



CỐ ĐỊNH VI KHUẨN KỶ KHÍ THÀNH DẠNG HẠT BẰNG POLYVINYL ALCOHOL ỨNG DỤNG TRONG XỬ LÝ NƯỚC THẢI

Lêuthobách¹, Phạm Văn Định², Nguyễn Hoàng Hiệp³

Tóm tắt: Nghiên cứu xây dựng quy trình tạo hạt giá thể và hạt vi khuẩn kỵ khí nhân tạo ứng dụng trong xử lý nước thải đã được thực hiện thành công. Kết quả kiểm chứng bằng thực nghiệm cho thấy sản phẩm hạt giá thể có đặc tính thấm và đàn hồi tốt, bền và ổn định về cấu trúc hạt trong các môi trường pH3 và pH10 với đường kính 3mm, hạt có khối lượng riêng 0,174 g/mL, độ rỗng 83,3%, độ lớn thủy lực 75 mm/s. Sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo được tạo thành từ nghiên cứu có tiềm năng ứng dụng cao trong các công trình xử lý kỵ khí nước thải với các ưu điểm: đạt độ hoạt tính sinh học nhanh, hiệu suất xử lý chất hữu cơ đạt ổn định trên 80% trong thời gian ngắn (16 ngày), khả năng chuyển hóa chất hữu cơ thành khí sinh học đạt mức 1,048 L/gTOC_{tiêu thụ}.

Từ khóa: PVA; vi khuẩn kỵ khí; hạt giá thể; hạt vi khuẩn.

Summary: The studies on technological development of polyvinyl alcohol (PVA) gel beads for bacterial immobilization and anaerobic bacterial gel beads for wastewater treatment have been done successfully. Results from the various experiments showed that the produced PVA gel beads have good permeability and elasticity, strength and stability in environmental condition of pH3 and pH10. With 3mm of size, the gel beads have an specific weight of 0,174 g/mL, porosity of 83,3% and hydraulic magnitude of 75 mm/s. The produced anaerobic bacterial gel beads have shown a good biological properties such as enhance the adaptation and stable treatment efficiency (greater 80%) of the reactor within the short time (16 days); reach the biogas production yield of 1,048 L/gTOC_{removal}, thus, showed the great potential application in anaerobic wastewater treatment facilities.

Keywords: PVA; anaerobic bacteria; gel bead; bacterial gel bead.

Nhận ngày 16/8/2014, chỉnh sửa ngày 5/9/2014, chấp nhận đăng 10/9/2014



1. Mở đầu

Kỹ thuật cố định vi khuẩn thành dạng hạt bùn hình cầu đã được quan tâm nghiên cứu ứng dụng trong xử lý nước thải từ hơn 30 năm qua tại các nước trên thế giới. Vi khuẩn sau khi được cố định có nhiều ưu điểm ứng dụng hơn so với vi khuẩn tồn tại ở dạng bùn lơ lửng như: có thời gian lưu trong công trình dài hơn; tăng khả năng thích ứng và bảo vệ vi khuẩn đối với các ảnh hưởng từ các thành phần độc hại có trong nước thải; chủ động lựa chọn và làm giàu được các loại vi khuẩn thích hợp với từng quá trình xử lý nước thải riêng biệt. Đã có nhiều bài báo khoa học được công bố về các kết quả nghiên cứu cố định vi khuẩn ứng dụng trong các quá trình xử lý nước thải như bùn hoạt tính, nitrat hóa, phân hủy kỵ khí và phân hủy các thành phần độc hại [1,3,6,7]. Đối với quá trình xử lý kỵ khí, các vi khuẩn metan hóa rất nhạy cảm với các điều kiện môi trường không ổn định liên quan tới sự thay đổi chất lượng, nồng độ các thành phần ô nhiễm và các chất độc hại trong nước thải đầu vào [8]. Vì vậy, cố định các vi khuẩn kỵ khí là một trong những công nghệ được quan tâm nghiên cứu phát triển để giải quyết các vấn đề này.

¹PGS.TS, Khoa Kỹ thuật Môi trường. Trường Đại học Xây dựng. E-mail: leuthobach@nuce.edu.vn.

²KS, Khoa Kỹ thuật Môi trường. Trường Đại học Xây dựng.

³SV, Khoa Kỹ thuật Môi trường. Trường Đại học Xây dựng.

Các kỹ thuật cố định vi khuẩn thường được thực hiện theo hai cách tiếp cận: tạo giá thể sau đó cố định/làm giàu vi khuẩn trên giá thể; và cố định trực tiếp vi khuẩn dưới dạng dung dịch bùn bằng hỗn hợp keo polymer và tạo ra các hạt vi khuẩn nhân tạo. Cách tiếp cận thứ nhất đã được ứng dụng rất phổ biến trong các công trình bể lọc kỵ khí, bể lọc sinh học, các công trình xử lý bùn hoạt tính, nitrat hóa - khử nitrat, AO, A₂O... Giá thể sử dụng cũng rất đa dạng như vật liệu nhựa, vật liệu sợi acrylic... Để ứng dụng các dạng giá thể này cần phải xây dựng hệ thống đỡ giá thể trong công trình, chiếm dụng nhiều dung tích hữu ích của công trình, khả năng thoát nhanh các bọt khí thấp, đặc tính này có lợi đối với các quá trình xử lý hiếu khí cần kéo dài thời gian lưu bọt khí trong công trình để giảm chi phí năng lượng cho việc cấp khí. Nhưng đối với quá trình xử lý kỵ khí thì ngược lại, bọt khí sinh học phát sinh từ quá trình phân hủy các chất hữu cơ bị tích tụ trong phần dung tích chứa giá thể. Tích tụ nhiều bọt khí sinh học có tỷ lệ CO₂ cao làm giảm pH trong dung dịch ảnh hưởng tới sự phát triển và hoạt động của vi khuẩn, mặt khác bọt khí chiếm dụng dung tích hữu ích của công trình. Vì vậy, giá thể dạng hạt hình cầu có trọng lượng đủ nặng, có thể tự chuyển động nhưng không bị cuốn trôi dưới tác dụng thủy lực của dòng nước thải, tạo khả năng thoát bọt khí tốt, được xem là dạng giá thể tối ưu để cố định vi khuẩn ứng dụng trong quá trình xử lý kỵ khí nước thải. Cách tiếp cận thứ hai, tạo hạt vi khuẩn nhân tạo, cũng rất được quan tâm nghiên cứu bởi có nhiều ưu điểm: lựa chọn và cố định được các vi khuẩn đặc chủng thích hợp với từng công đoạn xử lý, giảm thiểu thời gian khởi động nuôi cấy và làm giàu vi khuẩn trong giá thể... [1-7].

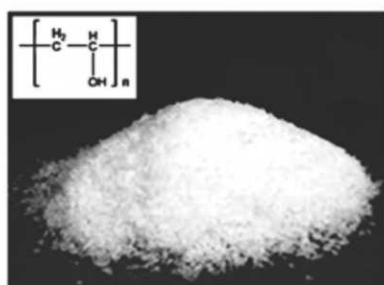
Từ các kết quả nghiên cứu đã được công bố cho thấy, việc tạo hạt giá thể hoặc hạt vi khuẩn nhân tạo thường được thực hiện bằng các vật liệu keo polymer như alginate [10], carrageenan [11], polyethylene glycol [3], polyvinyl alcohol (PVA) [6] hoặc hỗn hợp PVA - Boric axit [1,2], PVA - Alginate [7]. Trong môi trường kỵ khí, các loại polymer alginate và carrageenan không bền và bị phân hủy bởi các vi khuẩn kỵ khí [9]. Các phương pháp cố định dùng PVA - Boric axit; PVA - alginate cho khả năng tạo hạt vi khuẩn nhân tạo có cấu trúc bền vững và không bị phân hủy sinh học [1,2,7,9].

Với mục đích nghiên cứu phát triển và tự chủ được công nghệ, nghiên cứu đã tiến hành bằng thực nghiệm nhằm tạo được các sản phẩm hạt giá thể và hạt vi khuẩn nhân tạo, đồng thời xây dựng quy trình tạo ra các sản phẩm này từ các vật liệu PVA, alginate và boric axit có sẵn trên thị trường Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

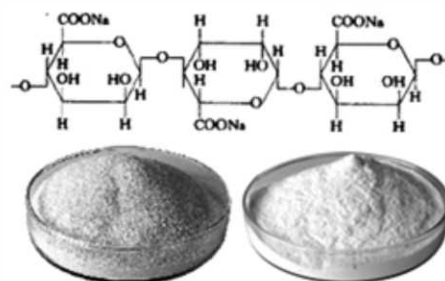
2.1 Vật liệu

Polyvinyl alcohol: Xuất xứ Singapore, dạng hạt tinh thể (Hình 1), công thức phân tử (C₂H₄O)_n, cấu trúc phân tử (CH₂-CH-OH)_n.



Hình 1. Vật liệu PVA dạng hạt tinh thể

Alginate Natri: Xuất xứ Nhật Bản, dạng bột tinh thể màu vàng nhạt hoặc trắng (Hình 2), được chiết xuất từ tế bào của tảo nâu, có công thức phân tử (C₆H₇O₆Na)_n.



Hình 2. Vật liệu alginat natri dạng bột tinh thể

Axit boric (H₃BO₃), CaCl₂ và fuchsin kiềm (C₁₉H₁₈N₃Cl): Xuất xứ Trung Quốc, dạng tinh thể.

Môi trường thạch Wilson Blair: Xuất xứ Việt Nam, có thành phần: 1% peptone; 0,25% K₂HPO₄; 1% lactose; 0,33% Na₂SO₃; 0,03% fuchsin; 1,25% thạch.

Các dung dịch muối: NaCl 0,8%; Na₂SO₃ và FeCl₃ 5%.

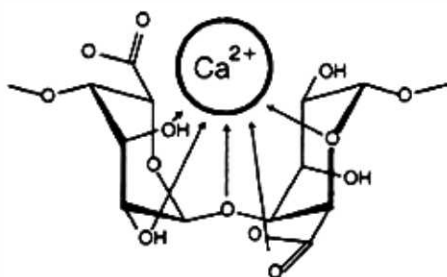
Bùn gốc: Bùn kỵ khí được lấy từ bể kỵ khí, trạm xử lý nước thải Kim Liên. Dung dịch bùn được để lắng tĩnh trong tủ lạnh một tuần, rút bỏ phần nước trong và lọc khô qua giấy lọc. Bùn cô đặc được sử dụng cho thí nghiệm và được bảo quản tại điều kiện < 4°C trong tủ lạnh.

2.2 Phương pháp nghiên cứu và thực nghiệm

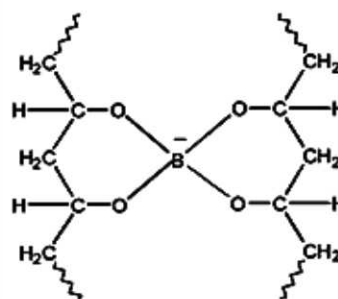
Tạo giá thể dạng hạt: Hạt giá thể được tạo thành bởi 2 thành phần chính là cốt hạt bằng PVA và màng bọc định hình thành dạng hạt. Cấu trúc màng hạt được hình thành bởi các phản ứng trao đổi giữa Na-alginate và CaCl_2 hoặc trực tiếp PVA và axit boric.

- Cố định bằng Na-alginate và CaCl_2 : Alginate ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6^-$) được cấu tạo từ 2 monomer là acid β -D Mannuronic(M) và acid α -L Gluconic (G), với các cầu nối liên kết 1-4 glucoside (Hình 2). Khi tan trong nước, alginate và các dạng muối alginate (Na) tạo dung dịch có độ nhớt cao. Ở điều kiện bình thường, các gốc COO^- của các phân tử Gluconic sẽ hình thành liên kết Hydro với ion H_3O^+ có trong dung dịch. Khi đưa vào môi trường các ion kim loại như Ca^{2+} , Ba^{2+} , ... các cation này thế chỗ H^+ và nối các chuỗi Gluconic lại với nhau tạo thành cấu trúc mạng lưới không tan trong nước (Hình 3). Cấu trúc mạng này tạo lớp màng hạt giá thể [10].

- Cố định bằng axit boric: H_3BO_3 thủy phân trong nước tạo thành $\text{B}(\text{OH})_4^-$. Khi tác dụng với PVA, B^{3+} thay thế các ion H^+ trong phân tử PVA tạo thành liên kết cầu nối boric giữa các phân tử PVA (liên kết không tan - Hình 4) [1].



Hình 3. Cấu trúc màng canxi alginate



Hình 4. Liên kết cầu nối PVA-Boric

Tạo hạt vi khuẩn nhân tạo: Trên cơ sở các phương pháp cố định hạt giá thể nêu trên, khi trộn vi khuẩn dưới dạng bùn với dung dịch keo PVA và tiến hành cố định hạt bằng alginate hoặc boric axit sẽ tạo được hạt vi khuẩn nhân tạo.

Quy trình thực nghiệm: Nghiên cứu tạo giá thể dạng hạt được tiến hành theo quy trình nêu trên Hình 5. Thí nghiệm tạo hạt được thực hiện theo sơ đồ thực nghiệm nêu tại Hình 6. Dung dịch keo được bơm với vận tốc đều và để giọt keo rơi tự do vào dung dịch cố định. Để hạt keo được cố định có hình dạng tròn, dung dịch cố định được khuấy nhẹ bằng máy khuấy từ.

Với mục đích tạo được hạt giá thể có cấu trúc bền, chắc và hình dạng tròn, nghiên cứu được thực hiện từng bước để xác định tỷ lệ phối trộn tối ưu giữa PVA, Na-alginate và bùn đặc trong dung dịch keo và nồng độ CaCl_2 trong dung dịch cố định.

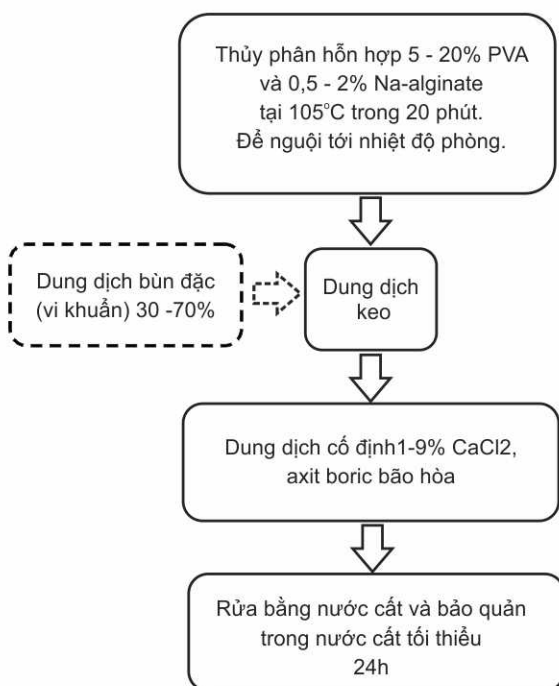
Bước 1 - xác định nồng độ phối trộn Na-alginate thích hợp: Do Na-alginate có đặc tính tạo độ nhớt (khi được pha trong dung dịch với tỷ lệ $>5\%$) và tham gia phản ứng trao đổi với Ca^{2+} để tạo liên kết màng của hạt keo, mặt khác Na-alginate có giá thành cao, vì vậy thí nghiệm tạo dung dịch keo được tiến hành tại bước này với các tỷ lệ thành phần: 5% PVA không đổi và Na-alginate thay đổi 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5 và 2%. Các dung dịch keo trên được bơm nhỏ giọt vào các dung dịch cố định lần lượt: 5% CaCl_2 ; axit boric bão hòa và hỗn hợp 5% CaCl_2 + axit boric bão hòa. Quan sát và kiểm định sản phẩm hạt giá thể từ các dung dịch keo trên để xác định nồng độ phối trộn Na-alginate tối ưu.

Bước 2 - xác định nồng độ phối trộn PVA thích hợp: Tạo các dung dịch keo có nồng độ Na-alginate không đổi (từ kết quả xác định tại bước 1), tỷ lệ PVA thay đổi từ 5; 10; 15 và 20%. Các dung dịch keo được bơm nhỏ giọt vào các dung dịch cố định như tại bước một. Quan sát và kiểm định sản phẩm hạt giá thể từ các dung dịch keo để xác định tỷ lệ phối trộn PVA tối ưu.

Bước 3 - xác định nồng độ CaCl_2 thích hợp: Dung dịch keo có tỷ lệ phối trộn PVA và Na-alginate thích hợp (xác định từ bước 1 và 2) được nhỏ giọt vào các dung dịch cố định có nồng độ CaCl_2 lần lượt là 1; 3; 5; 7; 9% và H_3BO_3 bão hòa. Tốc độ nhỏ giọt được khống chế 30 giây/giọt. Đo thời gian tính từ khi giọt keo chạm

bề mặt dung dịch cố định cho tới khi màu của hạt keo chuyển thành màu trắng hoàn toàn. Đây là khoảng thời gian của phản ứng trao đổi giữa cation Ca^{2+} và H_3O^+ để tạo màng bọc quanh hạt keo. Thí nghiệm được thực hiện 4 lần ứng với mỗi mức nồng độ CaCl_2 .

Bước 4 - xác định tỷ lệ phối trộn bùn thích hợp để tạo hạt vi khuẩn: Bùn kỵ khí được phối trộn với nồng độ khác nhau 30, 50 và 70% với dung dịch keo có tỷ lệ thành phần xác định tại các bước 1 và 2, sau đó được bơm nhỏ giọt vào dung dịch cố định có nồng độ CaCl_2 xác định tại bước 3. Quan sát và kiểm định sản phẩm hạt vi khuẩn từ các dung dịch keo trên để xác định tỷ lệ phối trộn bùn tối ưu.



Hình 5. Quy trình tạo hạt giá thể và hạt vi khuẩn

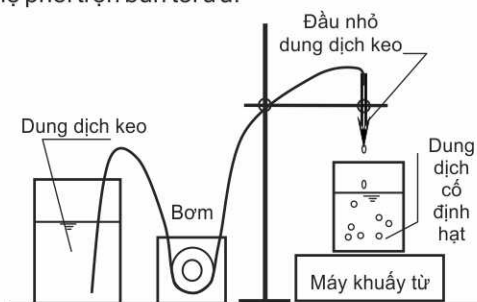
Xác định đặc tính cơ lý của hạt giá thể: Sản phẩm hạt giá thể được tạo thành theo tỷ lệ phối trộn tối ưu các dung dịch keo và dung dịch cố định xác định tại các bước 1 - 3 và có đường kính trung bình 3 mm được sử dụng để nghiên cứu đặc tính cơ lý của hạt.

Tính thẩm thấu: Tạo màu của hạt bằng cách trộn dung dịch fucshin kiềm với dung dịch keo sau đó tiến hành cố định hạt. Ngâm sản phẩm hạt tạo thành trong nước cất, quan sát sự thay đổi màu của nước cất do quá trình thẩm thấu của fucshin từ trong hạt ra môi trường nước bên ngoài.

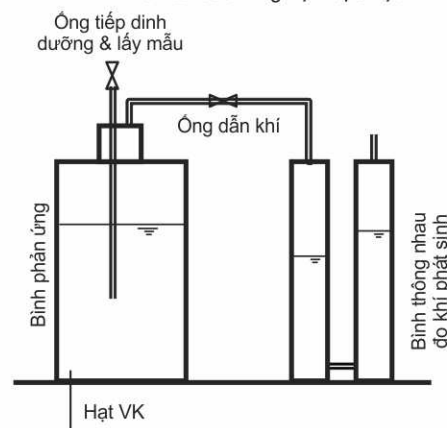
Tính đàn hồi: Sử dụng ngoại lực (panh kẹp) tác động lên hạt và quan sát sự biến dạng và phục hồi hình dạng ban đầu.

Xác định khối lượng riêng và độ rỗng của hạt: Chọn 100 hạt đại diện (mẫu hạt), dùng giấy thấm khô bề mặt, thả hạt vào bình đong có chứa 20 mL nước, xác định tổng thể tích hạt V (mL) căn cứ vào thể tích nước dâng. Khử nước trong mẫu hạt bằng các dung dịch có nồng độ ethanol 10, 20, 40, 80 và 100% (ethanol và nước cất). Ngâm mẫu hạt lần lượt trong các dung dịch trên 10 phút ứng với mỗi mức nồng độ. Để bay hơi hoàn toàn ethanol trong mẫu hạt, xác định trọng lượng khô M_k (g), thả mẫu hạt khô vào bình đong có chứa 20 mL nước cất, ngâm 24h, xác định thể tích phần khô V_k của mẫu hạt căn cứ thể tích nước dâng trong bình. Khối lượng riêng $\rho = M_k/V$ (g/mL); Độ rỗng của hạt $\phi = [(V - V_k)/V] \times 100$ (%).

Xác định độ lớn thủy lực của hạt: Độ lớn thủy lực U_0 (mm/s) được xác định bằng tốc độ lắng của hạt trong điều kiện lắng tĩnh. Chọn 10 hạt đại diện, thả hạt rơi trong ống đong dung tích 500 mL, xác định thời gian rơi và vận tốc lắng của hạt. Thí nghiệm được lặp lại 10 lần với mỗi hạt để xác định giá trị trung bình về



Hình 6. Sơ đồ thí nghiệm tạo hạt.



Hình 7. Thí nghiệm mở kiểm chứng khả năng sinh học của hạt vi khuẩn

độ lớn thủy lực của hạt.

Kiểm chứng độ bền hóa học của hạt giá thể: Chọn 300 hạt có kích thước 3 mm. Chia thành 3 phần (100 hạt/phần). Đem ngâm mỗi phần hạt vào 20 mL dung dịch tương ứng là nước cất; nước cất được chuẩn độ bằng axit acetic tới pH3 và nước cất được chuẩn độ bằng NaOH tới pH10 trong thời gian 7 ngày. Thau rửa các phần hạt ngâm trong các dung dịch pH3 và pH10 mười lần bằng nước cất, ngâm các phần hạt này thêm 1 ngày trong nước cất. Xác định lại khối lượng riêng của từng phần hạt và so sánh kết quả.

Kiểm chứng khả năng sinh học của sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo: Trong quá trình tạo hạt vi khuẩn nhân tạo (Bước 4), hỗn hợp dung dịch keo và bùn được cố định thành dạng hạt bằng dung dịch axit boric bão hòa có pH 3-4. Vì vậy, cần tiến hành kiểm chứng khả năng sinh học của vi khuẩn sau khi đã cố định thành dạng hạt. Việc kiểm chứng được thực hiện bằng phương pháp chuẩn xác định sự có mặt và khả năng hoạt động của vi khuẩn kỵ khí trên môi trường thạch Wilson Blair (cấy hạt vi khuẩn trong môi trường thạch Wilson Blair) và thí nghiệm mẻ kiểm chứng khả năng phân hủy sinh học chất hữu cơ của hạt vi khuẩn (Hình 7).

- Dung dịch dinh dưỡng : hòa tan 12,5g $C_6H_{12}O_6$; 0,546g NH_4Cl ; 0,125g KH_2PO_4 trong 500 mL nước cất được dung dịch dinh dưỡng có tỷ lệ C:N:P = 350:10:2. Nồng độ TOC 10g/L. Bảo quản ở 4°C.

- Lấy 50 mL hạt vi khuẩn vào bình phản ứng, thêm nước cất tới 500 mL.

- Rút 26 mL nước từ bình ra và thêm vào 25 mL dung dịch dinh dưỡng và 1 - 3 mL dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa (nồng độ TOC ban đầu trong hỗn hợp là 500 mg/L). Thực hiện hàng ngày vào thời điểm cố định. Mẫu nước được đo pH, lọc và phân tích nồng độ TOC.

- Quan sát độ chênh mực nước trong bình thông nhau để xác định lượng khí sinh học phát sinh.

Phương pháp và thiết bị phân tích: Mẫu nước được bảo quản và phân tích theo phương pháp chuẩn [12]. Các thiết bị phân tích dùng máy đo pH Model 2000 VWR Scientific, USA; máy TOC-VCPh, tại Phòng phân tích Môi trường, Viện Khoa học và Kỹ thuật Môi trường, Trường ĐH Xây dựng.



3. Kết quả và thảo luận

3.1 Kết quả tạo hạt giá thể và hạt vi khuẩn nhân tạo

Cố định hạt bằng phản ứng giữa Na-alginate và $CaCl_2$: Khi bơm nhỏ giọt dung dịch keo PVA và Na-alginate vào dung dịch cố định $CaCl_2$ 5%, phản ứng trao đổi giữa Ca^{2+} và Na^+ tạo màng hạt diễn ra nhanh nên quá trình hình thành hạt nhanh. Dung dịch Na-alginate có độ nhớt cao nên chỉ cần dùng một tỉ lệ nhỏ đã có thể tạo dung dịch keo. Dung dịch cố định $CaCl_2$ 5% có trọng lượng riêng gần bằng của nước, nên giọt keo rơi và chìm ngay trong dung dịch, giúp việc định hình hạt tròn xảy ra dễ dàng. Tuy nhiên, kết cấu của hạt giống như thạch, không vững chắc về mặt cơ học. Quan sát kỹ quá trình tạo hạt thấy khi hạt vừa tạo thành từ hạt thoát ra những lớp nhầy hòa tan vào nước có thể quan sát bằng mắt thường, chứng tỏ keo PVA bị tan.

Cố định hạt keo PVA bằng Boric: Do dung dịch cố định là H_3BO_3 bão hòa có khối lượng riêng lớn, khi bơm nhỏ giọt keo PVA vào dung dịch cố định cần tăng tốc độ khuấy từ để nhấn chìm hạt keo. Hạt keo tạo thành chắc và bền về mặt cơ học. Tuy nhiên, thời gian cố định thành dạng hạt lâu, nên hạt tạo thành khó tròn. Mặt khác, các hạt keo tạo thành dễ bị dính vào nhau và khi bị dính chúng trở nên liên khối (Hình 8).

Từ các ưu nhược điểm của 2 thí nghiệm cố định hạt keo nêu trên, đề xuất phương pháp cố định mới: Tạo dung dịch keo PVA-alginate sau đó nhỏ dung dịch keo vào dung dịch cố định có chứa $CaCl_2$ và H_3BO_3 bão hòa. Với hình thức cố định mới này, phản ứng giữa $CaCl_2$ và Na-alginate xảy ra nhanh giúp định hình hạt keo, tiếp đó là phản ứng tạo màng giữa PVA và H_3BO_3 giúp hạt keo có cấu trúc cơ học vững chắc mà hạt vẫn giữ được dạng hình tròn. Việc tạo màng Ca-alginate trước tránh được tình trạng các hạt bị dính vào nhau. Các thí nghiệm tiếp sau được thực hiện bằng phương pháp cố định mới này.



Hình 8. Cố định PVA-Boric khi hạt bị dính

Kết quả xác định nồng độ Na-alginate thích hợp (Bước 1): Hình 9 mô tả các sản phẩm hạt giá thể sau khi cố định từ các dung dịch keo có thành phần 5% PVA và Na-alginate có nồng độ thay đổi từ 0,5 - 2%. Với nồng độ Na-alginate 0,5%, dung dịch keo có độ nhớt nhỏ, khó cố định, các hạt keo bị kết dính tạo thành từng mảng (Hình 9a). Với nồng độ 0,75% có độ nhớt vừa phải, tuy nhiên hạt keo không tròn, thời gian định hình hạt keo lâu (Hình 9b). Tại nồng độ Na-alginate 1%, dung dịch có độ nhớt tốt, hạt keo tạo thành tròn (Hình 9c). Với nồng độ 1,25%, hạt keo tạo thành tròn nhưng có đuôi (Hình 9d). Với nồng độ 1,5%, dung dịch có độ nhớt cao nhưng không thoát được các bọt khí khi khuấy trộn (Hình 9e) nên không thể tạo hạt được. Với nồng độ 2% dung dịch keo trở nên đặc sệt không thể bơm nhỏ giọt để tạo hạt. Từ các kết quả nêu trên cho thấy nồng độ Na-alginate 1% là thích hợp. Giá trị nồng độ này được sử dụng trong các bước thí nghiệm tiếp sau.

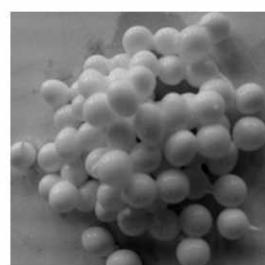
Kết quả xác định nồng độ PVA thích hợp (Bước 2): Hình 10 mô tả các sản phẩm hạt giá thể sau khi cố định từ các dung dịch keo có thành phần 1% Na-alginate và PVA có nồng độ 10%. Hạt keo được tạo thành tròn, có độ bền cơ học tốt, không bị co ngót. Với nồng độ PVA 15%, dung dịch keo hơi sệt, hạt keo tạo thành có đuôi nhỏ, có độ bền cơ học tốt và không bị co ngót (tương tự hình 9d). Ở nồng độ 5%, hạt keo tạo thành tròn, nhưng để một thời gian hạt bị co ngót do tỉ lệ nước trong hạt keo lớn và bị muối hút một phần. Với mức nồng độ 20%, dung dịch keo đặc sệt, có hiện tượng đọng bọt khí trong quá trình hòa trộn, không tạo được dung dịch đồng nhất và không cố định được thành hạt tròn.



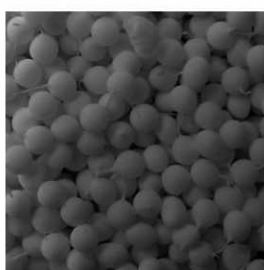
(a) 0,5% Na-alginate



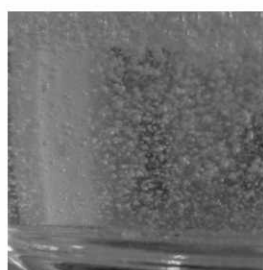
(b) 0,75% Na-alginate



(c) 1% Na-alginate



(a) 1,25 % Na-alginate



(b) 1,5% Na-alginate



(c) 2% Na-alginate

Hình 9. Tạo hạt giá thể từ các dung dịch keo 5% PVA phối trộn với Na-alginate 2-5%

Kết quả xác định nồng độ CaCl_2 thích hợp trong dung dịch cố định: Thí nghiệm được tiến hành theo quy trình thực nghiệm, bước 3. Kết quả đo thời gian tạo hạt giá thể được nêu tại Bảng 1 cho thấy nên chọn nồng độ CaCl_2 bằng hoặc lớn hơn 5% để hạt nhanh chóng được cố định và đảm bảo có lượng Ca^{2+} dư trong quá trình tạo hạt với số lượng lớn.

Hình 8: Cố định PVA-Boric khi hạt bị dính. Từ các kết quả thí nghiệm nêu trên có thể thấy rằng để tạo được hạt giá thể có cấu trúc tròn, bền vững cần phối trộn dung dịch keo có tỷ lệ tối ưu về nồng độ là PVA 10%, Na-alginate 1%; dung dịch cố định có thành phần axit boric bão hòa và CaCl_2 bằng hoặc lớn hơn 5%. Tỷ lệ phối trộn này được sử dụng trong thí nghiệm tạo hạt vi khuẩn.

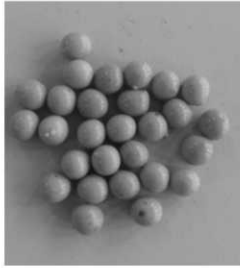


Hình 10. Tỷ lệ PVA 10%, Na-alginate 1%

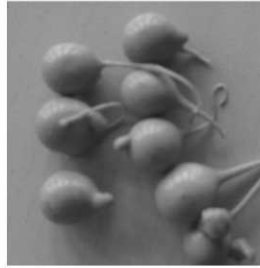
Bảng 1. Thời gian tạo hạt theo các mức nồng độ CaCl_2 khác nhau trong dung dịch cố định

CaCl_2 (%)	1				3				5				7				9			
Lần thí nghiệm	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Thời gian (s)	23	23	22	23	18	17	18	18	15	16	16	16	16	15	16	14	16	15	15	16

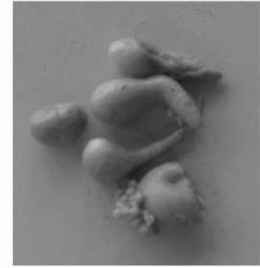
Kết quả nghiên cứu tạo hạt vi khuẩn nhân tạo: Sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo được tạo thành từ hỗn hợp keo phối trộn với bùn kỵ khí có nồng độ 30, 50 và 70 % được nêu tại Hình 11. Kết quả cho thấy với nồng độ bùn 30%, hạt vi khuẩn nhân tạo được tạo thành có dạng tròn và chắc. Với các nồng độ lớn hơn, hạt bị biến dạng. Vậy tỷ lệ phối trộn bùn kỵ khí không quá 30% là thích hợp.



(a) 30% bùn kỵ khí



(b) 50% bùn kỵ khí



(c) 70% bùn kỵ khí

Hình 11. Hạt vi khuẩn nhân tạo cố định từ các dung dịch keo có nồng độ bùn 30, 50, 70%

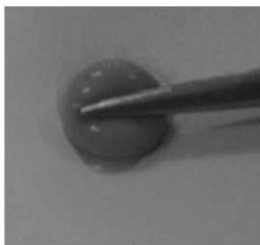
3.2 Đặc tính cơ lý của hạt giá thể

Tính thẩm thấu: Khả năng thẩm thấu được kiểm định bằng hiện tượng phai màu chỉ thị của fucshin (hòa trộn trong dung dịch keo trước khi cố định hạt). Hình 12 cho thấy sản phẩm hạt giá thể có tính thẩm thấu cao, chỉ trong 20 phút, màu chỉ thị của fucshin đã thẩm thấu từ trong hạt keo vào dung dịch nước ngâm.

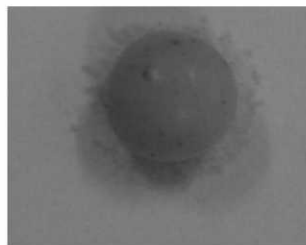
Tính đàn hồi của hạt thể hiện trên Hình 13: Khi chịu tác động vừa, hạt bị biến dạng nhưng sau đó tự khôi phục lại trạng thái ban đầu. Khi có tác động mạnh và lâu, hạt chỉ bị dẹt nhưng không bị vỡ.



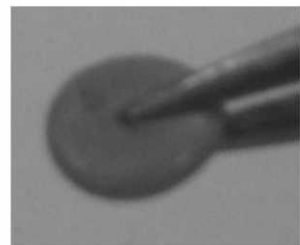
Hình 12. Hạt keo sau 20 phút ngâm trong nước cất



Chịu tác động



Hoàn nguyên hình dạng



Không vỡ bị vỡ

Hình 13. Khả năng đàn hồi của sản phẩm hạt giá thể

Khối lượng riêng của hạt giá thể : được xác định bằng 0,174 (g/mL) căn cứ vào tỷ lệ giữa khối lượng $M_k = 0,5223$ g và thể tích của mẫu hạt thử nghiệm $V = 3$ mL.

Độ rỗng của hạt giá thể ϕ : được xác định bằng 83,3% căn cứ vào thể tích đặc trưng của mẫu hạt thử nghiệm $V = 3$ mL và thể tích phần khô của mẫu hạt $V_k = 0,5$ mL.

Độ lớn thủy lực của hạt giá thể: Từ kết quả xác định thời gian lắng trung bình sau 10 lần thí nghiệm ứng với mỗi mẫu hạt trong cột lắng 500 mm nêu tại Bảng 2, xác định được độ lớn thủy lực đặc trưng của hạt giá thể (D_{3mm}) $U_o = 75$ mm/s.

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm thời gian lắng tĩnh trong cột lắng 500mm

Mẫu hạt	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Thời gian (s)	6,695	6,667	6,598	6,689	6,731	6,679	6,721	6,762	6,562	6,686
U_o (mm/s)	74,68	75,00	75,78	74,75	74,28	74,86	74,39	73,94	76,20	74,78

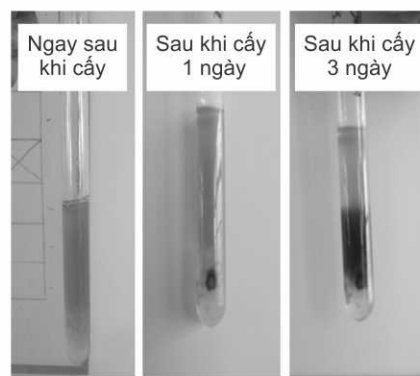
3.3 Độ bền hóa học của hạt giá thể

Kết quả xác định khối lượng riêng của các mẫu hạt sau khi ngâm trong các dung dịch nước cất (0,169 g/mL), dung dịch pH3 (0,165 g/mL) và dung dịch pH10 (0,176 g/mL) cho thấy có sự thay đổi nhưng không quá 5%. Các mẫu hạt sau thử nghiệm đều không có sự thay đổi, không có hiện tượng vỡ hay bị tan. Bản thân hạt giá thể được cố định trong dung dịch axit boric bão hòa có pH tương đương 3 nên cấu trúc của hạt không bị thay đổi trong môi trường axit. Trong môi trường kiềm (pH10), khối lượng riêng của hạt có tăng, điều này hoàn toàn chấp nhận được do tăng khối lượng riêng thì khả năng lắng của hạt sẽ tăng theo và hoàn toàn có lợi. Với các đặc tính cơ lý và hóa học nêu trên, sản phẩm hạt giá thể hoàn toàn có khả năng ứng dụng tốt để cố định các vi khuẩn trên bề mặt và bên trong hạt vật liệu.

3.4 Khả năng sinh học của sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo

Hình 14 mô phỏng kết quả thí nghiệm kiểm chứng sự tồn tại của vi khuẩn kỵ khí trong mẫu khi cấy trên môi trường thạch theo phương pháp chuẩn Wilson Blair. Sau một ngày cấy, màu đen xuất hiện trên bề mặt hạt trong ống thạch, mảng đen phát triển rộng sau 3 ngày. Điều này chứng tỏ vi khuẩn sau khi cố định thành dạng hạt trong môi trường axit boric bão hòa (dung dịch cố định) không bị tiêu diệt mà tồn tại và phát triển tốt.

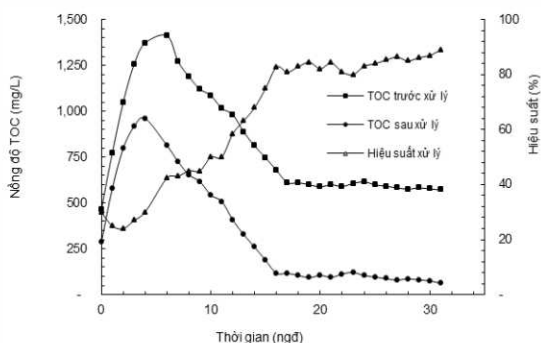
Kết quả thí nghiệm mẻ kiểm chứng khả năng xử lý sinh học của sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo được thể hiện trên các Hình 15 và 16. Với đối tượng là nước thải nhân tạo có thành phần hữu cơ được pha chế từ đường C₆H₁₂O₆, các điều kiện vận hành thí nghiệm được mô tả tại mục 2.2. Trong 5 ngày đầu hiệu quả xử lý chỉ đạt dưới 30%, lượng TOC tồn dư nhiều và tăng mạnh sau mỗi lần bổ sung dinh dưỡng, lượng khí sinh học phát sinh thấp (5 - 6 mL/ngđ), pH trong bình phản ứng giảm, trung bình ở mức < 3,5. Từ ngày thứ 5 trở đi, pH được điều chỉnh bằng cách tăng thêm dung dịch NaHCO₃ bão hòa từ 1 thành 2 mL và 3 mL từ ngày thứ 8, pH trong bình giao động từ 6,2 đến 6,5. Từ ngày 16 trở đi, hiệu suất xử lý tăng dần và ổn định ở mức 80 - 87% (Hình 15), lượng khí phát sinh dao động từ 250 đến 280 mL/ngđ.



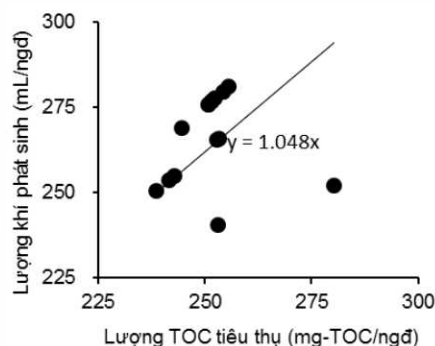
Hình 14. Kiểm chứng sự tồn tại của vi khuẩn sau khi cố định thành dạng hạt

Kết quả phân tích quan hệ giữa lượng khí phát sinh và lượng TOC tiêu thụ hàng ngày trong giai đoạn đạt hiệu suất xử lý ổn định >80% được nêu trên Hình 16. Bằng phương pháp xác định phương trình bậc nhất của đường hồi quy tuyến tính, xác định hệ số sinh khí sinh học là 1,048 L/g-TOC_{tiêu thụ}.

Các kết quả thí nghiệm cho thấy sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo có độ hoạt tính sinh học tốt với khả năng phân hủy hữu cơ và sinh khí là 1,048 L/gTOC_{tiêu thụ}. Thời gian đạt được độ hoạt tính này là 16 ngày, như vậy rút ngắn được thời gian khởi động của hệ thống xử lý sinh học so với sử dụng bùn lơ lửng thông thường (tối thiểu là 3 tháng). Đây cũng là ưu điểm nổi trội thể hiện tiềm năng của việc ứng dụng các sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo trong xử lý kỵ khí nước thải.



Hình 15. Thay đổi nồng độ TOC và hiệu suất xử lý theo thời gian



Hình 16. Quan hệ giữa lượng TOC tiêu thụ và lượng khí phát sinh



4. Kết luận

Từ các kết quả nghiên cứu tạo hạt giá thể và cố định vi khuẩn kỵ khí thành dạng hạt có thể đưa ra được các kết luận sau:

- Làm rõ được cơ chế tạo hạt giá thể bằng thực nghiệm, từ đó xây dựng được quy trình tạo hạt giá thể: tạo dung dịch keo có thành phần PVA 10%, Na - alginat 1%; cố định thành dạng hạt bằng cách bơm nhỏ giọt vào dung dịch cố định có thành phần axit boric bão hòa và $\text{CaCl}_2 > 5\%$.

- Sản phẩm hạt giá thể tạo thành từ phương pháp nêu trên có các đặc tính: thấm thấu và đàn hồi tốt trong môi trường nước; các hạt với đường kính 3mm có khối lượng riêng là 0,174 g/mL, độ rỗng 83% và độ lớn thủy lực 75 mm/s; có độ bền cơ học và không thay đổi cấu trúc hạt trong các môi trường có pH3 và pH10.

- Xây dựng được quy trình tạo hạt vi khuẩn kỵ khí nhân tạo: tạo dung dịch keo có thành phần PVA 10%, Na-alginat 1% và bùn kỵ khí 30%; cố định thành dạng hạt bằng cách bơm nhỏ giọt vào dung dịch cố định có thành phần axit boric bão hòa và $\text{CaCl}_2 > 5\%$.

- Sản phẩm hạt vi khuẩn nhân tạo có tiềm năng ứng dụng cao trong các công trình xử lý kỵ khí nước thải với các ưu điểm: đạt độ hoạt tính sinh học nhanh, hiệu suất xử lý chất hữu cơ đạt ổn định trên 80% trong thời gian nửa tháng (16 ngày), khả năng chuyển hóa chất hữu cơ thành khí sinh học đạt mức 1,048 L/gTOC_{tiêu thụ}.

Tài liệu tham khảo

1. Hashimoto, S. and Furukawa, K. (1987), "Immobilization of activated Sludge by PVA-Boric acid method". *Biotech. Bioeng.*, Vol. 30, P. 52-59.
2. Kuo-Ying Amanda Wu and Keith D. Wisecarver (1991), "Cell Immobilization Using PVA Crosslinked with Boric Acid", *Department of Chemical Engineering, The University of Tulsa, Tulsa, Oklahoma 74104*.
3. Sumino, T., Nakamura, H. and Mori, N. (1992), "Immobilization of activated sludge by polyethylene glycol prepolymer", *J. Ferment. Bioeng.*, Vol. 73, P. 37 – 42.
4. Christian Vogelsang, Asbjorn Husby and Kjetill Ostgaard (1997), "Functional stability of temperature compensated nitrification in domestic wastewater treatment obtained with PVA-SBQ/alginate gel entrapment", *Water Res.*, Vol. 31, P. 1659 – 1664.
5. Chang, C.C. and Tseng, S.K. (1998). "Immobilization of *Alcaligenes eutrophus* using PVA crosslinked with sodium nitrate", *Biotechnol. Tech.*, Vol. 12, 865 – 868.
6. In-Soung Chang*, Chi-Il Kim, Byeong-Uk Nam (2005), "The influence of poly-vinyl-alcohol (PVA) characteristics on the physical stability of encapsulated immobilization media for advanced wastewater treatment", *Process Biochemistry* Vol. 40, P. 3050–3054.
7. Hsia, T.H., Feng, Y.J., Ho, C.M., Chou, W.P. and Tseng, S.K. (2008), "PVA-alginate immobilized cells for anaerobic ammonium oxidation (anammox) process", *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 35, P. 721 – 727.
8. Sompong Hirunmasuwan, Keisuke Hanaki and Tomonori Matsuo (1990), "Application of cell immobilization to anaerobic process". *Department of Urban Engineering, The University of Tokyo*.
9. Emily, J. et. al. (1996), "Characteristics of and selection criteria for support materials for cell immobilization in wastewater treatment", *Wat. Res.*, Vol. 30, No. 12, P. 2985-2996.
10. Smidsrod O, and Skjak-Brak G. (1990), "Alginate as immobilization matrix of cells", *Trends in Biotechnology*, Vol. 8, P. 71-78.
11. Hunik J. H. and Tramper J. (1993), "Large-scale production of k-carrageenan droplets for gel bead production: theoretical and practical limitations of size and production rate", *Biotech. Progress*, Vol. 9, P. 186- 192.
12. APHA, AWWA, WEF (1995), "Standard methods for the examination of water and wastewater, 19th edition", *American Public Health Association, Washington, D.C., USA*.