

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI SINH VẬT CÓ LỢI ĐỂ XỬ LÝ NƯỚC THẢI SẢN XUẤT CỒN

ISOLATION AND SCREENING OF EFFECTIVE MICROBIAL STRAINS FOR TREATMENT OF WASTEWATER FROM ETHANOL PLANTS

Đặng Quang Hải

Trường Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng; dqhai@dut.udn.vn

Tóm tắt - Nghiên cứu này nhằm phân lập, tuyển chọn các chủng vi sinh vật có lợi và ứng dụng để xử lý nước thải nhà máy sản xuất cồn theo phương pháp sinh học hiếu khí. Kết quả đã tuyển chọn được ba chủng vi khuẩn có hoạt tính amylase, cellulase và protease cao. Thử nghiệm quá trình tạo thành bùn hoạt tính từ các chủng đã tuyển chọn với thời gian nhân giống trong các bình tam giác 250 ml khoảng 36 giờ, nhân giống trong các bể lớn hơn để tạo đủ lượng bùn hoạt tính đưa vào xử lý khoảng 48 giờ cho mỗi cấp nhân giống. Kết quả nghiên cứu đã chỉ rằng xử lý nước thải sản xuất cồn có hàm lượng chất hữu cơ cao (COD 2840 - 4123 mg/l) bằng phương pháp hiếu khí với hàm lượng bùn hoạt tính bổ sung 30% đã cho hiệu suất xử lý khá cao đạt 84,46%, trong khi đó trường hợp không bổ sung bùn hoạt tính, hiệu suất xử lý chỉ đạt 63,72%.

Từ khóa - Nước thải từ quá trình sản xuất cồn; vi sinh vật; bùn hoạt tính; chất hữu cơ; hiệu suất xử lý

1. Đặt vấn đề

Ngày nay, vấn đề xử lý nước thải và cung cấp nước sạch đang là mối quan tâm lớn của nhiều quốc gia. Đây cũng là một vấn đề cấp bách cần giải quyết của Việt Nam trong quá trình công nghiệp hóa, hiện đại hóa đất nước. Cùng với sự phát triển của nền công nghiệp, tình hình ô nhiễm môi trường ở Việt Nam cũng gia tăng đến mức báo động. Trong đó, ô nhiễm nguồn nước là một trong những thực trạng đáng quan tâm nhất.

Nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường chủ yếu là do các nguồn thải từ các khu công nghiệp, các cơ sở sản xuất chế biến, các khu dân cư, ... chưa qua xử lý, hoặc xử lý chưa đạt yêu cầu mà thải trực tiếp ra môi trường gây ô nhiễm nghiêm trọng. Trong đó, nước thải từ các nhà máy sản xuất thực phẩm chiếm một lượng rất lớn, như nước thải công nghiệp cồn rượu, bia, chế biến thủy sản, ... Trung bình, với một nhà máy sản xuất cồn công suất 10000 lít cồn/ngày thì mỗi ngày sẽ đưa vào môi trường 150m³ nước thải. Đặc điểm của nước thải từ nhà máy sản xuất cồn là giàu hợp chất hữu cơ như đường, tinh bột, protein, lipid, khoáng, ... nên sẽ trở thành môi trường tốt cho nhiều loại vi sinh vật phát triển, dẫn đến những tác động gây hại cho sức khỏe con người và làm suy thoái môi trường [1].

Do vậy, việc làm sạch các loại nước thải nói chung, và nước thải sản xuất cồn nói riêng để sử dụng lại cho quá trình sản xuất, sinh hoạt hay để thải ra môi trường là vấn đề cấp thiết, và cần thiết phải đẩy mạnh việc nghiên cứu phát triển, ứng dụng các công nghệ xử lý nước thải tiên tiến, hiệu quả. Trong các phương pháp xử lý nước thải thì xử lý nước thải bằng phương pháp vi sinh vật được đánh giá cao, được xếp vào nhóm công nghệ sạch, thân thiện với môi trường và được ưu tiên nghiên cứu ứng dụng. Điểm mấu chốt của các công nghệ này là phải có được những

Abstract - This study aims at finding effective microbial strains for wastewater aerobic treatment of ethanol plants. Through screenings, three bacterial strains with high amylase, cellulase and protease activities have been isolated and selected. The experimental results have identified the appropriate time for culturing selected bacterial strains to create activated sludge, with propagation time in 250 mL glass triangle flasks in 36 hours, propagation in larger tanks in 48 hours for each level of propagating. The results have also indicated that aerobic biological treatment of wastewater in ethanol plants containing high concentration of organic substances (COD 2840 - 4123 mg/l) with the rate added activated sludge of 30% results in a high efficiency for the elimination of organic matters, reaching 84.46%, while the case of without adding activated sludge, the treatment efficiency is only 63.72%.

Key words - Wastewater from ethanol production process; Microorganism; Activated sludge; Organic matter; Treatment efficiency

chủng vi sinh vật có khả năng chuyển hoá nhanh và triệt để các chất hữu cơ trong nước thải thành những chất thân thiện với môi trường.

Trong nghiên cứu này, nhóm tác giả tiến hành phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn có hoạt tính enzyme cao từ hệ vi sinh vật đã thích nghi tự nhiên với môi trường nước thải nhà máy cồn ở Việt Nam và phối hợp các chủng đã tuyển chọn để tạo thành bùn hoạt tính bổ sung vào xử lý nước thải sản xuất cồn theo phương pháp sinh học hiếu khí.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nước thải và hệ vi sinh vật trong nước thải của xưởng sản xuất cồn tại trường Cao đẳng Lương thực - Thực phẩm, Đà Nẵng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật

Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có lợi trong nước thải bằng phương pháp pha loãng thập phân. Môi trường được sử dụng trong quá trình phân lập là môi trường thạch - cao thịt - pepton. Mẫu nước thải sau khi pha loãng đến độ pha loãng thích hợp sẽ được cấy lên bề mặt môi trường chứa trong các đĩa petri, sau đó nuôi ở nhiệt độ thường trong thời gian 48 giờ. Tuyển chọn các khuẩn lạc mọc riêng rẽ, to và tách biệt nhau trên các đĩa petri cấy chuyển vào các ống nghiệm thạch nghiêng để giữ giống [2]. Quan sát đặc điểm hình thái của vi sinh vật bằng phương pháp làm tiêu bản giọt ép và nhuộm Gram. Xác định mức độ sinh trưởng của vi sinh vật bằng phương pháp đo mật độ quang (độ đục) [2].

Xác định hoạt tính enzyme amylase, cellulase và protease của các chủng vi sinh vật bằng phương pháp đo

đường kính vòng thủy phân. Dùng các đĩa petri chứa môi trường thạch - cao thịt - pepton có bổ sung riêng biệt 1% tinh bột tan, 1% carboxymethyl cellulose (CMC) hoặc 1% casein để thử các hoạt tính enzyme amylase, cellulase, hay protease tương ứng. Ở mỗi đĩa petri cấy 3 - 5 điểm lấy từ các khuẩn lạc mọc riêng rẽ sau khi thuần khiết giống. Sau đó, đem nuôi ở điều kiện nhiệt độ thường. Sau 3 ngày đem các đĩa petri ra và đổ dung dịch lugol hay amido black lên bề mặt thạch, tráng đều rồi quan sát. Nếu có hoạt tính enzyme sẽ xuất hiện vòng thủy phân trong suốt, không màu. Đo đường kính vòng thủy phân cơ chất để chọn chủng vi sinh vật có hoạt tính enzyme cao [2, 3].

2.2.2. Phương pháp phân tích các thông số chất lượng nước thải sản xuất cồn

Để khảo sát thành phần và tính chất nước thải sản xuất cồn, các mẫu nước thải được tiến hành phân tích các thông số pH, nhiệt độ, chất rắn lơ lửng (SS), nhu cầu oxy hóa học (COD), nhu cầu oxy sinh hóa (BOD₅), tổng nitơ và tổng photpho. pH và nhiệt độ của nước thải được đo trực tiếp bằng pH meter hiệu Jenco của Mỹ. Các thông số SS, COD, BOD₅, tổng nitơ và tổng photpho đều được phân tích theo các phương pháp tiêu chuẩn [4].

2.2.3. Phương pháp nuôi tạo bùn hoạt tính

Giống gốc đã tuyển chọn trong các ống nghiệm thạch nghiêng được cấy vào các bình tam giác 250 ml chứa 150 ml môi trường cao thịt - pepton đã khử trùng ở 121°C trong thời gian 25 phút, sau đó nuôi trên máy lắc ở điều kiện nhiệt độ phòng trong thời gian 36 giờ để thu dịch giống.

Thể tích mỗi mẫu thí nghiệm tạo bùn hoạt tính là 5 lít. Lượng dịch giống bổ sung 15% so với tổng lượng nước thải và dịch giống (4,25 lít nước thải sản xuất cồn + 0,75 lít dịch giống), tiến hành sục khí với lưu lượng 5040 ml/phút trong thời gian 48 giờ để các chủng vi sinh vật sinh trưởng và phát triển, tạo sinh khối bùn hoạt tính. Sau đó, để lắng tĩnh trong thời gian 1 giờ, lúc này bùn sẽ lắng xuống đáy bề thí nghiệm, phần trên là nước trong, tiến hành thu sinh khối bùn hoạt tính tạo thành để đưa vào mô hình xử lý.

2.2.4. Mô hình thí nghiệm nghiên cứu xử lý hiếu khí nước thải sản xuất cồn

Các thí nghiệm được thực hiện trong bể hình chữ nhật làm bằng nhựa có thể tích 30 lít, hoạt động gián đoạn (Hình 1).



Hình 1. Mô hình bể sục khí dùng trong nghiên cứu

Nước thải dùng cho các thí nghiệm được lấy tại cổng thải tập trung của xưởng sản xuất cồn ở các thời điểm giống

nhau. Nước thải lấy về phòng thí nghiệm để lắng sơ bộ nhằm loại bỏ bớt chất rắn lơ lửng, sau đó cho vào bể xử lý với một lượng thích hợp tương ứng với mỗi thí nghiệm. Đối với thí nghiệm đối chứng (không bổ sung bùn hoạt tính), cho vào bể xử lý 10 lít nước thải. Đối với các thí nghiệm có bổ sung bùn hoạt tính, hàm lượng bùn cho vào bể của mỗi thí nghiệm lần lượt là 20% (8 lít nước thải + 2 lít sinh khối bùn), 25% (7,5 lít nước thải + 2,5 lít sinh khối bùn), 30% (7 lít nước thải + 3 lít sinh khối bùn), 35% (6,5 lít nước thải + 3,5 lít sinh khối bùn), 40% (6 lít nước thải + 4 lít sinh khối bùn) so với tổng lượng nước thải xử lý và lượng bùn hoạt tính. Thời gian sục khí 30 giờ, lưu lượng sục khí 4320 ml/phút (dùng bơm sục khí loại Boss - 9500 - Aquarium Air Pump). Mỗi thí nghiệm được lặp lại 2 lần.

Lấy mẫu tại thời điểm trước và sau xử lý để xác định các giá trị COD. Hiệu suất xử lý nước thải được xác định theo công thức:

$$E = \frac{COD_t - COD_s}{COD_t} \times 100, \%$$

Trong đó: E: Hiệu suất xử lý nước thải của mô hình, %;

COD_t: Nồng độ COD trước xử lý, mg/l;

COD_s: Nồng độ COD sau xử lý, mg/l.

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Phân lập và tuyển chọn vi sinh vật có lợi trong nước thải

3.1.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật trong nước thải sản xuất cồn

Quá trình phân lập, tuyển chọn vi sinh vật trong nước thải sản xuất cồn được tiến hành theo phương pháp pha loãng thập phân và được nuôi cấy trên môi trường thạch - cao thịt - pepton ở nhiệt độ thường trong thời gian 48 giờ. Kết quả nghiên cứu đã chọn được 5 khuẩn lạc to, mọc riêng lẻ, có màu sắc, kích thước, hình dạng khác nhau trong các đĩa petri ở các độ pha loãng 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹. Các chủng này sau đó được cấy chuyển vào các ống nghiệm thạch nghiêng, nuôi 48 giờ ở nhiệt độ thường để chúng phát triển, sau đó bảo quản lạnh để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo. Ký hiệu 5 giống này là: C1, C2, C3, C4, C5.



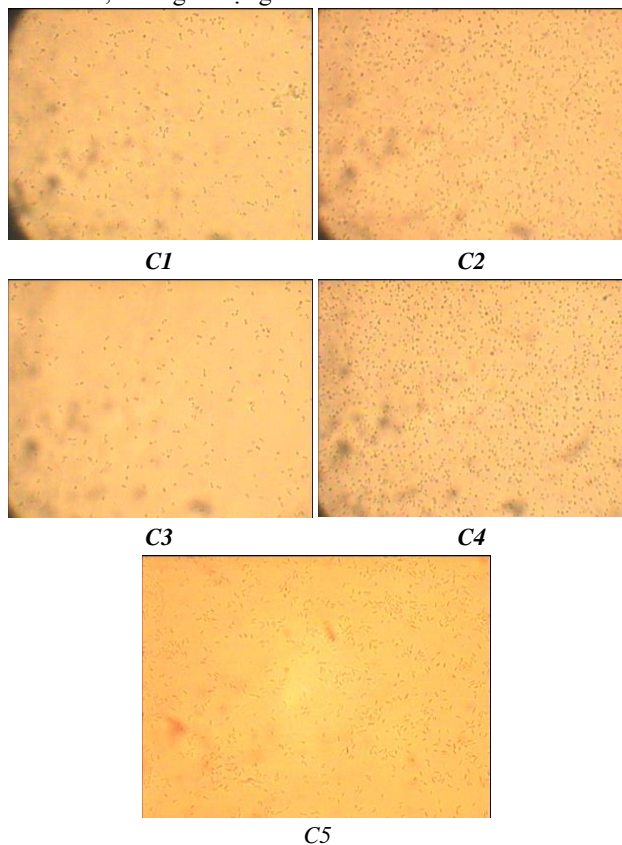
Hình 2. Các giống vi sinh vật sau khi cấy chuyển và nuôi 48 giờ trên môi trường thạch - cao thịt - pepton

3.1.2. Khảo sát một số đặc điểm hình thái của các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn

Quan sát đặc điểm hình thái các chủng vi sinh vật bằng phương pháp làm tiêu bản giọt ép và nhuộm Gram.

Kết quả của phương pháp tiêu bản giọt ép được thể hiện trên Hình 3.

Các chủng C1, C2, C3 đều có dạng hình cầu, xếp đơn đôi, hoặc kết thành chuỗi dài và không di động. Chủng C4 có dạng hình cầu, hình tròn, xếp đơn đôi, không di động. Chủng C5 có dạng hình que, đứng riêng rẽ, hoặc kết thành chuỗi dài, không di động.



Hình 3. Hình thái tế bào của các chủng vi sinh vật quan sát dưới kính hiển vi quang học độ phóng đại 600 lần

Đối với phương pháp nhuộm Gram đã cho kết quả: Các chủng C1, C2, C3, C4 là vi khuẩn gram dương vì bắt màu tím, chủng C5 là vi khuẩn gram âm vì bắt màu hồng.

3.1.3. Khảo sát một số hoạt tính enzyme của các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn

Trong nước thải sản xuất cồn thường giàu các hợp chất hữu cơ như đường, tinh bột, protein, cellulose, khoáng, ... Do đó, để làm sạch nguồn nước này thì các loài vi sinh vật phải có khả năng phân hủy được các chất hữu cơ đó, nghĩa là chúng có khả năng sinh tổng hợp các enzyme tương ứng. Trong nghiên cứu này, ba hoạt tính enzyme amylase, cellulase và protease của các chủng vi sinh vật đã được khảo sát.

Xác định hoạt tính amylase, cellulase và protease trên môi trường đặc hiệu có chứa 1% cơ chất tương ứng là tinh bột, carboxymethyl cellulose (CMC) và casein. Hoạt lực enzyme được xác định bằng đường kính vòng thủy phân trên các môi trường tương ứng thông qua việc đo đường kính vòng thủy phân của khuẩn lạc (D) và đường kính của khuẩn lạc (d). Giá trị D - d càng lớn cho kết quả định tính về khả năng sinh tổng hợp enzyme càng cao. Kết quả được trình bày trong Bảng 1, Bảng 2 và Bảng 3.

Bảng 1. Kết quả thử nghiệm khả năng sinh tổng hợp amylase của các chủng vi khuẩn trên môi trường thạch - cao thịt - pepton - tinh bột tan

Chủng vi khuẩn	Khuẩn lạc	Kết quả đo			D - d trung bình (cm)
		D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	
C1	1	1,4	0,2	1,2	1,13
	2	1,5	0,3	1,2	
	3	1,2	0,2	1,0	
C2	1	1,0	0,2	0,8	0,93
	2	1,5	0,3	1,2	
	3	1,1	0,3	0,8	
C3	1	1,4	0,3	1,1	1,10
	2	1,4	0,3	1,1	
	3	1,3	0,3	1,0	
C4	1	0,5	0,3	0,2	0,20
	2	0,7	0,4	0,3	
	3	0,5	0,4	0,1	
C5	1	1,0	0,3	0,7	0,83
	2	1,1	0,3	0,8	
	3	1,4	0,4	1,0	

Bảng 2. Kết quả thử nghiệm khả năng sinh tổng hợp cellulase của các chủng vi khuẩn trên môi trường thạch - cao thịt - pepton - CMC

Chủng vi khuẩn	Khuẩn lạc	Kết quả đo			D - d trung bình (cm)
		D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	
C1	1	0,9	0,3	0,6	0,70
	2	1,0	0,2	0,8	
	3	1,0	0,3	0,7	
C2	1	1,1	0,3	0,8	0,73
	2	1,0	0,2	0,8	
	3	0,9	0,3	0,6	
C3	1	1,4	0,5	0,9	0,80
	2	1,3	0,5	0,8	
	3	1,0	0,3	0,7	
C4	1	0,6	0,4	0,2	0,20
	2	0,6	0,3	0,3	
	3	0,5	0,4	0,1	
C5	1	1,3	0,3	1,0	0,93
	2	1,1	0,2	0,9	
	3	1,1	0,2	0,9	

Bảng 3. Kết quả thử nghiệm khả năng sinh tổng hợp protease của các chủng vi khuẩn trên môi trường thạch - cao thịt - pepton - casein

Chủng vi khuẩn	Khuẩn lạc	Kết quả đo			D - d trung bình (cm)
		D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	
C1	1	0,4	0,3	0,1	0,13
	2	0,5	0,3	0,2	
	3	0,3	0,2	0,1	
C2	1	0,4	0,3	0,1	0,10
	2	0,3	0,2	0,1	
	3	0,3	0,2	0,1	
C3	1	0,7	0,5	0,2	0,23
	2	0,6	0,4	0,2	
	3	0,7	0,4	0,3	

Chủng vi khuẩn	Khuẩn lạc	Kết quả đo			D - d trung bình (cm)
		D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	
C4	1	1,2	0,4	0,8	0,83
	2	1,3	0,3	1,0	
	3	1,2	0,5	0,7	
C5	1	0,4	0,3	0,1	0,10
	2	0,3	0,2	0,1	
	3	0,4	0,3	0,1	

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các chủng C1, C2, C3, C5 đều có hoạt tính amylase, cellulase mạnh, còn hoạt tính protease yếu. Trong đó, chủng C1 có hoạt tính sinh tổng hợp amylase mạnh nhất, chủng C5 có hoạt tính sinh tổng hợp cellulase mạnh nhất. Do đó, khi sử dụng các chủng này vào xử lý nước thải chúng có khả năng phân giải mạnh các hợp chất hữu cơ giàu tinh bột, cellulose. Chủng C4 có hoạt tính protease mạnh nhất, còn hoạt tính amylase, cellulase yếu hơn nên nó có khả năng phân giải mạnh các hợp chất hữu cơ giàu protein trong nước thải. Khi sử dụng các chủng này vào xử lý nước thải nên kết hợp các chủng có hoạt tính mạnh, vì khi đó sẽ tạo thành một phức hệ vi khuẩn có hoạt tính enzyme bổ sung nhau để phân giải nhanh các hợp chất hữu cơ trong nước thải, nhằm nâng cao hiệu quả xử lý.

Từ các kết quả trên, ba chủng C1, C4 và C5 được chọn để nghiên cứu các phần tiếp theo.

3.1.4. Khảo sát động thái sinh trưởng của các chủng vi sinh vật đã chọn

Khảo sát động thái sinh trưởng nhằm xác định thời điểm sinh trưởng và phát triển cực đại của các chủng vi khuẩn đã chọn trong mỗi điều kiện thích hợp. Từ đó xác định được thời gian nhân giống thích hợp để thu nhận sinh khối đưa vào các hệ thống xử lý nước thải nhằm đảm bảo các tế bào vi khuẩn đang ở độ tuổi sinh lý ở thời gian sinh trưởng tốt nhất, có hoạt tính cao nhất giúp phân hủy nhanh các hợp chất hữu cơ trong nước thải, nâng cao hiệu quả xử lý.

Để khảo sát động thái sinh trưởng của các chủng vi sinh vật đã tuyển chọn, môi trường cao thịt - pepton đã được sử dụng. Vi sinh vật được nuôi trong môi trường dịch thể trong các bình tam giác 250 ml, mỗi bình chứa 150 ml môi trường (1 ống giống gốc/bình tam giác). Mỗi chủng vi khuẩn tiến hành khảo sát trong hai điều kiện đó là nuôi trong điều kiện tĩnh (yếm khí) và nuôi trên máy lắc (hiếu khí).

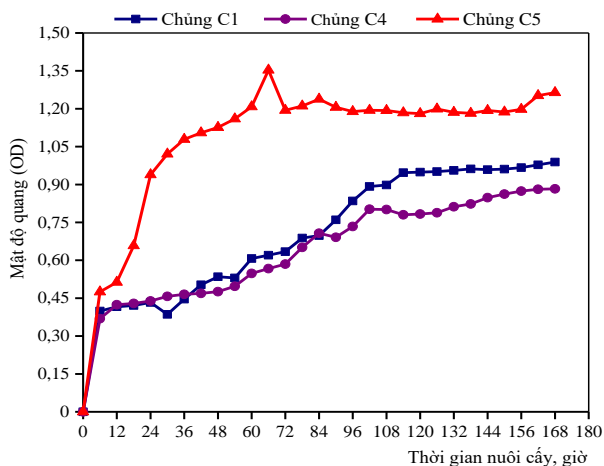
Sau mỗi thời gian 6 giờ lấy mẫu và đo mật độ quang (OD) của các mẫu tại bước sóng hấp thụ 620 nm bằng máy quang phổ kế UV-VIS DR/4000U. Kết quả được biểu diễn trên Hình 4 và Hình 5.

Khi nuôi các chủng vi khuẩn trong điều kiện tĩnh (yếm khí) thì mật độ tế bào tăng chậm (sự sinh trưởng tăng rất chậm) và kéo dài thời gian. Mật độ tế bào các chủng C1 và C4 tăng chậm liên tục sau 126 giờ nuôi cấy. Mật độ tế bào chủng C5 đạt cao nhất sau 66 giờ nuôi cấy sau đó giảm dần.

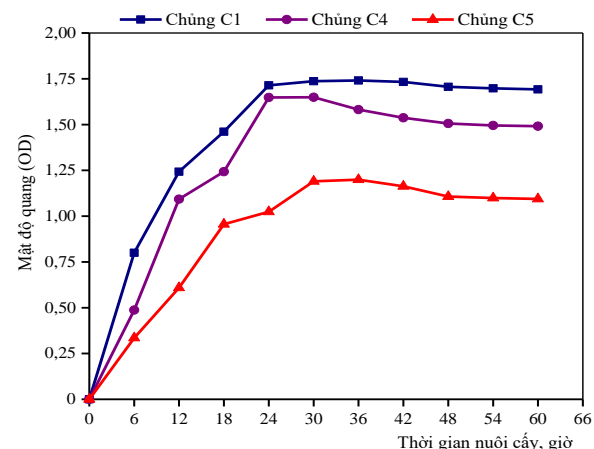
Trong điều kiện hiếu khí thì mật độ tế bào tăng nhanh. Mật độ tế bào các chủng C1 và C5 đạt cao nhất sau 36 giờ nuôi cấy sau đó giảm dần. Mật độ tế bào chủng C4 đạt cao nhất sau 30 giờ nuôi cấy sau đó giảm dần.

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy, các chủng này đều thuộc chủng vi khuẩn hiếu khí tùy tiện. Chủng C1 và C4

sinh trưởng và phát triển trong điều kiện hiếu khí mạnh hơn trong điều kiện yếm khí. Chủng C5 sinh trưởng và phát triển mạnh trong điều kiện yếm khí. Khi nhân giống các chủng này trong điều kiện hiếu khí nên kết thúc ở thời điểm 30 - 36 giờ.



Hình 4. Động thái sinh trưởng của các chủng vi khuẩn trong điều kiện nuôi cấy tĩnh theo thời gian



Hình 5. Động thái sinh trưởng của các chủng vi khuẩn trong điều kiện nuôi trên máy lắc theo thời gian

3.2. Nghiên cứu xử lý hiếu khí nước thải với bùn hoạt tính

3.2.1. Thành phần và tính chất nước thải sản xuất cồn

Kết quả khảo sát thành phần và tính chất nước thải sản xuất cồn được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Thành phần và tính chất nước thải sản xuất cồn

Thông số	Đơn vị	Giá trị	Quy chuẩn thải (*)
pH	-	4,51 - 6,29	5,5 - 9
Nhiệt độ	$^{\circ}\text{C}$	25,1 - 30,5	40
Chất rắn lơ lửng (SS)	mg/l	198 - 355	100
COD	mg/l	2840 - 4123	150
BOD ₅ (20 $^{\circ}\text{C}$)	mg/l	985 - 2584	50
Tổng nitơ	mg/l	45	40
Tổng photpho	mg/l	7,1	6

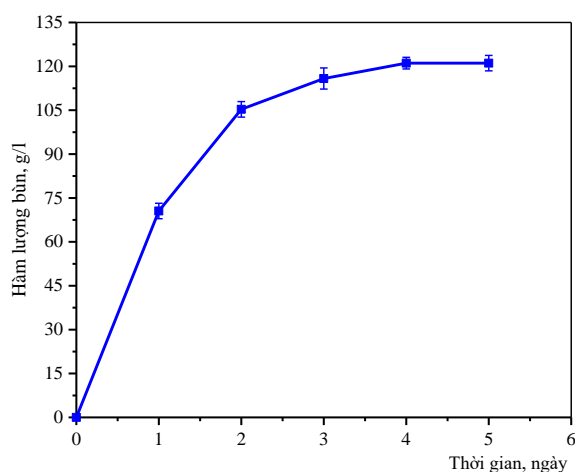
Ghi chú: (*) Cột B theo QCVN 40:2011/BTNMT, Quy định các thông số ô nhiễm trong nước thải công nghiệp khi xả vào nguồn nước không dùng cho mục đích cấp nước sinh hoạt.

Qua Bảng 4 có thể thấy, hàm lượng các chất ô nhiễm trong nước thải sản xuất còn đều khá cao, vượt quá quy chuẩn cho phép nhiều lần. Hàm lượng chất rắn lơ lửng cao hơn quy chuẩn từ 1,98 đến 3,55 lần, COD cao hơn quy chuẩn từ 18,93 đến 27,49 lần, BOD₅ cao hơn quy chuẩn từ 19,70 đến 51,68 lần. Hàm lượng tổng nitơ, tổng photpho trong nước thải cũng cao hơn quy chuẩn cho phép. Do đó, nước thải sản xuất còn phải được xử lý làm sạch sao cho đảm bảo đạt quy chuẩn cho phép trước khi thải ra môi trường. Nước thải sản xuất còn có hàm lượng chất hữu cơ dễ phân hủy sinh học cao nên phù hợp với xử lý bằng phương pháp sinh học.

3.2.2. Nghiên cứu sự tạo thành bùn hoạt tính từ nước thải sản xuất còn

Các chủng vi khuẩn thuần khiết được sử dụng trong thực nghiệm là C1, C4 và C5. Chuẩn bị dịch giống tiến hành như sau: giống từ các ống nghiệm thạch nghiêng được cấy vào môi trường cao thịt - pepton trong các bình tam giác 250 ml (150 ml môi trường/1 bình), nuôi trên máy lắc ngang trong thời gian 36 giờ ở nhiệt độ phòng. Dịch giống thu được từ ba chủng này sau đó sẽ bổ sung đồng thời vào các mẫu thí nghiệm tạo bùn hoạt tính, vì khi đó sẽ tạo thành một hệ vi sinh vật có đầy đủ các hoạt tính cần thiết để ứng dụng vào xử lý nước thải.

Thí nghiệm về quá trình tạo bùn hoạt tính được tiến hành trên 3 mẫu song song trong các thùng có sục khí. Môi trường là nước thải sản xuất còn, thể tích mỗi mẫu thí nghiệm là 5 lít với tỷ lệ dịch giống bổ sung 15% so với tổng lượng nước thải và dịch giống. Sục khí liên tục với lưu lượng 5040 ml/phút. Lấy mẫu và xác định lượng bùn tạo thành sau mỗi 24 giờ. Kết quả thể hiện trên Hình 6.



Hình 6. Lượng bùn hoạt tính tạo thành theo thời gian

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong khoảng 2 ngày đầu tiên lượng sinh khối bùn tăng lên rất nhanh, đến ngày thứ 3 lượng sinh khối bùn bắt đầu tăng chậm và ngày thứ 4, thứ 5 thì lượng bùn hầu như không tăng.

Chiều hướng này có thể do trong 2 ngày đầu tiên khi cho các giống vi khuẩn vào, lúc này trong môi trường rất giàu hàm lượng chất hữu cơ, nên các chủng vi khuẩn sẽ sử dụng nguồn cơ chất này để sinh trưởng và phát triển, sự trao đổi chất giữa tế bào vi khuẩn và môi trường diễn ra rất mạnh. Tế bào vừa sinh sản, vừa tăng sinh khối nên đã làm cho sinh

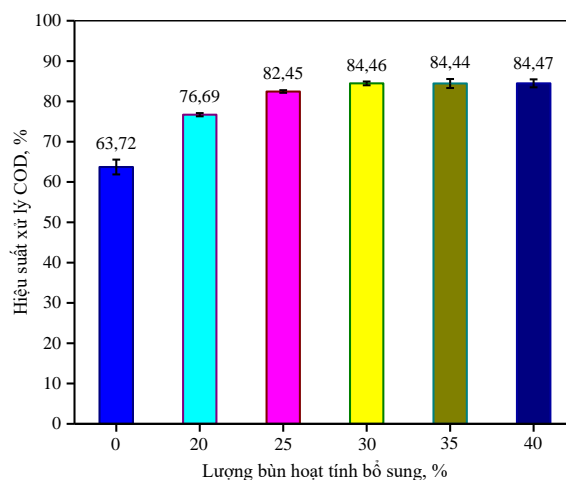
khối bùn tăng lên rất nhanh. Đến ngày thứ 3 thì nguồn cơ chất trong môi trường nuôi cấy bắt đầu giảm, quá trình sinh trưởng và phát triển chậm lại, nên sinh khối tăng chậm và sang ngày thứ 4, thứ 5 khi mà lượng cơ chất trong môi trường giảm đi một cách rõ rệt, các chất tạo ra do quá trình trao đổi chất được tích lũy trong môi trường nhiều. Giai đoạn này các chủng vi khuẩn ở trạng thái cân bằng động, tổng số tế bào mới sinh ra gần bằng tổng số tế bào chết đi. Do đó, lượng sinh khối hầu như không tăng nữa.

Do vậy, khi nhân giống tạo sinh khối bùn để đưa vào hệ thống xử lý nước thải nên kết thúc ở giai đoạn cuối ngày thứ 2 (khoảng 48 giờ), vì kết thúc ở thời điểm này các tế bào có khả năng hoạt động mạnh, khi đưa vào hệ thống xử lý sẽ phân hủy nhanh các hợp chất hữu cơ trong nước thải, nâng cao hiệu quả xử lý.

3.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của lượng bùn hoạt tính bổ sung đến hiệu suất xử lý hiệu khí nước thải sản xuất còn

Hiệu suất xử lý nước thải sản xuất còn có thể được đánh giá thông qua giá trị nhu cầu oxy hóa học (COD), bởi vì giá trị COD phản ánh đầy đủ về tổng lượng các chất hữu cơ trong nước thải bị oxy hóa, bao gồm các chất hữu cơ bị oxy hoá bằng vi sinh vật, không thể bị oxy hoá bằng vi sinh vật và một phần chất hữu cơ tiêu hao để tạo nên tế bào vi sinh mới. Do đó, giá trị này là một trong những thông số thường được sử dụng để xác định hiệu suất xử lý nước thải giàu hợp chất hữu cơ.

Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện hàm lượng chất hữu cơ ban đầu theo COD trong khoảng 2840 - 4123 mg/l, thời gian sục khí 30 giờ, lưu lượng sục khí 4320 ml/phút và lượng bùn hoạt tính bổ sung của mỗi thí nghiệm lần lượt là 20%, 25%, 30%, 35%, 40% so với tổng lượng nước thải và lượng bùn hoạt tính trong bể xử lý. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 2 lần. Hiệu suất xử lý COD của nước thải được thể hiện trên Hình 7.



Hình 7. Hiệu suất xử lý COD của nước thải ứng với lượng bùn hoạt tính bổ sung khác nhau

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi thay đổi lượng bùn hoạt tính bổ sung vào nước thải xử lý thì trong điều kiện lượng bùn hoạt tính bổ sung 20% cho hiệu suất xử lý COD thấp nhất, đạt 76,69%, với lượng bùn hoạt tính 30%, 35% và 40% thì cho hiệu suất xử lý COD cao, đạt tương ứng 84,46%, 84,44% và 84,47%. Trường hợp không bổ sung bùn hoạt

tính, hiệu suất xử lý chỉ đạt 63,72%. Do vậy, nên chọn lượng bùn hoạt tính bổ sung 30% là thích hợp. Bởi vì, nếu lượng bùn bổ sung quá nhiều sẽ ảnh hưởng đến việc thiết kế chế tạo các bể xử lý, làm tăng dung tích bể, tăng vốn đầu tư, hơn nữa hiệu suất xử lý COD tăng không đáng kể.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập, tuyển chọn được 3 chủng vi khuẩn trong nước thải sản xuất cồn có hoạt tính enzyme amylase, cellulase và protease cao để ứng dụng vào xử lý nước thải sản xuất cồn. Đây là các chủng vi khuẩn hiếu khí tùy tiện, trong điều kiện yếm khí chúng sinh trưởng và phát triển chậm, kéo dài thời gian. Nhưng trong điều kiện hiếu khí chúng sinh trưởng và phát triển rất nhanh, có mật độ tế bào đạt cao nhất sau 30 - 36 giờ nuôi cấy.

Kết quả nghiên cứu đã chỉ rằng, quá trình tạo bùn hoạt tính từ các chủng vi khuẩn tuyển chọn để xử lý hiếu khí nước thải sản xuất cồn được thực hiện với thời gian nhân giống trong các bình tam giác 250 ml ở phòng thí nghiệm khoảng 36 giờ, nhân giống trong các bể lớn hơn để tạo đủ lượng bùn hoạt tính đưa vào xử lý khoảng 48 giờ cho mỗi cấp nhân giống.

Xử lý hiếu khí nước thải sản xuất cồn có bổ sung bùn hoạt tính của các chủng vi khuẩn đã chọn cho hiệu suất xử lý COD cao hơn so với xử lý không bổ sung bùn.

TAI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Lương Đức Phẩm, *Công nghệ xử lý nước thải bằng biện pháp sinh học*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội, 2003.
- [2] Nguyễn Lân Dũng (chủ biên), Phạm Thị Trân Châu, *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật tập 1, tập 2, tập 3*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1978.
- [3] Jain N., Nanjundaswamy C., Minocha A.K., Verma C.L., "Isolation, screening and identification of bacterial strains for degradation of predigested distillery wastewater", *Indian Journal of Experimental Biology*, 39(5), 2001, 490-492.
- [4] APHA, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation, Washington DC, USA, 2005.
- [5] Balku S., "Comparison between alternating aerobic - anoxic and conventional activated sludge systems", *Water Research*, 41(10), 2007, 2220-2228.
- [6] Chachuat B., Roche N., Latifi M.A., "Optimal aeration control of industrial alternating activated sludge plants", *Biochemical Engineering Journal*, 23(3), 2005, 277-289.

(BBT nhận bài: 07/8/2019, hoàn tất thủ tục phân biên: 10/5/2020)