

NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM SINH HỌC XỬ LÝ NƯỚC THẢI SINH HOẠT ĐÔ THỊ HÀ NỘI

Đào Thị Hồng Vân¹, Nguyễn Văn Cách², Đặng Thị Thu²

TÓM TẮT

Hai chủng vi khuẩn *Bacillus licheniformis* A6, *Bacillus subtilis* L6 có hoạt tính phân hủy đồng thời các hợp chất hữu cơ (protein, tinh bột, lipid), không cạnh tranh và ức chế lẫn nhau được sử dụng để tạo chế phẩm xử lý nước thải sinh hoạt. Điều kiện lên men các chủng này được xác định là: môi trường rỉ đường (20 g rỉ đường + cao nấm men 10 g + CaCO₃ 1 g)/1 lít; pH: 7; nhiệt độ: 30°C, thời gian: 36 giờ, tỷ lệ cấp giống: 7%, lưu lượng không khí cấp: 0,75 dm³ không khí/lít môi trường/phút. Chế phẩm được tạo ra gồm có hai chủng vi khuẩn A6, L6 và chất mang vô cơ. Mật độ tế bào vi khuẩn trong chế phẩm đối với mỗi chủng đạt $\geq 10^9$ CFU/g, thời gian sử dụng chế phẩm tốt nhất là 3 tháng sau khi sản xuất. Bước đầu ứng dụng chế phẩm ở quy mô phòng thí nghiệm bằng xử lý gián đoạn nước thải, chỉ trong 3 ngày xử lý, hàm lượng COD trong nước thải đã giảm được 65,7%; bằng xử lý liên tục sau 5 ngày, COD giảm được 67,1%.

Từ khóa: Chế phẩm sinh học, vi khuẩn phân hủy hữu cơ, xử lý nước thải, COD.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một trong những quốc gia đang phải đối mặt với thực trạng ô nhiễm môi trường nghiêm trọng, đặc biệt là ô nhiễm môi trường nước thải sinh hoạt đô thị. Nguyên nhân do lượng nước thải ở các đô thị quá lớn mà hệ thống xử lý lại quá ít, vì vậy nước thải sinh hoạt phần lớn không được xử lý mà thải thẳng ra các hệ thống thoát nước, sau đó chảy ra các con sông. Hầu hết các con sông ở đồng bằng đều mất hoàn toàn khả năng tự làm sạch, do hàng ngày phải tiếp nhận một lượng nước thải lớn chưa qua xử lý. Số liệu quan trắc của nhóm tác giả tại một số con sông trên địa bàn Hà Nội cho thấy các chỉ tiêu đánh giá ô nhiễm hữu cơ, vô cơ, *coliform* hầu hết đều vượt quá quy chuẩn quốc gia về chất lượng nước mặt (QCVN 08:2008/BTNMT) [4]. Trong đó, ô nhiễm gây nên bởi các hợp chất hữu cơ (xác định thông qua hàm lượng COD và BOD₅) là chủ yếu và vượt xa quy chuẩn này. Việc nghiên cứu đưa ra các giải pháp công nghệ nhằm giúp xử lý nước thải sinh hoạt ở các đô thị là hết sức cần thiết.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu:

2 chủng vi khuẩn có hoạt tính phân hủy đồng thời các chất hữu cơ (protein, tinh bột, lipid) được

phân lập từ mẫu nước sông Kim Ngưu, Tô Lịch, bao gồm: *Bacillus licheniformis* A6, *Bacillus subtilis* L6.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định COD: TCVN 6491:1999 (ISO 6060:1989).

Phương pháp xác định BOD₅: TCVN 6001: 1995.

- Phương pháp xác định mật độ tế bào [2]:

+ Pha loãng mẫu.

+ Mẫu đã pha loãng được cấy trên trang trên đĩa petri có chứa các môi trường tương ứng.

+ Các đĩa thạch sau khi cấy được ủ ở nhiệt độ 28 - 30°C trong vòng 24 giờ.

+ Tiến hành đếm số lượng khuẩn lạc tạo thành trên đĩa thạch và tính toán số lượng vi sinh vật có trong 1 ml mẫu theo công thức:

$$\text{CFU/ml (g)} = A \times 1/K \times 1/V$$

A: Số khuẩn lạc trung bình xuất hiện trên đĩa petri có cùng độ pha loãng;

V: Thể tích dịch pha loãng trang trên mỗi đĩa (ml);

K: Độ pha loãng của dịch được cấy.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kiểm tra sự tương hỗ của hai chủng vi khuẩn thí nghiệm

Hai chủng vi khuẩn *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6 được sử dụng trong nghiên cứu này là các

¹Khoa Công nghệ Sinh học, Viện Đại học Mở Hà Nội

²Viện Công nghệ Sinh học và CNTP, Trường ĐH Bách khoa Hà Nội

chúng có hoạt tính phân hủy đồng thời các hợp chất hữu cơ (protein, tinh bột, lipid) trong nước thải sinh hoạt đô thị. Chính vì vậy, đã sử dụng đồng thời cả hai chủng này để tạo chế phẩm.

Vấn đề đặt ra là các chủng vi khuẩn được sử dụng đồng thời trong một chế phẩm phải là các chủng không cạnh tranh hoặc ức chế lẫn nhau. Kết quả đánh giá tương hỗ của hai chủng *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6 được thể hiện trong hình 1.



Hình 1. Khả năng phát triển của 2 chủng *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6 trên cùng 1 đĩa môi trường

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sự phát triển của chủng A6 và L6

Thời gian (giờ)	Môi trường LB (CFU/ml)		Môi trường rỉ đường (CFU /ml)		Môi trường nước chiết đậu (CFU/ml)	
	A6	L6	A6	L6	A6	L6
0	$6,1 \times 10^4$	$5,8 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$	$5,2 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$
12	$2,3 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$8,7 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$6,1 \times 10^6$	$8,2 \times 10^6$
24	$7,9 \times 10^7$	$8,6 \times 10^7$	$8,1 \times 10^7$	$9,2 \times 10^7$	$5,9 \times 10^7$	$7,4 \times 10^7$
36	$2,4 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$	$7,4 \times 10^8$	$6,9 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$0,2 \times 10^8$
48	$7,4 \times 10^8$	$8,6 \times 10^8$	$11,2 \times 10^8$	$11,3 \times 10^8$	$9,5 \times 10^8$	$9,1 \times 10^8$
60	$3,3 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$8,1 \times 10^8$	$8,5 \times 10^8$	$5,7 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$

Nhìn chung, cả hai chủng A6 và L6 đều phát triển tốt trên cả 3 môi trường thí nghiệm. Sau 48 giờ nuôi cấy, mật độ tế bào vi khuẩn đạt từ $7,4 \times 10^8$ - $11,2 \times 10^8$ CFU/ml đối với chủng A6 và $8,6 \times 10^8$ - $11,3 \times 10^8$ CFU/ml đối với chủng L6. Tuy nhiên, với môi trường cơ chất tự nhiên là rỉ đường (rỉ đường + cao nấm men + CaCO_3) và nước chiết đậu (nước chiết đậu + sacaroza + NaCl) thì tốc độ sinh trưởng của hai chủng này mạnh hơn trên môi trường LB. Điều đó chứng tỏ chất kích thích sinh trưởng trong rỉ đường và nước chiết đậu có tác động tốt đến sự phát triển của vi sinh vật. Trong môi trường dinh dưỡng rỉ đường, hai chủng A6 và L6 phát triển tốt nhất; do đó đã chọn môi trường rỉ đường để lên men ở quy mô lớn hơn.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của các chủng nghiên cứu

STT	Chủng vi khuẩn	Nhiệt độ (°C)						
		20	25	30	35	40	45	50
1	A6	$2,8 \times 10^6$	$4,8 \times 10^8$	$1,4 \times 10^9$	$5,4 \times 10^7$	$4,2 \times 10^6$	$2,9 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$
2	L6	$4,9 \times 10^7$	$7,6 \times 10^8$	$1,8 \times 10^9$	$2,8 \times 10^7$	$4,1 \times 10^7$	$1,8 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$

(Ghi chú: A6: *B. licheniformis* A6, L6: *B. subtilis* L6)

Qua hình 1 cho thấy, ở các điểm giao nhau giữa các đường rìa cấy của chủng *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6 hai chủng này vẫn phát triển tốt, điều này có nghĩa là hai chủng nghiên cứu không cạnh tranh cũng như ức chế lẫn nhau. Kết quả này cho phép sử dụng đồng thời hai chủng *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6 để sản xuất chế phẩm xử lý nước thải có khả năng phân giải hợp chất hữu cơ.

2. Điều kiện lên men các chủng vi khuẩn *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6

a. Lựa chọn môi trường lên men

Hai chủng *B. licheniformis* A6 và *B. subtilis* L6 được tăng sinh trong các môi trường: LB, rỉ đường nước chiết đậu. Mật độ tế bào vi khuẩn được xác định theo thời gian nuôi cấy; kết quả thể hiện ở bảng 1.

Cũng từ kết quả ở bảng 1 cho thấy, nuôi cấy trong môi trường rỉ đường, mật độ các chủng thí nghiệm đạt giá trị cực đại tại thời điểm sau 48 giờ nuôi cấy. Vì vậy, từ kết quả nghiên cứu này, đã lựa chọn mốc thời gian lên men vi khuẩn là 48 giờ.

b. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến lên men thu sinh khối

Khi nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ môi trường nuôi cấy, đã tiến hành với các mức nhiệt độ là 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50°C và lắc 150 vòng/phút. Sau 48h, xác định khả năng phát triển của chúng thông qua mật độ tế bào trong sinh khối. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ môi trường nuôi đến sự phát triển của chủng ở bảng 2 cho thấy cả 2 chủng tuyển chọn đều phát triển được trong khoảng nhiệt độ từ 20-50°C, trong đó, khoảng nhiệt độ thích hợp là từ 25-40°C. Ở 30°C, mật độ tế bào đạt cao nhất, có nghĩa là nhiệt độ nuôi cấy 30°C là nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển thu sinh khối của các vi sinh vật này. Có thể nói, đặc tính này của các chủng vi khuẩn phù hợp với điều kiện khí hậu nước ta. Khi vi sinh vật phát triển tốt thì khả năng sinh enzym chuyển hóa cơ chất sẽ cao hơn.

Bảng 3. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sự phát triển của các chủng vi khuẩn nghiên cứu

STT	Chủng vi khuẩn	pH				
		5	6	7	8	9
1	A6	$1,8 \times 10^6$	$5,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^9$	$6,0 \times 10^7$	$9,2 \times 10^6$
2	L6	$4,2 \times 10^6$	$9,6 \times 10^7$	$1,2 \times 10^9$	$8,2 \times 10^7$	$5,4 \times 10^6$

(Ghi chú: A6: *B. licheniformis* A6, L6: *B. subtilis* L6)

Từ kết quả ở bảng 3 thấy, 2 chủng vi khuẩn nghiên cứu đều phát triển được trong dải pH từ 5 đến 9. Trong đó, khả năng sinh trưởng đạt mức cao ở vùng pH trung tính (pH 6 – 8). Căn cứ vào mật độ tế bào trong sinh khối, đã xác định được pH tối ưu cho các chủng A6, L6 là pH 7. Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu của Andren D. Eaton và Nguyễn Văn Cách đã công bố [1, 5].

d. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống

Trong thí nghiệm này, các tỷ lệ tiếp giống vào bình lên men là 3, 5, 7, 10%, thời gian tăng sinh là 48 giờ, pH môi trường là 7, nhiệt độ 30°C. Kết quả thu được như sau (Bảng 4):

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống đến lên men thu sinh khối

STT	Chủng vi khuẩn	Tỷ lệ tiếp giống (%)			
		3	5	7	10
1	A6	$2,7 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$1,25 \times 10^9$	$8,4 \times 10^8$
2	L6	$6,1 \times 10^8$	$8,7 \times 10^8$	$1,48 \times 10^9$	$8,5 \times 10^8$

(Ghi chú: A6: *B. licheniformis* A6, L6: *B. subtilis* L6)

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, sinh khối lên men tăng khi tỷ lệ tiếp giống ban đầu tăng từ 3 đến 7%, nhưng khi tăng tỷ lệ tiếp giống lên 10% thì lượng sinh khối lại giảm. Căn cứ vào kết quả nghiên cứu thu được đã lựa chọn tỷ lệ tiếp giống ban đầu là 7% để lên men ở quy mô sản xuất chế phẩm.

e. Ảnh hưởng của tốc độ cấp khí

c. Ảnh hưởng của pH môi trường đến lên men thu sinh khối

Để nghiên cứu ảnh hưởng của pH môi trường đến sự phát triển của các chủng vi khuẩn đã được tuyển chọn đã tiến hành nuôi cấy các chủng này ở các môi trường đã được xác định ở nghiên cứu trước, tại nhiệt độ 30°C, 48h, các pH môi trường là 5, 6, 7, 8, 9. Kết quả là đã xác định được khả năng thích nghi với yếu tố pH và được trình bày trong bảng 3.

Để nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ cấp khí đến sự phát triển của chủng trong bình lên men 5 lít (thể tích môi trường 3 lít), đã thay đổi lượng khí được cấp từ 0,25-1,0 v/v/p (thể tích khí/thể tích dịch/phút). Kết quả thí nghiệm trình bày trong bảng 5.

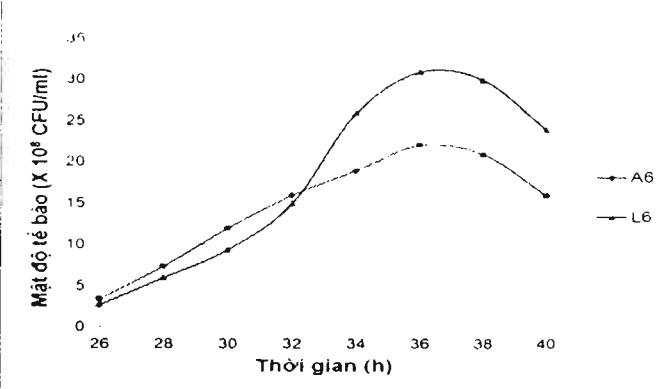
Bảng 5. Ảnh hưởng của tốc độ cấp khí đến khả năng lên men của các chủng nghiên cứu

TT	Chủng vi khuẩn	Tốc độ cấp khí (v/v/p)			
		0,25	0,5	0,75	1
1	A6	$5,7 \times 10^7$	$2,1 \times 10^8$	$1,8 \times 10^9$	$5,3 \times 10^8$
2	L6	$5,2 \times 10^7$	$6,0 \times 10^8$	$2,7 \times 10^9$	$7,3 \times 10^8$

(Ghi chú: A6: *B. licheniformis* A6, L6: *B. subtilis* L6)

Như vậy, lượng không khí cần cấp cho quá trình lên men chủng A6 và L6 là 0,75 v/v/p.

f. Xác định thời gian lên men thu sinh khối



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian đến quá trình lên men của hai chủng A6, L6

Để theo dõi sự phát triển của các chủng trong bình lên men và xác định được thời gian lên men đạt sinh khối lớn nhất, đã lên men các chủng A6, L6 với các điều kiện đã tối ưu đã được xác định ở trên: nhiệt độ 30°C, pH = 7, tốc độ cấp khí 0,75 v/v/p. Mật độ tế bào được xác định liên tục trong suốt quá trình lên men.

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian lên men đến sự phát triển của chủng A6, L6 ở hình 2 cho thấy: Ở thời gian đầu của quá trình lên men thì hàm lượng sinh khối tăng tỷ lệ thuận với thời gian lên men và đạt cực đại ở 36 giờ, sau đó mật độ sinh khối lại giảm. Nguyên nhân là do sau 36 giờ sử dụng nguồn dinh dưỡng trong môi trường để phát triển thì hàm lượng dinh dưỡng đã bị giảm, tế bào tự phân và bị ức chế bởi các sản phẩm trao đổi chất tạo ra trong môi trường.

Như vậy, thời gian lên men để đạt mật độ tối đa trong thiết bị 5 lít ngắn hơn so với thí nghiệm nuôi cấy các chủng tuyển chọn trong bình tam giác là 12 giờ; kết quả này đã thể hiện tính ưu việt của việc cung cấp oxy trong quá trình tăng sinh vi khuẩn thông qua thiết bị sục khí chủ động.

Từ những kết quả nghiên cứu trên, đã đưa ra thông số lên men thu sinh khối vi sinh vật như sau:

Môi trường lên men: rỉ đường: (rỉ đường 20 g + cao nấm men 10 g + CaCO_3 1 g)/1 lít.

pH môi trường: 7.

Nhiệt độ lên men: 30°C.

Thời gian lên men: 36 giờ.

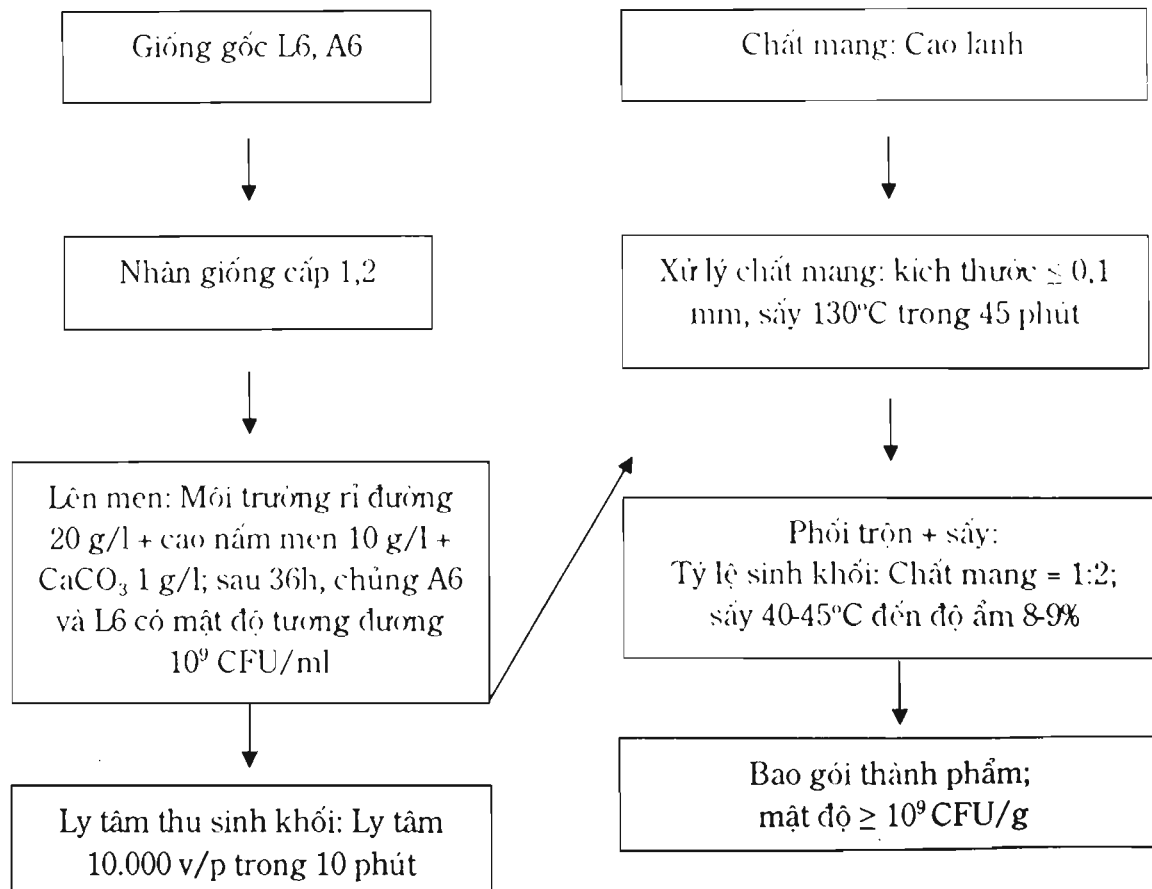
Tỷ lệ cấp giống: 7%.

Lưu lượng cấp không khí: 0,75 (lít không khí/lít môi trường/phút).

3. Kết quả tạo chế phẩm xử lý môi trường từ các chủng vi khuẩn nghiên cứu

Chất mang thường dùng để sản xuất chế phẩm sinh học xử lý nước thải là bentonit, diatomit, cao lanh...; là những chất vô cơ, có tác dụng như là giá bám cho vi sinh vật.

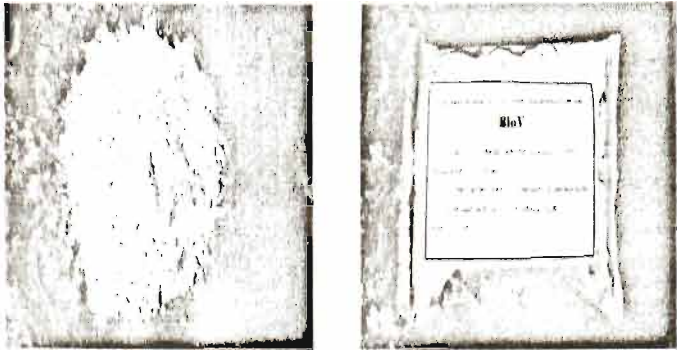
Cao lanh (công thức hóa học $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) phổ biến và rẻ tiền. Khi vào nước, chúng có tác dụng keo tụ các phần tử lơ lửng ở trong nước và không làm tăng mức độ ô nhiễm hữu cơ của nước thải. Do đó, chất mang cao lanh là lựa chọn trong nghiên cứu này.



Hình 3. Quy trình tạo chế phẩm xử lý nước thải

Sản phẩm sau khi sấy được bao gói trong các chất liệu polyetylen với khối lượng 100 g. Chế phẩm được đặt tên là BioV (Hình 3).

Xác định thời gian và nhiệt độ bảo quản chế phẩm là một trong những yếu tố quan trọng để tiến tới thương mại hóa chế phẩm. Chế phẩm được bảo quản ở nhiệt độ thường (27°C) và trong tủ lạnh (4°C). Kết quả theo dõi mật độ tế bào và hoạt tính của các chủng trong chế phẩm BioV được thể hiện ở bảng 6.



Hình 4. Chế phẩm BioV trước và sau bao gói

Bảng 6. Tỷ lệ sống sót và hoạt tính chủng trong chế phẩm sau thời gian bảo quản

Thông số xác định		Thời gian bảo quản (tháng)				
		0	1	2	3	4
Tỷ lệ chủng L6 sống sót (%)	27°C	100	99	98	95	93
	4°C	100	99	98	97	96
Tỷ lệ chủng A6 sống sót (%)	27°C	100	98	97	94	90
	4°C	100	99	98	96	92
Hoạt tính phân giải (D-d, mm)	Protein	59	58	55	52	51
	Tinh bột	53	52	52	50	47
	Lipit	34	33	33	30	28

Ghi chú: Hoạt tính xác định với mẫu bảo quản ở 27°C

Kết quả nghiên cứu ở bảng 6 cho thấy, sau 4 tháng bảo quản ở nhiệt độ 27°C và 4°C, tỷ lệ sống sót của cả hai chủng rất cao ($\geq 90\%$) và ở chủng L6 cao hơn chủng A6. Trong đó, bảo quản ở 27°C, tỷ lệ sống sót của tế bào thấp hơn ở 4°C nhưng không nhiều. Do đó, chỉ cần bảo quản chế phẩm BioV ở nhiệt độ thường.

4. Bước đầu sử dụng chế phẩm xử lý trong phòng thí nghiệm

Theo kết quả phân tích các chỉ số trong nước thải ở sông Tô Lịch và Kim Ngưu của Công ty TNHHNNMTV Thoát nước Hà Nội [3], hầu hết các chỉ số đều vượt ngưỡng cho phép, đặc biệt là hợp chất hữu cơ (biểu thị bằng hàm lượng BOD₅ và COD). Để đánh giá hiệu quả xử lý nước của chế phẩm BioV, đã tham khảo những kết quả nghiên cứu đã công bố của Nguyễn Văn Cách [1], khi xử lý nước thải ở chế độ tĩnh (không cung cấp khí) thì hiệu quả xử lý rất thấp và vì chế phẩm BioV được sản xuất từ các chủng vi khuẩn hiếu khí, do vậy, ở nghiên cứu này đã thử nghiệm xử lý nước thải theo chế độ có cấp khí.

Nước thải được sử dụng để xử lý thử nghiệm là nước thải sinh hoạt tại địa bàn xã Mỹ Trì – Từ Liêm và có kết quả phân tích chất lượng nước như sau (Bảng 7):

Bảng 7. Kết quả phân tích thành phần nước trước xử lý

Vị trí lấy mẫu	BOD ₅ (mg/l)	COD (mg/l)
Mỹ Trì, Từ Liêm	88,6±2,5	150,4±4,2

Kết quả ở bảng 7 cho thấy, nước thải sinh hoạt tại xã Mỹ Trì bị ô nhiễm bởi hợp chất hữu cơ: hàm lượng BOD₅ và COD xác định được đều trên mức quy định của quy chuẩn quốc gia về chất lượng nước mặt (QCVN 08:2008/BTNMT).

Để thử nghiệm vai trò xử lý hợp chất hữu cơ của chế phẩm, đã bổ sung chế phẩm vi sinh vật BioV chứa vi khuẩn *Bacillus licheniformis* A6 và *Bacillus subtilis* L6 vào nước thải. Quy mô xử lý là 80 lít (Lượng nước thải thực tế là 60 lít), bổ sung chế phẩm để nồng độ vi khuẩn đạt khoảng 10³ CFU/ml, có sục khí liên tục bằng máy sục 2 vòi (lượng không khí tương đương với 5,61 mg/l) và hoạt động theo mẻ (Gián đoạn) (Hình 5). Hiệu quả thí nghiệm được đánh giá thông qua hàm lượng COD vì chúng biểu thị cho tổng lượng hợp chất hữu cơ trong nước, bao gồm cả hợp chất hữu cơ dễ phân hủy sinh học.

Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng 8 cho thấy việc bổ sung chế phẩm BioV đã cải thiện rõ rệt hiệu quả xử lý chất hữu cơ trong nước thải. Chỉ trong 3 ngày xử lý, hàm lượng COD trong nước đã giảm được 65,7% (từ 150,4 xuống 51,6 mg/l). Trong khi đó, mẫu đối chứng không bổ sung chế phẩm, chỉ

sục khí để hoạt hóa hệ vi sinh vật bản địa nên hiệu quả xử lý kém (chỉ giảm 42% sau 3 ngày xử lý). Do vậy, việc bổ sung chế phẩm vào trong quá trình xử lý

là cần thiết để giảm thời gian và nâng cao hiệu suất xử lý.

Bảng 8. Thử nghiệm xử lý gián đoạn ở quy mô 80 lít

Chế độ thí nghiệm	Hàm lượng COD (mg/l)				Tỷ lệ giảm sau 3 ngày (%)
	Ban đầu	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	
Không bổ sung chế phẩm	150,4±4,16	145,1±2,74	112,5±1,26	87,4±0,76	42
Có bổ sung chế phẩm	150,4±4,16	133,6±1,21	92±0,58	51,6±0,87	65,7



Hình 5. Modul xử lý gián đoạn 80 lít



Hình 6. Modul xử lý liên tục 80 lít

Cũng theo kết quả thí nghiệm xử lý gián đoạn ở bảng 8, nhận thấy hiệu suất xử lý ở ngày thứ 1 rất thấp nhưng tăng dần vào các ngày tiếp theo. Điều đó chứng tỏ khi mới bổ sung chế phẩm vào thì vi sinh vật chưa kịp thích nghi với môi trường xử lý và theo thời gian vi sinh vật thích nghi dần nên hàm lượng COD giảm nhanh hơn. Do vậy, nếu được vận hành liên tục, thời gian hoạt hóa dài hơn, vi sinh vật thích nghi hoàn toàn với môi trường thì khả năng xử lý sẽ cao hơn.

Để khẳng định điều này, đã tiến hành xử lý liên tục ở quy mô 80 lít (lượng nước thải thực tế là 70 lít) (hình 6). Trong quá trình xử lý có cấp khí liên tục bằng máy sục 2 vòi (tương đương lượng oxy hòa tan trong nước khoảng 5,58 mg/l), thời gian lưu của nước là 8 giờ, bổ sung chế phẩm BioV 1 lần/ngày với lượng tương đương 10³ CFU/ml. Kết quả được thể hiện ở bảng 9.

Bảng 9. Thử nghiệm xử lý liên tục ở quy mô 80 l

Chế độ xử lý	Hàm lượng COD (mg/l)				Tỷ lệ giảm sau 5 ngày (%)
	Ban đầu	Ngày 2	Ngày 4	Ngày 5	
Không bổ sung chế phẩm	147,9±1,52	128,8±1,0	87,2±0,6	68,0±0,5	54
Có bổ sung chế phẩm	147,9±1,52	115,6±0,9	60,5±0,7	48,7±0,54	67,1

Như vậy, khi ứng dụng xử lý ở chế độ liên tục, chế phẩm BioV cũng có hiệu quả tốt. So với chế độ xử lý không bổ sung chế phẩm thì hiệu quả xử lý tăng lên rõ rệt, sau 5 ngày xử lý thì COD giảm được 67,1%, trong khi không bổ sung chế phẩm thì chỉ đạt 54%. Tuy nhiên, nếu đem so sánh kết quả nghiên cứu xử lý liên tục (Bảng 9) với kết quả xử lý gián đoạn (Bảng 8) chúng ta thấy thời gian xử lý liên tục dài hơn, phải mất tới 5 ngày lượng COD mới giảm xuống gần với mức tương đương 3 ngày ở xử lý gián đoạn. Nguyên nhân là do khi vừa mới bước vào xử lý liên tục tức là luôn luôn cho dòng nước thải đi vào và dòng thải đi ra nên hệ vi sinh vật trong bể xử lý cần

phải có nhiều thời gian hơn để thiết lập được mật độ cần thiết. Khi mật độ tế bào vi sinh vật trong bể xử lý chưa thích nghi được với môi trường và phát triển chưa đạt yêu cầu thì hiệu quả xử lý sẽ kém. Như vậy, hệ thống xử lý liên tục sẽ mất nhiều thời gian khởi động ban đầu hơn để đi vào ổn định; chỉ khi hệ thống đã đi vào hoạt động ổn định thì thời gian xử lý mới được rút ngắn và nâng cao hiệu quả xử lý.

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Hai chủng vi khuẩn *Bacillus licheniformis* A6, *Bacillus subtilis* L6 có khả năng phân hủy chất hữu cơ, không cạnh tranh và ức chế lẫn nhau.

- Điều kiện lên men thu sinh khối hai chủng A6, L6 là: môi trường rỉ đường (20 g rỉ đường + cao nấm men 10 g + CaCO_3 1 g), pH: 7, nhiệt độ: 30°C, thời gian: 36 giờ, tỷ lệ giống gốc: 7%, lưu lượng không khí cấp: 0,75 lít không khí/lít môi trường/phút.

Chế phẩm được tạo ra gồm có hai chủng vi khuẩn A6, L6 và chất mang cao lanh. Mật độ tế bào mỗi chủng vi khuẩn trong chế phẩm $\geq 10^9$ CFU/g. Sau 4 tháng bảo quản ở nhiệt độ thường, tỷ lệ sống sót của tế bào trong chế phẩm $\geq 90\%$ và hoạt tính tốt.

Bước đầu ứng dụng chế phẩm ở quy mô phòng thí nghiệm bằng xử lý gián đoạn nước thải, chỉ trong 3 ngày xử lý, hàm lượng COD trong nước đã giảm được 65,7%; bằng xử lý liên tục sau 5 ngày, COD giảm được 67,1%. Cần nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý để hoàn thiện quy trình xử lý nước thải và ứng dụng xử lý nước thải ở quy mô pilot để đánh giá chính xác hơn hiệu quả của chế phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Cách, 2010. *Báo cáo khoa học đề tài "Nghiên cứu ứng dụng công nghệ vi sinh và hệ thống thiết bị tiết kiệm năng lượng để xử lý nước thải sinh hoạt đô thị"*. Mã số KC.04.23/06-10.
2. Nguyễn Lân Dũng (người dịch), Egorov N. X., 1976. *Thực tập: Vi sinh vật học*. NXB Mir, Maxcova và Đại học THCN, Hà Nội.
3. Công ty TNHH NMTV Thoát nước Hà Nội, 2011. *Kết quả phân tích nước thải*. Tháng 1- 2011.
4. QCVN 08:2008/BTNMT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước mặt.
5. Andren D. Eaton, Awwa., 1995. *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. Amer. Pub. Health Ass., Washington, pp. 351-356.

PRODUCTION OF BIOPRODUCT FOR URBAN WASTEWATER TREATMENT IN HA NOI

Dao Thi Hong Van, Nguyen Van Cach, Dang Thi Thu

Summary

Two strains of *Bacillus licheniformis* A6 and *Bacillus subtilis* L6 capable of decomposing organic matter, not competitive or inhibit each other have been used in this research to create products for treatment of wastewater. Fermentation conditions for these strains have been identified as: medium fermentation include 20 g molasses, 10 g yeast extract, 1 g CaCO_3 per liter; pH: 7, temperature: 30°C, duration: 36 hours, ratio of the original cultivated bacterium: 7%, level of air flow: 0.75 (v/v/min). Product were created include strains of bacteria and inorganic carry substances. Density of bacteria in the preparations for each strain was over 10^9 CFU/g. Initially applied preparations in laboratory scale by interrupting processing wastewater: 3 days of treatment, the COD index was reduced by 65.7%; using the continuous process after 5 days, COD reduction was 67.1%.

Keywords: *Bioproduct, bacteria decompose organic material, wastewater treatment, COD.*

Người phản biện: PGS.TSKH. Nguyễn Xuân Hải