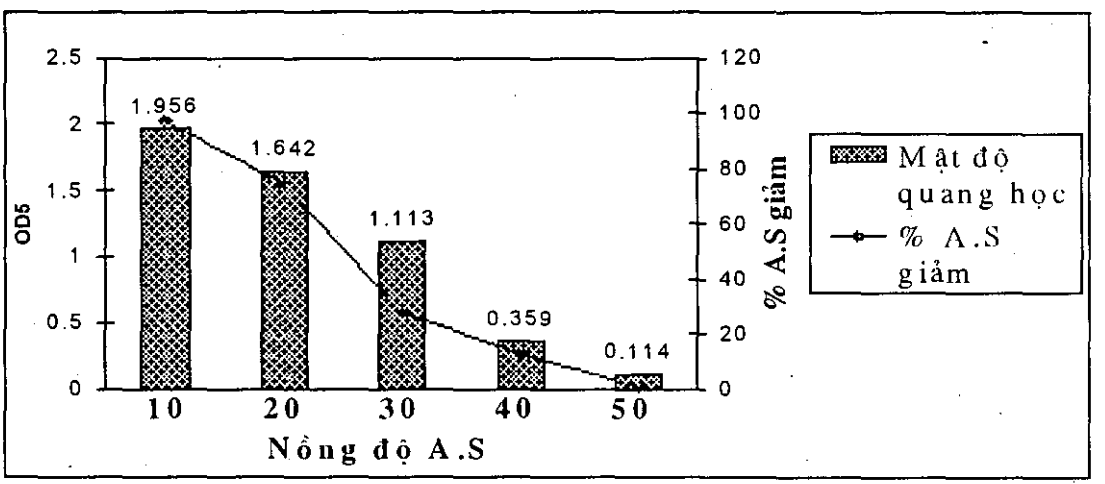
- Nồng độ chất ô nhiễm ảnh hưởng mạnh mẽ tới khả năng phân huỷ AS của 2 chủng VSV. Nồng độ AS có hiệu quả xử lý triệt để nhất là 10 mg/l: hiệu suất phân huỷ lên tới 95,1 và 97,0%. Ở nồng độ AS 20mg/l, hiệu suất phân hủy của cả 2 chủng không bằng ở nồng độ 10mg/l nhưng giá trị về lượng AS bị phân huỷ cao hơn (có thể tính được là 13,5mg và 14,8mg AS so với 9,6 và 9,8mg ở nồng độ AS 10mg/l). Ở nồng độ AS càng cao, hiệu suất phân huỷ càng thấp và khi nồng độ AS 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 VSV nên nó sẽ kìm hãm sự phát triển và hoạt tính của VSV.

- Kết quả ở bảng trên cũng cho thấy khả năng phân huỷ AS trong môi trường này cao hơn trong môi trường chỉ có AS như nguồn hữu cơ duy nhất. Điều này xảy ra do các nguồn cơ chất bổ sung thêm đã giúp VSV chống chịu tốt hơn với chất ô nhiễm và tăng hoạt tính phân hủy chúng. Lúc này, các nguồn cơ chất này là nguồn cơ chất sơ cấp và khi chúng cạn kiệt, chất ô nhiễm sẽ được sử dụng như nguồn cơ chất thứ cấp [13].

Ảnh hưởng của nồng độ AS lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ của chủng M1 và M10 được minh hoạ bằng đồ thị trên hình 2.5, 2.6.



Hình 2.5. Ảnh hưởng của nồng độ AS lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ của chủng M1



Hình 2.6. Ảnh hưởng của nồng độ AS lên khả năng sinh trưởng và phân huỷ của chủng M10

2.3.3.5. Động học quá trình sinh trưởng và phân huỷ AS

- Sau khi đã xác định được môi trường dinh dưỡng, giá trị nhiệt độ và pH thích hợp nhất cho sinh trưởng và phân huỷ AS của VSV, nuôi cấy riêng rẽ 2 chủng M1 và M10 ở các điều kiện đó trên thiết bị lên men hiếu khí Fermentor Bioflo - 2000 (Mỹ) có bổ sung AS nồng độ 20mg/l (thể tích dịch nuôi: 2 lít).

** Động học quá trình sinh trưởng:*

- Xác định trọng lượng sinh khối của 100ml mẫu chủng M1 sau 0; 1; 2; 3; 4; 5 ngày nuôi cấy và đếm số tế bào chủng M10 sau 0, 1, 2, 3, 4, 5 ngày nuôi cấy trên đĩa thạch. Kết quả trình bày trên bảng 2.18, 2.19 và minh hoạ bằng đồ thị hình 2.7.

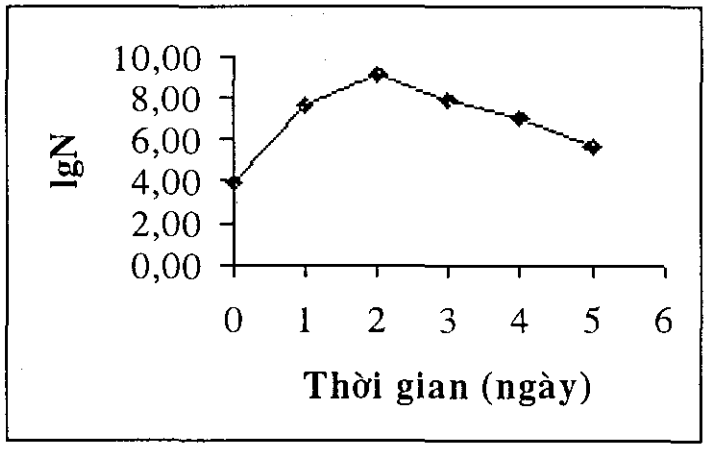
Bảng 2.18: Trọng lượng sinh khối của chủng M1 theo thời gian

Thời gian (ngày)	0	1	2	3	4	5
Trọng lượng sinh khối (g/100ml dịch nuôi)	0,013	0,056	0,122	0,197	0,291	0,305

Bảng 2.19: Số lượng VSV của chủng M10 theo thời gian

(N - Số lượng VSV (CFU/ml))

Thời gian (ngày)	0	1	2	3	4	5
N	$7,6.10^3$	$4,5.\ 10^7$	**$1,3.\ 10^9$**	$8,6.\ 10^7$	$9,1.\ 10^6$	$4,3.\ 10^5$
LgN	3,88	7,65	9,11	7,93	6,96	5.63



Hình 2.7. Đường cong sinh trưởng của M10 theo thời gian

Theo kết quả của các bảng trên, ta thấy:

- Đối với M1, sinh khối tăng nhiều từ ngày thứ 2 (trọng lượng sinh khối tăng 0,066g so với ngày thứ nhất) và tăng nhanh nhất vào ngày thứ 4 (trọng lượng sinh khối tăng lên tới 0,094g). Tốc độ tăng giảm dần ở ngày thứ 5. Như vậy tốc độ sinh trưởng của M1 đạt cao nhất ở ngày thứ 4.

- Đường cong sinh trưởng của chủng M10 gần như không có pha lag, có thể do chúng đã thích nghi với các chất ô nhiễm và môi trường nuôi cấy này là đủ chất dinh dưỡng cho sự phát triển của chúng. Pha log của quá trình sinh trưởng của chủng M10 tăng rất nhanh, pha cân bằng tồn tại ngắn và tiếp đến là pha tử vong, số lượng VSV giảm chậm. Số lượng tế bào đạt cao nhất ở ngày thứ 2 (đạt tới 10^9).

* Động học quá trình phân huỷ AS

- Nồng độ AS còn lại trong môi trường được xác định theo mục2.3.6.

- Kết quả thí nghiệm được trình bày trên bảng 2.20.

Bảng 2.20. Sự thay đổi nồng độ AS trong MT nuôi cấy 2 chủng M1 và M10 theo thời gian

Thời gian nuôi cấy (ngày)	Chủng M1		Chủng M10	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
Thời điểm ban đầu	20.2	0	19.9	0
1	15.5	23.3	6.1	69.1
2	10.9	47.5	3.9	80.2
3	8.4	58.4	3.8	80.7
4	6.5	67.8	3.6	81.7
5	5.3	73.8	3.6	81.7
6	5.2	74.3	3.5	82.2
7	5.0	75.2	3.5	82.2

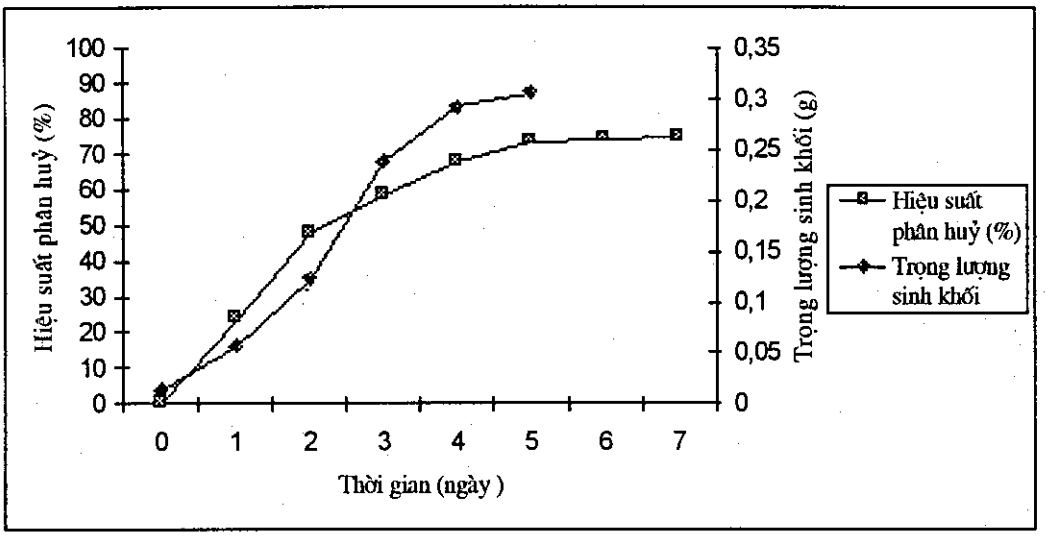
Từ kết quả trên bảng cho thấy:

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

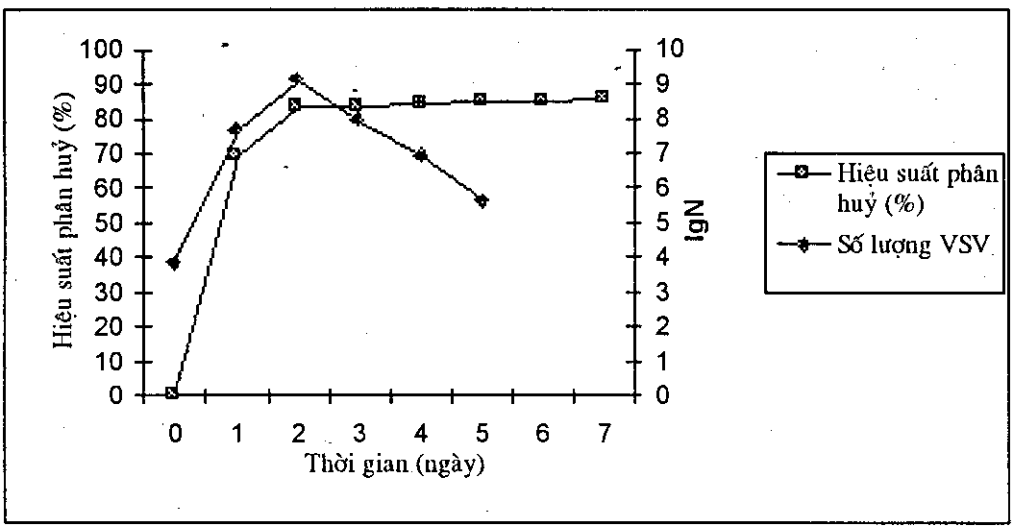
- Đối với M1, hiệu suất phân huỷ tăng dần theo thời gian và tốc độ tăng cao nhất ở ngày thứ 4 -5 của quá trình nuôi cấy (hiệu suất lên tới 67,8 - 73,8%) và chậm dần ở những ngày tiếp theo (chỉ tăng thêm 1,4%).

- 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. Như vậy, để phù hợp với cả 2 chủng nên lấy thời gian xử lý là 5 ngày.



Hình 2.8. Động học quá trình sinh trưởng và phân huỷ AS của chủng nấm mốc M1.



Hình 2.9. Động học quá trình sinh trưởng và phân huỷ AS của chủng nấm men M10

Qua kết quả các thí nghiệm nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố bên ngoài tới sinh trưởng và khả năng phân huỷ AS của VSV có thể rút ra:

- Điều kiện ngoại cảnh là yếu tố quan trọng, có ảnh hưởng lớn tới sự phân huỷ AS của VSV. Đối với 2 chủng M1 và M10, các điều kiện thích hợp nhất cho quá trình phân huỷ AS là:

Các điều kiện	Nồng độ
Nhiệt độ	30°C
PH	5-6
Saccaroza	4 g/l
N hữu cơ (bột đậu tương)	0,025 g/l
N vô cơ ($(NH_4)_2SO_4$	0,6 g/l
Nồng độ chất ô nhiễm (AS)	≤20 mg/l
Thời gian xử lý	5 ngày

Những kết quả trên sẽ là cơ sở để tiếp tục nghiên cứu và xây dựng quy trình công nghệ xử lý nước thải nhiễm AS.

2.3.4. Kết quả xử lý nước thải nhiễm AS bằng các chủng đã tuyển chọn

Mẫu nước thải được lấy từ cơ sở sản xuất thuốc gợi nổ và xác định nồng độ AS có trong nước thải bằng phương pháp HPLC. Kết quả phân tích cho thấy nồng độ AS có trong nước thải là 17,35 mg/l. Nồng độ này phù hợp với khả năng phân huỷ chất ô nhiễm của cả 2 chủng, do đó mẫu nước thải không cần pha loãng. Ngoài ra, các kết quả của các thí nghiệm trên cho thấy chủng M10 có khả năng phân huỷ AS cao hơn chủng M1 và thời gian cho hiệu suất phân huỷ tối đa của các chủng khác nhau (M1 cho hiệu suất phân huỷ AS cao nhất vào ngày thứ 4, M10 vào ngày thứ 2) nên chúng tôi kết hợp cả 2 chủng để xử lý nước thải ô nhiễm AS.

Các mẫu thí nghiệm (hình 2.10) được tiến hành theo phương pháp đã mô tả ở mục 2.3.4.

Mẫu 1: đối chứng

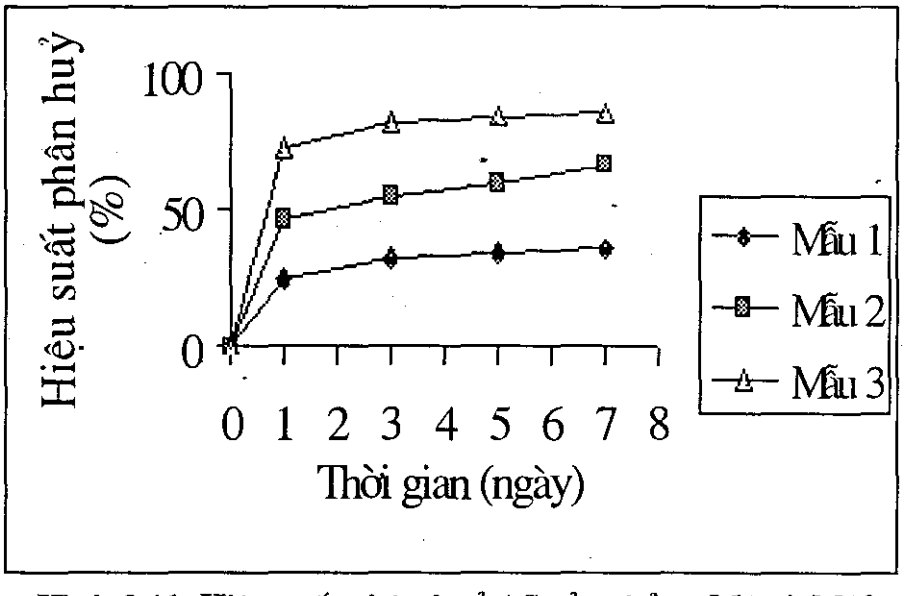
Mẫu 2: nước thải + 2 chủng M1, M10 + các thành phần khoáng.

Mẫu 3: nước thải + các thành phần tối ưu cho sự phân huỷ AS + M1, M10.

Mẫu 2 và 3 được cấy 5% dịch nhân giống 2 chủng M1, M10. Sau đó xác định nồng độ AS của cả 3 mẫu sau 1, 3, 5, 7 ngày nuôi cấy bằng phương pháp HPLC. Kết quả được trình bày trên bảng 2.21. và minh hoạ bằng đồ thị trên hình 2.10.

Bảng 2.21. Nồng độ AS còn lại trong các mẫu thí nghiệm

Thời gian	Mẫu (1)		Mẫu (2)		Mẫu (3)	
	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm	Nồng độ AS còn lại trong MT (mg/l)	% AS giảm
0h	17,35	0	17,35	0	17,35	0
1 ngày	14,18	18,3	9,36	46,1	4,84	72,1
3 ngày	13,71	21,0	7,91	54,4	3,16	81,8
5 ngày	13,27	23,5	7,10	59,1	2,50	85,6
7 ngày	12,93	25,5	5,87	66,2	2,21	87,3



Hình 2.11. Hiệu suất phân huỷ AS của chủng M1 và M10 trong 3 mẫu thí nghiệm theo thời gian

Bảng 2.21 cho thấy: Tại cả 3 mẫu thí nghiệm, nồng độ AS có giảm với các mức độ khác nhau.

- Ở mẫu 1, là mẫu đối chứng, không bổ sung VSV và bất kỳ thành phần chất dinh dưỡng nào thì nồng độ AS giảm 25,5% sau 7 ngày thí nghiệm. Sự thay đổi nồng độ AS tại đây có thể cho thấy trong tự nhiên luôn tồn tại các VSV có khả năng phân huỷ AS. Khi điều kiện thuận lợi (sục khí), chúng hoạt động mạnh hơn bình thường làm

cho lượng AS trong mẫu giảm. Như vậy, các VSV có sẵn trong nước thải cũng có khả năng phân huỷ AS, tuy hiệu suất không cao.

- Ở mẫu 2, là mẫu có bổ sung 2 chủng M1 và M10 và các thành phần khoáng như trong môi trường có nguồn N và C hạn chế thì nồng độ AS giảm tới 66,2%. Ở mẫu thí nghiệm này, nồng độ AS giảm dần theo thời gian và giảm nhiều nhất tại ngày thứ 7. Điều đó chứng tỏ khả năng phân huỷ AS của M1 và M10 mạnh hơn rất nhiều so với các VSV có sẵn trong nước thải.

- Ở mẫu 3, là mẫu nước thải có bổ sung thành phần môi trường tối ưu cho sự phân huỷ AS của 2 chủng M1 và M10 theo các kết quả đã nghiên cứu ở trên, thì nồng độ AS giảm một cách rõ rệt nhất. Trong mẫu thí nghiệm này, nồng độ AS giảm rất nhanh tới 72,1% sau 1 ngày nuôi. Sau đó, nồng độ AS tiếp tục giảm tới 87,3% sau 7 ngày thí nghiệm. Điều đó cho thấy 2 chủng M1 và M10 đã hỗ trợ cho nhau trong quá trình phân huỷ AS và nâng hiệu suất phân huỷ lên cao hơn hẳn so với nuôi cấy riêng từng chủng như ở các thí nghiệm trên. Như vậy, trong điều kiện môi trường dinh dưỡng tối ưu đối với VSV và có sự kết hợp của 2 chủng M1, M10, hiệu suất phân huỷ AS đã tăng lên rất nhiều (tới hơn 20% so với mẫu 2, hơn 60% so với đối chứng).

- Tóm lại, ở cả 2 mẫu thí nghiệm 2 và 3, hiệu quả xử lý AS đều khá tốt tuy nhiên ở mẫu 3, hiệu quả xử lý cao hơn hẳn (cao hơn 21,1%). Điều đó cho thấy việc bổ sung vào môi trường xử lý các thành phần khoáng và đường đã thúc đẩy mạnh mẽ quá trình phân huỷ AS của VSV và cho hiệu suất phân huỷ cao nhất.

2.3.5. Quy trình sản xuất chế phẩm VSV xử lý nước thải chứa AS(ASF)

*** Sản xuất giống VSV:**

- Các chủng VSV phân huỷ mạnh AS sử dụng để sản xuất chế phẩm bao gồm::

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 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 - 4; bột đậu tương - 0,025; pH - 7, trên

máy lắc 200 vòng/phút trong 3 ngày ở nhiệt độ 30 ± 2^{0}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^{0}C trong 30 phút, sấy khô ở 100^{0}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.

2.3.6. Xây dựng quy trình công nghệ xử lý sinh học nước thải chứa AS

Từ tham khảo, kế thừa các nghiên cứu đã công bố và từ quá trình thực nghiệm tại phòng thí nghiệm chúng tôi đã thiết lập quy trình xử lý nước thải chứa AS từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ như sau:

- Nước thải có chứa AS có nồng độ ≤ 20mg/l được gom vào bể điều hoà, tại đây pH nước thải được chỉnh về 5 - 6 bằng H_2SO_4 hoặc NaOH.

- Nước thải đã chỉnh pH được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học hiếu khí, 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 m^3/giờ.

- Để lắng 8 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ, tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $Ca(OH)_2$ 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 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 - 33,2mg/l; AS - 2,61mg/l.

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

2.3.7. Thử nghiệm xử lý nước thải ô nhiễm AS ở quy mô phòng thí nghiệm -10 lít

Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ được xác định các chỉ số môi trường là nồng độ AS, 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 2.22.

Bảng 2.22. Các chỉ tiêu nước thải chứa AS trước và sau khi xử lý

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

Nồng độ AS trong nước thải sau xử lý đạt mức cho phép (< 3,8mg/l) [86]. Các chỉ số pH, COD, BOD của nước thải sau xử lý được xác định: pH = 5,5; COD < 100mg/l; BOD_5 < 50mg/l - đạt tiêu chuẩn nước thải công nghiệp loại B - TCVN [19].

2.3.8. Kết luận

- 23 chủng VSV có khả năng phân huỷ AS đã được phân lập từ đất và nước bị ô nhiễm thuốc gợi nổ, trong đó có 9 chủng vi khuẩn, chiếm 39%; 9 chủng nấm men chiếm 39%; 5 chủng nấm mốc chiếm 22%.

- 5 chủng VSV có khả năng phân huỷ AS mạnh nhất đều thuộc nấm mốc và nấm men. 2 trong số 5 chủng có khả năng phân huỷ mạnh AS được chọn để nghiên cứu đại diện, đó là chủng nấm mốc M1 thuộc loài *Curvularia prasadi R.L &* B.L Mathur và chủng nấm men M10 thuộc loài *Geotrichum capitatum.*

- 5 chủng VSV được dùng để sản xuất chế phẩm xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ là: *Curvularia prasadii* R.L & B.L Mathur, *Geotrichum capitatum, Candida pelliculosa, Rhodotorula glutinis, Kloeckera sp.*

- Điều kiện môi trường có ảnh hưởng mạnh mẽ đến sinh trưởng và khả năng phân huỷ AS của các chủng nghiên cứu. Các chủng trên có khả năng phân huỷ AS tốt nhất ở điều kiện nhiệt độ 30^0C, pH = 5 - 6, môi trường khoáng có bổ sung lignin 0,1g/l;

sacaroza 4g/l và bột đậu tương 0,025g/l. Thời gian cho hiệu suất phân huỷ AS tối đa là 5 ngày. Nồng độ AS thích hợp cho quá trình phân huỷ sinh học là ≤ 20mg/l.

- Đã xây dựng được quy trình xử lý nước thải ô nhiễm AS. Sau khi xử lý, nước thải đạt tiêu chuẩn nước thải công nghiệp loại B - TCVN.

- Các kết quả thu được đã được áp dụng trong xử lý nước thải ô nhiễm AS ở quy mô phòng thí nghiệm (10 l) và cho kết quả xử lý khá cao: nồng độ AS còn 2,61mg/l (hiệu suất phân huỷ đạt 87,3%), COD còn 92mg/l, BOD còn 33,2mg/l, pH là 5,5 (đạt tiêu chuẩn nước thải loại B).

CHƯƠNG III.

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA NITROGLYCERIN (NG) VÀ NITROCELLULOSE (NC) TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC PHÓNG

3.1. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU

3.1.1. Đặt vấn đề

Nitroglycerin (glycerine trinitrat, NG hay TNG) là một chất nổ cực mạnh được dùng phối hợp với NC và là thành phần chính của thuốc phóng. Chúng được sử dụng trong chế tạo thuốc súng, thuốc pháo, pháo và sử dụng trong động cơ tên lửa [1, 85]. Việc sản xuất, vận chuyển, lưu giữ thuốc phóng và sự giải giáp vũ khí đã tạo ra một lượng lớn chất thải chứa NG (bao gồm cả chất thải rắn và nước thải). NG và NC được xếp vào loại có độc tính cao, có nghĩa là có thể gây chết người hoặc tổn thương vĩnh viễn sau khi tiếp xúc quá ngưỡng giới hạn (2,0 mg/m^3 không khí - do hiệp hội Vệ sinh Công nghiệp và Nhà nước Mỹ quy định). 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 [3]. 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 [3, 74, 77, 78]. 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 [29, 30], 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 vài phương pháp hoá học loại bỏ NG [3] nhưng phải tiêu hụ một lượng lớn hoá chất dẫn tới giá thành xử lý còn cao. Quá trình phân huỷ NG, NC bằng VSV đã được nghiên cứu từ lâu bởi nhiều tác giả [85] cho thấy một khả năng có thể chấp nhận về mặt môi trường so với các phương pháp hoá lý.

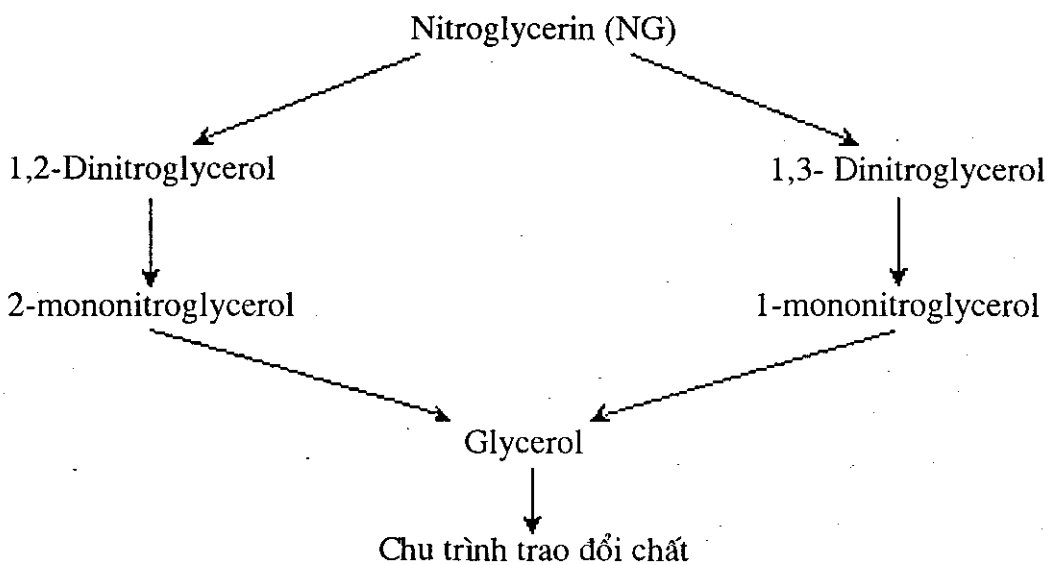
Để sử dụng VSV cho việc xử lý nước thải nhiễm bẩn bởi thuốc phóng ở các cơ sản xuất quốc phòng hiện nay một cách có hiệu quả, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng phân huỷ NG, NC của một số VSV đã tuyển chọn và một số yếu tố ngoại cảnh ảnh hưởng đến hiệu suất sinh phân huỷ NG, NC.

3.1.2. Cơ chế phân huỷ NG

NG là este nitrat rất giàu cacbon của gốc rượu polyhydric (cụ thể là glycerol) có thể được đồng hoá nhơ vi khuẩn. Ngoài ra NG cũng chứa lượng lớn nitơ, do đó cũng là nguồn cung cấp nitơ cho sinh trưởng. Cách đây không lâu, các nhà nghiên cứu châu Âu và châu mỹ đã phát hiện ra các vi khuẩn có khả năng phân huỷ NG lần đầu tiên hoạt động trong nước sông, bùn thải và đất. Và như vậy, vi khuẩn có khả năng sử dụng NG như nguồn nitơ duy nhất đã được công nhận [29, 30, 80, 81, 85]. Một số loài VSV có khả năng cố định dinitrogen từ không khí để tổng hợp axit amin và các chất hữu cơ chứa nitơ khác nhưng cũng có nhiều loài có khả năng khử nitrat hoặc nitrit thành NH_4^+ trước khi đồng hoá thành axit amin. Do đó nitrat và nitrit đóng vai trò quan trọng trong chu trình trao đổi nitơ của VSV và như thế sự xuất hiện con đường phản nitrat ở VSV để tận dụng nguồn nitơ của các este nitrat là hoàn toàn hợp lý.

Sự phân huỷ hiếu khí NG dựa trên khả năng sử sụng NG như nguồn nitơ của các VSV hiếu khí bao gồm cả vi khuẩn và nấm. Sự chuyển hoá NG diễn ra trong môi trường hỗn hợp với sự phản nitrat hoá liên tục Glycerol trinitrat thành Glycerol dinitrat và Glycerol mononitrat, cuối cùng là glycerol [71]. Glycerol sẽ tiếp tục đi vào các chu trình trao đổi chất và được các VSV khác sử dụng làm nguồn cacbon.

Sự chuyển hoá NG đã được các nhà khoa học nghiên cứu ở một số loài VSV, điển hình là *Pseudomonas putida, Agrobacterium radiobacter* và nấm *Geotrichum candidum*. Sơ đồ chuyển hoá ở các loài này đã được xây dựng tương đối hoàn chỉnh và được xem là mô hình nghiên cứu quá trình trao đổi este ở VSV hiếu khí [42].



Sự chuyển hoá NG ở *Pseudomonas putida* và *Pseudomonas fluorescens*

Quá trình chuyển hoá diễn ra với sự xúc tác của enzym NG reductase. Hiện nay, vẫn chưa có công bố nào về cơ chế hoạt động của enzym này. Thực nghiệm của các nhà khoa học cũng cho thấy tỷ lệ NG chuyển hoá thành 1-Glycerol mononitrat nhiều hơn hẳn 2-Glycerol mononitrat và sự khoáng hoá hoàn toàn NG chỉ đạt được trong hỗn hợp các giống vi khuẩn và nấm [21, 78, 79, 80, 81].

Ngày nay, sự phân huỷ hiếu khí NG đã được một số tác giả nước ngoài nghiên cứu và công bố: Graham E. White, Jason R. Snape và Stephen Nicklin (1995, 1996); Samanthaj, Marshall và Graham E. White (2001) ... cho thấy các chủng VSV như *Pseudomonas, Agrbacterium, Rhodococcus, Athrobacter* ... có khả năng phân huỷ NG nhưng bằng chứng về sự khoáng hoá hoàn toàn NG vẫn chưa rõ ràng. Tuy nhiên, theo các tác giả, sự phân huỷ hoàn toàn NG có thể đạt được trong hỗn hợp các giống vi khuẩn và nấm [35, 42].

Ở trong nước, các nghiên cứu phân huỷ Nitroglycerin bằng VSV vẫn còn rất ít tài liệu công bố. Trong khuôn khổ một đề tài nhánh của đề tài "Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý nước thải quốc phòng đặc chủng", chúng tôi đã tiến hành phân lập và tuyển chọn các VSV có khả năng phân huỷ NG, NC cao từ đất, nước nhiễm thuốc súng đạn để sản xuất chế phẩm và xây dựng quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng.

3.2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

3.2.1. 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 chương I.

3.2.2. Phương pháp

3.2.2.1. 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^{0}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.

3.2.2.2. 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^{0}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.

3.2.2.3. 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.

3.2.2.4. 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.

3.2.2.5. 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 [75].

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

3.3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.3.1. 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 gạt trên môi trường thạch đĩa bổ sung NG, NC như là nguồn hữu cơ duy nhất. Kết quả 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.

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

3.3.2.1. Tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ NG cao

Thí nghiệm được tiến hành theo mục 3.2.2.2. Kết quả được trình bày trên bảng 3.1.

Bảng 3.1. Nồng độ NG còn lại trong môi trường sau 5 ngày nuôi cấy các chủng VSV đã phân lập được (nồng độ NG ban đầu 60mg/l)

STT	Chủng	Nồng độ NG còn lại trong môi trường	% NG giảm
1	B	18,00	70,00
2	C	11,63	80,62
3	11	15,37	74,38
4	N9	23,40	61,02
5	M1	29,13	51,45
6	N1	40,78	32,03
7	N2	40,02	33,03
8	N4	40,06	33,23
9	N5	31,25	47,92
10	N6	50,59	15,08
11	Đối chứng	58	3,33

Kết quả bảng trên cho thấy:

- Khả năng phân huỷ NG của các VSV đã phân lập rất khác nhau

- Có 4/10 chủng có khả năng phân huỷ NG với hiệu suất >50%, từ 61,45 - 100% được giữ giống trên môi trường thạch nghiêng ở 4^0C để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.3.2.2. Tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ NC cao

Thí nghiệm được tiến hành theo mục 3.2.2.2. Kết quả được trình bày trên bảng 3.2.

Bảng 3.2. Khả năng phát triển của các chủng VSV trên môi trường có NC nồng độ 60mg/l

STT	Chủng	Nồng độ NC còn lại trong môi trường	% NC giảm
1	4	52,8	12
2	2m	34,2	43
3	11	15,6	74
4	M7	43,8	27
5	M2	38,4	36
6	C1	53,4	11
7	N5	55,2	8
8	D10	22,8	62
9	2	33,0	45
10	D5	27,0	55
11	S12	23,4	71
12	C2	19,8	67
13	C3	18,6	69
14	Đối chứng	60	0

Kết quả 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%.

- 6 chủng có hiệu suất phân huỷ > 50%, các chủng này sẽ được sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo.

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

- Kết quả định tên cho thấy, 7 chủng có khả năng phân huỷ tốt NG, NC thì 1 chủng thuộc chi *Geotricum* (S12), 1 chủng là *Monilia sitophila* (B), 1 chủng là *Fusarium semitectum* Beck & Rav (C), 1 chủng thuộc *Rhodococcus* (N9), 2 chủng thuộc *Pseudomonas* (C2 & C3) và 1 chủng thuộc *Aspergillus* (11).

3.3.3. Nghiên cứu đặc tính nuôi cấy của các VSV đã lựa chọn

3.3.3.1. Môi trường dinh dưỡng

** Ảnh hưởng của thành phần khoáng*

Các chủng VSV đã phân lập được nuôi cấy ở 30^{0}C trên môi trường thạch nghiêng bổ sung NG, NC nồng độ 30mg/l có thành phần khoáng như sau (g/l):

Hoá chất	Môi trường 1	Môi trường 2	Môi trường 3
KH_2PO_4	0,4	0,75	-
K_2HPO_4	-	-	1
$(NH_4)_2SO_4$	0,6	0,25	-
$MgSO_4.7H_2O$	0,06	-	0,5
$CaCl_2$	0,08	0,08	-
$FeSO_4$	0,001	0,01	0,01
$NaNO_3$	-	-	3
KCl	-	-	0,5
Nước cất	1000	1000	1000
Thạch	20	20	20

Kết quả được trình bày trên bảng 3.3.

Bảng 3.3. Mức độ phát triển của các chủng VSV trên các môi trường khoáng khác nhau

STT	Chủng	Môi trường 1	Môi trường 2	Môi trường 3
1	B	+++	+	++
2	C	+++	++	+++
3	N9	+++	+	++
4	S12	+++	+	++
5	11	++	+	+
6	C2	+++	+	+
7	C3	+++	+	++

+: Phát triển kém ++: Phát triển trung bình +++: Phát triển tốt

Kết quả bảng trên cho thấy, môi trường khoáng 1 thích hợp cho sự phát triển của tất cả các chủng thí nghiệm. Môi trường này sẽ được chọn để dùng làm môi trường giữ giống và là thành phần khoáng cho môi trường ở các thí nghiệm tiếp theo.

** Ảnh hưởng của nguồn cacbon.*

Các chủng VSV đã tuyển chọn được nuôi cấy ở 30^{0}C trên môi trường thạch khoáng 1, bổ sung NG, NC nồng độ 30mg/l và các nguồn cacbon khác nhau (glucose, saccarose, glycerin với các nồng độ 1, 3, 5g/l), kết quả được trình bày trên bảng 3.4.

Bảng 3.4. Mức độ phát triển của các chủng VSV trên các môi trường có nguồn cacbon khác nhau với nồng độ khác nhau

TT	Chủng	Môi trường bổ sung glucose (g/l)			Môi trường bổ sung saccarose (g/l)			Môi trường bổ sung glycerin (g/l)		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	B	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	N9	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+
4	S12	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	+++
5	11	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++
6	C2	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++
7	C3	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++

+: Phát triển kém ++: Phát triển trung bình +++: Phát triển tốt

Kết quả trên bảng cho thấy:

- Với 3 loại hydratcacbon đã thử nghiệm, tất cả các chủng VSV đều có khả năng đồng hoá song mức độ khác nhau, đặc biệt N9 không sử dụng glycerin như là nguồn cacbon.

- Môi trường bổ sung glucose và saccarose, nồng độ 3 - 5g/l, cho kết quả phát triển tốt ở cả 7 chủng VSV. Tuy nhiên, để đảm bảo tính kinh tế, chúng tôi chọn saccarose (loại đường giá khá rẻ, dễ kiếm) nồng độ 3g/l.

** Ảnh hưởng của nguồn nitơ*

Các chủng VSV đã phân lập được nuôi cấy ở 30^{0}C trên môi trường thạch khoáng đã chọn, bổ sung NG, NC nồng độ 30mg/l và các nguồn nitơ hữu cơ khác nhau (bột

đậu tương, pepton, cao nấm men với nồng độ 0,25; 0,5; 1g/l). Kết quả được trình bày trên bảng 3.5.

Bảng 3.5. Mức độ phát triển của các chủng VSV trên các môi trường có nguồn nitơ hữu cơ khác nhau với nồng độ khác nhau

STT	Chủng	Môi trường bổ sung BĐT (g/l)			Môi trường bổ sung pepton (g/l)			Môi trường bổ sung cao nấm men (g/l)		
		0,25	0,5	1	0,25	0,5	1	0,25	0,5	1
1	C	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2	N9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3	S12	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	11	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	C2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
6	C3	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++

+: Phát triển kém ++: Phát triển trung bình +++: Phát triển tốt

Kết quả trên bảng 3.5 cho thấy, tất cả VSV nghiên cứu đều phát triển tốt trên các môi trường có bổ sung thêm nitơ hữu cơ. Tuy nhiên, để đảm bảo tính kinh tế, chỉ nên bổ sung BĐT nồng độ 0,25g/l.

3.3.3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Các chủng VSV được nuôi trên môi trường thạch với các thành phần khoáng, nguồn cacbon, nguồn nitơ đã chọn ở nhiệt độ 20, 30, 40, 50^{0}C. Quan sát sự phát triển của các chủng sau 3 ngày nuôi cấy. Kết quả được trình bày trên bảng 3.6.

Bảng 3.6. Mức độ phát triển của các chủng VSV ở các nhiệt độ khác nhau

STT	Chủng	20^{0}C	30^{0}C	40^{0}C	50^{0}C
1	B	++	+++	++	-
2	C	++	+++	++	-
3	N9	+	+++	++	-
4	S12	-	+++	+++	-
5	11	++	+++	+++	-
6	C2	+	+++	+++	-
7	C3	-	+++	+++	-

+: Phát triển kém ++: Phát triển trung bình +++: Phát triển tốt

Kết quả trên bảng cho thấy nhiệt độ ảnh hưởng mạnh tới quá trình phát triển của VSV. Tuy nhiên, mức độ chịu nhiệt của các chủng thí nghiệm khác nhau, chủng B1, C và 11 có khả năng chịu nhiệt độ trong dải dài nhất (20 - 40^{0}C) trong khi S12 và C3 thiên về VSV ưa ấm.

3.3.3.3. Ảnh hưởng của pH ban đầu

Các chủng VSV được nuôi cấy trên 4 môi trường khoáng thạch nghiêng bổ sung thêm nguồn cacbon và nitơ đã chọn có pH ban đầu: 3, 5, 7, 9; nhiệt độ nuôi là 30 ± 2^{0}C. Sau 3 ngày nuôi cấy, quan sát sự phát triển của các chủng. Kết quả được trình bày trên bảng 3.7.

Bảng 3.7. Mức độ phát triển của các chủng VSV ở các pH ban đầu khác nhau

STT	Chủng	pH			
		3	5	7	9
1	B	++	+++	+++	++
2	C	+++	+++	+++	++
3	N9	-	+	+++	+
4	S12	++	+++	+++	-
5	11	++	+++	+++	-
6	C2	+++	+++	+++	-
7	C3	++	+++	+	-

+: Phát triển kém ++: Phát triển trung bình +++: Phát triển tốt

Kết quả bảng trên cho thấy: các VSV có khả năng phân huỷ NG, NC phát triển tốt ở dải pH trung tính đến axit nhẹ (trừ chủng N9 còn lại các chủng phát triển tốt ở pH 5 - 7).

3.3.4. Nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất phân huỷ NG, NC của VSV

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.

3.3.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Các chủng VSV được nuôi trên môi trường dịch thể với các thành phần khoáng; nguồn cacbon; nguồn nitơ đã chọn; bổ sung NG, NC nồng độ 100mg/l; ở nhiệt độ 20,

25, 30, 35, 40, 45^{0}C. Sau 5 ngày nuôi xác định lượng NG và NC còn lại trong môi trường. Kết quả được trình bày trên bảng 3.8.

Bảng 3.8. Sự thay đổi nồng độ NG, NC trong môi trường nghiên cứu ở các nhiệt độ khác nhau

STT	Nhiệt độ (^{0}C)	Nồng độ NC còn (mg/l)	% NC giảm	Nồng độ NG còn (mg/l)	% NG giảm
1	20	82,5	17,5	85,2	14,8
2	25	56,4	43,6	54,6	45,4
3	30	27,8	72,2	22,3	77,7
4	35	36,1	63,9	28,7	71,3
5	40	70,7	29,3	67,5	32,5
6	45	81,2	18,8	79,8	20,2

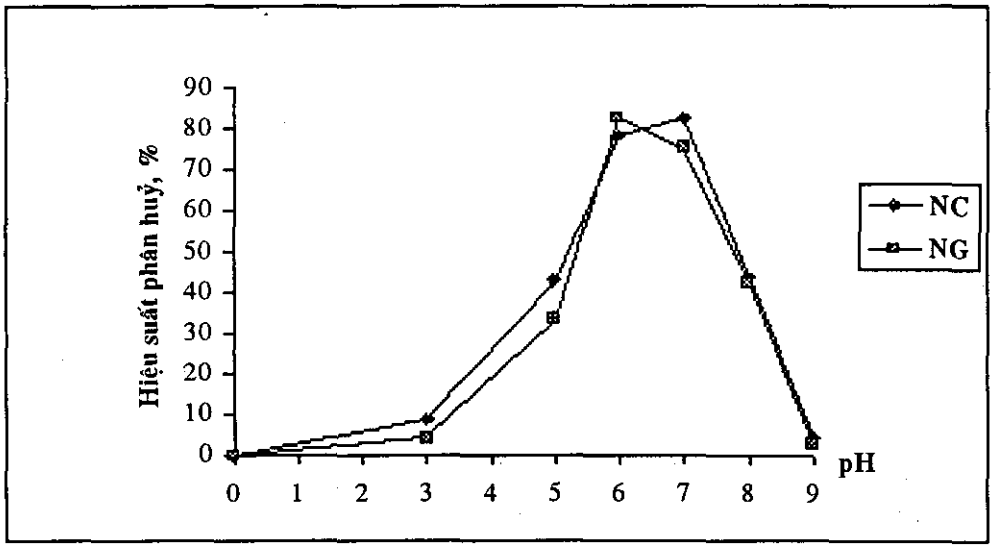
Kết quả bảng trên cho thấy: trong khoảng nhiệt độ thử nghiệm, VSV phân huỷ NG, NC mạnh nhất ở nhiệt độ trong khoảng 30 - 35^{0}C. Điều kiện này cho thấy các VSV phân huỷ NG, NC hoạt động khá thuận lợi trong điều kiện khí hậu, thời tiết nhiệt đới của nước ta.

3.3.4.1. Ảnh hưởng của pH

Các chủng VSV được nuôi trên môi trường dịch thể với các thành phần khoáng; nguồn cacbon; nguồn nitơ đã chọn; bổ sung NG, NC nồng độ 100mg/l. Dùng NaOH và H_2SO_4 chỉnh pH ban đầu của môi trường đạt các giá trị 3, 5, 6, 7, 8, 9. Sau 5 ngày nuôi ở nhiệt độ phòng, xác định lượng NG, NC còn lại trong môi trường. Kết quả được trình bày trên bảng 3.9 và hình 3.1.

Bảng 3.9. Hiệu suất phân huỷ NG, NC của VSV ở các pH khác nhau

STT	pH	% NC giảm	% NG giảm
1	3	8,5	4,2
2	5	42,7	33,3
3	6	78,5	82,8
4	7	82,3	75,3
5	8	43,8	42,3
6	9	4,3	2,7



Hình 3.1. Hiệu suất phân huỷ NG, NC của VSV ở các pH khác nhau

Kết quả bảng trên 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 ở pH 6, 7. pH này tương đối gần với pH nước thải mà chúng tôi khảo sát. pH kiềm hoặc axit đều không thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của VSV và do đó NG, NC ở môi trường có pH gần như không bị phân huỷ.

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

Các chủng VSV được nuôi trên môi trường dịch thể với các thành phần khoáng; nguồn nitơ đã chọn; bổ sung NG, NC nồng độ 100mg/l; bổ sung đường saccarose và glucose (2 loại đường rẻ tiền, dễ kiếm) khác nhau với nồng độ khác nhau, nuôi ở nhiệt độ phòng. Sau 5 ngày nuôi, xác định lượng NG và NC còn lại trong môi trường. Kết quả được trình bày trên bảng 3.10

Bảng 3.10. Khả năng phân huỷ NG, NC của các chủng VSV ở các nguồn đường và nồng độ đường khác nhau

TT	Mẫu	% NG giảm	% NC giảm
1	Glucoza 1g/l	77,0	61,5
2	Glucoza 3g/l	89,2	58,5
3	Glucoza 5g/l	96,4	59,0
4	Saccaroza 1g/l	76,2	69,6
5	Saccaroza 3g/l	96,9	94,8
6	Saccaroza 5g/l	97,7	85,2
7	Đối chứng	69,1	45,2

Kết quả bảng trên cho thấy:

- 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. 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 [3, 4, 5, 7]

- Trong 2 nguồn cacbon thông dụng đã thử nghiệm, saccaroza cho hiệu quả phân huỷ cao hơn glucoza. Trong khoảng nồng độ nghiên cứu, hàm lượng đường trong môi trường tăng tỷ lệ thuận với hiệu suất phân huỷ NG, NC của VSV nhưng đến một ngưỡng nào đó, lượng đường tăng mà hiệu suất phân huỷ tăng không đáng kể (trường hợp nồng độ đường là 3 và 5 g/l). Như vậy chứng tỏ VSV chỉ phân huỷ chất ô nhiễm để phát triển khi môi trường trở nên cạn kiệt chất dinh dưỡng.

- Nồng độ đường tối ưu cả về mặt xử lý môi trường và kinh tế là 3g/l.

3.3.3.4. Ảnh hưởng của nồng độ chất ô nhiễm

Các chủng VSV được nuôi trên môi trường dịch thể với các thành phần khoáng; nguồn nitơ, nguồn cacbon đã chọn; bổ sung NG, NC với các nồng độ khác nhau, nuôi ở nhiệt độ phòng. Sau 5 ngày nuôi, xác định lượng NG và NC còn lại trong môi trường. Kết quả được trình bày trên bảng 3.11.

Bảng 3.11: Khả năng phân huỷ NG, NC của các chủng VSV ở các nồng độ NG, NC khác nhau

STT	Nồng độ ban đầu (NG, NC), mg/l	% NG bị phân huỷ	% NC bị phân huỷ
1	50	98,5	96,8
2	100	95,1	93,2
3	150	92,7	83,7
4	200	43,7	57,2

Kết quả bảng trên 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) VSV mới bị ức chế (phát triển yếu) và % NG, NC bị phân huỷ giảm đáng kể (43,7%).

- Ở nồng độ NG, NC ≤ 150mg/l, khả năng phân huỷ của VSV là khá mạnh, xét về hiệu suất phân hủy 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 tuỳ 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.

- Nuôi cấy VSV trên thiết bị lên men hiếu khí Bioflo 2000 ở 30^0C, oxy bão hoà, môi trường khoáng bổ sung đường saccarose 3g/l; NG, NC 100mg/l; theo dõi lượng NG, NC bị mất sau mỗi ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 3.12.

Bảng 3.12. Sự thay đổi nồng độ NG, NC trong môi trường nghiên cứu sau những khoảng thời gian khác nhau

TT	Thời gian (ngày)	NG còn lại trong MT (mg/l)	%NG bị phân huỷ	NC còn lại trong MT (mg/l)	%NC bị phân huỷ
1	Ban đầu	100,0	-	100	-
2	1 ngày	98,1	1,0	95,1	4,9
3	2 ngày	62,0	38,0	57,4	42,6
4	3 ngày	13,9	86,1	28,4	71,9
5	4 ngày	2,2	97,8	11,2	88,8
6	5 ngày	1,5	98,5	8,3	91,7
7	6 ngày	1,3	98,7	4,8	95,2
8	7 ngày	1,2	98,8	0,9	99,1

Kết quả trên bảng cho thấy:

- Thời gian 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.

- Ngày thứ 6 - 7, nồng độ NG, NC trong môi trường gần như không giảm. Từ 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.

3.3.5. Sản xuất chế phẩm (NSF)

3.3.5.1. Chuẩn bị dịch huyền phù VSV

Các chủng có khả năng phân huỷ mạnh NG, NC, DNT 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 môi trường nhân giống đã chọn. Nuôi lắc 200 vòng/phút ở 30 - 32^{0}C, sau 3 ngày lấy ra bổ sung vào cơ chất mang.

3.3.5.2. 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 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: 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.

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; $(NH_4)_2SO_4$ - 0,6; $MgSO_4.7H_2O$ - 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 ± 2^{0}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^{0}C trong 30 phút, sấy khô ở 100^{0}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.

3.3.6. 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:

- Nước thải có chứa NG, NC có nồng độ ≤ 150mg/l được gom vào bể điều hoà, 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, 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 với tốc độ dòng khí 30 m^3/giờ.

- Sau đó nước thải được chuyển sang bể lắng, để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang bể keo tụ, tại đây bổ sung chất keo tụ là phèn chua nồng độ 0,05% và $Ca(OH)_2$ sao cho pH ≥ 8, khuấy đều, để lắng 24 giờ.

- Phần nước trong sau keo tụ được lọc qua hệ thống lọc ngược sinh học 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 - 21,7mg/l; NG, NC - 0,8mg/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.

3.3.7. Áp dụng kết quả đã nghiên cứu xử lý thử nghiệm nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng (một và hai gốc)

- Phân tích thành phần nước thải:

+ 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

- Từ các kết quả thí nghiệm trên, 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 bổ sung thêm khoáng, nguồn cacbon (saccarose 3g/l). Kết quả được trình bày trên bảng 3.13.

Bảng 3.13. 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 mốc 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 [85].

- Nước thải sau xử lý đạt tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN).

3.3.8. Kết luận

- Các chủng VSV phân lập được từ đất, nước ô nhiễm thuốc phóng có khả năng phân hủy NG, NC khá mạnh (với NG từ 51,45 đến 80,62%, với NC 55 đến 69%). NG, NC có trong môi trường với nồng độ ban đầu là 60mg/l. 4 chủng có khả năng phân huỷ NG, NC tốt nhất đã được dùng để sản xuất chế phẩm xử lý nước từ quá trình sản xuất thuốc phóng là:

1. 11 : *Bacillus sp*
2. C2 : *Pseudomonas sp.*

3. N9 : *Rhodococcus sp..*

4. C : *Monilia sp.*

- Các yếu tố ngoại cảnh: nhiệt độ, pH, nguồn dinh dưỡng bổ sung, thời gian, nồng độ NG, NC có ảnh hưởng lớn đến hiệu suất phân huỷ của VSV. Điều kiện môi trường thích hợp để VSV phân huỷ NG, NC tốt nhất là: nhiệt độ 30 - 35^{0}C, pH 6 - 7, môi trường khoáng bổ sung saccaroza 3g/l, nồng độ NG, NC $\leq$ 150mg/l. Thời gian sục khí 4 - 5 ngày. Ở điều kiện xử lý này, hiệu suất phân huỷ NG, NC của VSV tăng lên đáng kể (hiệu suất phân huỷ từ gần 70% nâng lên đến trên 99%)

- Lên men hỗn hợp VSV không làm tăng hiệu quả so với đơn chủng song đảm bảo khả năng phân huỷ hoàn toàn NG, NC của quá trình sinh phân huỷ.

- Áp dụng các kết qủa nghiên cứu để xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng với quy mô 30 lít trong phòng thí nghiệm. Nước thải đạt tiêu chuẩn nước thải loại B (TCVN).

CHƯƠNG IV

NGHIÊN CỨU ÁP DỤNG 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

4.1. TÌNH HÌNH 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 mặtvà thậm chí cả nước ngầm tại nơi xa 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 > 10mg/l. Ngoài ra NO_2^- trong nước tác động với amin để hình thành nitrosamin, một số trong chất này là tác nhân gây ung thư [10].

Trong ngành công nghiệp quốc phòng, nơi thải ra nhiều nitrat, nitrit nhất là nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí và nước thải từ quy trình phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng(chất O).

Trong quá trình nhuộm đen vũ khí, lúc đầu nước thải có nồng độ nitrat thấp, nhưng khi gặp không khí, nitrit bị ôxy hoá thành nitrat nên dần dần nồng độ nitrat cũng nhiều lên. Hơn nữa quá trình ôxy hoá nitrit thành nitrat là quá trình thuận nghịch nên nitrat tạo ra phải được chuyển hoá tiếp nếu không quá trình $NO_3^- \rightarrow NO_2^-$ lại xảy ra cho nên xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí là quy trình xử lý nước thải có hàm lượng nitrat, nitrit cao.

Một trong những nhiệm vụ của công nghiệp quốc phòng là phục hồi nhiên liệu tên lửa. Thực hiện nhiệm vụ này đã tạo ra một lượng lớn nước thải từ sự thu hồi các khí thải độc hại bằng phương pháp dập nước và từ quy trình vệ sinh nhà xưởng cũng như vệ sinh cá nhân người lao động. 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 cuả 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 chứa các chất từ quá trình phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng là tách ngay từ đầu 2 loại nước thải chứa 2 chất O và Γ riêng rẽ.

Với nước thải chứa chất Γ có thể sử dụng phương pháp hấp thụ hoặc phân huỷ hoá học. Tất nhiên nếu hấp thụ (hoặc hấp phụ) bằng phương pháp hoá học phải kèm theo công đoạn xử lý chất hấp phụ (đốt nếu có thể hoặc giải hấp).

Với nước thải chứa chất O như đã nói trên thành phần chính của nước thải chứa chất O 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 và chúng tôi nghiên cứu quy trình xử lý nước thải chứa NO_3^-, NO_2^- cao để dùng chung cho hai loại nước thải:

1. Là từ quy trình nhuộm đen vũ khí

2. Là nước thải chứa chất O (một thành phần của nhiên liệu tên lửa)

Từ lâu người ta đã biết là trong tự nhiên vi khuẩn nitrat hoá (chuyển hoá NO_2^- thành NO_3^-) phân bố rất rộng rãi, chúng thuộc nhóm *Nitrobacter*. Đó là những VSV hình trứng nhỏ bé có một tiêm mao khá dài mọc từ đỉnh. Vi khuẩn nitrat hoá thuộc loại tự dưỡng bắt buộc, chúng đồng hoá CO_2 của không khí nhờ năng lượng sinh ra trong quá trình oxy hoá $NO_2^- \xrightleftharpoons{\text{vi khuẩn nitrat hoá}} NO_3^-$.

Nitrobacter rất mẫn cảm với sự tồn tại của NH_3 hay NH_4^+ trong môi trường. Người ta nhận thấy nồng độ amon là 0,0005% đã hạn chế, nồng độ 0,015% đã ức chế hoàn toàn sự phát triển của VSV này. Nồng độ nitrit thích hợp nhất là vào khoảng 0,1%

$NaNO_2$, nếu nồng độ này cao quá 2% thì quá trình oxy hoá nitrit thành nitrat bị đình chỉ.

Như trên đã nói, sau quá trình oxy hoá nitrit thành nitrat là quá trình khử nitrat của VSV (quá trình phản nitrat hoá).

Vi khuẩn tham gia vào quá trình phản nitrat hoá là những vi khuẩn dị dưỡng, có khả năng khử nitrat thành nitrit, thành NH_3 hoặc thậm chí thành N_2 bay vào khí quyển. Vi khuẩn phản nitrat hoá phân bố rộng rãi trong đất, trong phân chuồng, trong nước, ở những nơi có độ ẩm cao và giàu hữu cơ bao gồm nhiều loại trong các giống *Pseudomonas, Bacterium, Micrococcus (B. denitrificans, Ps. aeruginosa, M. denitrificans, Ps. fluorescens, Ps. pyocyanea, B. stuzeri...).* Một số vi khuẩn lưu huỳnh cũng có khả năng thực hiện quá trình phản nitrat hoá (VD: vi khuẩn *Thiobacterium denitrificans, Sulfomonas denitrificans...).*

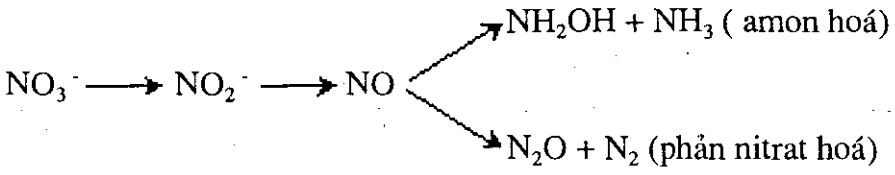
Vi khuẩn phản nitrat hoá có 2 nguồn năng lượng, một mặt chúng có khả năng oxy hoá chất hữu cơ nhờ oxy của không khí, mặt khác khi không có oxy chúng có thể oxy hoá chất hữu cơ nhờ quá trình khử nitrat. Chúng có một hệ thống men kiểu men citocrom có khả năng xúc tác quá trìng khử nitrar. Bên cạnh các vi khuẩn dị dưỡng cũng có những vi khuẩn phản nitrat hoá tự dưỡng *(Thiobacterium denitrificans)* hoặc tự dưỡng không bắt buộc.

Trong tự nhiên có 2 kiểu khử nitrat:

+ Quá trình đồng hoá(amon hoá nitrat) tức là quá trình khử nitrat thành NH_4^+ , quá trình này xảy ra ở một sốvi khuẩn như *Bacillus, E. Coli, Aerobacter.*

+ Quá trình dị hoá(phản nitrat hoá) là quá trình khử NO_3^- hoặc NO_2^- thành N_2 phân tử.

Hai qúa trình khử nitrat này có chung giai đoạn đầu [14]



Quá trình khử NO_3^- đến N_2 là quá trình phản nitrats hoá hoàn toàn, xảy ra qua 4 giai đoạn, mỗi giai đoạn do một enzym xúc tác [14].

+ Giai đoạn 1: khử nitrat thành nitrit

$$2HNO_3 \longrightarrow 2HNO_2$$

$$2NADH\text{-}H \qquad 2NAD^+$$

$$(NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow NO_2^- + H_2O)$$

Giai đoạn này do enzym nitrat reductaza xúc tác.

+ Giai đoạn 2: khử nitrit thành NO

$$2HNO_2 \longrightarrow 2NO + 2e$$

$$NADH\text{-}H \qquad NAD^+$$

$$(NO_3^- + e^- + H^+ \longrightarrow NO + H_2O)$$

Giai đoạn này do enzym nitrit reductaza xúc tác.

+ Giai đoạn 3: khử NO thành N_2O

$$2NO \longrightarrow N_2O + 2e$$

$$NADH\text{-}H \qquad NAD^+$$

$$(2NO + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow N_2O + H_2O)$$

Giai đoạn này do enzym oxitdinitơ reductaza xúc tác.

+ Giai đoạn 4: khử oxitnitơ thành nitơ phân tử

$$N_2O \longrightarrow N_2$$

$$NADH\text{-}H \qquad NAD$$

$$(2N_2O + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow N_2 + H_2O)$$

Giai đoạn này do enzym oxitdinitơ reductaza xúc tác.

Các vi khuẩn phản nitrat đều là hiếu khí hoặc hiếu khí tuỳ tiện, chúng phân bố rộng rãi trong tự nhiên như đất, nước, phân bón. Chúng gồm các đại diện như: *Pseudomonas, Rhodococcus, Arthrobacterium*...[13].

Quá trình phản nitrat có thể xảy ra ở điều kiện hiếu khí và kị khí nhưng triệt để hơn trong điều kiện thiếu oxy [12]. Chúng là tác nhân có hại cho sản xuất nông nghiệp vì làm mất đi lượng lớn đạm vô cơ ở dạng NO_3^- nhưng là tác nhân tích cực trong xử lý nước thải vì loại bỏ được nguồn nitơ liên kết độc hại đối với môi trường sinh thái.

Trên thế giới, các nghiên cứu sử dụng VSV để xử lý nước thải công nghiệp chứa NO_2^-, NO_3^- nồng độ cao chưa được công bố nhiều. Gaudalupe Pinar và cộng sự, 1997 [43] đã sử dụng chủng vi khuẩn *Klebsilla oxytoca* 15, phân lập được từ đất của một nhà máy sản xuất nitrat. Chủng này phát triển trên môi trường có nồng độ nitrat < 150mM

và tiêu thụ nitrat hoàn toàn ở môi trường có tỷ lệ C:N là 14:11. Pilot xử lý quy mô 40 lít đã được thử nghiệm và hoạt động khá tốt.

Ở Việt Nam, một số đề tài nghiên cứu giảm thiểu ô nhiễm nitơ ($N\text{-}NH^+$) 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. Trong phần này, chúng tôi 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).

4.2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

4.2.1. Nguyên liệu

- Đất mùn chứa nhiều vi khuẩn nitrat và phản nitrat hoá.

- Các hợp chất tạo môi trường và xác định hàm lượng NO_2^-, NO_2^- có độ tinh khiết phân tích.

- Các thiết bị nuôi cấy VSV và phân tích hoá học hiện đại, độ chính xác cao

4.2.2. Phương pháp

4.2.2.1. Phương pháp làm giàu VSV

Cân 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 ± 2^0C. Sau 15 ngày phát triển cấy lại sang môi trường mới. Sau vài vòng lặp, môi trường đục nhiều (kiểm tra số lượng khoảng 10^8MPN/ml) lấy làm giống tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

4.2.2.2. Phương pháp nuôi cấy vi khuẩn nitrat hoá để nghiên cứu các đặc điểm nuôi cấy và các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng phân huỷ NO_2^- và NO_3^- của VSV: được tiến hành bằng các phương pháp cổ điển tương tự ở các chương trước [4].

4.2.2.3. Phương pháp xác định số lượng vi khuẩn nitrat hoá :

Phương pháp pha loãng tìm giới hạn [4].

4.2.2.4. Phương pháp xác định hàm lượng NO_2^- và NO_3^- theo tiêu chuẩn VN[18]

4.3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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. Kết quả nghiên cứu sẽ được trình bày dưới đây:

4.3.1.Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng phát triển của vi khuẩn nitrat hoá

4.3.1.1. Ảnh hưởng của môi trường khoáng

- Cấy VSV giống [mục 4.2.2.1] 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 ± 2^{0}C. Sau 15 ngày lấy mẫu xác định số lượng vi khuẩn. Kết quả được trình bày trên bảng 4.1.

Bảng 4.1. Ảnh hưởng của môi trường khoáng

Môi trường	Nồng độ VSV trong môi trường nuôi cấy (MPN/ml)		
	0^h	Sau 15 ngày	
		Lần 1	Lần 2
Môi trường 1	1,5 x 10^3	3,5 x 10^6	4,5 x 10^6
Môi trường 2	1,5 x 10^3	2 x 10^4	1,1 x 10^4
Môi trường 3	1,5 x 10^3	1,5 x 10^4	7 x 10^3
Môi trường 4	1,5 x 10^3	1,4 x 10^4	1,5 x 10^3

Từ kết quả bảng trên cho thấy Môi trường 1 cho kết quả tốt nhất và tương đối ổn định. Các thí nghiệm tiếp theo đều nuôi cấy VSV trên môi trường 1.

4.3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự phát triển của vi khuẩn nitrat hoá

Cấy giống VSV mục 4.2.2.1 vào các bình chứa Môi trường 1, nuôi ở các nhiệt độ 10, 20, 30, 40, 50^{0}C trong 15 ngày. Kết quả được trình bày ở trên bảng 4.2.

Bảng 4.2. Sự thay đổi nồng độ vi khuẩn khi nuôi cấy ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ	Nồng độ VSV trong môi trường nuôi cấy (MPN/ml)	
	0^h	Sau 15 ngày
10^0C	$1,5 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$
20^0C	$1,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^6$
30^0C	$1,5 \times 10^3$	$6,5 \times 10^6$
40^0C	$1,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$
50^0C	$1,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$

Từ bảng trên cho thấy vi khuẩn nitrat hoá có thể phát triển trong dải nhiệt độ khá rộng (dưới 10^0C đến trên 50^0C) tuy vậy, nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển là 30^0C. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác[4,43].

4.3.1.3. Ảnh hưởng của pH môi trường

Cấy giống VSV vào các bình chứa Môi trường 1, dải pH nghiên cứu từ 5,0 - 9,5 tiến hành trong hệ đệm đa năng Britton và Robinson (pH 1,8-12)[12]:

Kết quả được trình bày ở bảng 4.3.

Bảng 4.3. Sự thay đổi nồng độ vi khuẩn khi nuôi cấy ở các pH khác nhau

pH	Nồng độ VSV trong môi trường nuôi cấy (MPN/ml)	
	0^h	Sau 15 ngày
5,02	$1,5 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$
6,09	$1,5 \times 10^3$	$7,5 \times 10^4$
7,00	$1,5 \times 10^3$	$7,5 \times 10^5$
7,96	$1,5 \times 10^3$	$3,5 \times 10^6$
8,69	$1,5 \times 10^3$	$4,5 \times 10^6$
9,15	$1,5 \times 10^3$	$4,0 \times 10^6$
9,62	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$
9,91	$1,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^2$

Từ bảng trên cho thấy dải pH thích hợp cho sự phát triển của vi khuẩn nitrat hoá là từ 8,0 - 9,0.

4.3.1.4. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Theo tài liệu tham khảo [4]:

- Vi khuẩn *Nitrobacter* oxy hoá NO_2^- thành NO_3^- 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.

- 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.

4.3.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chuyển hoá NO_2^-, NO_3^- của VSV

4.3.2.1. Ảnh hưởng của thành phần khoáng trong môi trường đến sự phân huỷ NO_2^-, NO_3^- của VSV

Từ thành phần khoáng cơ bản Vinograxki không có $NaNO_2$ được thay thế $NaCO_3$ Bằng $CaCO_3$ với các nồng độ)g/l): 1, 3, 5, 7; nuôi VSV trên máy lắc 200 vòng/phút ở nhiệt độ phòng (30 ± 2^{0}C), sau 15 ngày, đo lượng NO_2^-, NO_3^- trong môi trường. Kết quả được trình bày ở bảng 4.4.

Bảng 4.4. Sự thay đổi nồng độ NO_2^-, NO_3^- trong môi trường nuôi cấy khi bổ sung khoáng với thành phần sau: (nồng độ NO_2^-, NO_3^- ban đầu 100mg/l).

Mẫu	Nồng độ NO_2^- còn lại	% NO_2^- giảm	Nồng độ NO_3^- còn lại	% NO_3^- giảm
Đối chứng	90,0	10,0	98,3	25,0
Na_2CO_3 1g/l	71,0	29,0	78,0	20,6
Na_2CO_3 3g/l	63,0	37,0	69,5	29,3
Na_2CO_3 5g/l	58,0	42,0	65,0	33,9
Na_2CO_3 7g/l	57,0	43,0	64,0	34,9
$CaCO_3$ 1g/l	15,3	84,7	32,5	66,9
$CaCO_3$ 3g/l	5,0	95,0	15,6	84,1
$CaCO_3$ 5g/l	4,3	55,7	13,2	86,6
$CaCO_3$ 7g/l	4,0	96,0	12,5	87,2

- Từ bảng trên cho thấy khi 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.

- 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.

4.3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ NO_2^-, NO_3^- đến chuyển hoá chúng

Nuôi cấy VSV nitrat hoá có nồng độ NO_2^- ban đầu là 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 600mg/l; bổ sung thành phần khoáng cơ bản Vinograxki thay Na_2CO_3 bằng $CaCO_3$ với nồng độ 3g/l. Nuôi trên máy lắc ở nhiệt độ 30°C, sau 15 ngày nuôi cấy, xác định nồng độ NO_2^-, NO_3^- trong môi trường, kết quả được trình bày ở bảng 4.5.

Bảng 4.5. Sự thay đổi nồng độ NO_2^-, NO_3^- trong môi trường nuôi cấy VSV

NO_2^-			NO_3^-		
NO_2^- ban đầu (mg/l)	NO_2^- còn lại (mg/l)	% NO_2^- giảm	NO_3^- ban đầu (mg/l)	NO_3^- còn lại (mg/l)	% NO_3^- giảm
50	0	100	48	9,5	80,1
100	8,2	91,8	96	75,7	83,6
150	17,0	88,7	143	23,2	83,8
200	33,0	83,5	197	34,0	82,7
250	48,0	80,8	240	42,5	82,3
300	60,0	80,0	285	45,0	84,2
400	120,0	70,0	390	98,0	74,9
600	400,0	33,3	575	189,0	67,1

Kết quả trên 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 ≤ 400mg/l. Như vậy kết quả thí nghiệm này không 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 [4, 5].

4.3.2.3. Ảnh hưởng của thời gian xử lý tới quá trình phân huỷ NO_2^-, NO_3^- của VSV

Nuôi cấy VSV trong môi trường, pH, nồng độ NO_2^-, NO_3^-, nhiệt độ thích hợp. Cứ 7 ngày lấy mẫu một lần, xác định lượng NO_2^-, NO_3^- có trong môi trường. Kết quả được trình bày ở bảng 4.6.

Bảng 4.6. Sự thay đổi nồng độ NO_2^-, NO_3^- trong môi trường nuôi cấy VSV sau những khoảng thời gian khác nhau

Mẫu	0h		7 ngày		15 ngày		21 ngày		28 ngày	
	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-
1	50	48,6	32	11,7	4,0	5,2	0	11,5	0	0,5
2	75	73,5	68	58,2	9,2	11,0	0	17,3	0	1,7
3	100	97,0	98	93,5	19,3	8,5	1,5	13,1	0	2,5

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 lượng NO_2^-, NO_3^- trong nước thải giảm gần như không xác định được. Vậy thời gian phân huỷ tối ưu từ 15 - 21 ngày tuỳ nồng độ NO_2^-, NO_3^- có trong nước thải.

4.3.2.4. Vai trò của VSV trong quá trình loại bỏ NO_2^-, NO_3^- trong môi trường nước

Mẫu nước thải có nồng độ NO_2^-, NO_3^- ban đầu là 100 và 98,7 mg/l tương ứng. Bổ sung khoáng và VSV theo mục đích của thí nghiệm.

Kết quả ở bảng 4.7.

Bảng 4.7. Sự thay đổi nồng độ NO_2^-, NO_3^- trong môi trường khi có mặt và vắng mặt VSV

Mẫu	0h		7 ngày		15 ngày		21 ngày	
	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)
M1	100	98,7	98,0	95,2	16,3	7,5	1,5	2,1
M1+VSV*	99,5	97,75	97,5	92,5	0,7	3,1	0,05	1,5

Chú thích *: nồng độ VSV trong bình nuôi cấy phải đảm bảo đạt 10^6 CFU/ml

Từ kết quả 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^-).

4.3.3. 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 VSV.

- Từ 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:

+ Nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí được gom vào bể điều hoà, tại đây nồng độ NO_2^-, NO_3^- được kiểm tra và điều chỉnh ≤ 400mg/l, pH nước thải được điều chỉnh đến pH 8 bằng NaOH.

+ Nước thải đã chỉnh pH và nồng độ NO_2^-, NO_3^- được chuyển vào hệ thống xử lý sinh học hiếu khí, tại đây bổ sung thêm khoáng có thành phần (g/l): Na_2CO_3 - 1; NaCl - 0,5; K_2HPO_4 - 0,5; $MgSO_4.7H_2O$ - 0,3; $FeSO_4$ - 0,4 và VSV (đất xốp sao cho nồng độ vi khuẩn nitrat hoá trong nước thải đạt 10^6CFU/g) sục khí liên tục 15 - 30 ngày tuỳ theo nồng độ NO_2^-, NO_3^- với tốc độ dòng khí 30 m^3/giờ.

- Sau đó nước thải được chuyển sang bể lắng, để lắng 6 giờ, phần nước phía trên được chuyển sang lọc ngược sinh học 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 - 75mg/l; BOD - 18mg/l; nồng độ NO_2^- : 4,66mg/l; NO_3^- : 5,38mg/l.

- Phần cặn được tuần hoàn lại hệ thống sinh học hiếu khí.

4.3.4. Quy trình xử lý nước thải chứa nhiên liệu tên lửa

1. Nước thải hỗn hợp

- Nước thải được xử lý bằng phương pháp hoá học để loại bỏ chất độc đối với VSV bằng phương pháp hấp phụ (chủ yếu là loại chất Γ).

- Sau đó nước thải được chuyển sang hệ thống tách để tách phần chất rắn (chất hấp phụ có chất Γ) được xử lý riêng bằng phương pháp 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 ở trên.

2. Nước thải tách riêng ngay từ đầu

- Nước thải chứa chất Γ: xử lý bằng phương pháp hoá học

+ Hấp phụ ⟶ Đốt trong lò 2 cấp

+ Phân huỷ bằng hoá chất

- Nước thải chứa chất O: xử lý bằng sinh học hiếu khí như quá trình xử lý nước thải từ quá trình nhuộm đen vũ khí.

4.3.5. Thí 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 thích hợp đã nghiên cứu (nhiệt độ, pH, khoáng...) trong 21 ngày. Kết quả được trình bày trên bảng 4.8.

Bảng 4.8. Sự thay đổi một số chỉ tiêu của nước thải 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 cilidin (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 4.9.

Bảng 4.9. Sự thay đổi một số chỉ tiêu của nước thải 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

4.4. KẾT LUẬN

- 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 Vinogratxki cải tiến trong đó Na_2CO_3 thay bằng $CaCO_3$ 3g/l. Nhiệt độ thích hợp cho sự sinh trưởng, phát triển và phân huỷ NO_2^-, NO_3^- của vi khuẩn là 30^0C, pH_{opt} là 8 - 9, nồng độ NO_2^-, $NO_3^- \leq 400$ mg/l, nồng độ vi khuẩn khoảng 10^6 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 NO_2^-, NO_3^- giảm 97 - 98% và nước thải sau xử lý đạt tiêu chuẩn nước thải loại B theo TCVN.

CHƯƠNG V

THIẾT KẾ HỆ THỐNG XỬ LÝ NƯỚC THẢI DẠNG MODUL QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM CÔNG SUẤT 30L/NGÀY

1. MỞ ĐẦU

Nước thải từ các cơ sở sản xuất quốc phòng mang đặc thù cho từng loại hình sản xuất. Thành phần các chất ô nhiễm có trong nước thải rất đa dạng, bao gồm: 2,4,6-rinitrotoluene, axit styphnic, nitroglycerin..., các loại thuốc nhuộm gốc nitroso, dầu mỡ đặc chủng quốc phòng ... Đây là những chất khó phân huỷ ngoài môi trường tự nhiên.

Việc xử lý nước thải chứa các thành phần trên phải được tiến hành thông qua nhiều giai đoạn và 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 tại phòng thí nghiệm, để đưa được quy trình công nghệ ra áp dụng thực tế cần thiết tiến hành thử nghiệm công nghệ. Quá trình thử nghiệm công nghệ là việc đưa các bước tiến hành tại phòng thí nghiệm ra áp dụng gần với điều kiện môi trường tại các cơ sở. Kết quả thu được sẽ góp phần hoàn thiện công nghệ trước khi đưa vào thực tế.

Tuy nhiên với mỗi loại nước thải khác nhau cần có biện pháp và công nghệ xử lý khác nhau. Do vậy, cần thiết phải có hệ thống xử lý nước thải thử nghiệm được nhiều loại hình công nghệ khác nhau. Việc xây dựng hệ thống 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... Hệ thống này được thiết kế dạng modul nên có thể tiến hành độc lập từng công đoạn hay sự kết hợp của hai hay nhiều công đoạn với nhau. Tuy nhiên với mục đích yêu cầu của đề tài thì cuối cùng mọi phương pháp đều phải qua hệ thống xử lý sinh học hiếu khí. Do đây là hệ thống áp dụng thử với quy mô phòng thí nghiệm nên lưu lượng nước thải cần xử lý không nhiều, được tính toán phù hợp với các loại công nghệ khác nhau nên công suất thiết kế là 30l/ngày.

5.2. PHƯƠNG PHÁP TÍNH TOÁN CÔNG NGHỆ

Đây là hệ thống xử lý dạng modul, có thể hoạt động từng phần độc lập hay kết hợp giữa các modul khác nhau. Có thể áp dụng với các loại nước thải quốc phòng khác

nhau. Tuy nhiên với mỗi loại nước thải, có hàm lượng chất ô nhiễm khác nhau có thể áp dụng các công đoạn xử lý sao cho phù hợp.

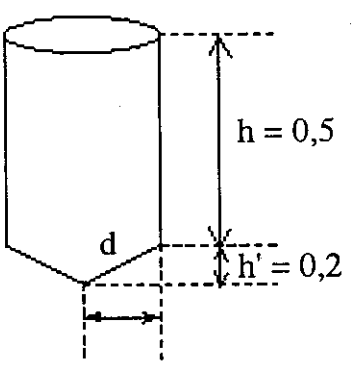
Để mô hình có thể đáp ứng với các dạng công nghệ khác nhau, việc tính toán các bể và thiết bị phản ứng được hiệu chỉnh sao cho thuận lợi cho quá trình thử nghiệm. Do được thiết kế dạng modul nên ngoài việc đảm bảosao cho thực hiện được các quy trình công nghệ cần áp dụng còn phải đảm bảo yêu cầu về độ bền và có tính mỹ thuật. Hệ thống đặt trong phòng thí nghiệm nên ngoài đảm bảo các yêu cầu trên còn phải được thiết kế gọn nhưng có tính cơ động cao.

5.2.1. Tính toán các bể phản ứng

Hệ thống 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 hệ thống đi vào vận hành.

Để đảm bảo yêu cầu mỹ thuật và phù hợp với kích thước khi đưa vào vị trí đặt trong phòng thí nghiệm mà vẫn đảm bảo công nghệ, hệ thống thiết kế một số bể treo có kích thước như nhau bao gồm các bể:

- Bể điều hoà xử lý hoá học.
- Bể xử lý hoá học.
- Bể keo tụ sau xử lý hoá học.
- Bể điều hoà xử lý sinh học.
- Bể lắng sau xử lý sinh học kị khí.
- Bể lắng sau xử lý sinh học hiếu khí.
- Bể keo tụ sau xử lý sinh học hiếu khí.



Thể tích bể được tính toán như sau:

$$V = V_{trụ} + V_{nón} = \Pi.R^2.d$$

$$= 3,14 \times 0,2^2 \times (0,5 + \sqrt{0,08})$$

$$= 0,073m^3 \approx 73 \text{ lít}$$

Do các bể có thiết kế các cánh khuấy và phần lớn chứa bùn lắng do vậy thể tích thức của các bể khoảng 30 - 50 lít.

5.2.1.1. Bể điều hoà

Trong hệ thống thiết kế 2 bể điều hoà:

- Bể điều hoà xử lý hoá học.

- Bể điều hoà xử lý sinh học.

Với các loại nước thải có thành phần chất ô nhiễm khác nhau cần có quy trình công nghệ khác nhau nên điều kiện môi trường khi xử lý cần có sự thay đổi cho phù hợp. Thiết kế các cánh khuấy tạo điều kiện cho nước thải trước khi xử lý có sự đồng nhất về: pH, nồng độ chất ô nhiễm ... Nước thải được lấy ra ở phần đáy, thể tích chứa 30 - 50 lít.

5.2.1.2. Bể keo tụ

Hệ thống thiết kế 2 bể keo tụ:

- Bể keo tụ sau xử lý hoá học.

- Bể keo tụ sau xử lý sinh học hiếu khí.

Sau quá trình xử lý hoá học cũng như sinh học, nước thải có hàm lượng chất lơ lửng khá lớn nên cần thiết tiến hành bổ sung chất keo tụ với mục đích làm trong nước thải sau quá trình xử lý. Hệ thống cánh khuấy được lắp đặt để khuấy trộn đồng đều hoá chất keo tụ và tăng hiệu quả quá trình keọ tụ. Phần cặn thải lắng được thải theo đường thải để xử lý riêng, phần nước trong được lấy ra theo đường trích ngang để tiến hành xử lý ở công đoạn tiếp sau.

Thể tích chứa từ 30 - 50 lít.

5.2.1.3. Bể lắng

Bể lắng trong hệ thống có tại hai vị trí:

- Bể lắng sau xử lý sinh học kị khí.

- Bể lắng sau xử lý sinh học hiếu khí.

Quá trình xử lý sinh học diễn ra tạo rất nhiều cặn lơ lửng, bao gồm: các chất giác thể, xác VSV chết, sinh khối... Qua hệ thống lắng, nước thải đã được loại bỏ gần hết các chất lắng có kích thước lớn và được lấy ra theo đường trích ngang. Bùn lắng tại đáy sẽ quay lại hệ thống xử lý nhằm bổ sung lượng VSV cho xử lý.

Do quy mô hệ thống nhỏ 30l/ngày nên với kích thước được tính toán như trên có thể đáp ứng được yêu cầu của hệ thống.

5.2.1.4. Bể xử lý hoá học

Tuỳ thuộc vào phương pháp xử lý hoá học sẽ áp dụng, có thể tiến hành xử lý các loại phản ứng hoá học khác nhau.

5.1.2.5. Bể xử lý sinh học kị khí

Xử lý kị khí là quá trình xử lý sinh học với điều kiện không có ôxy. Khi hàm lượng BOD trong nước thải lớn hơn 500mg/l có thể áp dụng quy trình xử lý 2 bậc. Bậc 1: xử lý kị khí, bậc 2: xử lý hiếu khí.

Bể xử lý kị khí được thiết kế có hệ thống khuấy và tấm chắn hướng đường đi lên của dòng nước. Hỗn hợp bùn kị khí trong bể hấp phụ chất hữu cơ trong nước thải phân huỷ và chuyển hoá chúng thành khí (khoảng 70 - 80% metan, 20% CO_2 và các khí khác). Bọt khí bám dịch vào các hạt bùn nổi lên trên và tạo dòng tuần hoàn cục bộ trong lớp cặn lơ lửng (khi có tấm chắn hướng đường đi, cùng với sự trợ giúp của cánh khuấy). Khi nổi lên bề mặt, bọt vỡ, khí thoát ra, bùn rơi xuống dưới. Khí thoát ra theo vòm mái bể thoát ra ngoài theo van.

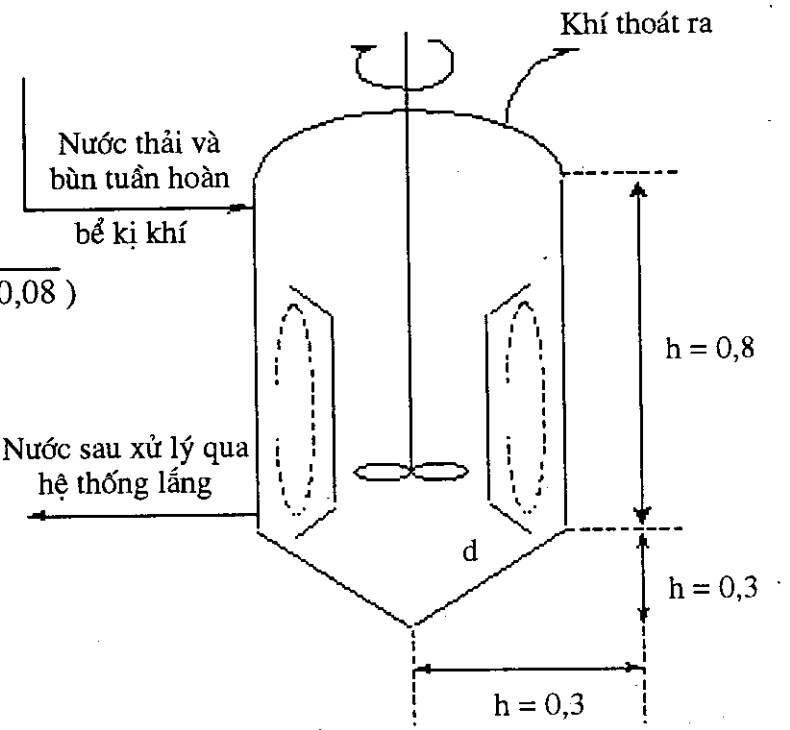
Hệ thống thiết kế theo từng mẻ, 10 - 15 ngày một mẻ xử lý, nước thải được lấy ra hết rồi mới tiếp tục mẻ mới.

$$V = V_{trụ} + V_{nón}$$

$$= \Pi.R^2.h + \Pi.R^2.d$$

$$= 3,14 \times 0,3^2 \times (0,5 + \sqrt{0,08})$$

$$= 0,38m^3 = \approx 380 \text{ lít}$$



Với thể tích thiết kế có thể tiến hành xử lý sinh học hiếu khí trong khoảng thời gian 10 - 15 ngày mà đảm bảo công suất 30l/ngày.

5.1.2.6. Hệ thống sinh học hiếu khí

Được thiết kế đảm bảo quá trình xử lý diễn ra theo từng mẻ từ 3 - 5 ngày với kích thước: 750 x 500 x 500cm.

Hệ thống cấp khí dưới dạng thổi khí với bọt kích thước trung bình, thích hợp với thiết kế của bể và có tính tiết kiệm về mặt tài chính.

5.1.2.7. Bể lọc ngược sinh học

Hệ thống lọc được thiết kế với dòng nước thải đi từ dưới lên trên. Vật liệu lọc bao gồm: cát kích thước hạt từ 0,2 - 0,5mm. Với kích thước như vậy đảm bảo lọc có hiệu quả cao khi nước thải đã qua quá trình keo tụ. Ngoài ra, tiến hành bố trí lớp vật liệu silifor (dạng bọt xốp) nhằm tiến hành lọc tinh, loại bỏ hoàn toàn các hạt cặn lơ lửng còn tồn tại trong nước thải.

Để tăng cường hiệu quả quá trình lọc, hệ thống thổi khí với lưu lượng thấp được thiết kế và bố trí dưới phần đáy hệ thống lọc.

Sau khi xử lý một số đợt, có thể xả nước ngược từ trên xuống có thể loại bỏ phần lớn các cặn bám trong hệ thống lọc.

5.1.2.8. Hệ thống khử trùng

Nước thải sau khi qua quá trình xử lý cần thiết phải tiến hành khử trùng trước khi xả thải vào môi trường.

Nước sau khi qua hệ thống keo tụ và lọc trong, sử dụng phương pháp khử trùng bằng tia UV rất thích hợp. Để thuận tiện trong thiết kế và gia công và đảm bảo về giá thành vận hành, hệ thống đèn được bố trí trong giá đèn với độ hắt tia cao từ trên xuống dưới. Lớp nước dưới đèn khoảng 5cm, tốc độ chảy khoảng 2cm/giây. Với công suất đèn 30W, cường độ tia cực tím làm thay đổi tế bào vi khuẩn, khả năng diệt trùng cao.

5.2.2. Tính toán thiết bị

5.2.2.1. Hệ thống cánh khuấy

Hệ thống cánh khuấy được gia công bằng thép inox chịu được môi trường axit và kiềm. Các cánh khuấy được thiết kế cùng môtơ khuấy sao cho quá trình khuấy đảm bảo các yêu cầu sau:

- Nước đảm bảo trộn đều.
- Khi khuấy nước không bị trào ra ngoài

Như vậy tốc độ trung bình của cánh khuấy là 10 vòng/giây.

5.2.2.2. Hệ thống bơm

Các bơm sử dụng tại các khu vực xử lý khác nhau được lắp đặt riêng nhằm tránh

tình trạng có sự trộn lẫn nước thải trong hệ thống. Các bơm được đặt hàng dạng bơm inox, có cánh và bơm chịu được môi trường kiềm và axit.

Công suất bơm 0,37KW, lưu lượng trung bình từ 5 - 45l/phút, đảm bảo đủ công suất trong quá trình vận hành hệ thống.

5.2.2.3. Hệ thống cấp khí

Với hệ thống cấp khí có bọt trung bình, lượng oxy cung cấp hoà tan vào môi trường khoảng 0,8 - 1,2kgO_2/KW. Yêu cầu oxy trong nước thải luôn đảm bảo từ 4 - 8mg/l.

Do một phần lượng không khí từ hệ thống phân phối khí được sử dụng trong hệ thống lọc ngược sinh học, nên công suất thiết bị thổi khí được sử dụng như sau: công suất 85W (thiết bị dễ tìm kiếm trên thị trường), lưu lượng khí trung bình 80l/phút.

5.2.3. Hệ thống thoát bùn

Các đường công nghệ trong hệ thống pilot gồm: đường công nghệ cấp - thoát nước và hệ thống đường công nghệ thoát bùn. Bùn thải trong hệ thống có thể được chia làm 2 loại bùn: bùn thải hữu cơ đơn thuần và bùn thải chứa hoá chất.

Bùn thải chứa hoá chất xuất phát từ bể xử lý hoá học, bể keo tụ sau xử lý hoá học, bể keo tụ sau xử lý sinh học, có thành phần bao gồm: chất hữu cơ, sinh khối và xác VSV, hoá chất keo tụ và xử lý hoá học... Loại bùn thải này trong thực tế phải được tiến hành xử lý riêng.

Bùn thải hữu cơ đơn thuần chủ yếu bao gồm: sinh khối VSV, các loại giá thể ... Trong thực tế lượng bùn này có thể sử dụng ủ compost làm phân vi sinh.

5.2.4. Hệ thống điện

Hệ thống điện cung cấp chung cho hệ thống là điện 3 pha. Tủ điện được thiết kế sao cho từng modul khác nhau có hệ thống cung cấp điện riêng độc lập với nhau. điều này phù hợp với mục đích sử dụng của hệ thống là khi cần vận hành hệ thống nào thì hệ thống đó được cung cấp điện để vận hành.

Các bơm nước của hệ thống có thiết bị đặt thời gian vận hành, nhằm đảm bảo lượng nước bơm vừa đủ để vận hành hệ thống.

5.3. THIẾT KẾ VÀ QUY TRÌNH HỆ THỐNG

5.3.1. Thiết kế hệ thống

Hệ thống 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.

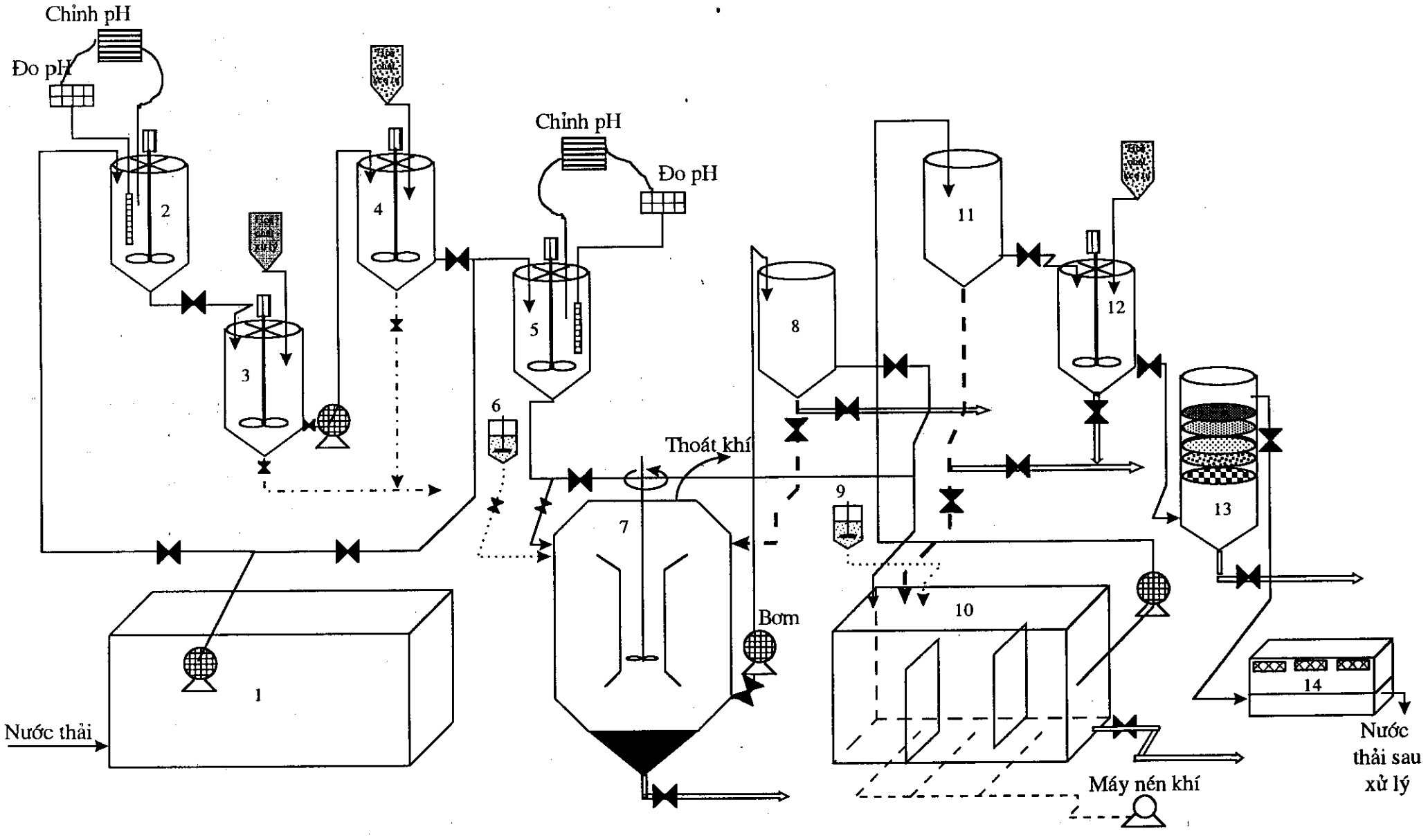
Hệ thống có thể chia làm 3 modul:

- Modul xử lý hoá học.
- Modul xử lý sinh học kị 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 kị khí bao gồm:
    + Bể chứa.
    + Bể điều hoà xử lý sinh học kị khí.
    + Bể xử lý sinh học kị khí.
    + Bể lắng sau xử lý sinh học kị 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.

HỆ THỐNG XỬ LÝ HỢP KHỐI



CHÚ THÍCH HỆ THỐNG XỬ LÝ HỢP KHỐI

Chú thích các mũi tên:

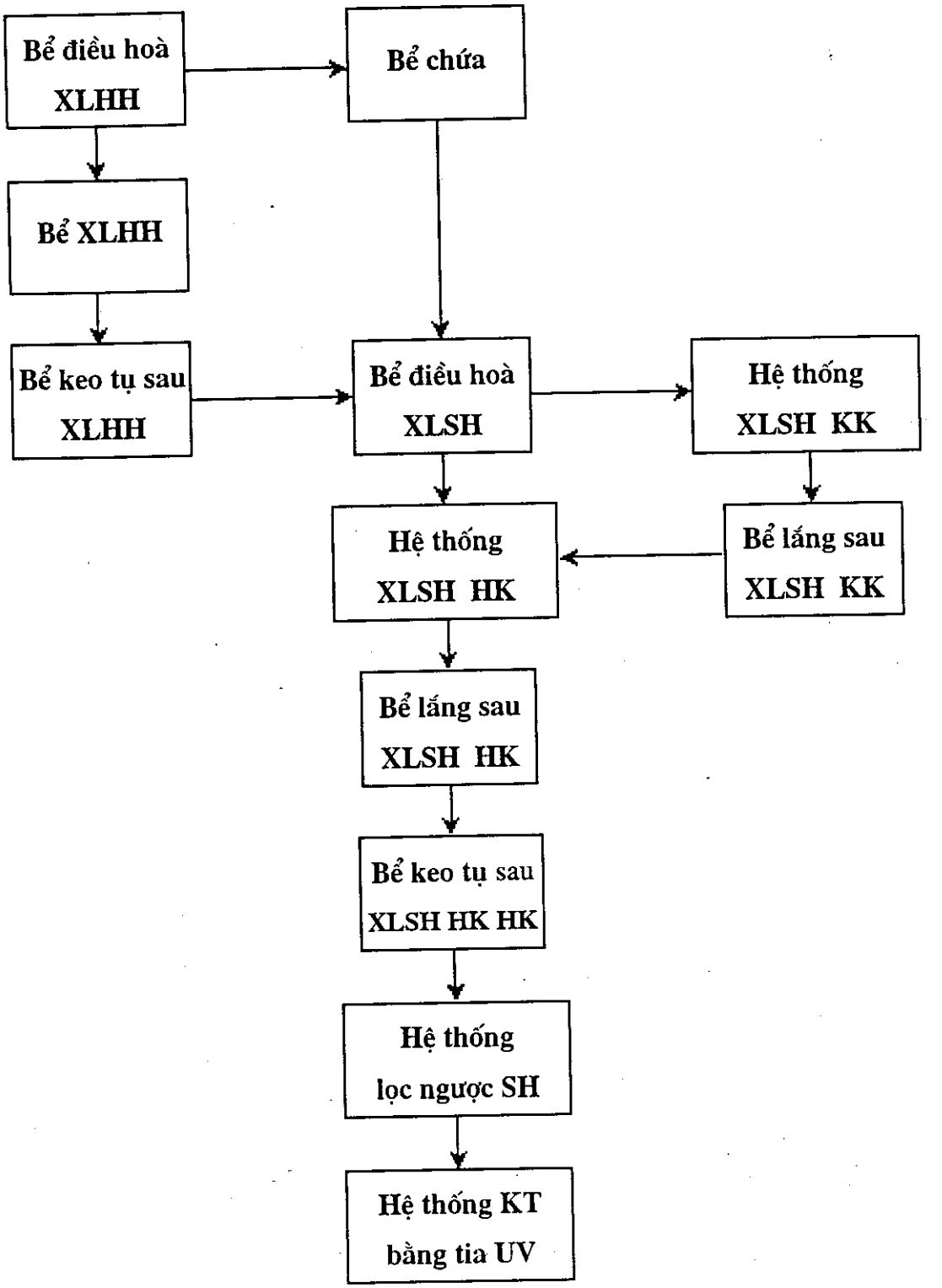
——→ Dòng nước thải trong hệ thống
·····→ Dòng chế phẩm VSV đã hoạt hoá vào hệ thống xử lý
- - - - - - → Dòng khí cung cấp cho hệ thống
– – – → Dòng bùn hoạt tính tuần hoàn
-·-·-·-→ Dòng cặn thải ra khu xử lý cặn
⟹ Dòng bùn thải ra khu xử lý bùn

Chú thích các hình:

1: Bể chứa
2: Bể điều hoà trước xử lý hoá học
3: Bể xử lý hoá học
4: Bể keo tụ sau xử lý hoá học
5: Bể điều hoà trước xử lý sinh học
6: Hệ thống hoạt hoá chế phẩm VSV kỵ khí
7: Hệ thống xử lý sinh học kỵ khí
8 : Bể lắng sau xử lý kỵ khí
9 : Hệ thống hoạt hoá chế phẩm VSV hiếu khí
10: Hệ thống xử lý sinh học hiếu khí
11: Bể lắng sau xử lý hiếu khí
12: Bể keo tụ sau xử lý hiếu khí
13: Hệ thống lọc ngược
14: Hệ thống khử trùng bằng tia UV

5.3.2. Quy trình hoạt động của hệ thống dạng modul

Với từng loại nước thải khác nhau, có công nghệ xử lý khác nhau có thể vận hành theo các công đoạn khác nhau:



Hệ thống này đã được sử dụng để xử lý thử nghiệm nước thải chứa TNT, DNT, AS, NG, NC, NO_2^-, NO_2 và cho kết quả tốt như đã trình bày ở các chương 1, 2, 3, 4.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Trong quá trình tiến hành đề tài, chúng tôi đã đi khảo sát, thực địa tại một số nhà máy và các cơ sở sản xuất quốc phòng, đã thu được 105 mẫu đất, nước nhiễm các chất độc hại đặc thù quốc phòng để phân lập và đã phân lập được 42 chủng VSV bản địa có khả năng phân huỷ các chất ô nhiễm cao.

- Đã nghiên cứu các đặc điểm sinh lý sinh hoá cũng như các yếu tố ảnh hưởng đến khả năng phân huỷ các chất ô nhiễm độc hại của các chủng VSV điển hình để sản xuất chế phẩm và xây dựng quy trình xử lý nước thải đặc chủng công nghiệp quốc phòng.

- Lần đầu tiên ở trong nước đã chế tạo được 4 loại chế phẩm VSV để xử lý TNT, DNT, AS, NG từ 42 chủng VSV đã phân lập và tuyển chọn ở trên. Nồng độ VSV trong các chế phẩm này đạt 10^9 -10^{10} CFU/g, chế phẩm này cũng chuyển hoá và phân huỷ được trên 85% lượng chất ô nhiễm có trong nước thải (đạt chỉ tiêu chất lượng sản phẩm đã đăng ký).

- Đã xây dựng được 6 quy trình xử lý các loại nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ (2 quy trình), thuốc gợi nổ, quá trình nhuộm đen vũ khí và phục hồi nhiên liệu tên lửa lỏng (chất O). Nước thải sau xử lý theo các quy trình trên đều đạt nước thải loại B (TCVN). Giá thành xử lý nước thải theo các quy trình này phụ thuộc nhiều vào giá năng lượng điện (giá chế phẩm sinh học/m^3 chỉ vào khoảng 800-900 đồng).

- Đã xây dựng được một pilot thử nghiệm xử lý nước thải dạng modul quy mô phòng thí nghiệm (30L/ngày) để kiểm tra kết quả nghiên cứu trước khi đưa ra thử nghiệm ngoài hiện trường.

- Đã đào tạo được 2 luận án thạc sỹ, 1 luận án tốt nghiệp đại học theo nội dung nghiên cứu của đề tài.

- Đã báo cáo và đăng tạp chí 7 bài báo là kết quả nghiên cứu của đề tài tại các hội nghị khoa học và tạp chí trong và ngoài Quân đội.

Nói chung đề tài đã hoàn thành được các nội dung nghiên cứu cũng như các sản phẩm đã đề ra. Các kết quả đều được nghiên cứu cẩn thận, tỷ mỉ, trung thực và có độ

lặp lại cao, các phương pháp nghiên cứu đều là các phương pháp cơ bản, hiện đại (sắc ký lỏng cao áp , sắc ký khí...) có độ chính xác cao.

Tuy nhiên, các kết quả thu được mới chỉ là kết quả trong phòng thí nghiệm, để có thể áp dụng vào thực tế cần phải có những bước thử nghiệm và điều chỉnh tiếp theo cho phù hợp. Hơn nữa, một trong những hạn chế của sinh phân huỷ các hợp chất nitro vòng thơm bằng VSV đơn chủng là không hoàn toàn (tuy rằng có một số chủng VSV có khả năng phân huỷ khoảng 30-50% các hợp chất nitro vòng thơm thành CO_2 và H_2O). Một số sản phẩm phân huỷ trung gian là các di-, tri -amino gây độc cho một s VSV và ức chế quá trình khoáng hoá tiếp theo. Để khắc phục hạn chế này, các nhà nghiên cứu đều thống nhất là nên kết hợp nhiều loại VSV trong quá trình xử lý .

Theo chúng tôi, xử lý nước thải công nghiệp nói chung, công nghiệp quốc phòng nói riêng bằng CNSH là một hướng đi đúng, cần được quan tâm vì tính ưu việt của nó và khả năng phân huỷ chất độc của VSV đã được nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới cũng như thực nghiệm trong phòng thí nghiệm của chúng tôi khẳng định.Tuy nhiên để khắc phục các nhược điểm nêu trên cần kết hợp nhiều phương pháp (hoá, lý, sinh học hiếu khí và kỵ khí), nhiều loại sinh vật (VSV, thực vật cạn, thực vật nước...) như đã trình bày ở các quy trình xử lý mà chúng tôi đưa ra ở phần trên, và nhiều chủng loại VSV(vi khuẩn, nấm, xạ khuẩn...). Trong chế phẩm VSV của chúng tôi cũng đã chế tạo theo hướng đa chủng này.

Trong thời gian tới chúng tôi xin đề xuất được tiếp tục nghiên cứu để triển khai các kết quả đã đạt được trong phòng thí nghiệm theo hướng kết hợp nhiều phương pháp xử lý vào thực tế, góp phần giảm thiểu ô nhiễm, phát triển bền vững ở các nhà máy quốc phòng./.

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành đề tài này chúng tôi đã nhận được sự quan tâm, giúp đỡ tận tình, những ý kiến đóng góp quý báu của Cấp uỷ và Thủ trưởng các cấp, của Chủ nhiệm đề tài, của các phòng ban và toàn thể các đồng chí trong Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường, Trung tâm Khoa học kỹ thuật và Công nghệ Quân sự. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ quý báu đó.

Chúng tôi cũng xin chân thành cảm ơn các đơn vị trong và ngoài quân đội đã hợp tác và giúp đỡ chúng tôi hoàn thành các công việc của đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1 *An toàn thuốc phóng, thuốc nổ* (1993). Thông tin chuyên đề bảo đảm kỹ thuật, Trung tâm thông tin KHKTQS, Tổng cục kỹ thuật.

2 Nguyễn Thị Phương Chi (1997). *VSV học đại cương*. Giáo trình cao học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Trung tâm KHTN & CNQG, Hà Nội.

3 Trần Văn Chung (1998). *Nghiên cứu quy trình công nghệ xử lý các chất thải nguy hiểm của các cơ sở quốc phòng sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ*. Báo cáo đề tài cấp Bộ quốc phòng.

4 Nguyễn Lân Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Lê Đình Lương, Nguyễn Thanh Hiền, Đoàn Xuân Mượu, Phạm Văn Ty (1976). *Một số phương pháp nghiên cứu VSV học*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

5 Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty (1997). *VSV học*. Nhà xuất bản Giáo dục.

6 Nguyễn Văn Đạt (1995). Nghiên cứu phương pháp làm sạch nước thải chứa thuốc nổ TNT tại các cơ sở sửa chữa đạn. *Chuyên san nghiên cứu KHKTQS*, (13), tr. 19-21.

7 Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Lê Tú Quỳnh, Trần Thị Thu Hường, Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Thị Tâm Thư (2001). Phân lập và tuyển chọn các chủng VSV có khả năng phân huỷ 2,4,6 Trinitrotoluen. *Tạp chí sinh học, số 23* (3), tr. 43 - 45.

8 Vũ Thị Minh Đức (2001). *Thực tập VSV học*. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia, Hà Nội.

9 Lê Gia Hy (1997). *Công nghệ VSV xử lý nước thải*. Trung tâm KHTN & CNQG, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội.

10 Lê Văn Khoa (1995). *Môi trường và ô nhiễm*. Nhà xuất bản giáo dục.

11 Trịnh xuân Lai(2000). *Tính toán thiết kế các công trình xử lý nước thải*. Nhà xuất bản xây dựng.

12 Nguyễn Văn Mùi(2001). *Thực hành hoá sinh học*. Nhà xuất bản KHKT.Hà nội

13 Trần Hiếu Nhuệ (1998), *Xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học*, NXB Đại học Xây dựng - Hà Nội.

14 Nguyễn Đình Quyến (1998), *VSV học đại cương*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, tr: 68 - 71.

15 Nguyễn Thị Thanh (1996), *Bài giảng ô nhiễm nước*. Đại học Khoa học tự nhiên - ĐH QGHN, tr: 76 - 85.

16 Trịnh Thị Thanh (1996). *Giám sát ô nhiễm môi trường*. Trung tâm Tài nguyên và Môi trường. NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.

17 Trần Linh Thước (2002). *Phương pháp phân tích VSV trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*. NXB Giáo dục.

18 Tiêu chuẩn Việt Nam. TCVN 5945 - 1995. Nước thải công nghiệp - Tiêu chuẩn thải

19 Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4556-88 ÷ 4583-88. Nước thải. Phương pháp phân tích lý hoá học.

20 Đào Hữu Vinh, Nguyễn Xuân Dũng, Trần Thị Mỹ Linh, Phạm Hùng Việt (1998). *Các phương pháp sắc ký*. Nhà xuất bản KHKT.

Tiếng Anh

21 Accashi J. V., Vinopal R. T., Kim B. J. And Smets B. F. (1998). Aerobic growth on nitroglycerin as sole cacbon, nitrogen and energy suorce by a mixed bacterial culture", *Appl. Environ. Microbial*, 64, pp: 3300 - 3304.

22 Andrea Preuss, Jurgen Fimbpel, Gabriele Diekrt (1993), Anaerobic transformation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), *Arch. Microbial*, 159, pp:345 - 353.

23 Anne Kahru, Alla Maloverjan, Helgi Sillak and Lee Pollumaa (2002). The Toxicity and Fate of Phenolic Pollutants in the Contaminated Soils Associated with the Oil-Shale Industry. *Research Articles*. ESPR - Environmental Science and Pollutant Research, Special Issue 1: 27-33.

24 Aveirala. S.J. (1985). *Wastewater treatment for Pollution Control*. Tata Mc. Graw Hill, New Delli.

25 Bayman P. and Gauri V. Rad kar (1997). Transformation and telorance of 2.4.6 Trinitrotoluene (TNT) by fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 39, (1): 45 - 53.

26 Bernett H.D., Hunter B. (1971). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Ed.

Minneapolis.

27 Bernett J.W, Paula Hollrah, Andrew Water house karoly Horvath (1995). Isolation of Bacteria and Fungi from TNT-contaminated Composts and preparation of ^{14}C-ring labeled TNT. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 50: 421-430.

28 Benoit V. A, King a Skubisz, Henry Naveau and Spiros N. Agathos (1997). Biodegradation of 2,4,6 Trinitrotoluen (TNT) by the white- rot Basidiomycete *Phlebia radiata. Biotechnology Letter*, 19, (8): 813 - 817.

29 Binks P. R., French C. E., Nicklin S. And Bruce N. C. (1996), "Degradation of pentathritol tetranitrate by *Enterobacter choacae* PB2", *Appl. Environ. Microbial*, 62, pp: 1214 - 1219.

30 Binks P. R., Knocke K. I., Fux B. G. And Chamblis G. L. (1997), "Regioselectivity of nitroglycerin denitration by flavoprtein nitroester reductase purified from two *Pseudomonas* species", *J. Bacteriol*, 179, pp: 6912 - 6920

31 Boopathy R. (2000). Bioremediation of explosives contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46, (6): 29-36.

32 Boopathy R., J. Manning and C.F. Kulpa (1997). Anaerobic bioremediation of explosives - contaminated soil: a laboratory study . *Global Environmental Biotechnology,* 463-474. Kluwer Academic Publishers.

33 Bradley P.M, Chapelle F.H, Landmeyer J.E, and Schumacher J.G (1994). Microbial transformation of nitroaromatics in surface soils and a quifer Materials. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, (6): 2170-2175.

34 Campion L.L, Vandais A., quazzani J. (1999). Microbial remediation of NTO in aqueous industrial wastes. *Microbial letters*, 176: 197-203.

35 Chritodoulatos, Bhaumik S. And Brodmau (1997), *Anaerobic biodegradation of nitroglycerin*. Water Res., 31, pp: 1462 - 1470.

36 Denis R, Jonathan Hodgson, Sonia Thi Bontot, Guy Ampleman, Jalal Hawari (2001), "Transformation of 2.4.6Trinitrotoluene (TNT) by immobilized *Phanerochaete chrysosporium* under fed-batch and continuous TNT feeding conditions", *Biotechnology and Bioengineering*, 73, (4), p271-281.

37 Ellis.H.V.,III.J.R. Hodgson, S.W. Hwang, L.M. Halfpap and D.O. Helton, 1978. *Mammalian toxicity of munition compound: phase I acute oral toxicity, primary skin and eye irritation, dermal sensitization and disposition and metabolism.* Progress report 6.U.S. army Medical Reserch and development commamd. Wasington D.C.

38 Fernando, T. And S. D. Aust. Biodegradation of Munition Waste, TNT (2,4,6-trinitrotoluene) and RDX (Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-Triazine) by *Phanerochaete chrysosporium. ACS Symp. Ser.* 1991; 468: 214 - 232.

39 Francis L. Evans III (1972). *Ozone in water and wastewater treatment.* Ann Arbor science Publishers, Inc.

40 Fredrick W. Parrish: Fungal Transformation of 2,4 - Dinitrotoluene and 2,4,6-Trinitrotoluane. *Applied and Environmental Microbiology,* Aug. 1977, P. 232 - 233. Vol 34, N° 2.

41 Funk S. B., Crawford D.L, Crawford R.L, Mead G., Davis Hoover W. (1995). Full-scale Anaerobic Biôremediation of Trinitrotoluen (TNT) contaminated soil. *Applied Biochemistry and biotechnology,* 51/52: 625 - 633.

42 Graham F White., Jasour Snape Stephen Nicklin (1995), "Biodegradation of glycerol trinitrat and pentaerythritol tetranitrate by Agrobacterium radiobacter", *Biochemistry unit,* School of Molecular and Medical Biosciences, University of Wales, Cardiff, Cardiff CFI 3US[1], and defence evalution abd research agency, fort halstead, sevenoaks, kent TN14 7BP[2], United Kingdom, p: 637 - 642.

43 Guadalup Pinar et. All(1997). Removal of high concentrations of nitrate from industrial wastewaters by bacteria. Applied and enviromental microbiology, p. 2071-2073

44 Haidour A, and Ramos J.L. (1996). Identification of products resulting from the biological reduction of 2.4.6-Trinitrotoluene (TNT), 2.4-Dinitrotoluene & 2.6-Dinitrotoluene by *Pseudomonas* sp. *Environmental science and Technology,* 30: 2365-2370.

45 Haigler B. E., Spain J. C (1993), "Biodegradation of 4-Nitrotoluene by *Pseudomonas* sp. Strain 4NT" *Applied and environmental microbiology,* 59, (5),

p2239-2243.

46 Hammer Mark J. (1986). *Water and wastewater Technology.* 2nd Edition, John Wiley and Sons, N.Y.

47 He Z., Spain J. C. (2000), "Reactions involved in the lower pathway for degradation of 4-Nitrotoluene by *Mycobacterium* Strain HL 4NT-1", *Applied and environmental microbiology*, 66, (4), p3010-3015.

48 Howard T. B, Wayne R. Mitehell and Michael A. Major. (1992). Biodegradation of 2.4- and 2.6- DNT by freshwater microorganisms. *Journal Environmental science and Health*, A27(3): 663-695.

49 Hugh McTavish, Gunjan Pandey and Prasad Kotharu (2003). 4-Nitrophenol Pathway Map, University of Minnesota. http://umbbd.ahc.umn.edu/nphe/nphe-map.html.

50 Jeong W. Pak, Kyle L. Knoke, Daniel R.Noguera, Brian G. Fox, and Glenn H. Chambliss, Transformation of 2,4,6 trinitrotoluene by Purified Xenobiotic Reductase B from *Pseudomonas fluorescens* I-C, Applied and Environmental microbiology, Nov.2000. p. 4742-4750 Vol.66, No.11.

51 Jian-Shen Zhao and Owen P. Ward (2001). Substrate Selectivity of a 3-Nitrophenol-Induced Metabolic System in *Pseudomonas putida* 2NP8 Transforming Nitroaromatic Compounds into Ammonia under Aerobic Conditions. *Applied and Environmental Mirobiology*, Vol. 67, (3): 1388 - 1391.

52 Joseph Hughes, F.Rudolph, G. Bennett (2001). Project abstract anaerobic biodegradation of 2,4,6-trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds by *Clostridium Acetobutylic*. Rice University. Copyright as Geoorgia Tech Research Corporation. http: //www.hsrc.org/

53 Karasch C, Popovic M., Qasim M., Bajpai R. K., (2002), "Alkali hydrolysis of trinitrotoluene", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 98-100, p1173-1185.

54 Karl-Heinz Blotevogel, Thomas Gorontzy (2002). Microbial Degradation of Compounds with Nitro Functions. *Biotechnology, p.* 273-302. Rehm Edition.

55 Keye M. Seymour (1980). *Encyclopedia of explosives and Related Items.* Vol.9, T65, New york - London - Sydney.

56 Klausmeier R.E., Osmon T.L and D.R Walls,1997, DuPre E.S. The effect of 2.4.6 Trinitrotoluene on microorganism. Dev. Ind. Microbilol 15, p. 309-317.

57 Kwon S. H. And Yen T. F., (1997). "Metabolims of 2,4,6-Trinitrotoluenby mixed microbial population in digested sewage sludge under strict anaerobic conditions". *Civil and Environmental engineering, University of Southern California, Los Angeles,* CA, pp: 2669 - 2682.

58 Lodder J. (1971). The yeats - A taxonomic study. North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

59 Maria B. Pasti-Grigsby et al, 1996: Transformation of 2,4,6-Trinitrotoluen (TNT) by Actinomycetes Isolated from TNT-Contaminated and Uncontaminated Environments. Applied and Environmental Microbiology, Mar, 1996. P. 1120 - 1123.

60 McCormick N. G., Florence E. Feeherry and Hillel S.Levinson (1976). Microbial transformation of 2.4.6 Trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 31, (6): 949 - 958.

61 McCormick N. G, Cornell J.H, Kaplan A.M (1978), "Identification of biotransformation product from 2.4DNT", *Applied and Environmental Microbiology*, 35, p945-948.

62 Michael D. L. G., Phillip.L. Buckingham, Jeffrey C. (1994). Evan and Resources Management Group. *Hazardous waste management*, p. 299-301.

63 Michels J. and Gerhard Gottschalk (1994). Inhibition of the lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* by Hydroxylamino-Dinitrotoluene, an early Intermediate in the Degradation of 2,4,6-Trinitrotoluene. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 187-194.

64 Milton W. Lammering, Nathan C. Burbank. (2002). The toxicity of Phenol, o-Chlorophenol and o-Nitrophenol to Bluegill Sunfish.

65 Neil g. McCormick, Frorence E. Feenerry, and Hillel S. Levinson :Microbial transformation of 2,4,6 trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds, *Applied and Environmental Microbiology*, June 1976, p. 949-958 .Vol 31, No6.

66 Osmon, J. L. And R. E. Klausmeier. 1972. The microbial degradation of

explosives . Dev. Ind. Micobiol. 14:247-252.

67 Parrish FW (1977), "Fungal transformation of 2.4.6Trinitrotoluene (TNT) & 2.4 Dinitrotoluene", *Applied and Environmental Microbiology*, 34, (18), p232- 233.

68 Pasti M. B. - Grigsby, Thomas A. Lewis, Don L. Crawford and Ronald L. Crawford (1996). Transformation of 2,4,6 trinitrotoluene (TNT) by *Actinomycetes* Isolated from TNT Contaminated and Uncontaminated Environmental Microbiology. *Applied and Environmental Microbiology,* 12: 1120 - 1123.

69 Paul Bayman and Gauri V. Radkar - 1996: Transformation and Tolerance of TNT (2,4,6-Trinitrotoluen) by Fungi, *International Biodeterioration & Biodegradation* vol. 39. No. 1 (1997) 45 - 53.

70 Pont E.I de Nemours & company (2003). Remediation/ destruction of Nitrated Aromatics. http://www.yet2.com-Tech Park.

71 Samatha, Marshall and Graham E. White (2001), "Complete denitration of nitroglycerin by bacteria isolation from a Washwater Soakaway", *School of biosciences*, Cardff University, Cardiff CF10 3US, United Kingdom, pp: 2622 - 2682.

72 Shelley M.D., Autenrieth R.L., Wild J.R. and Dale B.E. (1996), "Thermodynamic Analysis of Trinitrotoluene Biodegradation and Mineralization Pathways", *Biotechnology and Bioengineering*, 50, p198-205.

73 Spanggord R.J, Spain J.C, Nishino S.F. and K.E. Mortelmans (1991), "Biodegradation of 2.4.6Trinitrotoluene (TNT) by *Pseudomonas* sp", *Applied and Environmental Microbiology*, 57, p3200-3205.

74 Stephen B. Funk, Deborah J. Roberts, Don L.Crawford and Ronald L. Crawford. (1993). Initial - Phase Optimization for Bioremediation of Munition Compound Contaminated soils. *Applied and environmental Microbiology*, 59, p2171 - 2177.

75 Streuli C. A and P. R. Averell (1990), " The analytical chemistry of nitrogen and its compounds" , *Part 2 - Wiley - Interscience*, A division of Jonh Wiley and Son, Inc, NewYork / London / Sidney / Toronton.

76 Sue Hyung Choi, Seung-Hyeon Moon and Man Bock Gu (2002). Biodegradation of chlorophenols using the cell-free culture broth of Phanerochaete chrysosporium

immobilized in polyurethane foam. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 77: 999 - 1004.

77 T. Urbanski (1967). *Chemistry and Technology of Explosives.* Vol 3, Pergamous Press, NY.

78 Wendt T. M, Cornell J, H. And Kaptan A.(1978), Microbial degradation of glycerol nitrate, Appl environ. Microbiol, 36,p. 693-699.

79 White G.F. and Snape J.R.(1996), Bacterial biodegradation of nitrate esters, sea-dumped chemical weaponse aspect, problems and solution kluwer academic, Press.Dordrecht, Netherlands,p. 145-156.

80 White G.F. and Snape J.R and Snicklin(1996), Bacterial degradation of glycerol trinitrate, Int. Biodeterion.Biodegradation, 38 p. 77-82.

81 White G.F. and Snape J.R and Snicklin(1996), Biodegradation of glycerol trinitrate and pentaerythriol tetranitrate by Agrobacterium radiobacter, appl environ. Microbiol, p. 637-642.

82 Wild J.R., Shelley M.D., Autenrieth R.L. and Dale B.E. (1996). Thermodynamic Analysis of Trinitrotoluene Biodegradation and Mineralization Pathways. *Biotechnology and Bioengineering*, 50, p198-205.

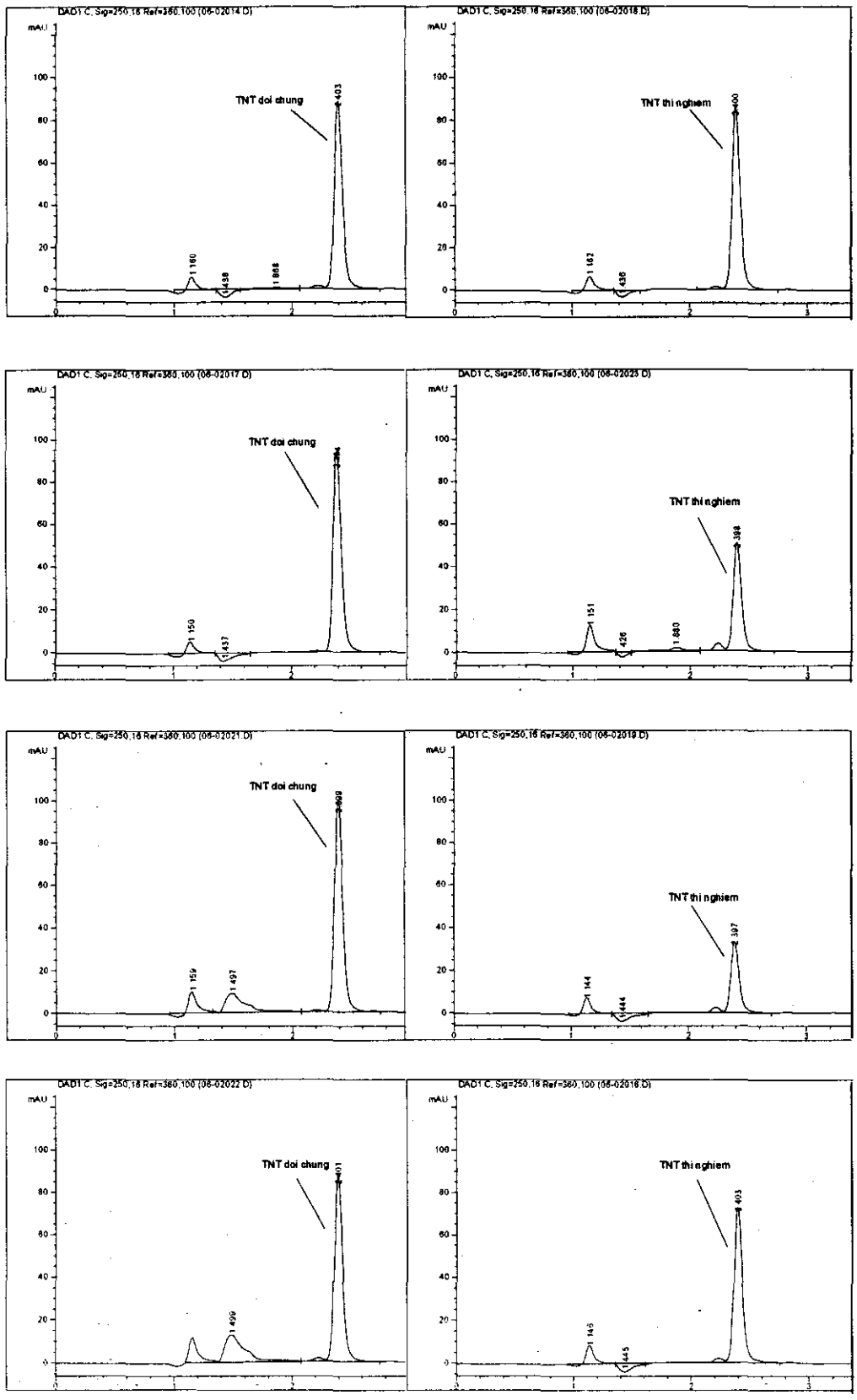
83 William D. W, Louis H. Dissalvo and James NG, (1976), "Toxicity and Mutagenicity of 2.4.6Trinitrotoluene (TNT) and its microbial metabolites", *Applied and Environmental Microbiology*, 31, (3), p576-580.

84 Williams R.T (1950). *Biological Oxidation of Aromatic rings.* Cambridge at the University Press.

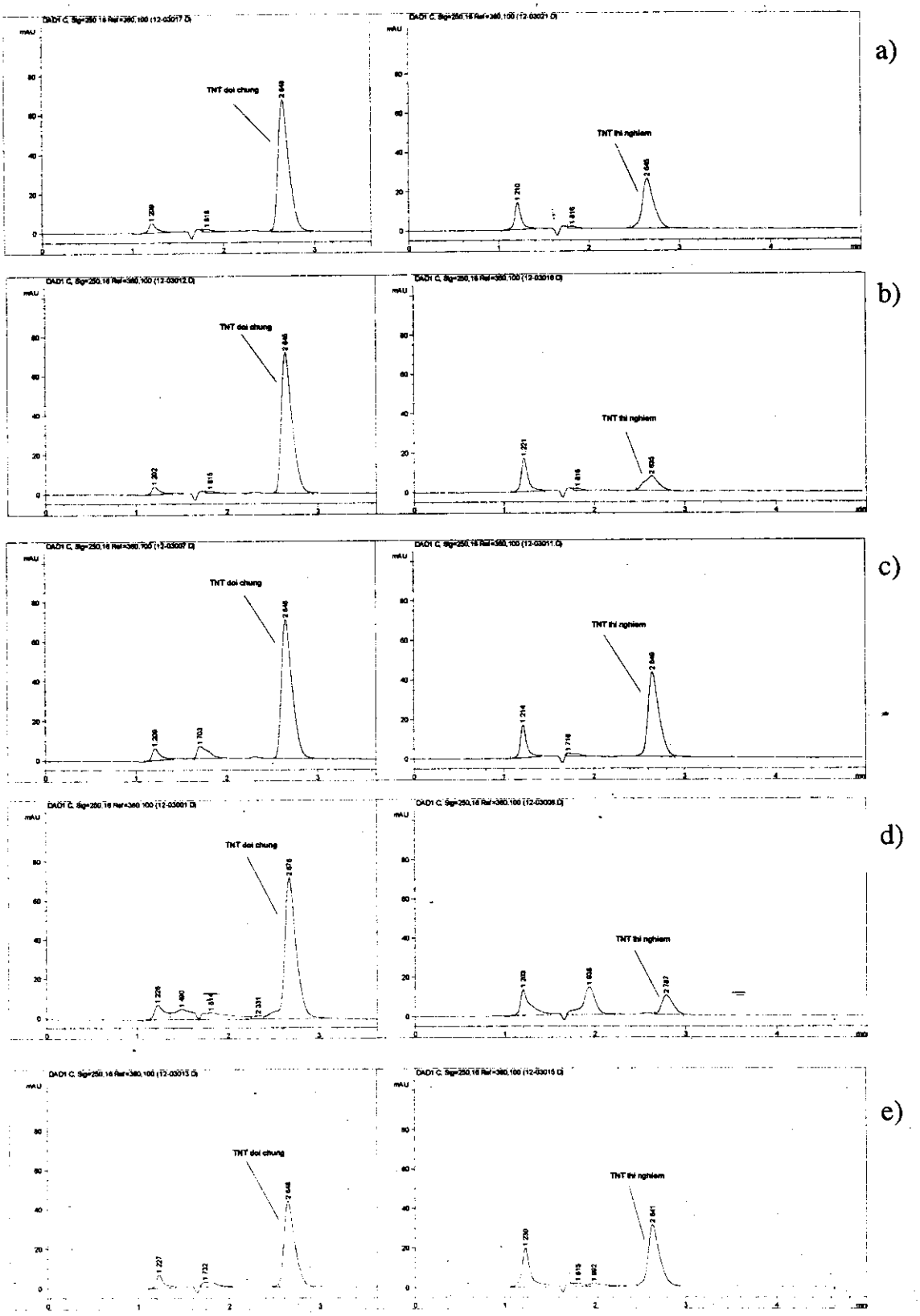
85 Y.Z.Zhang, S.T. Sudaram, A. Sharma and B.W. Bodman, 1997. Biodegradation of glycerol trinitrate by Penicillium corylophilum Dierckx. Applied and environmental microbiology, May.1997. Vol 63, N°5 1712-1714.

PHẦN PHỤ LỤC 1

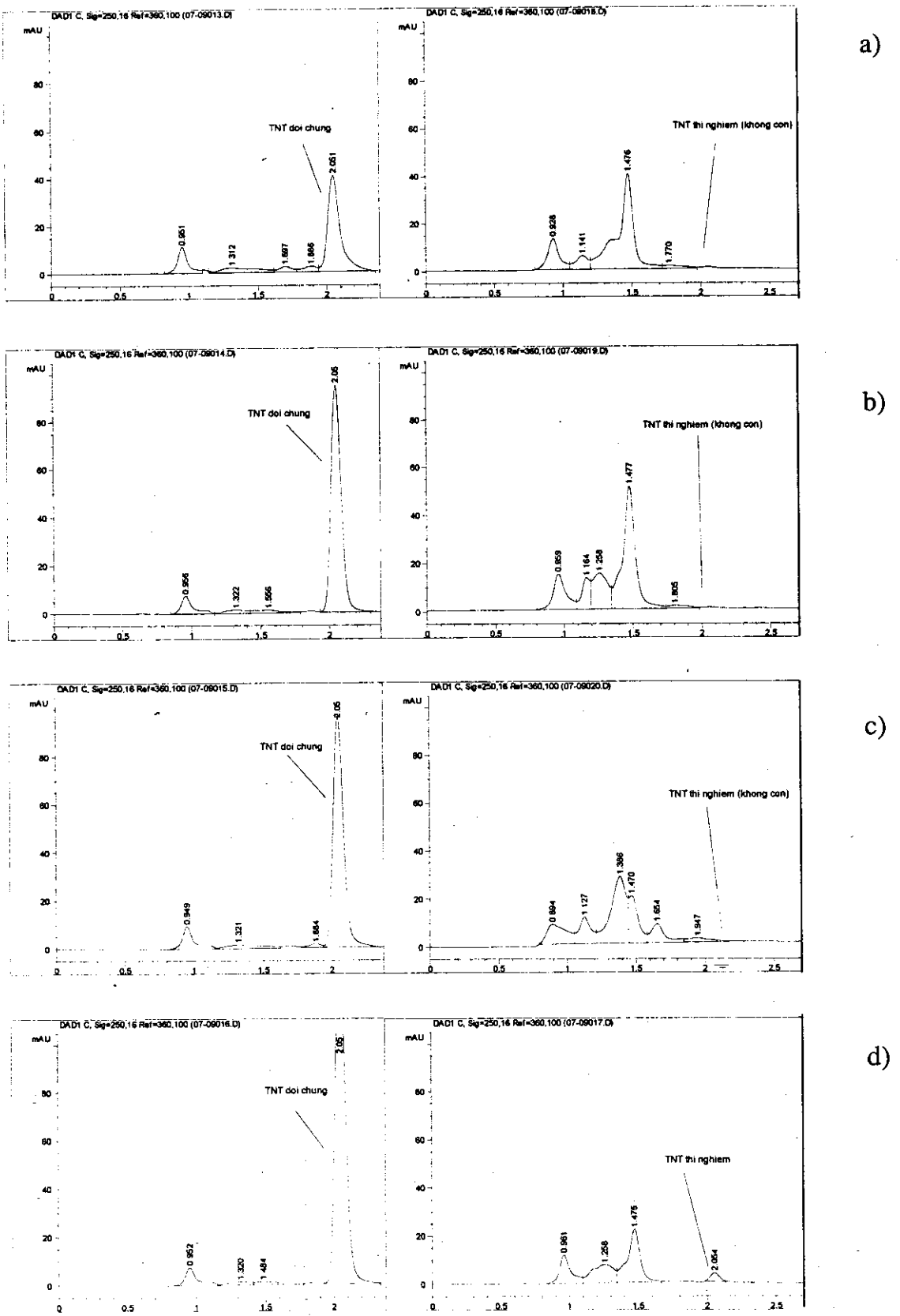
SẮC ĐỒ SẮC KÝ LỎNG CAO ÁP



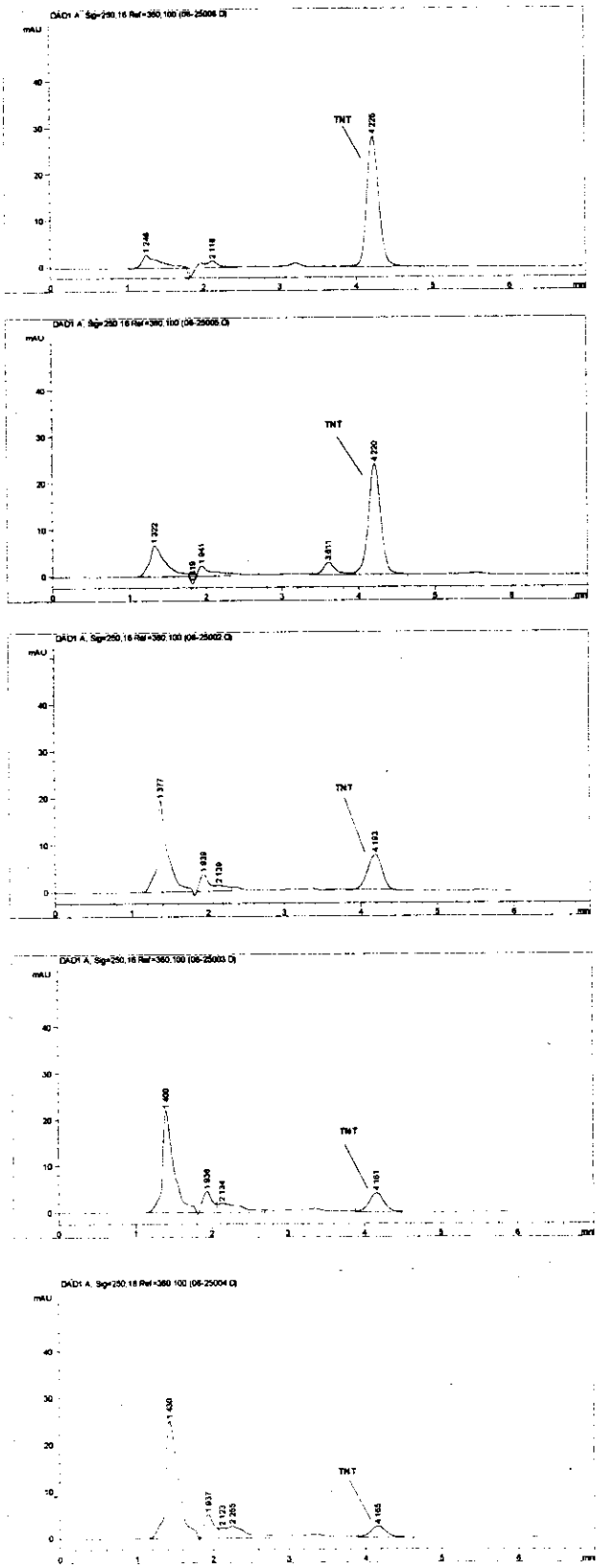
Hình 1. ***Sự thay đổi nồng độ TNT trong môi trường nuôi cấy vi sinh vật ở các pH : a) pH=3 ; b)pH = 5; c)pH = 7; d)pH = 9***



Hình 2. *Sự thay đổi nồng độ TNT trong các môi trường nuôi cấy: a) MT 1 ; b) MT 1; c) MT 3; d) MT 4 ; e) MT 5*



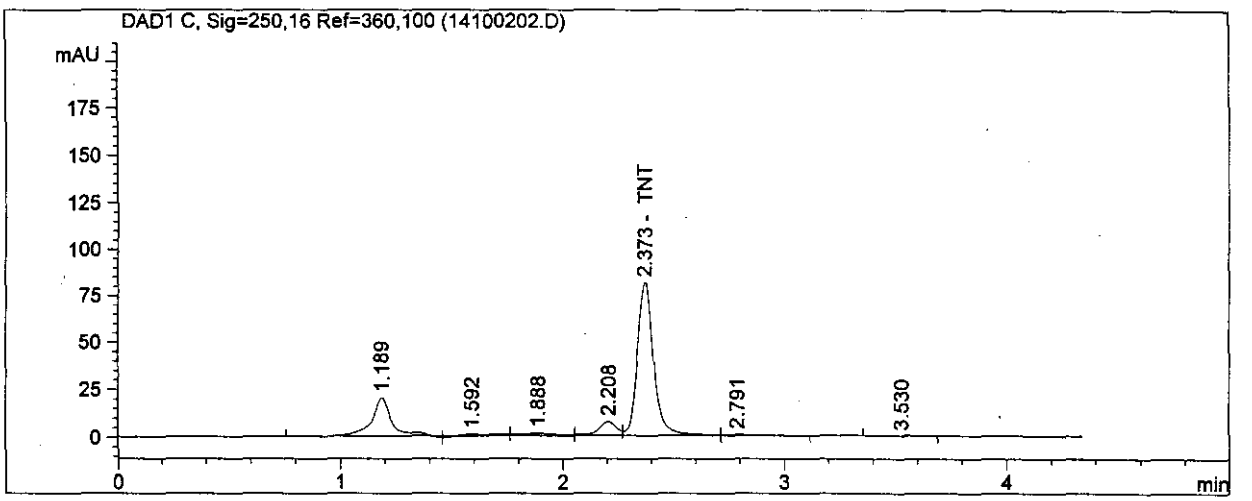
Hình 3. ***Sự thay đổi nồng độ TNT trong môi trường nuôi cấy có nồng độ ban đầu : a) 15 mg/l ; b) 25 mg/l; c) 35 mg/l; d) 45 mg/l***



Hình 4. ***Sự thay đổi nồng độ TNT trong môi trường nuôi cấy sau: a) 0 ngày ; b) 1 ngày; c) 2 ngày; d) 3 ngày ; e) 4 ngày***

a File D:\DATA\14100202.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 1lan 2 (25% Nước thải?).

```
==========================================================================
Injection Date  : 10/14/02 4:00:45 PM
Sample Name     : TNT                                   Vial :   1
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
==========================================================================
```



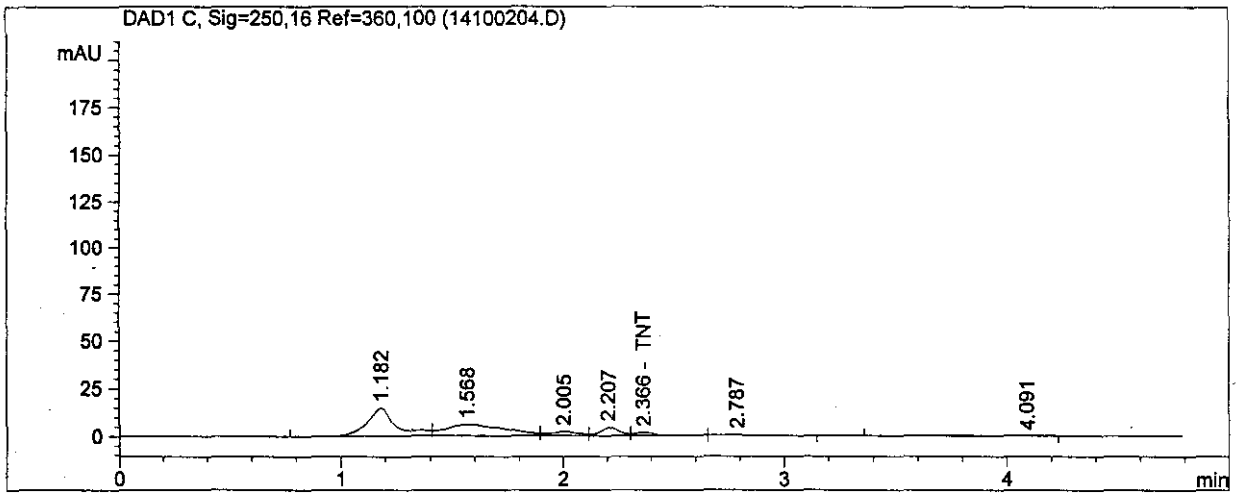

```
==========================================================================
                        External Standard Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.189	1	BV	127.35353	0.00000	0.00000	?	
1.592	1	VV	9.42467	0.00000	0.00000	?	
1.888	1	VV	16.07169	0.00000	0.00000	?	
2.208	1	VV	40.96018	0.00000	0.00000	?	
2.373	1	VV	415.14890	3.65667e-2	15.18062	TNT	
2.791	1	VB	2.34460	0.00000	0.00000	?	
3.530	1	BVAN	3.27832	0.00000	0.00000	?	
Totals :					15.18062		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

ta File D:\DATA\14100204.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 3

```
Injection Date  : 10/14/02 4:12:22 PM
Sample Name     : TNT                                    Vial :   1
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

```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

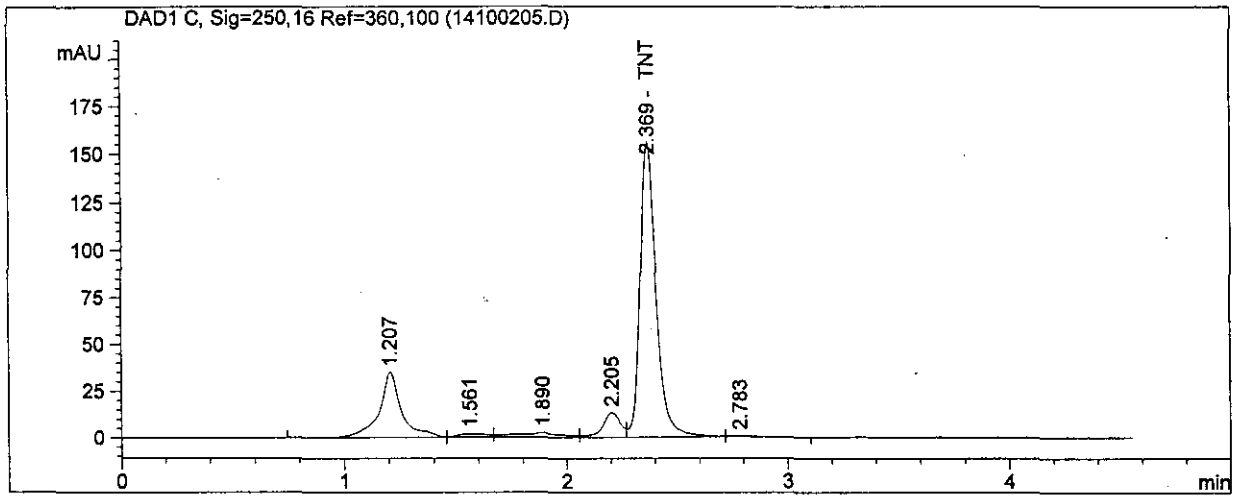
RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.182	1	BV	136.78014	0.00000	0.00000		?
1.568	1	VV	115.08601	0.00000	0.00000		?
2.005	1	VV	21.13800	0.00000	0.00000		?
2.207	1	VV	26.21650	0.00000	0.00000		?
2.366	1	VV	12.02827	7.97763e-2	9.59571e-1		TNT
2.787	1	VB	4.38515e-1	0.00000	0.00000		?
4.091	1	BVAN	9.65611	0.00000	0.00000		?

```
Totals :                                   9.59571e-1

 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)
```

*** End of Report ***

ta File D:\DATA\14100205.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 4 (50% N.TBai)

```
Injection Date  : 10/14/02 4:18:47 PM
Sample Name     : TNT                                   Vial :   1
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

```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

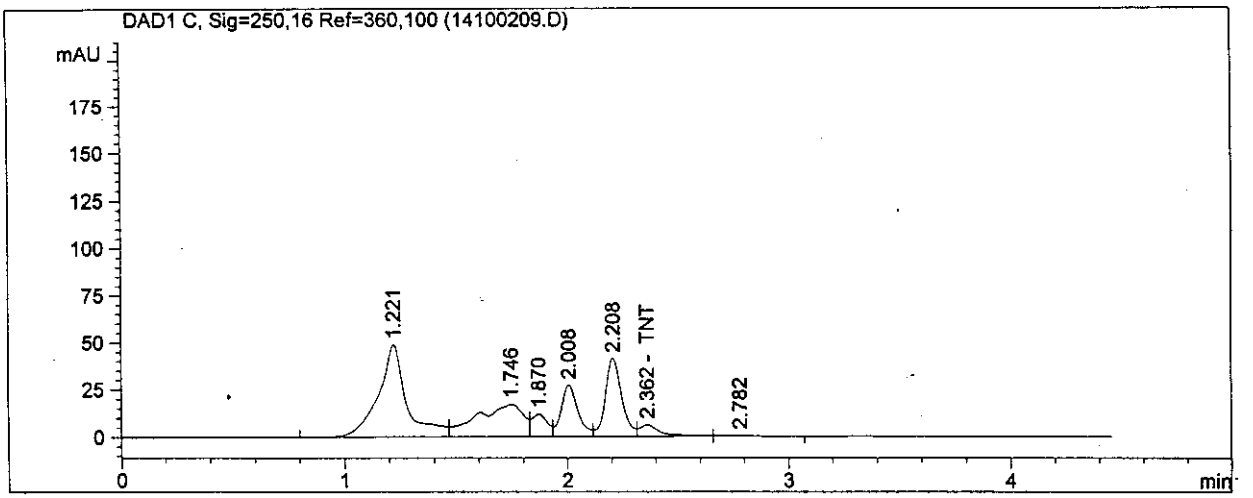
RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.207	1	BV	250.58263	0.00000	0.00000		?
1.561	1	VV	17.55844	0.00000	0.00000		?
1.890	1	VV	37.02899	0.00000	0.00000		?
2.205	1	VV	74.46009	0.00000	0.00000		?
2.369	1	VV	789.95410	3.59550e-2	28.40278		TNT
2.783	1	VB	3.05335	0.00000	0.00000		?
Totals :					28.40278		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)
```

*** End of Report ***

ata File D:\DATA\14100209.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 8 (50% N.T sau xly).

```
==========================================================================
Injection Date  : 10/14/02 4:42:16 PM
Sample Name     : TNT                                    Vial :   1
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
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.221	1	BV	427.28339	0.00000	0.00000		?
1.746	1	VV	246.90520	0.00000	0.00000		?
1.870	1	VV	57.49917	0.00000	0.00000		?
2.008	1	VV	143.27673	0.00000	0.00000		?
2.208	1	VV	211.76323	0.00000	0.00000		?
2.362	1	VV	41.51707	4.81696e-2	1.99986		TNT
2.782	1	VV	2.75538	0.00000	0.00000		?

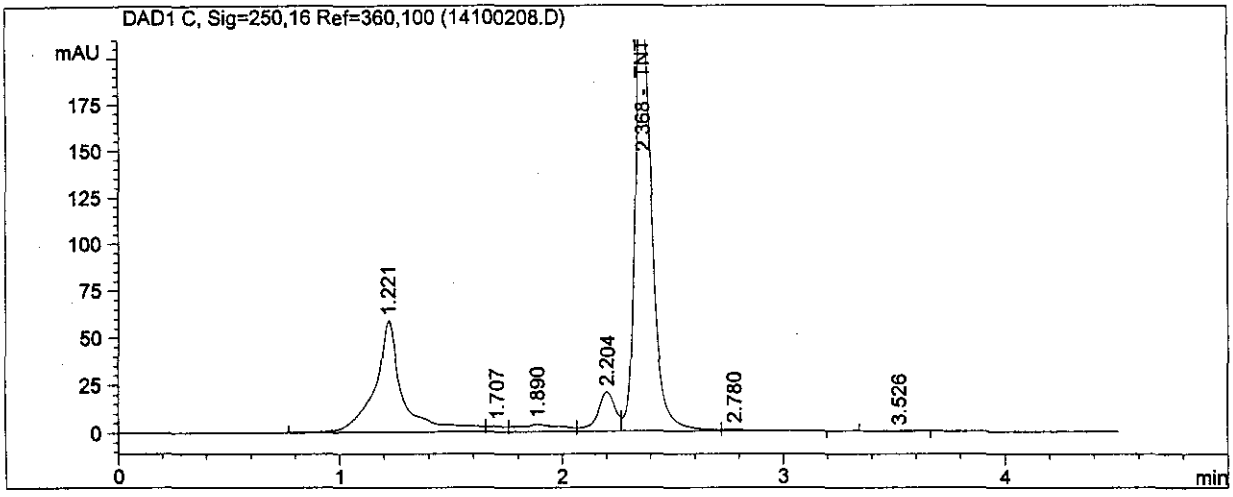
```
Totals :                                    1.99986

 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

File D:\DATA\14100208.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 7 (75% N-T)

==========

Injection Date : 10/14/02 4:36:18 PM
Sample Name : TNT Vial : 1
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

==========

Sorted By : Retention Time
Calib. Data Modified : Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 5.00000 [mg/l] (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF : 0.00000

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.221	1	BV	511.98267	0.00000	0.00000		?
1.707	1	VV	16.81194	0.00000	0.00000		?
1.890	1	VV	53.10764	0.00000	0.00000		?
2.204	1	VV	113.66367	0.00000	0.00000		?
2.368	1	VV	1219.52051	3.57163e-2	43.55677		TNT
2.780	1	VB	5.85520	0.00000	0.00000		?
3.526	1	BV N	3.02894	0.00000	0.00000		?

Totals : 43.55677

Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

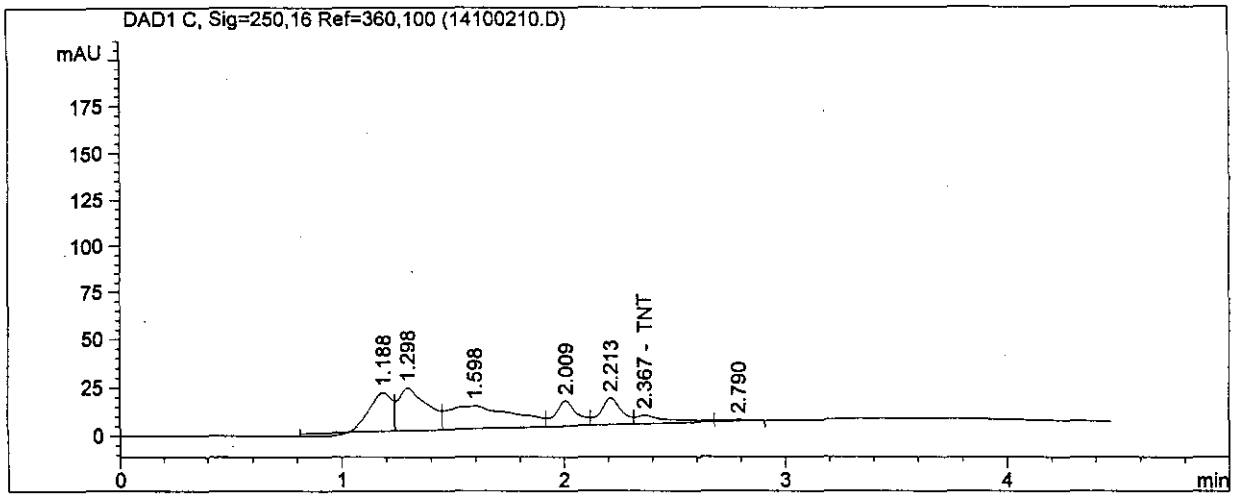
Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

==========

*** End of Report ***

a File D:\DATA\14100210.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 9 (75% N.T Sau Xly) .

```
================================================================================
Injection Date  : 10/14/02 4:48:18 PM
Sample Name     : TNT                                    Vial :   1
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
================================================================================
```



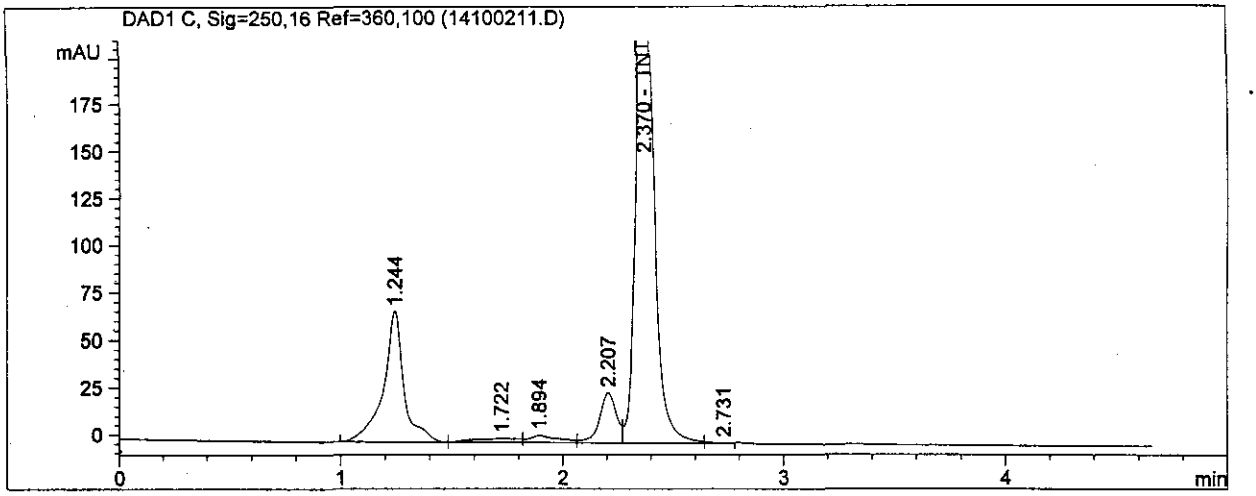

```
================================================================================
                        External Standard Report
================================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.188	1	BV	127.78022	0.00000	0.00000	?	
1.298	1	VV	203.16628	0.00000	0.00000	?	
1.598	1	VV	245.00063	0.00000	0.00000	?	
2.009	1	VV	91.49429	0.00000	0.00000	?	
2.213	1	VV	91.10078	0.00000	0.00000	?	
2.367	1	VV	49.61918	4.60645e-2	2.28568	TNT	
2.790	1	VV	8.80120	0.00000	0.00000	?	
Totals :					2.28568		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

================================================================================
                          *** End of Report ***
```

a File D:\DATA\14100211.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 10 (N.T nguyên chất)

```
==========================================================================
Injection Date  : 10/14/02 4:54:42 PM
Sample Name     : TNT                                        Vial :   1
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
==========================================================================
```



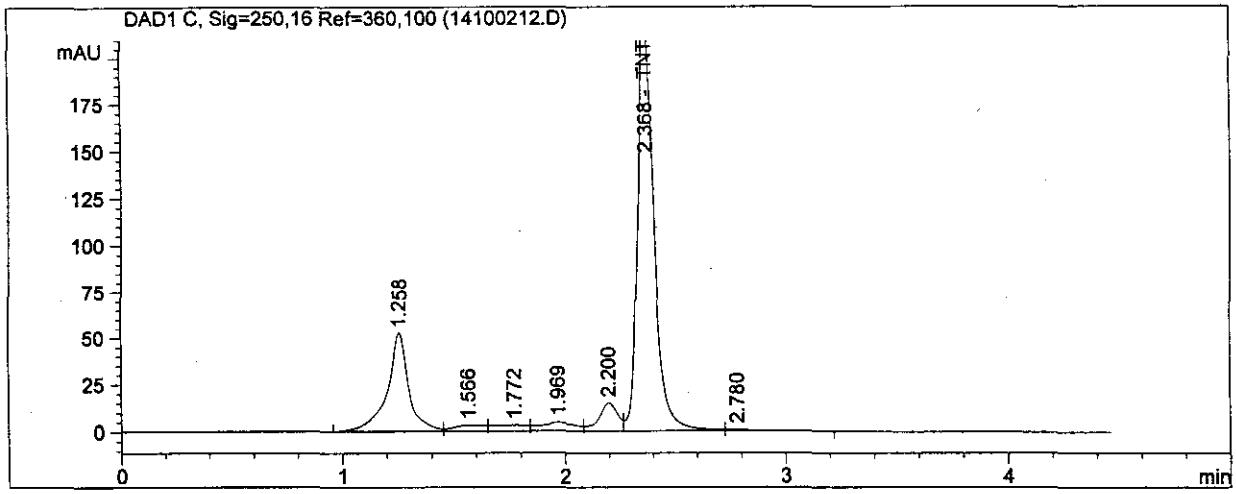

```
==========================================================================
                        External Standard Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.244	1	BV	452.59650	0.00000	0.00000		?
1.722	1	VV	31.10542	0.00000	0.00000		?
1.894	1	VV	36.35931	0.00000	0.00000		?
2.207	1	VV	144.35062	0.00000	0.00000		?
2.370	1	VP	1620.74182	3.56077e-2	57.71082		TNT
2.731	1	PV	5.43906	0.00000	0.00000		?

```
Totals :                                          57.71082

 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

==========================================================================
                        *** End of Report ***
```

a File D:\DATA\14100212.D Sample Name: TNT
Xu li bang VSV ,Nuoc thai Z121 Mau 11(N.T.N.C sau xly)

```
==========================================================================
Injection Date  : 10/14/02 5:00:31 PM
Sample Name     : TNT                                        Vial :   1
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
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, October 03, 2002 4:30:14 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,16 Ref=360,100
Uncalibrated peaks RF :      0.00000
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.258	1	BV	354.70053	0.00000	0.00000		?
1.566	1	VV	31.30747	0.00000	0.00000		?
1.772	1	VV	33.86002	0.00000	0.00000		?
1.969	1	VV	51.07437	0.00000	0.00000		?
2.200	1	VV	89.12275	0.00000	0.00000		?
2.368	1	VV	1140.30798	3.57468e-2	40.76236		TNT
2.780	1	VV	6.02782	0.00000	0.00000		?
Totals :					40.76236		

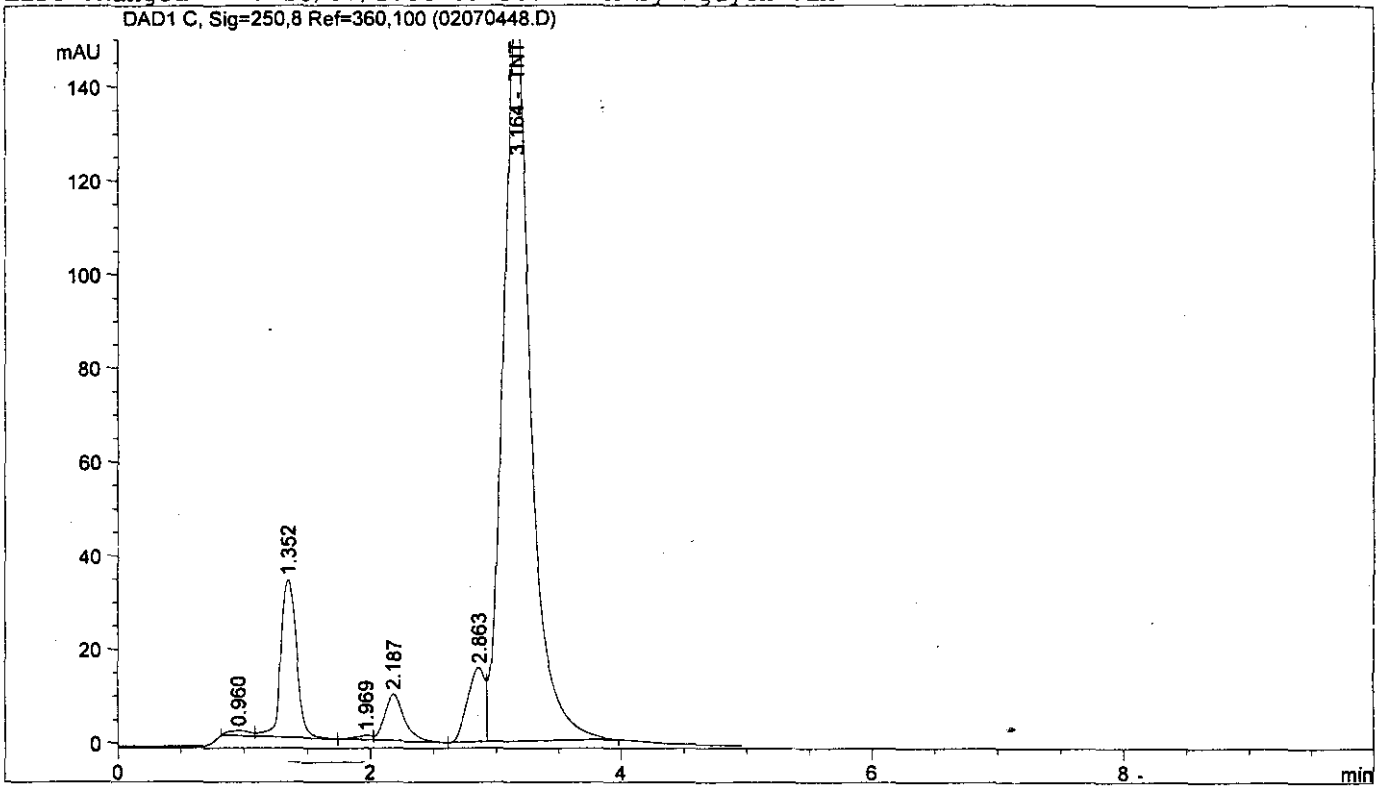
```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibration warnings (see calibration table listing)

==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

:a File D:\DATA\02070448.D Ans hiuong cua # den f/huy TNT ky khi Sample Name: TNT

Xu li TNTbang VSV ki khi mau D/c

==========

Injection Date : 20/07/2004 10:02:29 PM
Sample Name : TNT Location : Vial 1
Acq. Operator : Nguyen Van Dat
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\TNTDAT.M\DUC5.M
Last changed : 16/07/2004 09:36:22 PM by Nguyen Van Dat



==========

External Standard Report

==========

Sorted By : Retention Time
Calib. Data Modified : 16/07/2004 09:19:20 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 5.00000 [mg/l] (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,8 Ref=360,100
Uncalibrated Peaks : using compound TNT

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
0.960	1	BV	14.13258	5.59026e-2	7.90048e-1		?
1.352	1	VV	292.93637	4.65899e-2	13.64787		?
1.969	1	VV	9.65783	5.59026e-2	5.39898e-1		?
2.187	1	VP	108.12660	5.16497e-2	5.58471		?
2.863	1	VV	152.71043	4.93082e-2	7.52988		?
3.164	1	VBA	2379.64404	4.39940e-2	104.68997		TNT

Totals : 132.78238

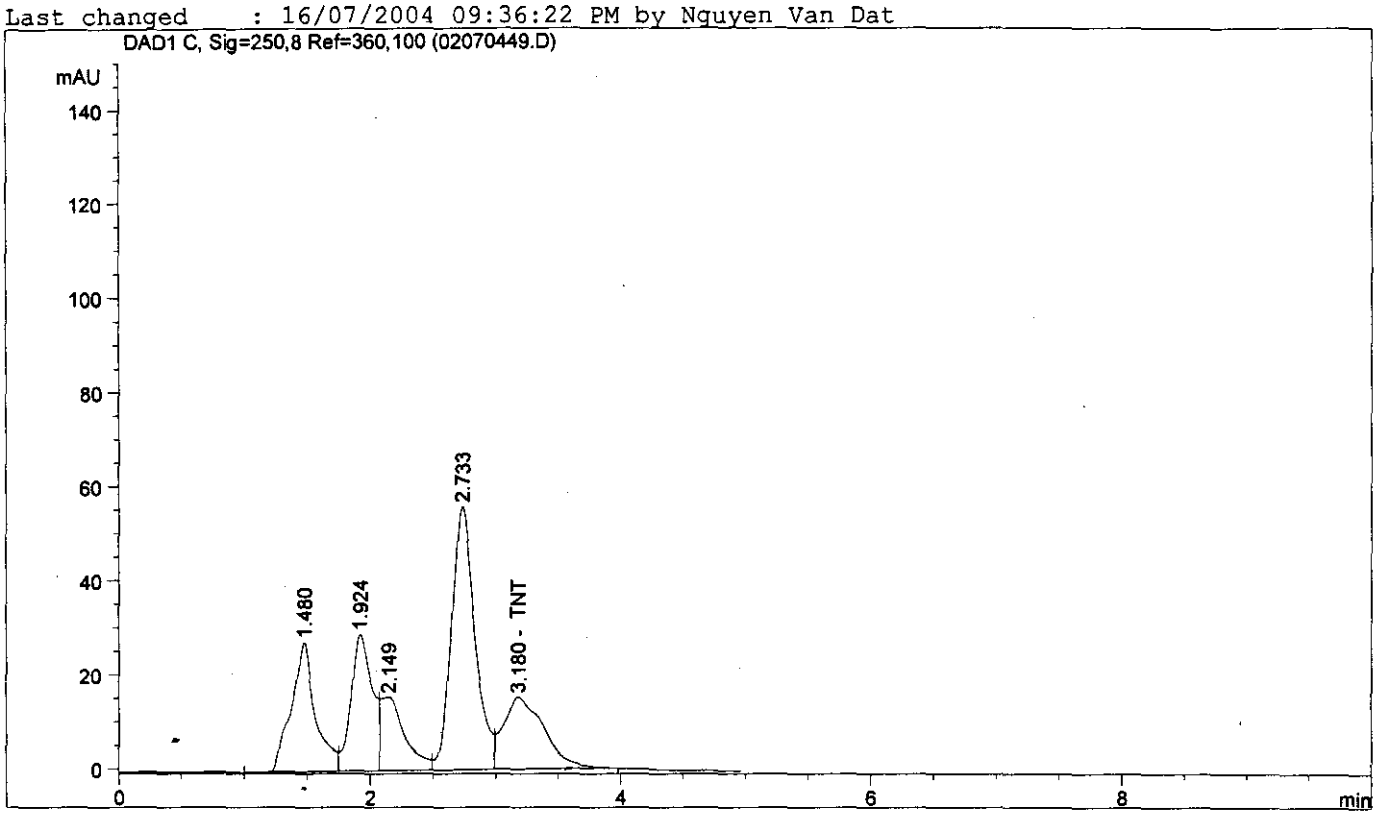
Results obtained with enhanced integrator!

==========

*** End of Report ***

Xu li TNTbang VSV ki khi mau 1ngay

```
==========================================================================
Injection Date  : 20/07/2004 10:08:19 PM
Sample Name     : TNT                              Location : Vial 1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\TNTDAT.M\DUC5.M
Last changed    : 16/07/2004 09:36:22 PM by Nguyen Van Dat
```



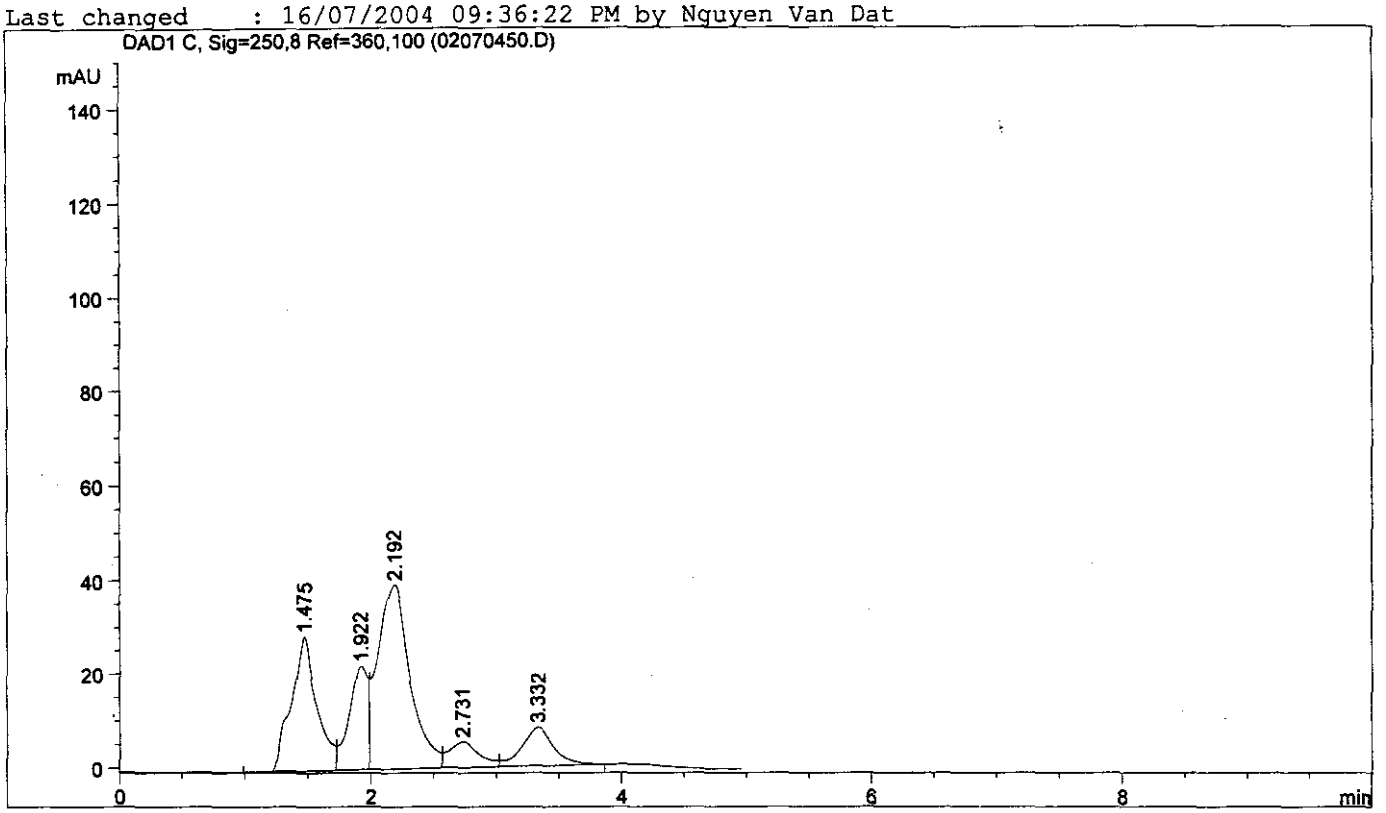

```
==========================================================================
                        External Standard Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      16/07/2004 09:19:20 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,8 Ref=360,100
Uncalibrated Peaks    :      using compound TNT
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.480	1	PV	364.72751	4.60072e-2	16.78009		?
1.924	1	VV	341.73175	4.61672e-2	15.77679		?
2.149	1	VV	207.53821	4.78080e-2	9.92199		?
2.733	1	VV	729.61230	4.48181e-2	32.69984		?
3.180	1	VBA	347.25751	4.61268e-2	16.01788		TNT
Totals :					91.19660		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

Xu li TNTbang VSV ki khi mau 2ngay

```
Injection Date  : 20/07/2004 10:17:44 PM
Sample Name     : TNT                              Location : Vial 1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\TNTDAT.M\DUC5.M
Last changed    : 16/07/2004 09:36:22 PM by Nguyen Van Dat
```



External Standard Report

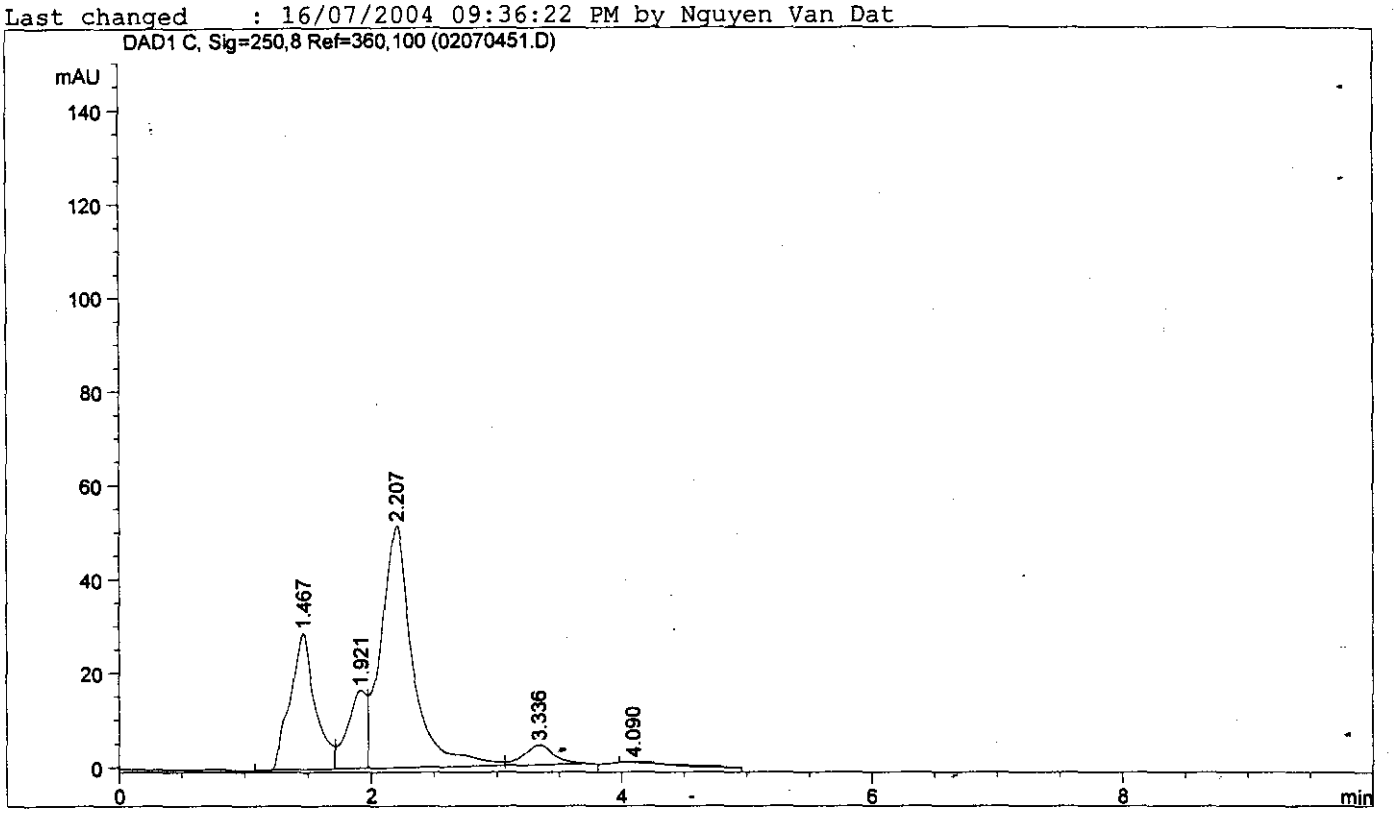
```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      16/07/2004 09:19:20 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,8 Ref=360,100
Uncalibrated Peaks    :      using compound TNT
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.475	1	PV	402.67657	4.57831e-2	18.43579		?
1.922	1	VV	226.42442	4.74595e-2	10.74599		?
2.192	1	VV	704.99536	4.48596e-2	31.62582		?
2.731	1	VV	91.67653	5.30888e-2	4.86700		?
3.151	1		-	-	-		TNT
3.332	1	VP	145.75124	4.95794e-2	7.22625		?
Totals :					72.90085		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found
```

Xu li TNTbang VSV ki khi mau 3ngay

```
Injection Date  : 20/07/2004 10:23:37 PM
Sample Name     : TNT                              Location : Vial 1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\TNTDAT.M\DUC5.M
Last changed    : 16/07/2004 09:36:22 PM by Nguyen Van Dat
```



External Standard Report

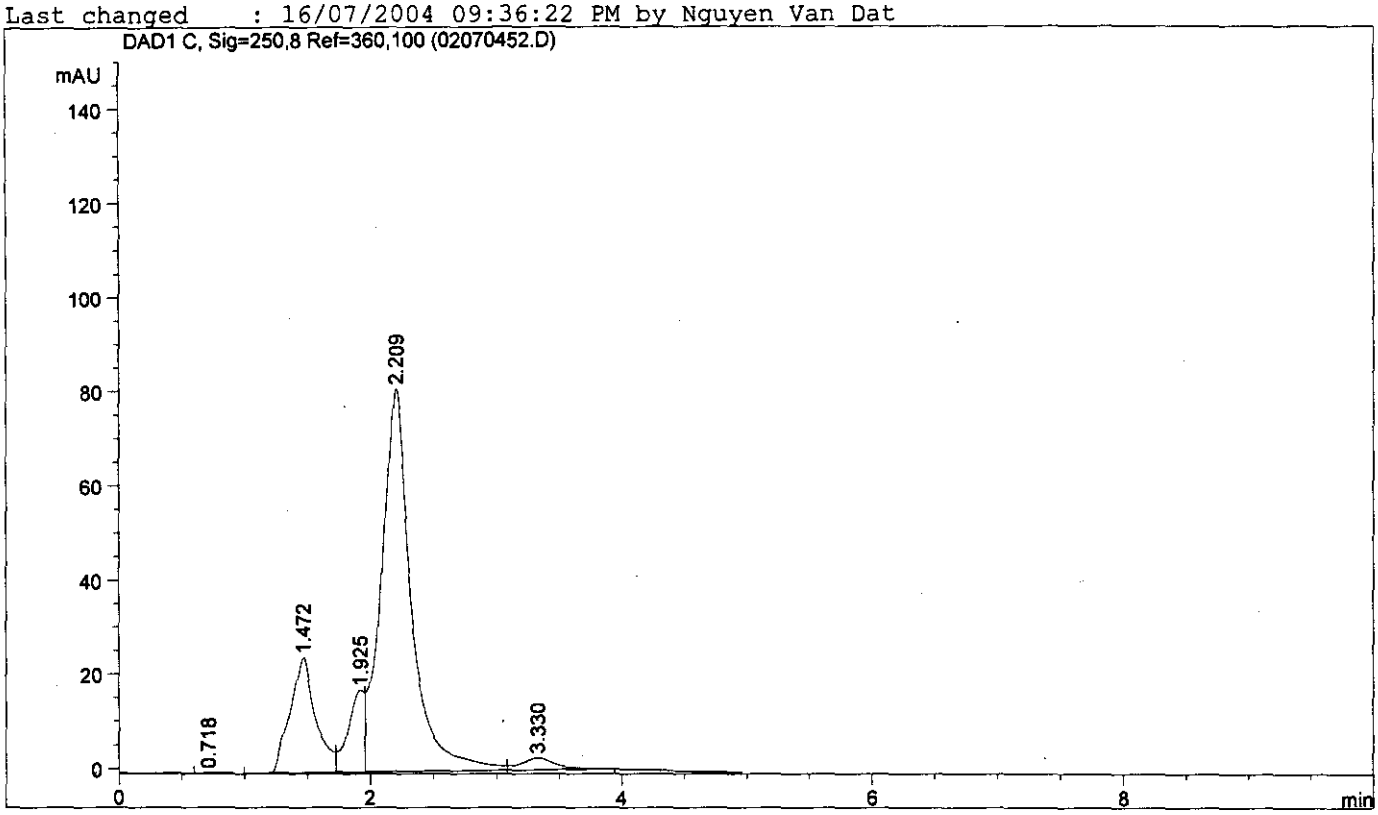
```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      16/07/2004 09:19:20 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,8 Ref=360,100
Uncalibrated Peaks    :      using compound TNT
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.467	1	VV	394.55045	4.58275e-2	18.08125		?
1.921	1	VV	176.38055	4.85462e-2	8.56260		?
2.207	1	VV	901.75311	4.45912e-2	40.21027		?
3.151	1		-	-	-		TNT
3.336	1	VP	72.90367	5.55246e-2	4.04795		?
4.090	1	BBA	7.52640e-1	5.59026e-2	4.20745e-2		?
Totals :					70.94414		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found
```

Xu li TNTbang VSV ki khi mau 4ngay

```
Injection Date   : 20/07/2004 10:35:12 PM
Sample Name      : TNT                              Location : Vial 1
Acq. Operator    : Nguyen Van Dat
Method           : C:\HPCHEM\1\METHODS\TNTDAT.M\DUC5.M
Last changed     : 16/07/2004 09:36:22 PM by Nguyen Van Dat
```



External Standard Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      16/07/2004 09:19:20 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,8 Ref=360,100
Uncalibrated Peaks    :      using compound TNT
```

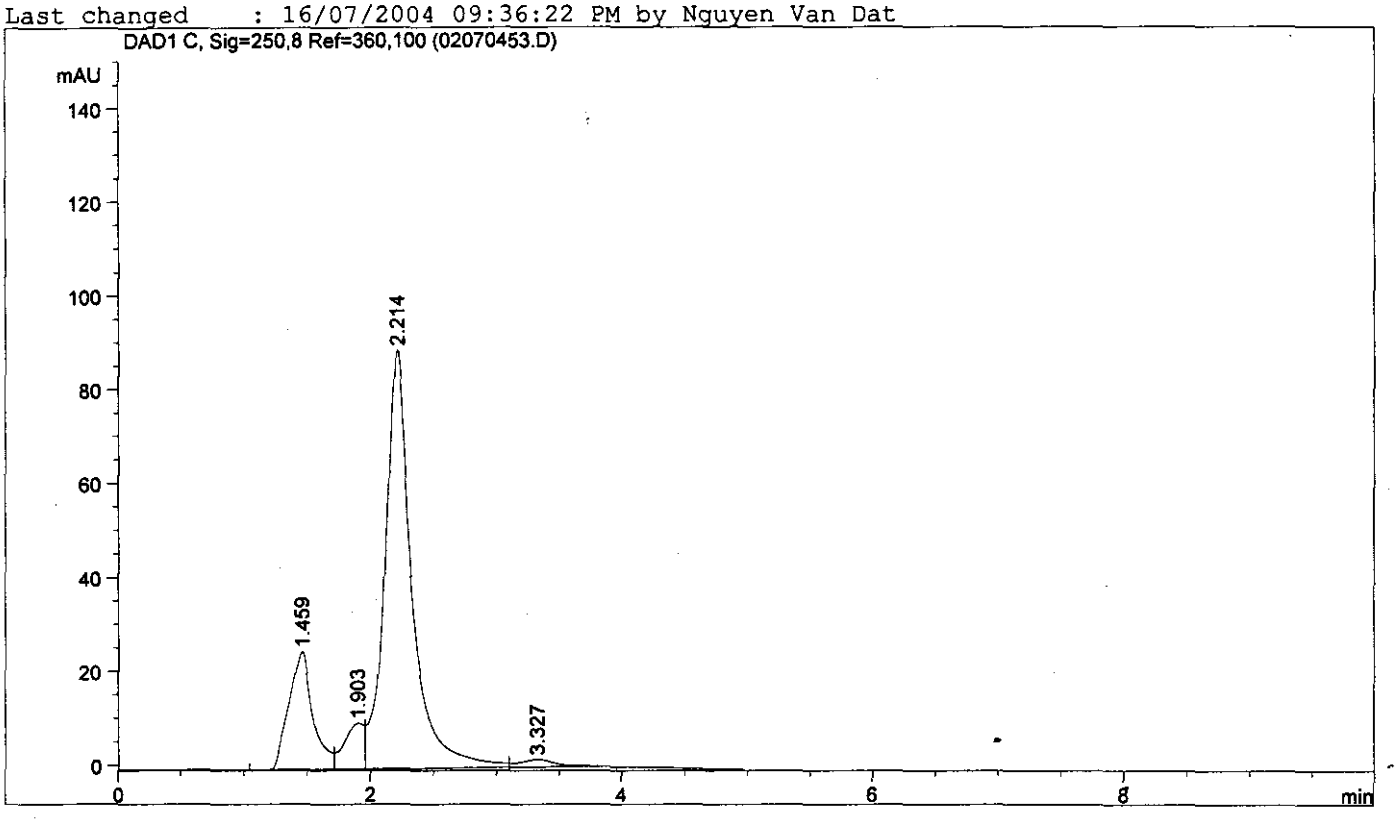
RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
0.718	1	VBA	6.43161e-1	5.59026e-2	3.59544e-2		?
1.472	1	PV	343.07526	4.61573e-2	15.83541		?
1.925	1	VV	155.69507	4.91994e-2	7.66010		?
2.209	1	VV	1345.22693	4.42742e-2	59.55883		?
3.151	1		-	-	-		TNT
3.330	1	VV	50.53662	5.59026e-2	2.82513		?

Totals : 85.91542

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found
```

Xu li TNTbang VSV ki khi mau 5ngay

```
Injection Date  : 20/07/2004 10:42:11 PM
Sample Name     : TNT                              Location : Vial 1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Method          : C:\HPCHEM\1\METHODS\TNTDAT.M\DUC5.M
Last changed    : 16/07/2004 09:36:22 PM by Nguyen Van Dat
```



External Standard Report

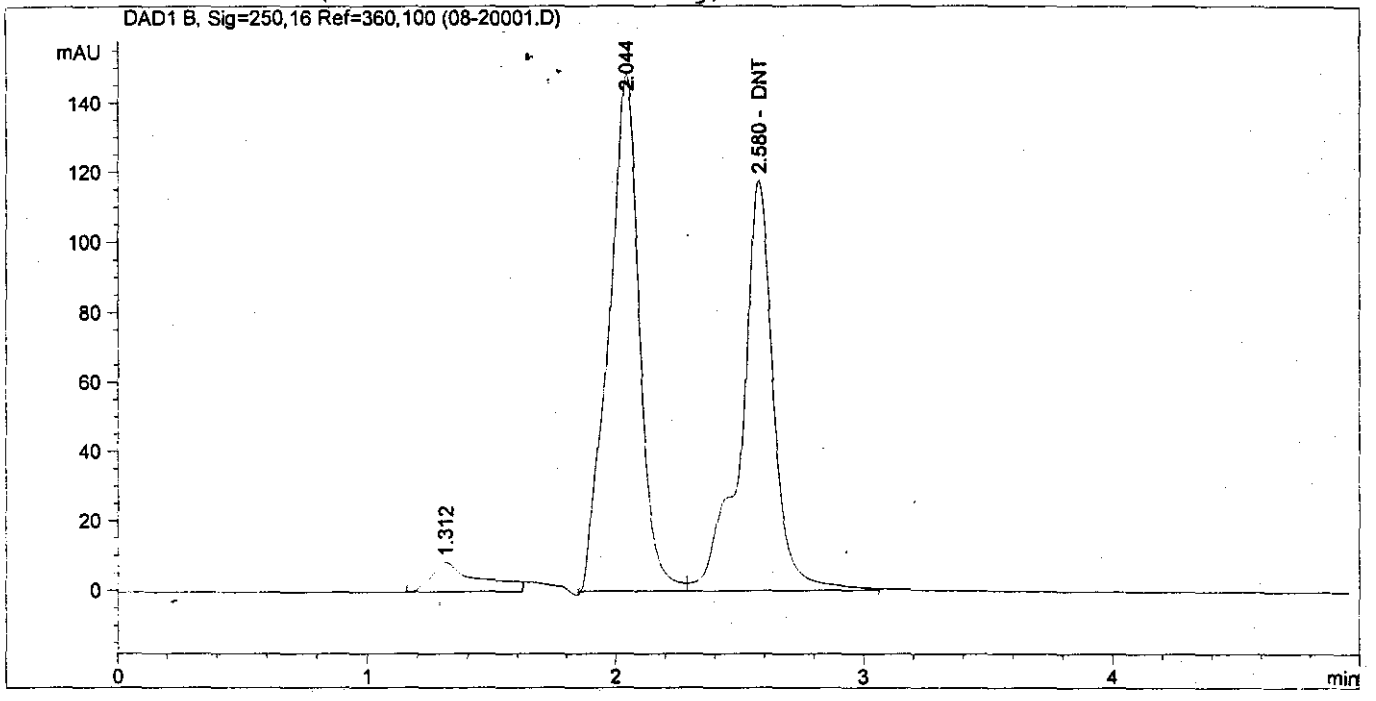
```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      16/07/2004 09:19:20 PM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [mg/l]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=250,8 Ref=360,100
Uncalibrated Peaks    :      using compound TNT
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
1.459	1	PV	331.67041	4.62442e-2	15.33782	?	
1.903	1	VV	104.88921	5.18973e-2	5.44346	?	
2.214	1	VV	1329.85291	4.42816e-2	58.88806	?	
3.151	1		-	-	-		TNT
3.327	1	VV	36.40105	5.59026e-2	2.03491	?	
Totals :					81.70426		

```
 Results obtained with enhanced integrator!
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found
```

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=0 gio

```
==========================================================================
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)
```

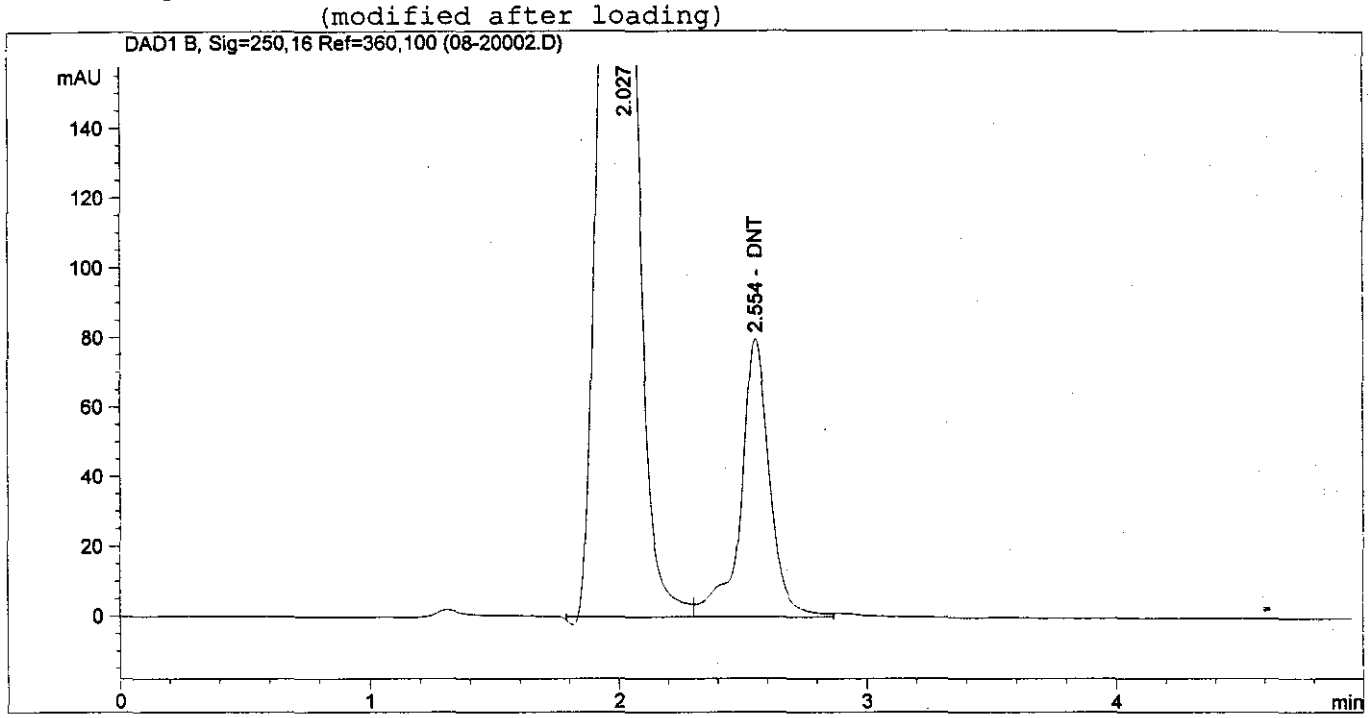



```
==========================================================================
                        External Standard Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, July 26, 2001 8:36:12 AM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 B, Sig=250,16 Ref=360,100

RetTime Sig Type     Area      Amt/Area    Amount   Grp   Name
 [min]             [mAU*s]                [ng/ul]
-------|--|------|----------|----------|----------|--|---------------
  2.580  1 VB     1059.25098 2.61810e-2   27.73229     DNT

Totals :                                  27.73229

 Results obtained with enhanced integrator!
==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

DNT: 30 ng/l

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=24 gio

```
Injection Date  : 8/20/01 3:09:56 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)
```



External Standard Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, July 26, 2001 8:36:12 AM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 B, Sig=250,16 Ref=360,100
```

RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [ng/ul]	Grp	Name
2.554	1	VBA	643.50452	2.64020e-2	16.98980		DNT

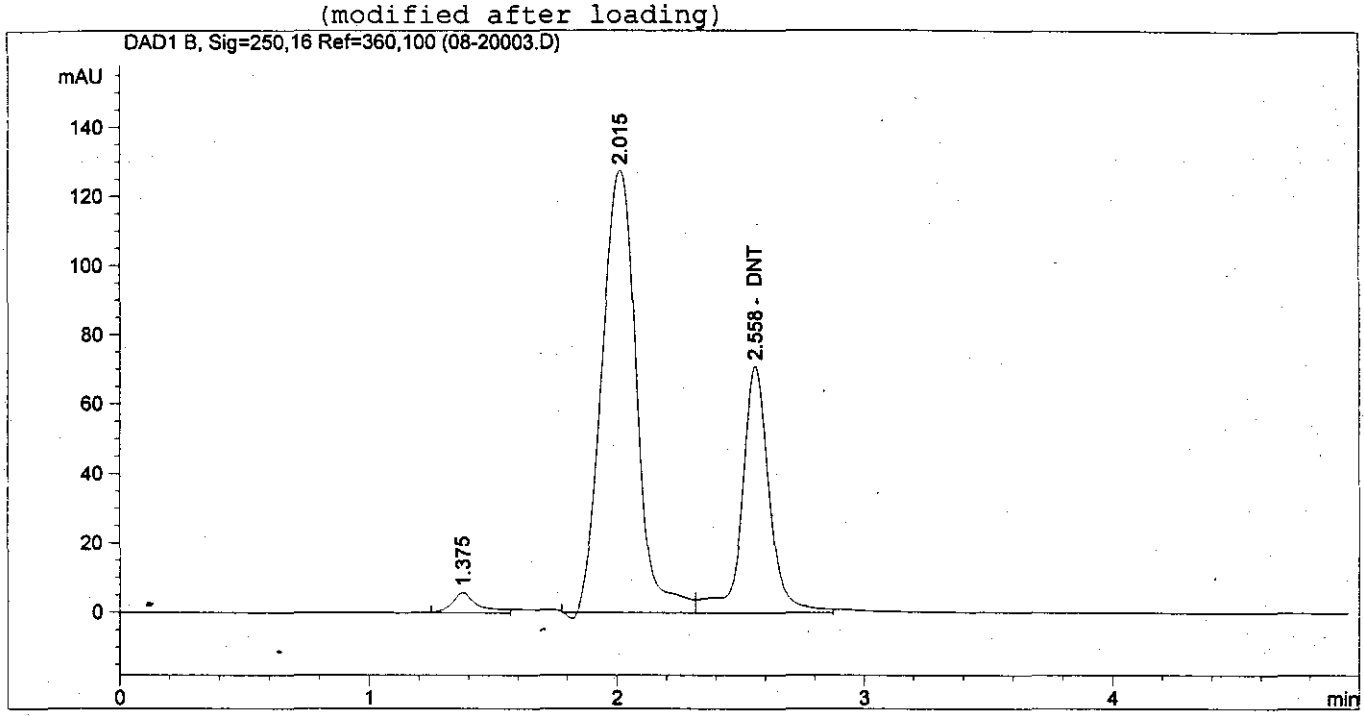
Totals : 16.98980

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=48 gio

```
Injection Date  : 8/20/01 3:16:36 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)
```



External Standard Report

Sorted By	:	Retention Time
Calib. Data Modified	:	Thursday, July 26, 2001 8:36:12 AM
Multiplier	:	1.0000
Dilution	:	1.0000
Sample Amount	:	5.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 B, Sig=250,16 Ref=360,100

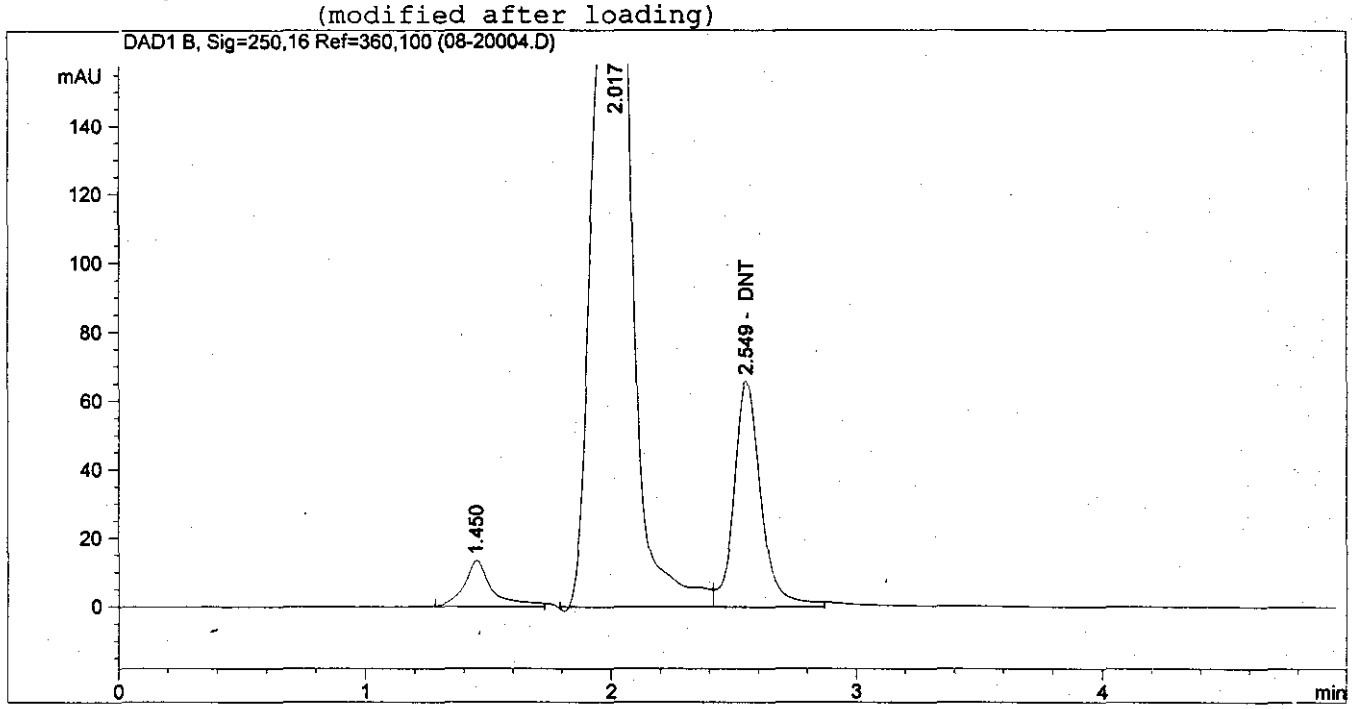
RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [ng/ul]	Grp	Name
2.558	1	VBA	547.53400	2.65007e-2	14.51002		DNT
Totals :					14.51002		

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=72 gio

```
Injection Date  : 8/20/01 3:22:59 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)
```



External Standard Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, July 26, 2001 8:36:12 AM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 B, Sig=250,16 Ref=360,100
```

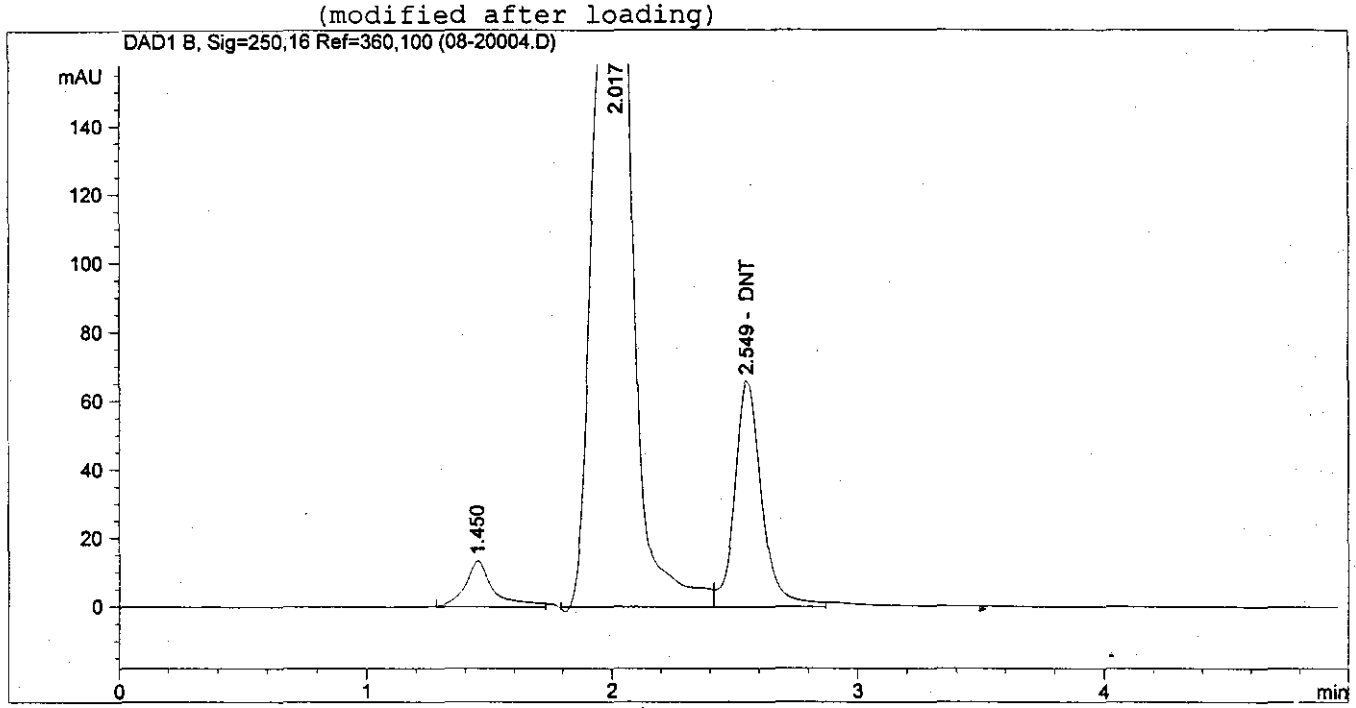
RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [ng/ul]	Grp	Name
2.549	1	VBA	503.05389	2.65592e-2	13.36070		DNT
Totals :					13.36070		

```
Results obtained with enhanced integrator!
```

*** End of Report ***

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=72 gio

```
Injection Date  : 8/20/01 3:22:59 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)
```



External Standard Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, July 26, 2001 8:36:12 AM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 B, Sig=250,16 Ref=360,100
```

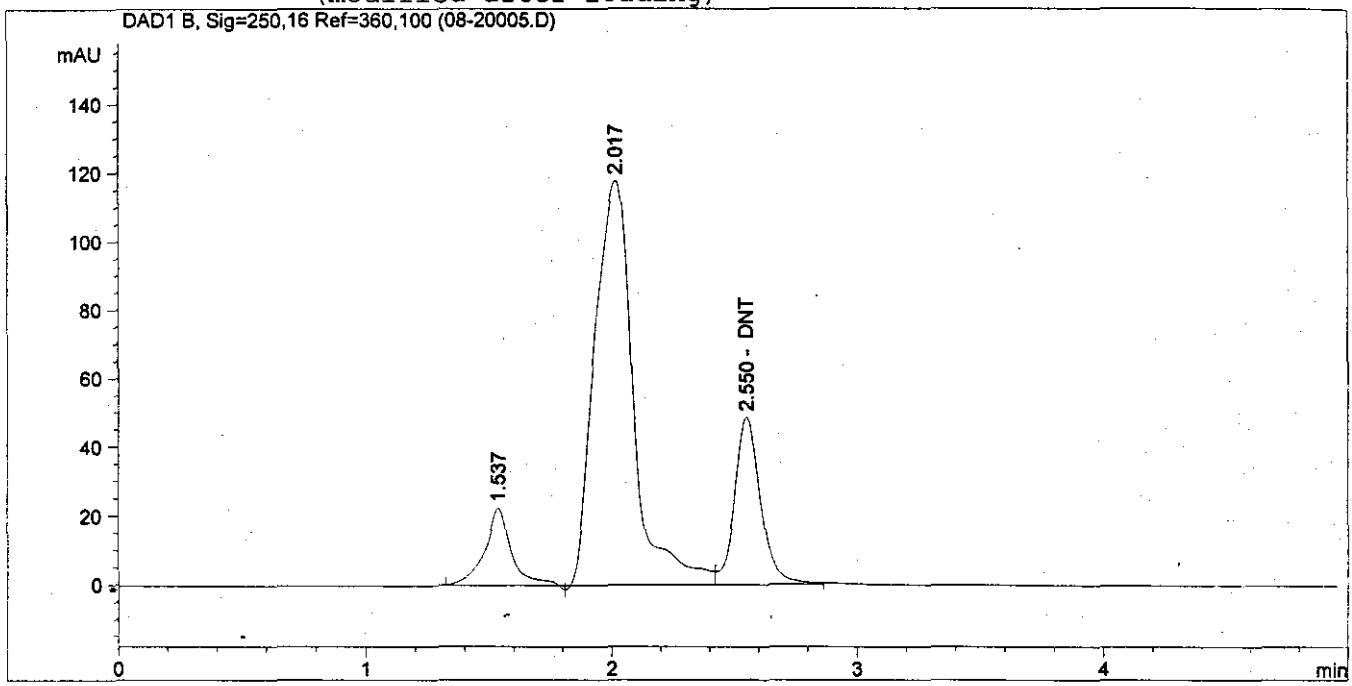
RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Amt/Area	Amount [ng/ul]	Grp	Name
2.549	1	VBA	503.05389	2.65592e-2	13.36070		DNT
Totals :					13.36070		

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Mau DNT xu ly sinh hoc
t=122 gio

```
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)
```



External Standard Report

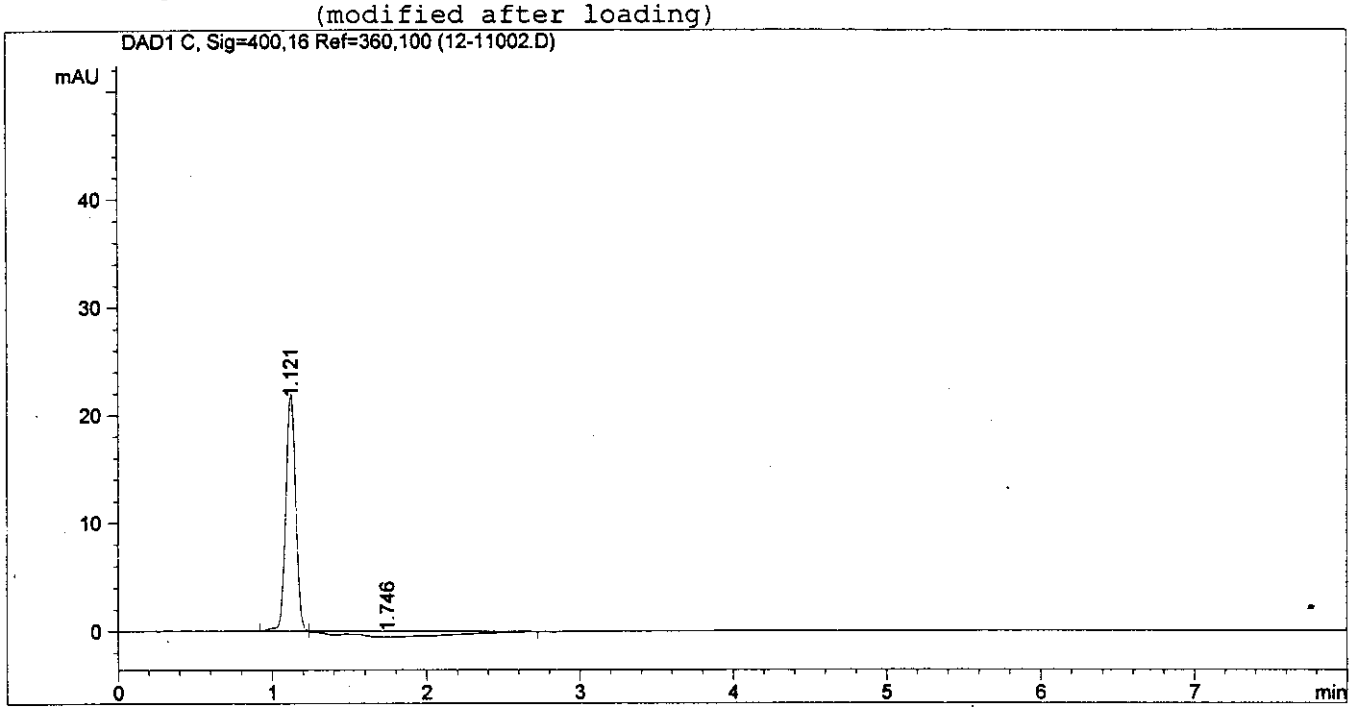
```
Sorted By             :      Retention Time
Calib. Data Modified  :      Thursday, July 26, 2001 8:36:12 AM
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 B, Sig=250,16 Ref=360,100

RetTime Sig Type     Area      Amt/Area    Amount   Grp   Name
 [min]             [mAU*s]                [ng/ul]
-------|--|------|----------|----------|----------|--|---------------
  2.550  1 VB      359.01715 2.68481e-2    9.63893     DNT

Totals :                                   9.63893

 Results obtained with enhanced integrator!
```

*** End of Report ***

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
Axit styphnic +Moi truong lan 2 N_{a} 15 mg/l.

==========

Injection Date : 12/11/01 2:30:09 PM
Sample Name : Axit styphnic Vial : 1
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)



==========

Area Percent Report

==========

Sorted By : Retention Time
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Sample Amount : 5.00000 [ng/ul] (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100

Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.121	1	BP	98.09433	21.12486	80.0058
2	1.746	1	PB N	24.51463	5.23885e-1	19.9942
Totals :				122.60896	21.64874	

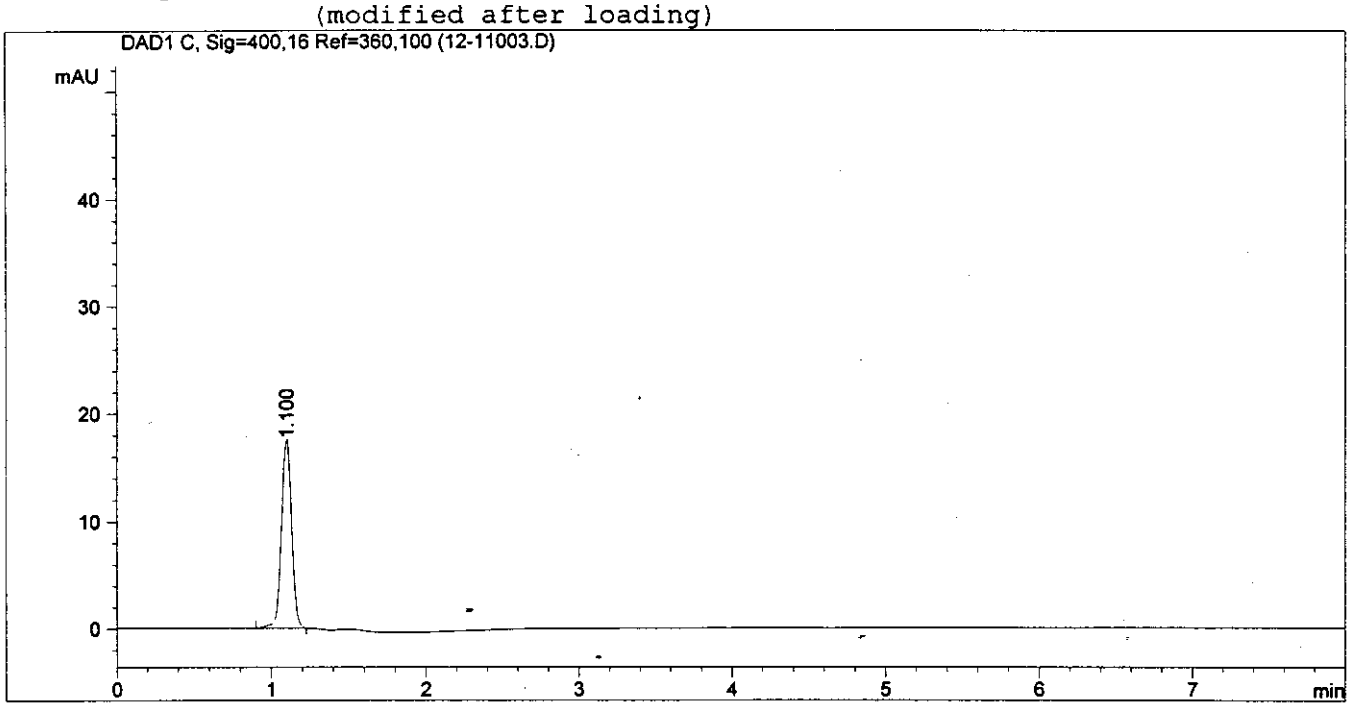
Results obtained with enhanced integrator!

==========

*** End of Report ***

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
mot ngay

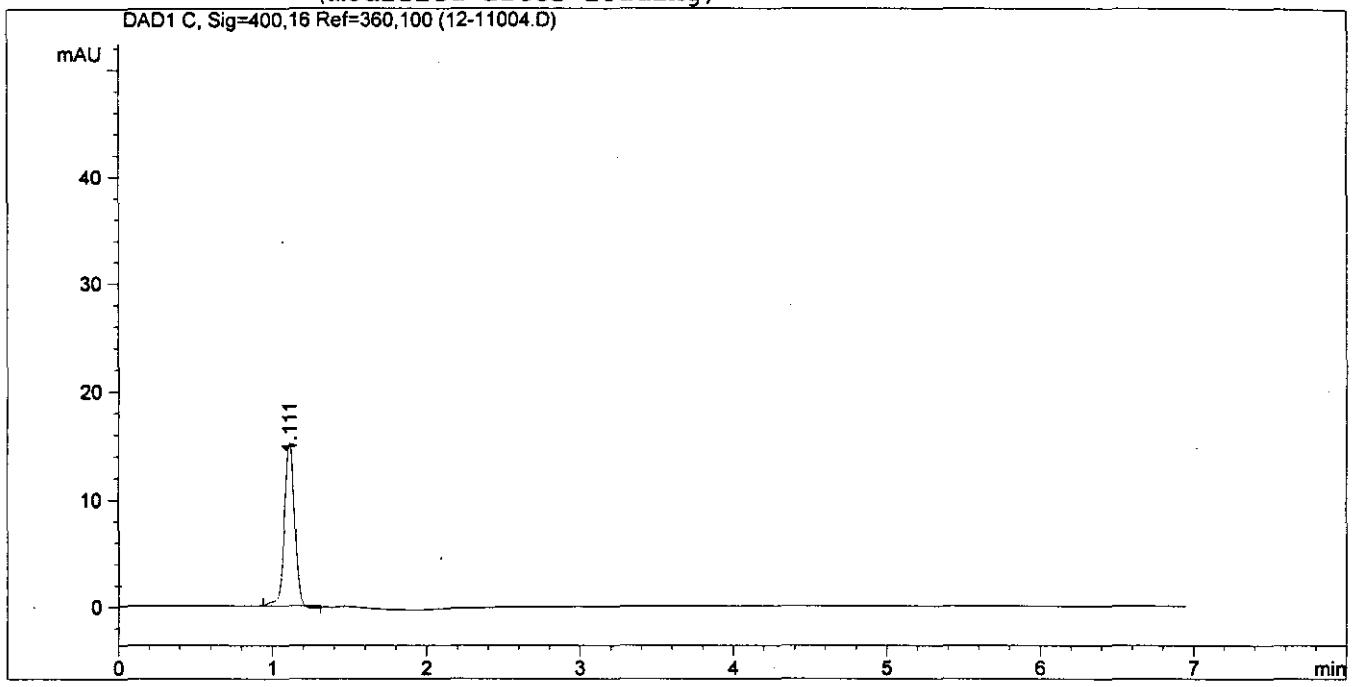
```
Injection Date  : 12/11/01 2:41:40 PM
Sample Name     : Axit styphnic                        Vial :   1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC 1.M
Last changed    : 11/30/01 3:48:54 PM by Nguyen Van Dat
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\RUACOT.M
Last changed    : 3/4/02 4:43:28 PM by Nguyen Van Dat
                  (modified after loading)
```




```
                          Area Percent Report

Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100

Peak RetTime Sig Type    Area      Height     Area
  #   [min]            [mAU*s]     [mAU]       %
----|-------|---|----|----------|----------|--------|
   1   1.100  1  BP     81.18011   17.12032 100.0000

Totals :                81.18011   17.12032

 Results obtained with enhanced integrator!

                          *** End of Report ***
```

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
2 ngay

```
Injection Date  : 12/11/01 2:53:13 PM
Sample Name     : Axit styphnic                          Vial :   1
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)
```



Area Percent Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100
```

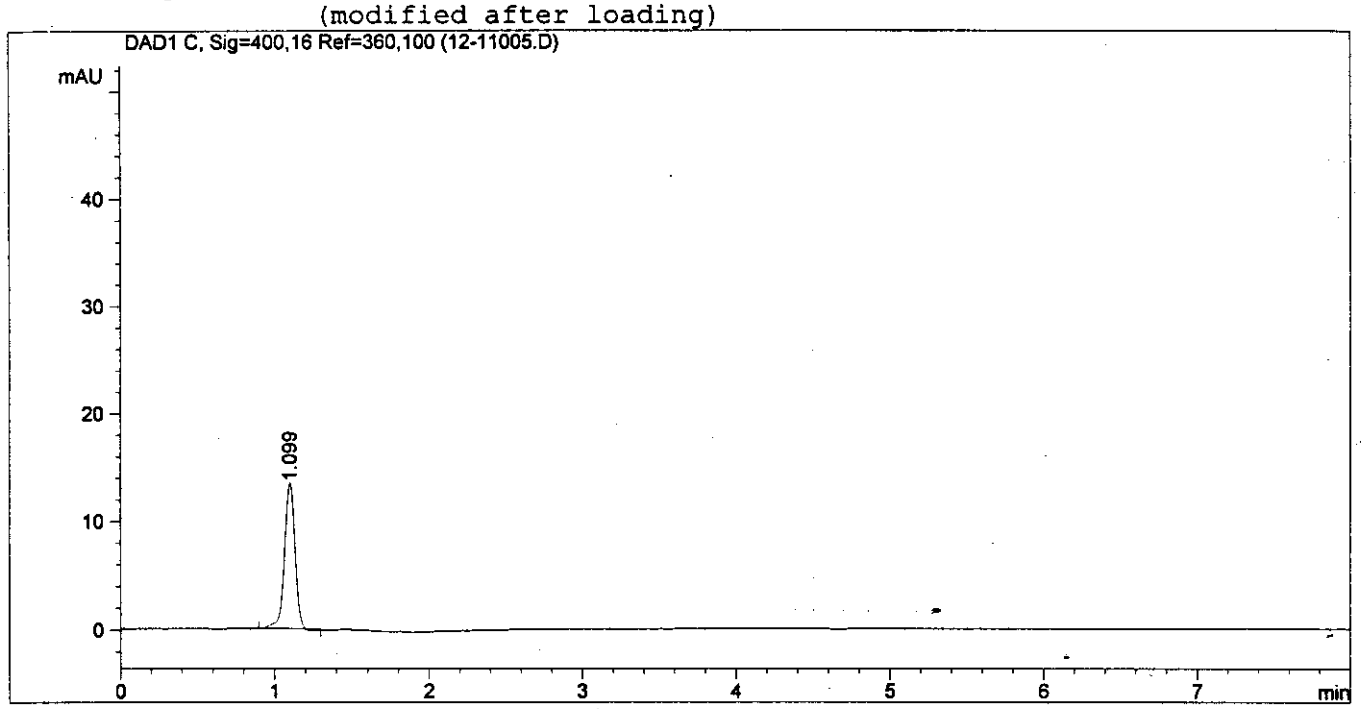
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.111	1	BP	68.64953	13.73295	100.0000
Totals :				68.64953	13.73295	

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
3 ngay

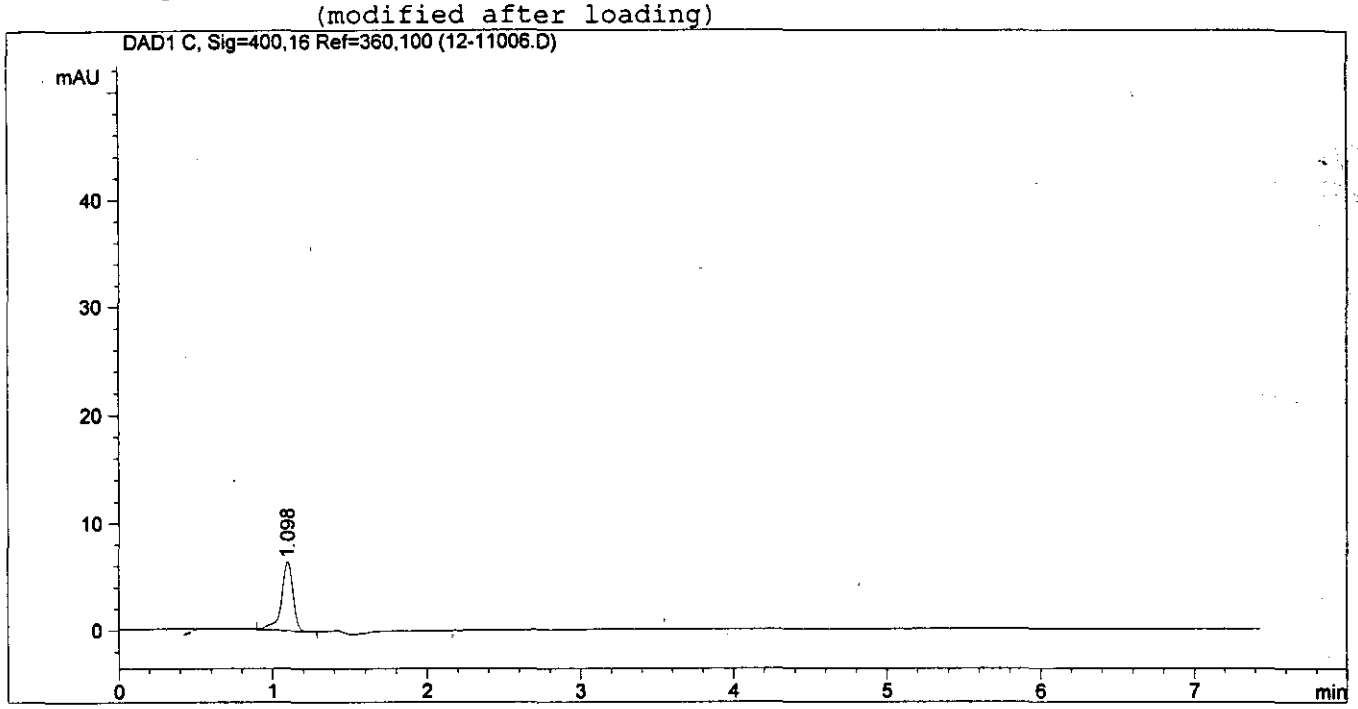
```
==========================================================================
Injection Date  : 12/11/01 3:01:22 PM
Sample Name     : Axit styphnic                          Vial :   1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC 1.M
Last changed    : 11/30/01 3:48:54 PM 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)
```




```
==========================================================================
                          Area Percent Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100

Peak RetTime Sig Type    Area      Height     Area
  #   [min]            [mAU*s]     [mAU]       %
----|-------|---|----|----------|----------|--------|
   1   1.099  1  BP     62.42429   13.07466 100.0000

Totals :                62.42429   13.07466

 Results obtained with enhanced integrator!
==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
4 ngay

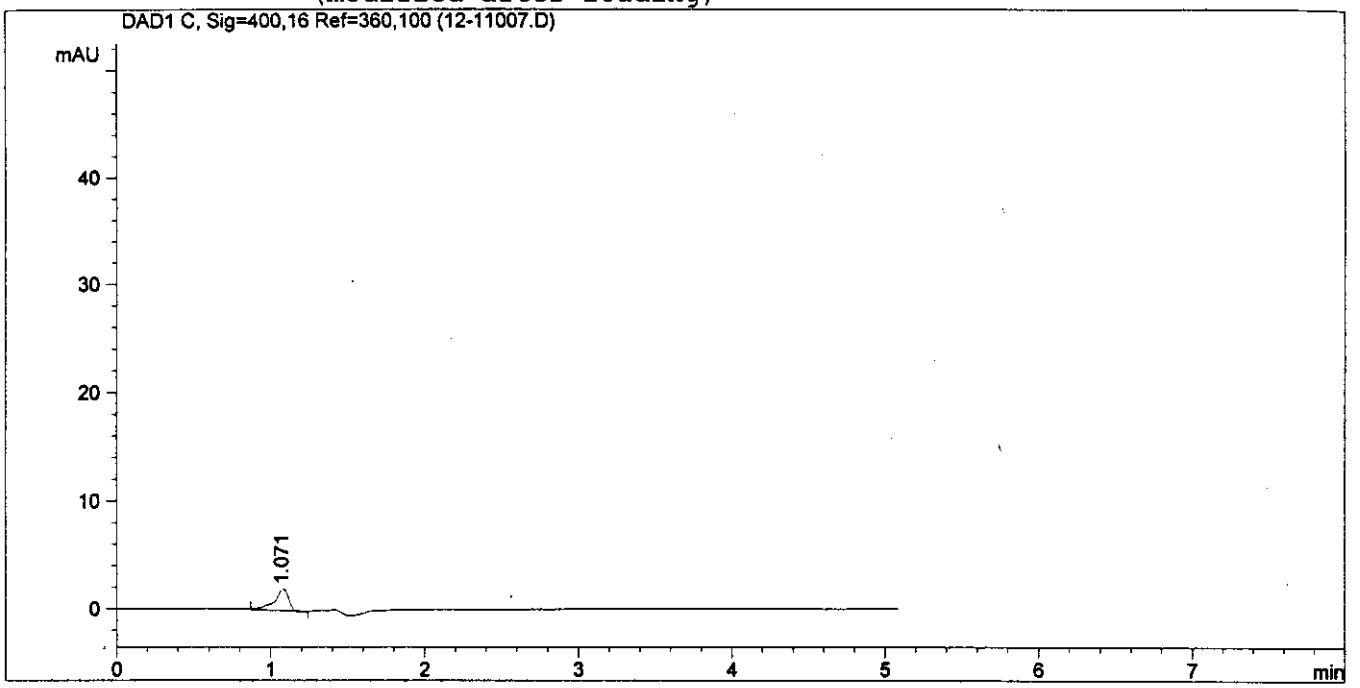
```
==========================================================================
Injection Date  : 12/11/01 3:37:06 PM
Sample Name     : Axit styphnic                          Vial :   1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC 1.M
Last changed    : 11/30/01 3:48:54 PM 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)
```




```
==========================================================================
                          Area Percent Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100

Peak RetTime Sig Type    Area      Height     Area
  #   [min]            [mAU*s]     [mAU]       %
----|-------|---|----|----------|----------|--------|
   1   1.098  1  BPA    33.93810    6.25599 100.0000

Totals :                33.93810    6.25599

 Results obtained with enhanced integrator!
==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
5 ngay

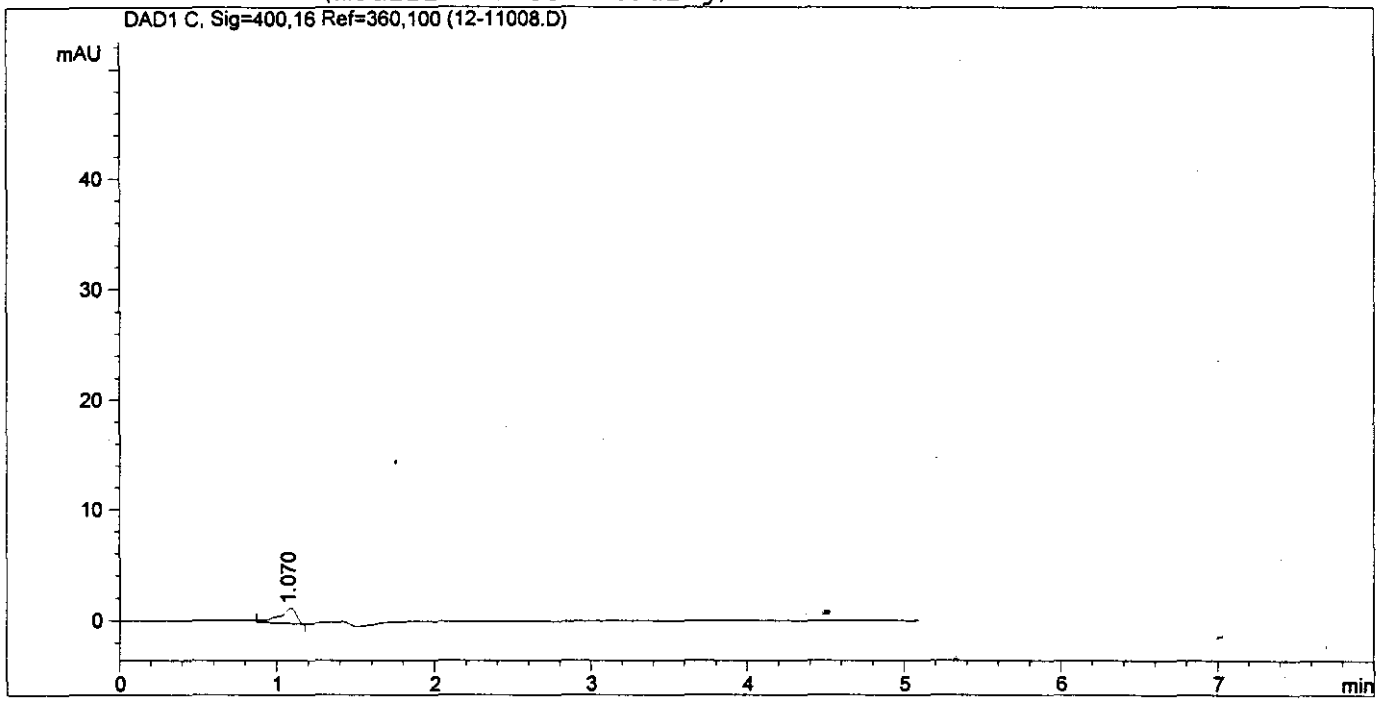
```
==========================================================================
Injection Date  : 12/11/01 3:46:28 PM
Sample Name     : Axit styphnic                        Vial :   1
Acq. Operator   : Nguyen Van Dat
Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\DUC 1.M
Last changed    : 11/30/01 3:48:54 PM by 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)
```




```
==========================================================================
                          Area Percent Report
==========================================================================

Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]    (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100

Peak RetTime Sig Type    Area      Height     Area
  #   [min]            [mAU*s]     [mAU]       %
----|-------|---|----|----------|----------|--------|
   1   1.071  1  BPA    13.32393    1.92869 100.0000

Totals :                13.32393    1.92869

 Results obtained with enhanced integrator!
==========================================================================
                          *** End of Report ***
```

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
6 ngay lan2

```
Injection Date  : 12/11/01 4:23:48 PM
Sample Name     : Axit styphnic                    Vial :   1
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)
```



Area Percent Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]    (not used in calc.)
```

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100

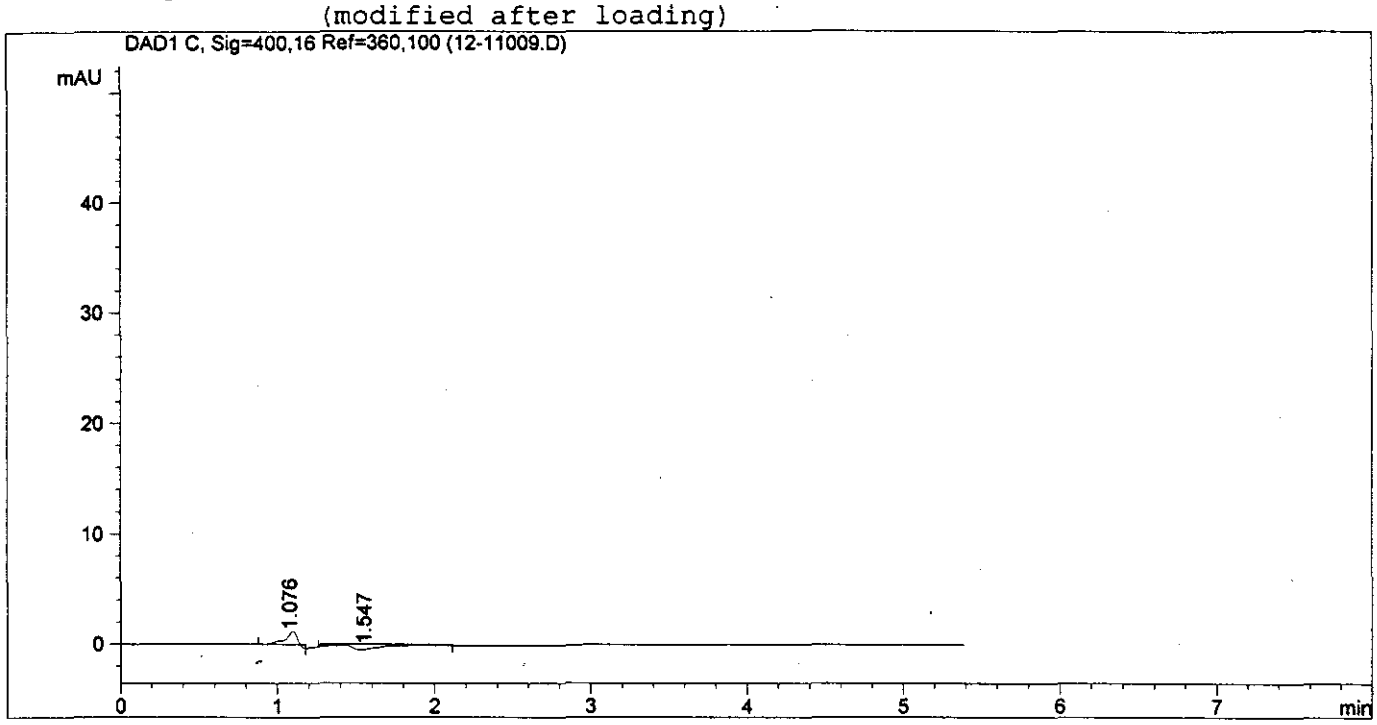
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.070	1	BPA	10.32570	1.24605	100.0000
Totals :				10.32570	1.24605	

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Xu li Axit styphnic bang sinh hoc
7 ngay

```
Injection Date  : 12/11/01 4:29:31 PM
Sample Name     : Axit styphnic                    Vial :   1
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)
```



Area Percent Report

```
Sorted By             :      Retention Time
Multiplier            :      1.0000
Dilution              :      1.0000
Sample Amount         :      5.00000  [ng/ul]   (not used in calc.)

Signal 1: DAD1 C, Sig=400,16 Ref=360,100
```

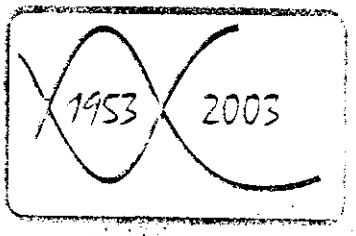
Peak #	RetTime [min]	Sig	Type	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	1.076	1	BV	5.62784	8.28370e-1	36.5807
2	1.547	1	PB N	9.75687	5.05340e-1	63.4193
Totals :				15.38471	1.33371	

```
 Results obtained with enhanced integrator!
```

*** End of Report ***

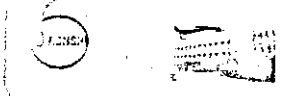
PHẦN PHỤ LỤC 2

CÁC KẾT QUẢ ĐÃ CÔNG BỐ



BIOLOGIC

PROCEEDINGS



1.0.2

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG VI SINH VẬT ĐỂ XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA CÁC CHẤT ĐỘC HẠI LÀ THÀNH PHẦN THUỐC PHÓNG, THUỐC NỔ.

Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê và cộng sự
Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ môi trường, Trung tâm KHKT&CNQS

ĐẶT VẤN ĐỀ

Các chất Trinitrotoluen (TNT), Dinitrotoluen (DNT), Axit Stypnic (AS), Nitroglycerin (NG)... có trong nước thải từ các quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ đang là vấn đề cần quan tâm, vì tính độc hại với sinh vật và tính bền vững của chúng trong môi trường [4, 6, 9]. Để loại bỏ các chất hữu cơ trong nước thải, phương pháp cổ điển là cho hấp phụ bằng than hoạt tính và phương pháp này đã được sử dụng để xử lý nước thải của các nhà máy sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ [1]. Mặc dù có khả năng loại bỏ các chất độc hại ra khỏi nước nhưng sự hấp phụ không phải là một biện pháp phân huỷ mà chỉ là tách các chất này để xử lý tiếp. Các biện pháp hoá học cũng đã được sử dụng bao gồm: thuỷ phân kiềm hoá, khử bằng NaS_2, hợp chất clo ... [3]. Mặc dù có hiệu quả phân huỷ nhưng lại có sự dư thừa các hoá chất sử dụng nên vẫn cần có công đoạn xử lý tiếp trước khi thải ra môi trường.

Một hướng nghiên cứu mới đã và đang được các nhà khoa học trong và ngoài nước quan tâm là nghiên cứu sử dụng vi sinh vật để phân huỷ các chất polynitro trong đó có các chất polynitro vòng thơm như TNT, DNT, AS ...

Trong báo cáo này trình bày kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh tới khả năng phân huỷ TNT, DNT, AS của vi sinh vật, trên cơ sở đó đưa ra quy trình xử lý nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liêu

Vi sinh vật: 03 trong số nhiều chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNT, DNT, AS đã được chúng tôi phân lập từ đất, nước nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ [2] và đã được định tên là:

1. *Stenotrophomonas maltophilia* (1m)
2. *Pseudomonas aeruginosa* (D13)
3. *Curvularia prasadii* R. L. & B. L. Mathus (M1)

Hoá chất: các hoá chất để thí nghiệm có độ tinh khiết phân tích (PA)

Phương pháp

Các phương pháp cơ bản nghiên cứu vi sinh vật đã được sử dụng [1]:

Ảnh hưởng của pH ban đầu: Nuôi cấy vi sinh vật trong môi trường có thành phần khoáng, lignin và TNT, DNT, A.S nồng độ 20 - 30 mg/l. 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 trên máy lắc tròn tốc độ 200 vòng/phút, ở nhiệt độ 30 - 32^{0}C. Khả năng phân huỷ TNT, DNT, A.S của vi sinh vật được đánh giá dựa trên sự thay đổi nồng độ các chất này trong môi trường nuôi cấy.

Ảnh hưởng của chất dinh dưỡng: Nuôi cấy vi sinh vật trong môi trường có khoáng, lignin và TNT, DNT, A.S nồng độ 20 - 30 mg/l, được bổ sung thêm các chất dinh dưỡng khác nhau với nồng độ khác nhau. Nuôi cấy 7 ngày trên máy lắc tròn tốc độ 200 vòng/phút ở nhiệt độ 30 - 32^{0}C, khả năng phân huỷ TNT, DNT, A.S của vi sinh vật 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, A.S): Nuôi cấy vi sinh vật 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. Nuôi

HỘI KHOA HỌC KỸ THUẬT PHÂN TÍCH HÓA, LÝ VÀ SINH HỌC VIỆT NAM
VIETNAM ANALYTICAL SCIENCES SOCIETY

ISSN - 0868 - 3224

Tạp chí PHÂN TÍCH HÓA, LÝ VÀ SINH HỌC

Journal of Analytical Sciences

T - 8

1

2003

HA NOI

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG ĐẾN SỰ CHUYỂN HOÁ VÀ PHÂN HUỶ 2,4,6 - TRINITROTOLUEN CỦA VI SINH VẬT BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Đến tòa soạn 13 - 11 - 2003

Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt, Đỗ Bình Minh, Nguyễn Thị Tâm Thư
Phân viện Công nghệ mới & Bảo vệ môi trường

SUMMARY

STUDY ON INFLUENCE OF SOME FACTORS TO 2,4,6 - TRINITROTOLUENE (TNT) TRANSFORMATION AND DEGRADATION OF MICROORGANISM BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC(HPLC) METHOD.

In this paper we present the research results of study on influences of initial pH, nutrient medium, concentration TNT in culture medium, time of cultiration on TNT transformation and degradation of microorganism by High Performance Liquid Chromatographic method.

1. MỞ ĐẦU

2,4,6 - Trinitrotoluen (TNT) là một trong những thành phần chính của nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ, đã từng được coi là chất bền vững với sự phân huỷ của vi sinh vật bởi độc tính của nó đối với các cơ thể sinh vật nói chung và vi sinh vật nói riêng.

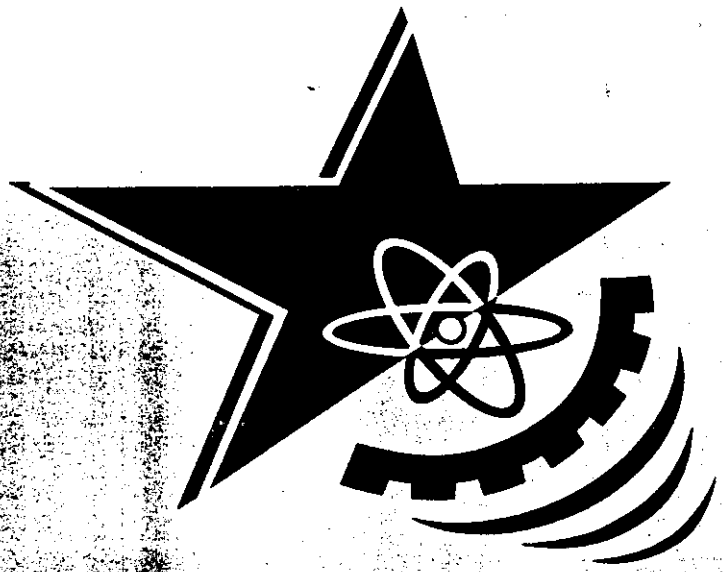
Tuy vậy, trong những năm gần đây, người ta đã phân lập được các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ hoặc chuyển hoá TNT và một số công trình nghiên cứu về sản phẩm của quá trình này cũng đã được công bố [2,3,4,5,6,7].

Ở nước ta, các nghiên cứu vi sinh vật phân huỷ TNT còn ít và lẻ tẻ, chưa có nhiều kết quả được công bố. Trong bài báo trước [1] chúng tôi đã thông báo các kết quả về phân lập các chủng vi sinh vật có khả năng phân huỷ TNT từ đất, nước bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ lâu ngày ở một số cơ sở sản xuất quốc phòng, song ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh đến quá trình sinh phân huỷ và chuyển hoá TNT chưa được đề cập đến.

Khả năng phân huỷ và chuyển hoá TNT của các vi sinh vật được quyết định bởi hoạt tính của các enzym đặc hiệu trong mỗi chủng riêng biệt và môi trường sống của vi sinh vật. Nếu các yếu tố môi trường thích hợp thì hiệu suất quá trình phân huỷ và chuyển hóa có thể là rất cao và ngược lại. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các

TRUNG TÂM KHOA HỌC KỸ THUẬT VÀ CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ

HỘI NGHỊ KHOA HỌC NĂM 2003



TRUNG TÂM KHOA HỌC KỸ THUẬT
VÀ CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ

TUYỂN TẬP
CÁC BÁO CÁO KHOA HỌC

Hà Nội, tháng 4 năm 2003

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG VI SINH VẬT ĐỂ XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA 2,4,6-TRINITROTOLUEN (TNT) TRONG QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC PHÓNG, THUỐC NỔ

LÊ THỊ ĐỨC, ĐỖ NGỌC KHUÊ, NGUYỄN VĂN ĐẠT, NGUYỄN LÊ TÚ QUỲNH, TRẦN THU HƯỜNG, NGUYỄN THỊ NHUNG, NGUYỄN THỊ TÂM THƯ
Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường, Trung tâm KHKT & CNQS

Tóm tắt: *Bài viết giới thiệu các phương pháp và kết quả nghiên cứu sử dụng vi sinh vật để xử lý nước thải chứa 2,4,6 – trinitrotoluen (TNT) trong quá trình sản xuất thuốc phóng thuốc nổ. Đã chọn 5 trong 13 chủng vi sinh vật phân lập được từ đất, nước thải nhiễm thuốc phóng thuốc nổ có khả năng phân hủy TNT cao để chế tạo sản phẩm sinh học phục vụ xử lý nước thải. Khả năng phân hủy TNT của các chủng này đạt cực đại ở pH = 7, môi trường khoáng – lignin bổ sung 3 g/l saccarose, 0,025 g bột đậu tương và nồng độ TNT ≤35 mg/l. Thời gian sục khí 3 – 4 ngày.*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước thải trong quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ là vấn đề ô nhiễm đặc biệt của quân đội. Thành phần chính của loại nước thải này là các chất độc hại như: 2,4,6-trinitrototoluene (TNT), dinitrotoluene (DNT), nitroglycerine (NG), axit styphnic, nitroxellulose.... Đa phần các hợp chất này là những hợp chất nitro vòng thơm, ngoài tính gây nổ, chúng còn là chất độc đối với con người và môi trường xung quanh. Một trong những hợp phần chính của loại nước thải này là TNT. 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, nhẹ hơn nữa là gây dị ứng da, làm vỡ mao mạch, gây chảy máu mũi [1].

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 .... Giá thành của các phương pháp này thường cao, thiết bị phức tạp, tuy xử lý được độ ô nhiễm cao nhưng phạm vi hẹp trong khi lượng nước thải ô nhiễm từ mức độ thấp đến trung bình của quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ lại rất lớn, do đó, sự tìm kiếm các biện pháp sinh hoá để xử lý ô nhiễm môi trường của các nhà máy sản xuất quốc phòng là vấn đề đang được các nhà nghiên cứu trong và ngoài Quân đội quan tâm. Một hướng đang được quan tâm là nghiên cứu sinh phân hủy hiếu khí nước bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ, với hy vọng tìm ra được công nghệ xử lý mà giá thành có thể chấp nhận để xử lý những nơi bị ô nhiễm rộng nhưng nồng độ chất ô nhiễm không cao. Cho đến nay, các nghiên cứu theo hướng này vẫn còn lẻ tẻ và chưa có công nghệ hoàn chỉnh nào được công bố.

Trong báo cáo này, chúng tôi trình bày các kết quả nghiên cứu về ứng dụng công nghệ sinh học, mà cụ thể là công nghệ vi sinh hiếu khí, để xây dựng quy trình công nghệ xử lý nước thải từ các quá trình sản xuất thuốc phóng thuốc nổ trong các nhà máy Quốc phòng.

TRUNG TÂM KHOA HỌC KỸ THUẬT VÀ CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ

Tạp chí

NGHIÊN CỨU KHOA HỌC KỸ THUẬT VÀ CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ

SỐ 5
12 - 2003

TRUNG TÂM KHOA HỌC KỸ THUẬT VÀ CÔNG NGHỆ QUÂN SỰ

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG PHÂN HUỶ DINITROTOLUENE (DNT) CỦA CHỦNG SH.13, VI KHUẨN PSEUDOMONAS SP

LÊ THỊ ĐỨC, NGUYỄN VĂN ĐẠT, NGUYỄN TÂM THƯ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dinitrotoluene (DNT) là một chất trung gian trong quá trình sản xuất toluen-diisocyanate và polyurethanes và là một trong những thành phần quan trọng của chất nổ quân sự và chất nổ thương mại. Trong sản xuất thuốc nhuộm và điều chế thuốc súng không khói, người ta cũng sử dụng DNT. DNT là một chất độc đối với con người, động thực vật và vi sinh vật: liều LC_{50} (mg/l) trong 96 giờ đối với tảo nước ngọt là 1,5; tảo biển là 0,4; động vật có xương sống nước ngọt là 0,7; động vật có xương sống biển là 0,6. Trong khi LC_{50} của trinitrotoluene (TNT) đối với tảo nước ngọt và tảo biển là 50 [3, 9]. Như vậy, độ độc của DNT lớn gấp hàng chục đến hàng trăm lần so với TNT, tuỳ loại sinh vật. Nước thải chứa DNT sẽ gây ra ô nhiễm nghiêm trọng cho môi trường, hệ sinh thái nơi xả thải. Để xử lý triệt để ô nhiễm do thuốc phóng, thuốc nổ nói chung, DNT nói riêng, ngoài các biện pháp hoá học, vật lý, một hướng mới đã và đang được tiến hành đó là nghiên cứu khả năng phân huỷ sinh học. Một số vi sinh vật nước ngọt và nấm có khả năng phân huỷ DNT đã được nghiên cứu [2, 5]. Bài báo này sẽ trình bày một số kết quả nghiên cứu khả năng phân huỷ DNT của chủng SH.13, vi khuẩn *Pseudomonas. sp.*, nhằm tạo điều kiện cho các nghiên cứu tiếp theo về sử dụng vi sinh vật để xử lý nước thải chứa DNT.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Chủng SH.13, vi khuẩn *Pseudomonas. sp.* do Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ môi trường - Trung tâm KHKT & CNQS phân lập được từ các mẫu đất, nước bị ô nhiễm thuốc phóng, thuốc nổ lâu năm.
- Các hoá chất dùng để tạo môi trường nuôi cấy và phân tích kết quả đều có độ sạch tinh khiết.

2.2. Phương pháp

- Việc giữ giống được tiến hành bằng cách cấy truyền trên thạch nghiêng và giữ ở 4^0C [1].
- Việc lên men được thực hiện bằng phương pháp nuôi cấy lắc (200vòng/phút) [1] trên môi trường có bổ sung khoáng, lignin, nguồn dinh dưỡng, DNT, pH, thời gian tuỳ theo mục đích từng thí nghiệm. Nhiệt độ nuôi cấy 35 ± 2^0C. Dung dịch huyền phù chứa khoảng 10^6 CFU/ml.
- Khả năng phân huỷ DNT được đánh giá bằng sự thay đổi nồng độ trong môi trường nuôi cấy.
- Xác định nồng độ DNT còn lại trong môi trường nuôi cấy bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp với điều kiện thí nghiệm như đã nêu trong tài liệu [8, 10]: pha động tỷ lệ methanol : nước = 60 : 40 theo thể tích; tốc độ dòng 0,15 ml/phút. Tín hiệu đo ở bước sóng 250nm.

CHƯƠNG TRÌNH KHCN TRỌNG ĐIỂM CẤP NHÀ NƯỚC
GIAI ĐOẠN 2001 - 2005 (KC.04)

ĐỀ TÀI KC.04.10

HỘI THẢO KHOA HỌC

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

(Tuyển tập các báo cáo toàn văn)

Hà Nội, 3 - 2002

NGHIÊN CỨU XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHỨA NITROGLYCERIN (NG) TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC PHÓNG 2 GỐC BẰNG CÔNG NGHỆ VI SINH

Lê Thị Đức, Đỗ Ngọc Khuê, Nguyễn Văn Đạt,
Trần Thu Hường, Nguyễn Thị Nhung, Bùi Thị Thu Hà
Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường

ABSTRACT:

The degradation of contaminated water wet, double-base propellant, by microorganism

5 microorganism strains, isolated from specimens of double-base propellant contaminated water wets and soils, was able to highly degrade glycerin trinitrate (NG). The maximum biodegradation was obtained in a medium containing (g/l): Sacarose- 3; $(NH_4)_2SO_4$- 0,6; KH_2PO_4- 0,4; $MgSO_4.7H_2O$- 0,06; $CaCl_2$- 0,08; $FeSO_4$- 0,01; NG≤ 0,15; pH= 6. The culture was carried out on shaker machine at temperature 30 -35°C for 4-5days.

The treatment process was established in laboratory with high result. The treated water attains discharge standards.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nitroglycerin (glycerine trinitrat, NG hay TNG) là một trong những thành phần chính của thuốc phóng 2 gốc. Chúng được sử dụng trong chế tạo thuốc súng, thuốc pháo, pháo và sử dụng trong động cơ tên lửa [7]. Việc sản xuất, vận chuyển, lưu giữ thuốc phóng và sự giải giáp vũ khí đã tạo ra 1 lượng lớn chất thải chứa NG (bao gồm cả chất thải rắn và nước thải). NG được xếp vào loại có độc tính cao, có nghĩa là có thể gây chết người hoặc tổn thương vĩnh viễn sau khi tiếp xúc quá ngưỡng giới hạn. (2,0 mg/m^3 không khí - do hiệp hội Vệ sinh Công nghiệp và Nhà nước Mỹ quy định). 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 [1]. 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 [2], điều này cho thấy cần phải tìm được phương pháp xử lý NG phù hợp với môi trường hơn. đã có một số báo cáo về một vài phương pháp hoá học loại bỏ NG [1] nhưng phải tiêu thụ một lượng lớn hoá chất dẫn tới giá thành xử lý còn cao. Quá trình phân huỷ NG bằng vi sinh vật đã được nghiên cứu từ lâu bởi nhiều tác giả [7] cho thấy một khả năng có thể chấp nhận về mặt môi trường so với các phương pháp hoá lý.

Để sử dụng vi sinh vật (VSV) cho việc xử lý nước thải nhiễm bẩn bởi thuốc phóng 2 gốc ở các cơ sở sản xuất quốc phòng hiện nay một cách có hiệu quả, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng phân huỷ NG của một số VSV đã tuyển chọn và một số yếu tố ngoại cảnh ảnh hưởng đến hiệu suất sinh phân huỷ NG.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

- 10 chủng VSV có khả năng phát triển trên môi trường có NG như nguồn hữu cơ duy nhất đã phân lập được từ đất, nước nhiễm thuốc phóng 2 gốc.
- Các hoá chất để chế tạo môi trường và xử lý mẫu có độ tinh khiết phân tích.

SINH PHÂN HUỶ CÁC CHẤT Ô NHIỄM ĐỘC HẠI TRONG CHẤT THẢI CỦA QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC PHÓNG, THUỐC NỔ

ThS. Lê Thị Đức và cộng sự
Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc phóng, thuốc nổ là vấn đề ô nhiễm đặc biệt của quân đội. Thành phần chính của loại nước thải này là các chất độc hại như: trinitrototoluene, dinitrotoluene, nitroglycerine, axit styphnic, nitroxellulose.... Đa phần các hợp chất này là những hợp chất nitro vòng thơm, ngoài tính gây nổ, chúng còn là chất độc đối với con người và môi trường xung quanh. Một trong những hợp phần chính của loại nước thải này là Trinitrotoluene (TNT). 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, nhẹ hơn nữa là gây dị ứng da, làm vỡ mao mạch, gây chảy máu mũi [1].

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.

Khi làm việc trong điều kiện hàm lượng TNT 0,3 - 1,3mg/m^3 không khí, với thời gian 8giờ/ngày liên tục, 5-6 ngày trong tuần đủ để dẫn đến sự thay đổi thành phần máu và gây bệnh cho cơ thể con người. Một cảm giác đắng miệng xảy ra nếu hàm lượng TNT đạt 7,1 mg/kg cơ thể hấp thụ được qua da trong thời gian làm việc 8 giờ. Hàm lượng TNT tối đa cho phép trong không khí là 0,1 mg/m^3 (Tiêu chuẩn của Nga), 0,5 mg/m^3 (Tiêu chuẩn của Mỹ). Đối với động vật có vú, liều lượng LD_{50} của TNT nằm trong khoảng từ 820 mg/kg đến 1010 mg/kg. Với các loài chuột, liều lượng LD_{50} dao động từ 1014 mg/kg đến

BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO

TRUNG TÂM KHOA HỌC TỰ NHIÊN
VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

NGUYỄN THỊ NHUNG

NGHIÊN CỨU TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI SINH VẬT PHÂN HUỶ AXIT STYPHNIC VÀ ỨNG DỤNG CHÚNG TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI TỪ QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT THUỐC GỢI NỔ

LUẬN VĂN THẠC SỸ KHOA HỌC

Chuyên ngành: Vi sinh vật

Mã số: 1 05 12

NGƯỜI HƯỚNG DẪN:

- **PGS. TS. TỐNG KIM THUẦN**
  VIỆN CÔNG NGHỆ SINH HỌC
  TRUNG TÂM KHTN & CNQG
- **THS. LÊ THỊ ĐỨC**
  PHÂN VIỆN CÔNG NGHỆ MỚI VÀ BVMT
  TRUNG TÂM KHKT & CNQS

HÀ NỘI - 2004

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Thị Tâm Thư

Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học và khả năng phân huỷ DNT của một số chủng vi sinh vật phân lập từ đất ô nhiễm

Chuyên ngành: Vi sinh học
Mã số: 1.05.12

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

Người hướng dẫn: GS. TS. Nguyễn Đình Quyến

Hà Nội - Năm 2003.

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được thực hiện tại Phòng Công nghệ Sinh học - Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường.

Cho phép tôi được bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới sự hướng dẫn, giúp đỡ và chỉ bảo tận tình của GS.TS Nguyễn Đình Quyến - Bộ môn vi sinh vật - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ThS Lê Thị Đức - Trưởng phòng Công nghệ Sinh học - Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ Môi trường .

Để hoàn thành luận văn này, tôi cũng nhận được sự dạy dỗ chỉ bảo của các thầy cô giáo trong Khoa Sinh học cũng như sự giúp đỡ, động viên và tạo mọi điều kiện của các cô, các chú và các anh chị trong Phân viện Công nghệ mới và Bảo vệ môi trường.

Tôi xin trân thành cảm ơn tất cả sự giúp đỡ quý báu đó.

Hà nội, ngày tháng 11 năm 2003

Nguyễn Thị Tâm Thư

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN
KHOA SINH HỌC

Bùi Thị Thanh Vân

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN VI SINH VẬT CÓ KHẢ NĂNG PHÂN HUỶ NITROGLYCERINE TRONG ĐẤT, NƯỚC NHIỄM THUỐC NỔ

KHOÁ LUẬN TỐT NGHIỆP HỆ ĐẠI HỌC CHÍNH QUY

Ngành : Công Nghệ Sinh Học
Chuyên ngành: Vi Sinh Vật Học

Giáo viên hướng dẫn:
GS.TS. Nguyễn Lân Dũng
ThS. Lê Thị Đức

Hà Nội - 2003

PHỤ LỤC 3

MỘT SỐ XÁC NHẬN VÀ HÌNH ẢNH MINH HOẠ
KẾT QUẢ CỦA ĐỀ TÀI

Phụ lục 3 : Nước thải công nghiệp TCVN 5945 - 19995

Giá trị giới hạn các thông số và nồng độ các chất ô nhiễm [17]

TT	Thông số	Đơn vị	Giá trị giới hạn		
			A	B	C
1	Nhiệt độ	^{0}C	40	40	45
2	pH		6 ÷ 9	5,5 ÷ 9	5 ÷ 9
3	BOD_5 (20^0C)	mg/l	20	50	100
4	COD	mg/l	50	100	400
5	Chất rắn lơ lửng	mg/l	50	100	200
6	Asen	mg/l	0,05	0,1	0,5
7	Cadmi	mg/l	0,01	0,02	0,5
8	Chì	mg/l	0,1	0,5	1
9	Clo dư	mg/l	1	2	2
10	Crôm (VI)	mg/l	0,05	0,1	0,5
11	Crôm (III)	mg/l	0,2	1	2
12	Dầu mỡ khoáng	mg/l	KPHĐ	1	5
13	Dầu đậu thực vật	mg/l	5	10	30
14	Đồng	mg/l	0,2	1	5
15	Kẽm	mg/l	1	2	5
16	Mangan	mg/l	0,2	1	5
17	Niken	mg/l	0,2	1	2
18	Photpho hữu cơ	mg/l	0,2	0,5	1
19	Photpho tổng số	mg/l	4	6	8
20	Sắt	mg/l	1	5	10
21	Tetracloetylen	mg/l	0,02	0,1	0,1
22	Thiếc	mg/l	0,2	1	5
23	Thuỷ ngân	mg/l	0,005	0,005	0,01
24	Tổng Nitơ	mg/l	30	60	60
25	Tricloetylen	mg/l	0,05	0,3	0,3
26	Amoniac (tính theo N)	mg/l	0,1	1	10
27	Florua	mg/l	1	2	5
28	Phenol	mg/l	0,001	0,05	1
29	Sulphua	mg/l	0,2	0,5	1
30	Cianua	mg/l	0,05	0,1	0,2
31	Tổng hoạt độ phóng xạ α	Bq/l	0,1	0,1	-
32	Tổng hoạt độ phóng xạ β	Bq/l	1,0	1,0	-
33	Coliform	MPN/100ml	5000	10000	-

Chú thích : KPHĐ - Không phát hiện được

KHOA VI SINH VẬT
Viện VSPD-QĐ

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc Lập – Tự Do - Hạnh Phúc
****

PHIẾU TRẢ KẾT QUẢ

Nơi gửi mẫu : Viện khoa học Vật liệu và môi trường
Số lượng : 08 Nguồn mẫu : VK phân lập từ đất và nước
Yêu cầu : Định danh

TT	Ký hiệu	Tinh chất khuẩn lạc và hình thể	OX	Ci	Di động	Tên loài (kết quả máy MiniAPI)
1	T1	KL thể S, trắng, bóng ướt. Trực khuẩn Gram (-), không lên men Glucose	+	–	+	Steno.maltophilia, tên khác Stenotrophomonas xanthomonas
2	T2	KL thể R, trắng, dai, khó tan.Trực khuẩn Gram(+), hình thành bào tử trên môi trường Natriumoxalat 1%	–	+	+	Bacillus stearothermophilus
3	D5	KL thể R, trắng, khô.Trực khuẩn Gram(+) có dạng bào tử trên môi trường Natriumoxalat 1%	–	–	+	Bacillus cereus có tan máu beta
4	D13	KL thể S, màu xanh, bóng ướt.Trực khuẩn gram(-), không lên men Glucose	+ yếu	+	+	Pseudomonas aeruginosa
5	S1	Kl thể R khô khó tan. Phát triển dược trên môi trương Saburo	–	–	–	Geotrichum capitatum

6	S2	Kl thể S trắng mỡ khó tan. Hình cầu to,phát triển dược trên môi trường Saburo	–	–	–	Candida pelliculosa
7	S3	Kl thể S hòng đỏ, ướt, rễ tan. Hình cầu ,phát triển dược trên môi trường Saburo	–	–	–	Rhodotorula glutinis
8	S4	Kl thể S trắng, bóng, mỡ. Hình cầu phát triển dược 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***

Viện VSPD-QĐ

Thượng tá

TS. NGUYỄN XUÂN THÀNH

Chủ nhiệm khoa

Vi sinh vật

Vũ Chiến Thắng

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 TCĐLCL, 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 VĨNH ÁNH	

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 kị khí và hiếu khí kết hợp.
7- GN_t : Nước thải từ quá trình sản xuất thuốc gợi nổ trước xử lý.
8 - GN_s : Nước tải từ quá trình sản xuất thuốc gợi 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 .

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	$2,73x\ 10^{10}$	Mẫu rắn, xốp
2	DSF	$2,05x\ 10^{10}$	-
3	ASF	$9,14x10^{9}$	-
4	NSF	$1,08x10^{11}$	-

Xác nhận của cơ quan
VIỆN TRƯỞNG

VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM
VIỆN HÓA HỌC CÁC HỢP CHẤT THIÊN NHIÊN

Trương Tất Hiếu

Người đọc kết quả

TS Lê Mai Hương

VIỆN PHÁP Y QĐ
Khoa Độc chất

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà nội, ngày 17 tháng 9 năm 2004

BÁO CÁO KẾT QUẢ PHÂN TÍCH MẪU NƯỚC TNT

(Đợt 2-năm 2004)

Đề tài nhánh: " Xác định các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ các chất thải quốc phòng đặc chủng".

Thuộc đề tài cấp nhà nước: KC.04.10 " Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại "

I. Kết quả phân tích 06 mẫu nước thải đang xử lý TNT bằng phương pháp sinh học. Lượng TNT còn lại trong mẫu là:

Tên mẫu	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 4	Mẫu 5	Mẫu 6
TNT (µg/lít)	8,5	7,3	8,7	Không còn	7,5	10,4

II. Kết quả phân tích không tìm thấy sản phẩm trung gian trong 6 mẫu.

THỦ TRƯỞNG ĐƠN VỊ

Đại Tá Nguyễn Trọng Toàn

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI NHÁNH

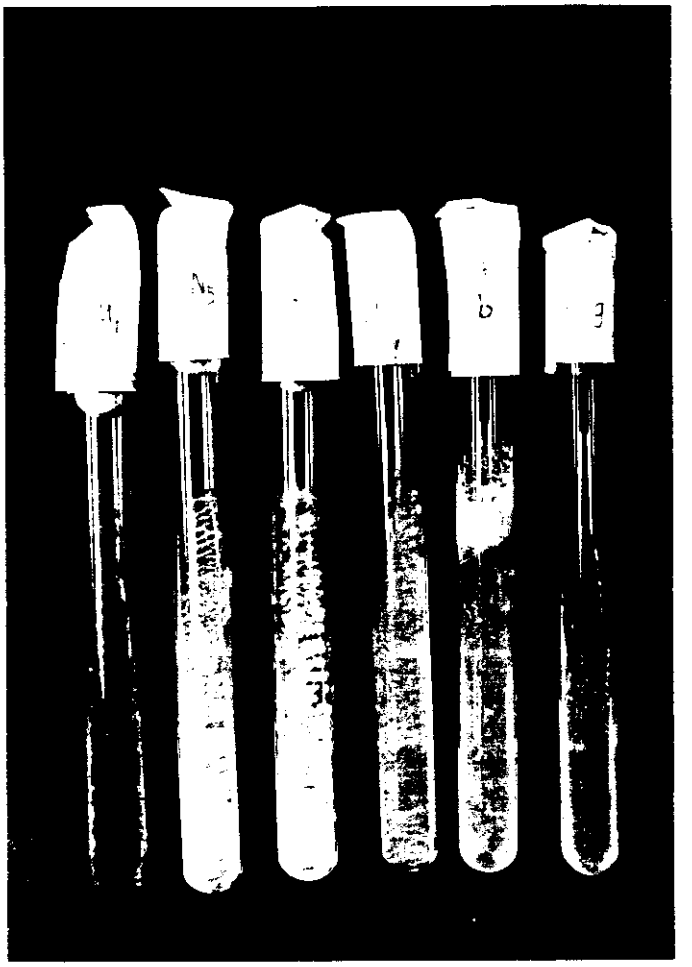
ThS. Lê Thị Thanh Vinh

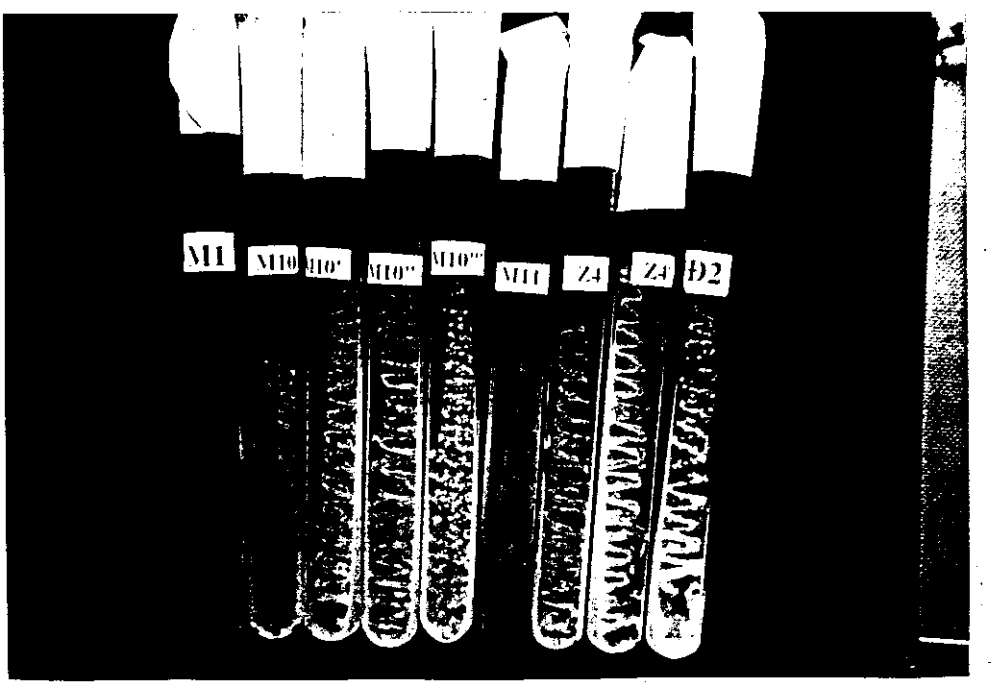
Cán bộ thực hiện

CN.Đặng Đức Khanh

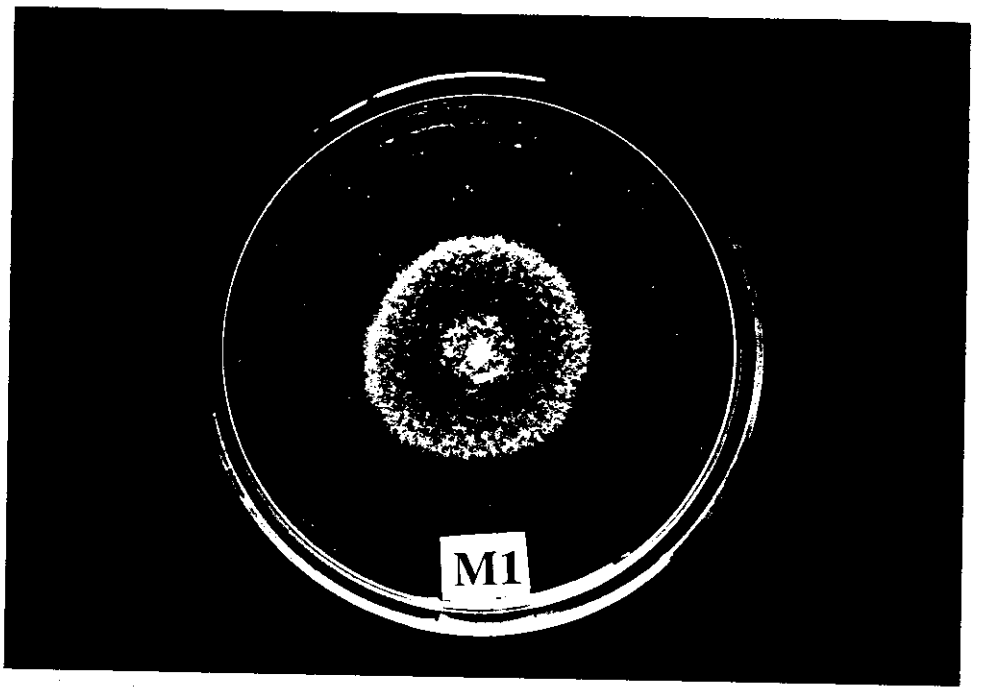
HỆ THỐNG XỬ LÝ NƯỚC THẢI DẠNG MODUL

QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM, CÔNG SUẤT 30L/NGÀY

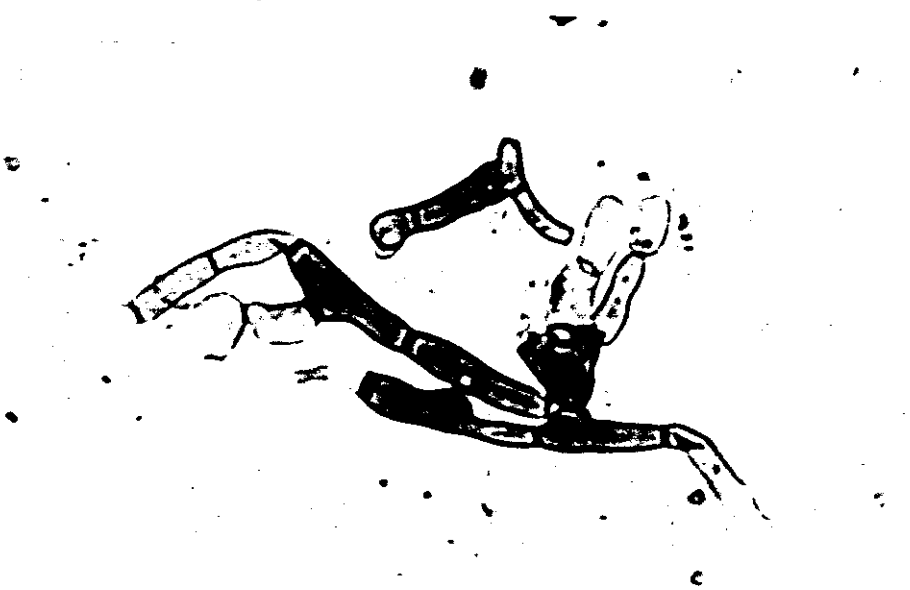




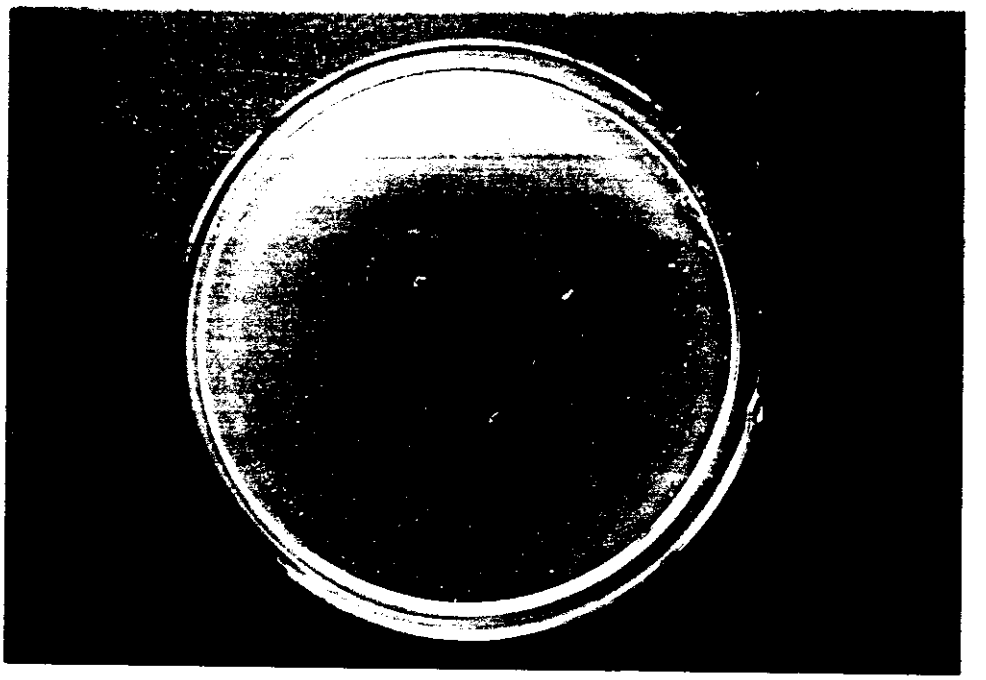
MỘT SỐ CHỦNG VSV ĐÃ PHÂN LẬP



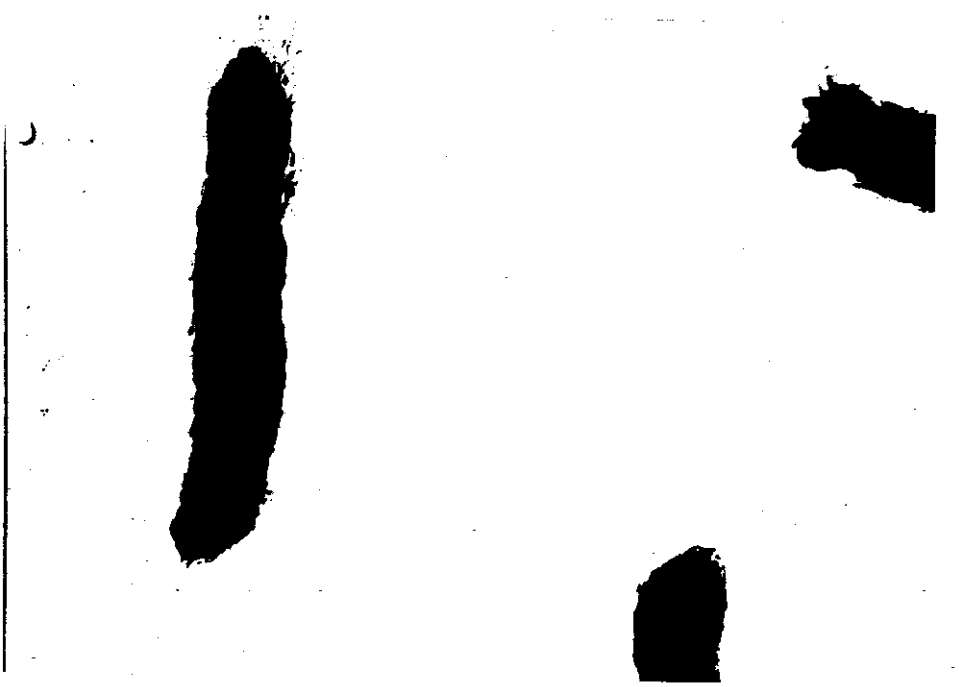
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG NẤM MỐC M1



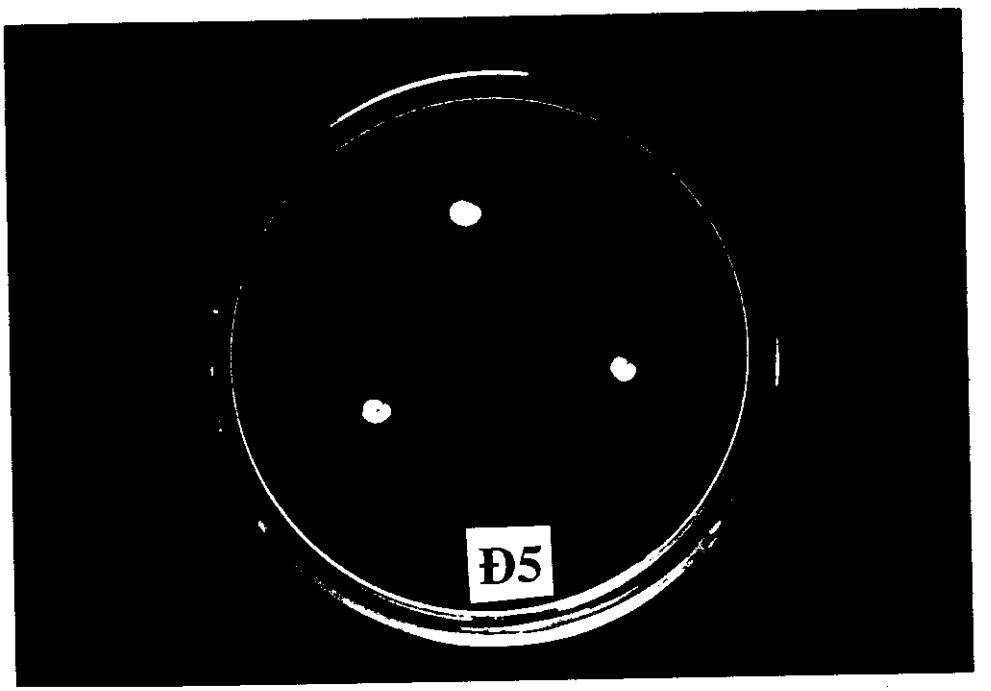
HÌNH DẠNG CUỐNG SINH BÀO TỬ CHỦNG M1



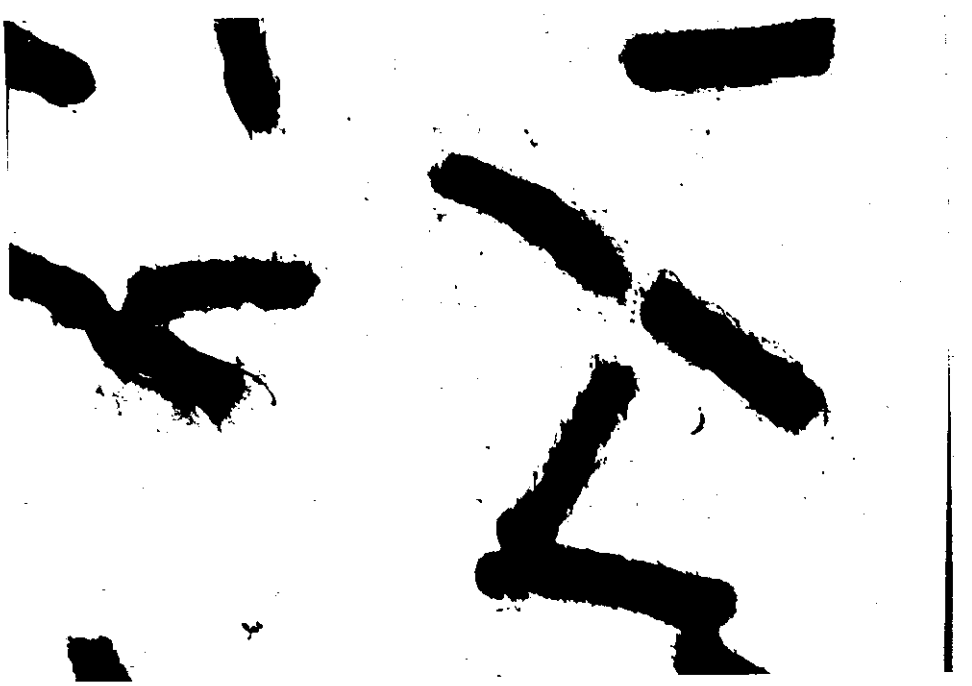
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG Đ13



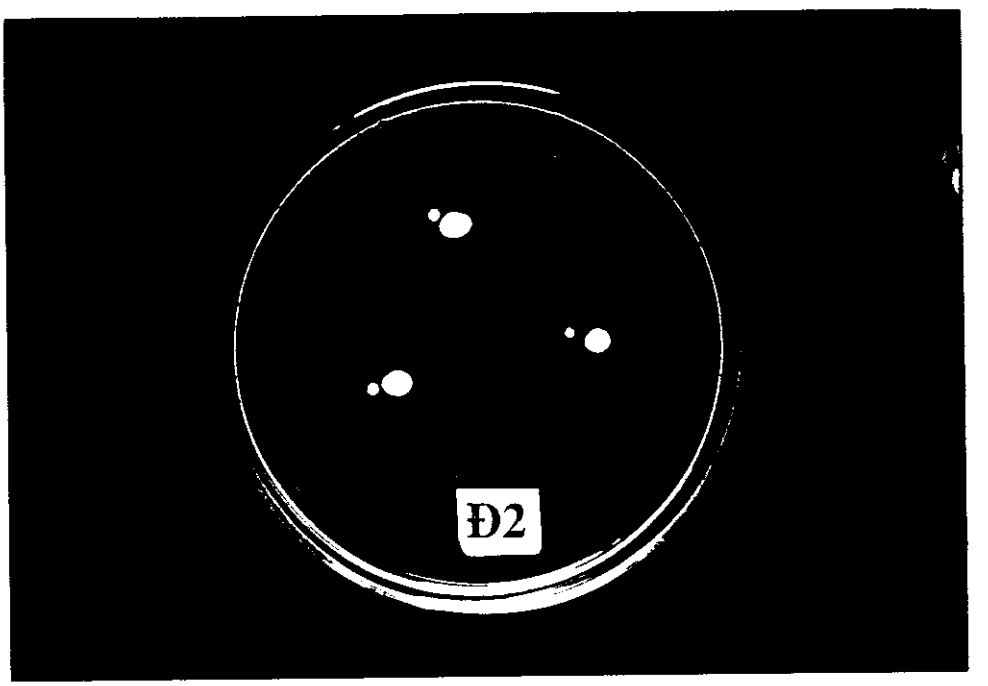
ẢNH HIỂN VI CHỦNG Đ13



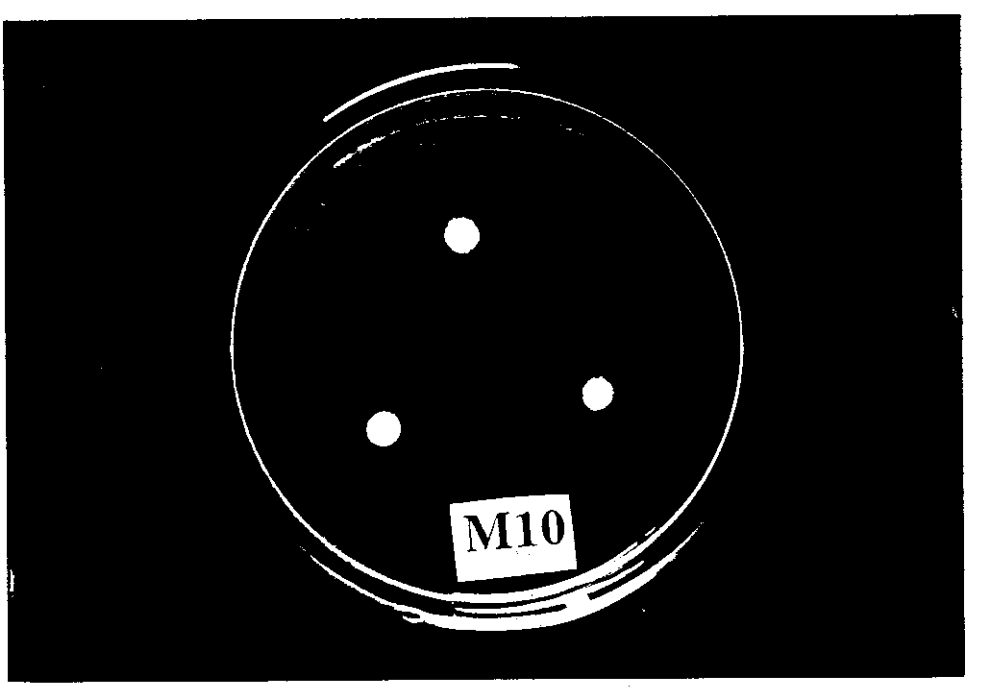
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG VI KHUẨN Đ5



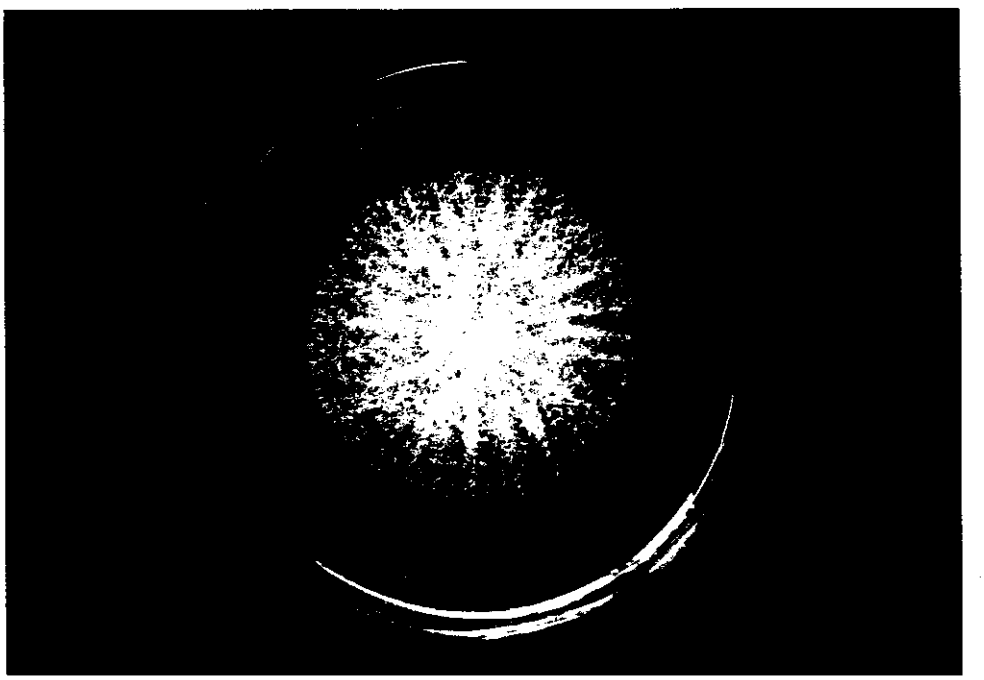
ẢNH HIỂN VI CHỦNG Đ5



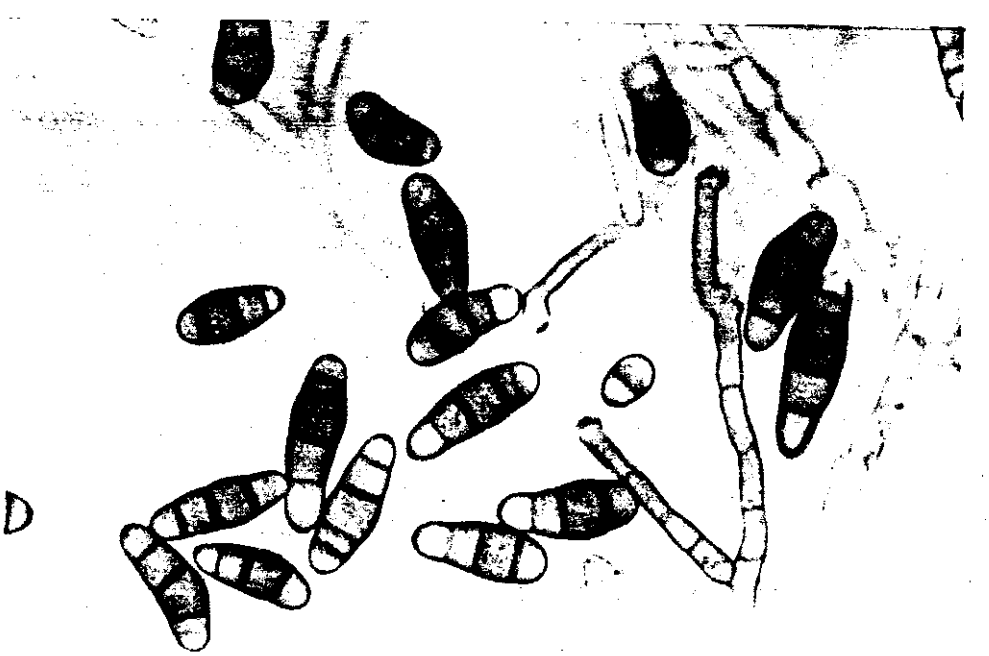
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG Đ2



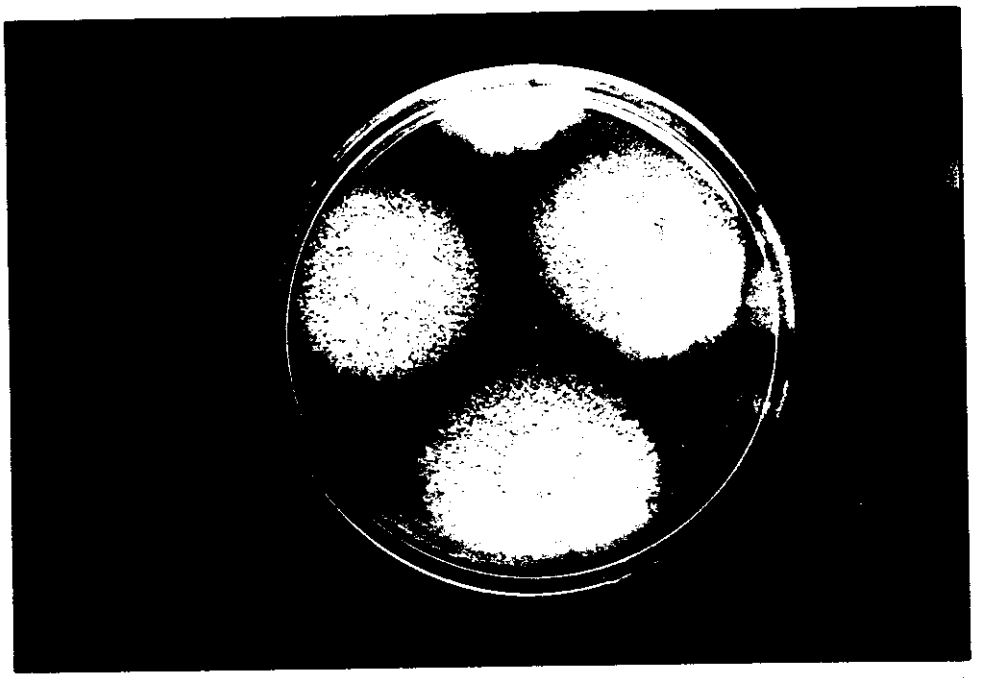
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG M10



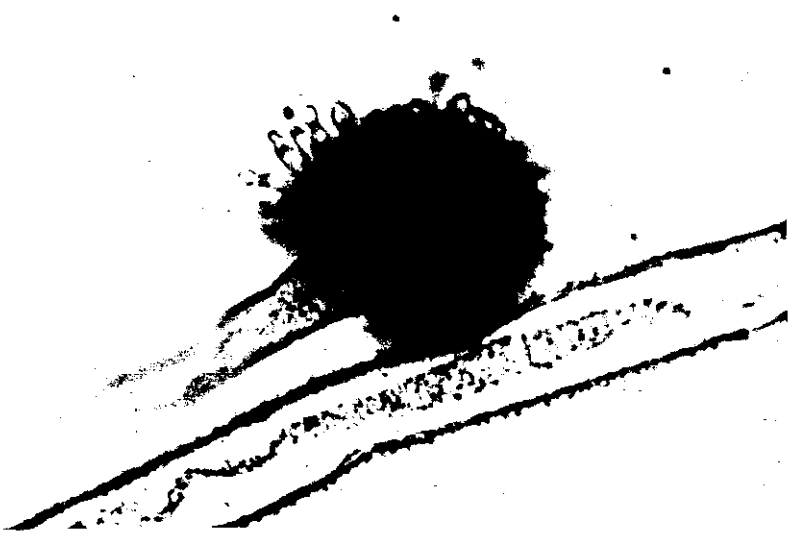
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG C



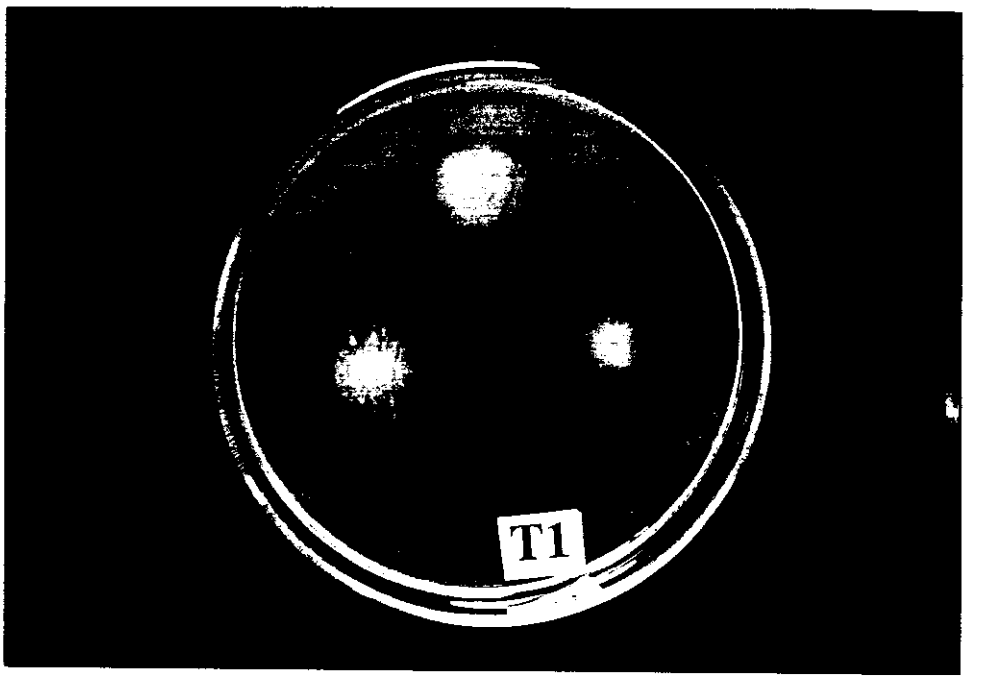
BẢO TỬ CHỦNG C



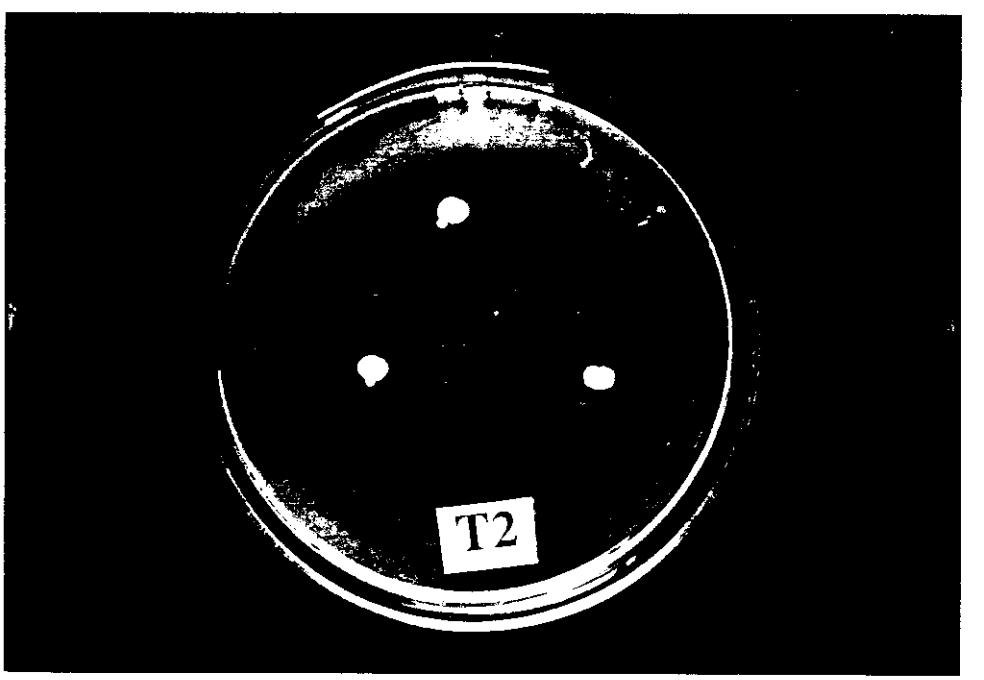
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG M_2



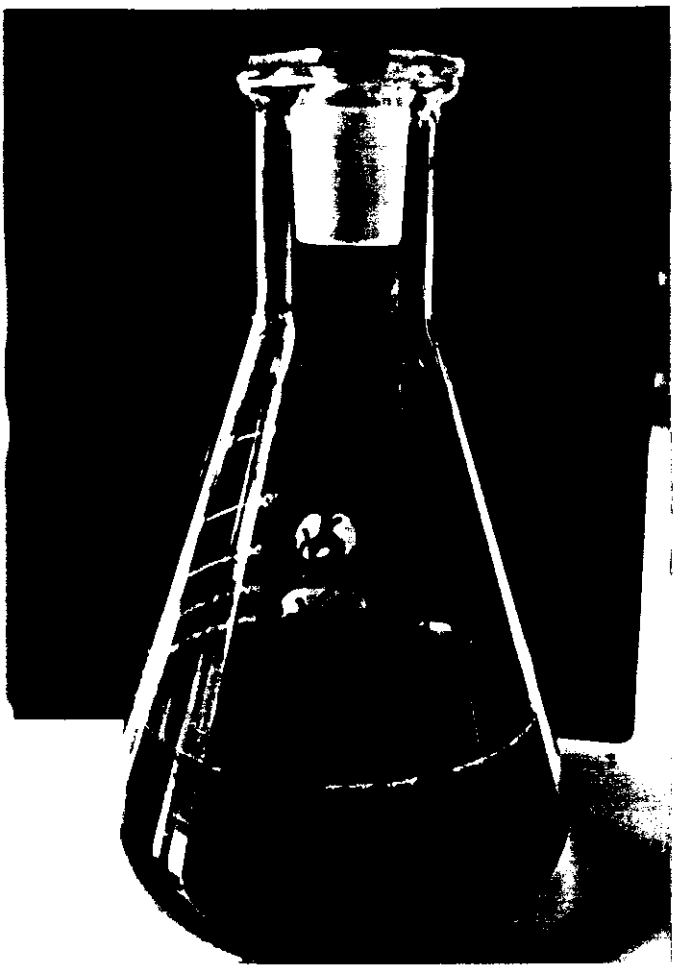
CƠ QUAN SINH BÀO TỬ CHỦNG M_2



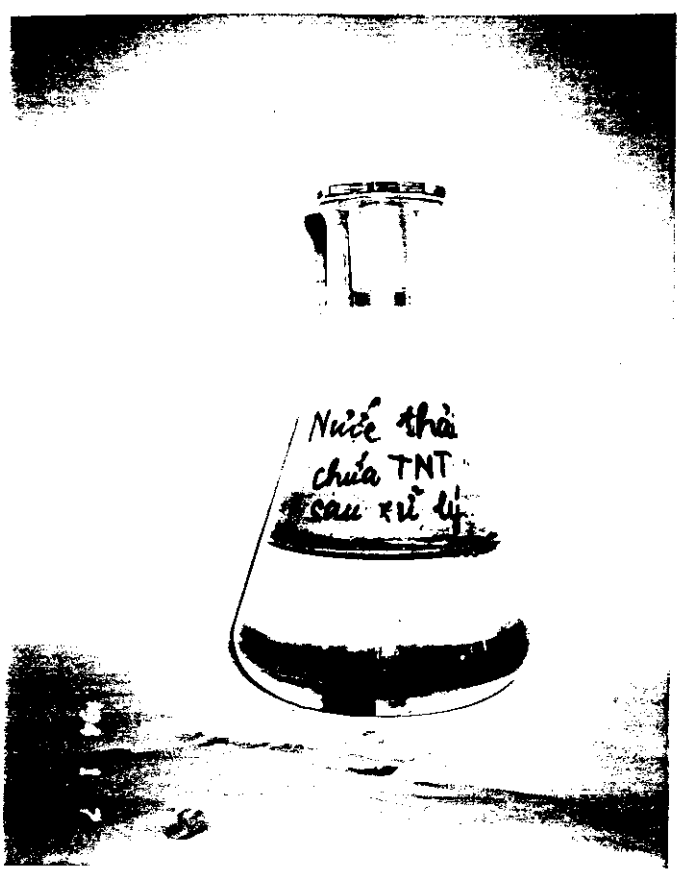
HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG T1 (1m)



HÌNH THÁI KHUẨN LẠC CHỦNG T2



A



B

NƯỚC THẢI CHỨA TNT TRƯỚC (A) VÀ SAU XỬ LÝ (B)

A

B

C

NƯỚC THẢI CHỨA AS SAU XỬ LÝ

(mẫu 3 cho hiệu quả xử lý tốt nhất

(A: Xử lý thử nghiệm nước thải chứa AS; B: Nước thải trước xử lý;

C: Nước thải sau xử lý)