

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO      BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PTNT**  
**VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM**

---

**VŨ THÚY NGA**

**NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM VI SINH VẬT XỬ LÝ NƯỚC  
THẢI CHẾ BIẾN TINH BỘT SẴN**

**Chuyên ngành: Công nghệ sinh học**

**Mã số: 62.42.02.01**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ NÔNG NGHIỆP**

**HÀ NỘI – 2016**

**Công trình được hoàn thành tại**

VIỆN KHOA HỌC NÔNG NGHIỆP VIỆT NAM

**Người hướng dẫn khoa học:**

1. PGS.TS. Phạm Văn Toàn
2. PGS.TS. Nguyễn Văn Việt

Phản biện 1: .....

Phản biện 2: .....

Phản biện 3: .....

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Viện

Họp tại Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Vào hồi..... giờ .....ngày ..... tháng.... năm 2016.

***Có thể tìm hiểu luận án tại:***

1. Thư Viện Quốc gia
2. Thư Viện Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam
3. Thư Viện Viện Môi trường Nông nghiệp

## MỞ ĐẦU

Chế biến tinh bột sắn là ngành công nghiệp phát sinh lượng lớn nước thải. Lượng nước thải sinh ra trong quá trình chế biến tinh bột sắn trung bình 12-20m<sup>3</sup>/tấn sản phẩm/ngày (Huỳnh Ngọc Phương Mai, 2006). Trong nước thải chế biến tinh bột sắn thường có thành phần chất rắn lơ lửng cao do bột và xơ củ sắn sót lại, nhu cầu oxy sinh hóa (BOD) và nhu cầu oxy hóa học (COD) có nồng độ cao hàng chục ngàn mg/l gây khó khăn cho quá trình xử lý sinh học. Đặc biệt các chất nhựa và hàm lượng nhất định hợp chất xyanua có trong nước thải chế biến tinh bột sắn còn làm cho nước thải có màu đen, gây mùi khó chịu và ức chế nhiều loại vi sinh vật có ích. Vì vậy, nghiên cứu các chủng vi sinh vật thích nghi với môi trường nước thải nhằm lựa chọn được các chủng vi sinh vật phù hợp có khả năng phân hủy mạnh các chất hữu cơ và chịu được các chất ức chế có trong nước thải chế biến tinh bột sắn là cần thiết.

Các cơ sở, nhà máy chế biến tinh bột sắn (CBTBS) do chỉ tập trung đầu tư để nâng cao năng suất và chất lượng của sản phẩm, vấn đề quản lý và kiểm soát lượng nước thải ra trong quá trình sản xuất chưa được đầu tư đồng bộ, hệ thống xử lý nước thải không xử lý triệt để dẫn đến các chỉ tiêu lý hóa sinh học đều vượt ngưỡng cho phép, gây ô nhiễm nghiêm trọng môi trường. Thực tế đã có cơ sở nhà máy bị đình chỉ sản xuất và phải nâng cấp xây dựng cải tạo hệ thống xử lý nước thải để khắc phục hậu quả theo quyết định 1788/QĐ TTg ngày 1/10/2013 của Thủ tướng Chính phủ về xử lý triệt để các cơ sở gây ô nhiễm môi trường.

Xuất phát từ lý do trên, để góp phần xử lý triệt để nước thải sau chế biến tinh bột sắn đề tài: “*Nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh*

vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn” có ý nghĩa cấp thiết góp phần xử lý triệt để nước thải sau chế biến tinh bột sắn.

### **Mục tiêu của đề tài luận án**

- Tuyển chọn được vi sinh vật và tạo được chế phẩm vi sinh vật có khả năng xử lý nước thải sau chế biến tinh bột sắn.
- Đề xuất quy trình sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn.

### **Ý nghĩa khoa học và thực tiễn**

- Về khoa học: Luận án đã tuyển chọn được các chủng vi sinh vật có hoạt tính sinh học cao, thích nghi với môi trường nước thải chế biến tinh bột sắn, và được áp dụng trong sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn. Góp phần cung cấp thêm tư liệu phục vụ giảng dạy và nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật trong xử lý nước thải bằng con đường sinh học.
- Về thực tiễn: Ứng dụng chế phẩm vi sinh vật trong hệ thống xử lý nước thải của nhà máy chế biến tinh bột sắn Elmaco Ninh Bình, góp phần xử lý triệt để ô nhiễm môi trường của cơ sở sản xuất tinh bột sắn.

### **Đóng góp mới của đề tài luận án**

- Luận án đã phân lập, lựa chọn được 3 chủng vi sinh vật từ nguồn nước thải và bùn thải của cơ sở sản xuất tinh bột sắn, gồm *Streptomyces fradiae* SHX.12, *Bacillus velezensis* SHV.22, *Nitrosomonas europaea* SHV.OA7 có khả năng chuyển hóa các hợp chất ô nhiễm và thích nghi với môi trường nước thải chế biến tinh bột sắn. Các chủng vi sinh vật được nghiên cứu là các chủng đa hoạt sinh học. Chủng *Streptomyces fradiae* SHX.12 vừa có khả năng chuyển hóa tinh bột vừa có khả năng chuyển hóa xenlulo. Chủng

*Bacillus velezensis* SHV.22 vừa có khả năng khoáng hóa Phosphat hữu cơ vừa có khả năng đồng hóa và dự trữ  $\text{PO}_4^{3-}$  trong tế bào.

- Luận án nghiên cứu có tính hệ thống về chế phẩm vi sinh vật bao gồm các khâu phân lập, tuyển chọn vi sinh vật, nghiên cứu tối ưu hóa điều kiện nhân sinh khối, xây dựng quy trình công nghệ và tạo chế phẩm MIC-CAS 02 từ ba chủng vi sinh vật trên để ứng dụng trong xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn.

- Đề tài luận án đã thử nghiệm thành công chế phẩm MIC-CAS 02 góp phần xử lý triệt để nước thải của nhà máy chế biến tinh bột sắn Elmaco Ninh Bình, chất lượng nước thải sau xử lý đạt giá trị loại A theo QCVN 40: 2011/BTNMT.

### **Cấu trúc của luận án**

Luận án chính 118 trang với 37 bảng số liệu và 23 hình. Luận án gồm 5 phần: Mở đầu (3 trang), tổng quan tài liệu (36 trang), phần vật liệu, nội dung và phương pháp nghiên cứu (22 trang), phần kết quả và thảo luận (55 trang), phần kết luận và kiến nghị (2 trang).

Luận án đã tham khảo 139 tài liệu trong đó 57 tài liệu tiếng Việt, 82 tài liệu tiếng nước ngoài.

### **TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

Trong chương này luận án trình bày các kiến thức tổng quan về ngành sản xuất tinh bột sắn và nước thải chế biến tinh bột sắn, ô nhiễm môi trường do nước thải chế biến tinh bột sắn, kiến thức nền tảng về xử lý nước thải trong điều kiện tự nhiên và điều kiện nhân tạo, chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải, quá trình chuyển hóa vật chất của vi sinh vật trong nước thải, tình hình nghiên cứu sử dụng chế phẩm vi sinh vật nói chung trong xử lý nước thải giàu hữu cơ. Bên cạnh đó luận án điếm qua một số công trình nghiên cứu ở Việt Nam và trên thế giới về xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn.

Xử lý nước thải bằng vi sinh vật là phương pháp phát triển từ rất lâu, dễ sử dụng, kinh tế và thân thiện với môi trường. Trong thực tế các chế phẩm vi sinh vật có tác dụng làm giảm BOD<sub>5</sub>, COD, TSS trong nước thải sinh hoạt, nước thải nuôi trồng thủy sản và ô nhiễm sông hồ đã được sản xuất và thương mại hóa ở nhiều quốc gia trên thế giới cũng như ở Việt Nam.

Riêng chế phẩm vi sinh vật ứng dụng trong xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn thì còn rất hạn chế. Sản phẩm thương mại trên thị trường hầu như chưa có.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

20 mẫu nước thải, bùn thải của cơ sở sản xuất tinh bột sắn ở Hà Nội, Ninh Bình và Đắk Lắk .

Các loại hóa chất tinh khiết để pha thuốc thử, hóa chất tách chiết và điện di ADN, hóa chất phân tích các chỉ tiêu nước thải..

Môi trường cho vi sinh vật gồm TSA, NB, NA, Winogradsky, môi trường Gause...Dung dịch thuốc thử gồm Lugol, fucshin, tím gentian, muối sinh lý, thuốc thử Griess-Ilosway, Neisser...

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Mẫu được thu thập, vận chuyển và bảo quản để phân tích theo TCVN 4556-88.

#### 2.2.2. Phương pháp xác định đặc điểm (tính chất) nước thải chế biến tinh bột sắn

Sử dụng phương pháp theo TCVN gồm xác định BOD<sub>5</sub> (TCVN 6001:1995); xác định COD (TCVN 6491:1999); xác định hàm lượng nitrit (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N) theo TCVN 6178:1996; xác định hàm lượng nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) theo TCVN 6180:1996; phân tích Phospho tổng số theo

TCVN 6202: 2008; xác định Nito tổng theo TCVN 5987:1995; xác định hàm lượng tổng chất rắn lơ lửng (TSS) theo TCVN 6625:2000; xác định hàm lượng amoni ( $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ) theo TCVN 6179-1:1996; xác định hàm lượng xyanua ( $\text{CN}^-$ ) theo TCVN 6181:1996; xác định hàm lượng tinh bột theo TCVN 4594:1998.

### 2.2.3. Phương pháp phân lập tuyển chọn vi sinh vật

*\*Vi sinh vật chuyển hóa cacbon (tinh bột, xenlulo)*

Pha loãng mẫu với dung dịch muối sinh lý đến nồng độ  $10^{-3}$  và  $10^{-4}$ . Lấy 100 $\mu\text{l}$  dịch pha loãng, trang đều lên các đĩa petri có chứa môi trường Gause. Các đĩa thạch được ủ ở nhiệt độ  $30^{\circ}\text{C}$  từ 48-72 giờ. Sử dụng dung dịch lugol để thử. Lựa chọn khuẩn lạc tạo vòng phân giải (vòng trong suốt) bao quanh khuẩn lạc để nghiên cứu.

Xác định hoạt tính phân giải tinh bột và phân giải xenlulo thông qua đo vòng phân giải tinh bột và xenlulo và xác định hoạt độ enzym amylaza và xenluloza. Xác định mật độ tế bào vi sinh vật theo phương pháp đếm số khuẩn lạc phát triển trên môi trường thạch (Nguyễn Lâm Dũng, 1983).

*\*Vi sinh vật chuyển hóa hợp chất Nito*

Làm giàu các mẫu thu thập trên môi trường Winogradsky 30-45 ngày. Phân lập nhóm vi khuẩn *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* theo phương pháp của Ehrlich, 1975. Dùng thuốc thử Griess để thử và quan sát màu phản ứng, xác định sự có mặt vi sinh vật chuyển hóa Nito trong mẫu phân lập. Phân tích hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  hoặc  $\text{NO}_3^-$  tạo thành trong môi trường nuôi cấy theo phương pháp ở phần 2.3.2. Xác định mật độ tế bào vi sinh vật theo phương pháp MPN-Most Probable Number của Kh. Elbanna và cs (2012), Trần Linh Thuớc (2006).

*\*Vi sinh vật chuyển hóa Phosphat hữu cơ và đồng hóa Phospho trong nước thải*

Mẫu được hoạt hóa bằng dung dịch  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1%, lắc 150v/p,  $25^\circ\text{C}$  trong 2 ngày. Sau đó được nuôi cấy 5 ngày trong môi trường nutrient broth. Sử dụng môi trường Casitone Glycerol Yeast extract Agar (CGYA) để phân lập mẫu theo phương pháp của Bosch và Cloete, 1993. Sự chuyển hóa Phosphat hữu cơ trong nước thải được xác định thông qua vòng phân giải trên môi trường bổ sung lexitin và xác định hoạt độ enzym phytaza của vi sinh vật. Khả năng đồng hóa Phospho ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) trong nước thải được xác định thông qua hình thành hạt volutin (poly-P) trong tế bào vi sinh vật (Szabó và cs, 2011) và nồng độ Phospho ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) tích lũy trong tế bào (Bosch và Cloete, 1993). Xác định mật độ tế bào theo Phương pháp đếm số khuẩn lạc phát triển trên môi trường thạch (Nguyễn Lâm Dũng, 1983).

#### **2.2.4. Đánh giá khả năng chuyển hóa chất ô nhiễm trong nước thải CBTBS của vi sinh vật phân lập**

VSV phân lập được bổ sung vào bình chứa 100ml nước thải CBTBS với mật độ tế bào đạt khoảng  $10^5$ CFU/ml. Đối chứng không bổ sung vi sinh vật. Thí nghiệm tiến hành ở nhiệt độ phòng, lắc 150v/p. Sau 3-5 ngày, xác định COD, BOD<sub>5</sub>, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub> trong công thức thí nghiệm và đối chứng.

Hiệu quả xử lý (COD, BOD<sub>5</sub>, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub>) so với đối chứng = chỉ số (COD, BOD<sub>5</sub>, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub>) ở CT thí nghiệm giảm đi / chỉ số (COD, BOD<sub>5</sub>, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub>) trong đối chứng x 100 (%).

#### **2.2.5. Định danh vi sinh vật tuyển chọn**

*\*.Định danh vi sinh vật bằng phương pháp truyền thống.*

Dựa vào các đặc điểm hình thái, sinh lý sinh hoá và khoá phân loại của Bergey (Niall A. và cs, 2009); chương trình xạ khuẩn quốc



tế (ISP) (E.B. Shirling và cs, 1966) đối với xạ khuẩn; khóa phân loại Bergey (Stanley T. và cs, 1989; Holt J.G. và cs, 2000; Holt J.G. và cs, 1994) đối với vi khuẩn.

*\* Định danh vi sinh vật bằng kỹ thuật sinh học phân tử*

Dựa trên giải trình tự gen 16S rADN. Sản phẩm PCR được tinh sạch và xác định trình tự trên máy đọc trình tự tự động. Xây dựng cây phát sinh chủng loại. Tên loài vi sinh vật được xác định với xác suất tương đồng cao nhất.

**2.2.6. Nhân sinh khối vi sinh vật bằng kỹ thuật lên men chìm**

*\*Xác định nhiệt độ tối ưu:* Nhiệt độ được điều chỉnh từ 20-55<sup>0</sup>C. Sau thời gian nuôi cấy thích hợp, xác định mật độ tế bào vsv trong môi trường nuôi cấy để xác định ảnh hưởng nhiệt độ đến các chủng vi sinh vật.

*\*Xác định pH tối ưu:* Môi trường nuôi cấy có các độ pH khác nhau từ 5-9. Nuôi cấy vi sinh vật ở 30<sup>0</sup>C và lắc với tốc độ 150 v/p. Kiểm tra mật độ vi sinh vật và xác định pH thích hợp cho vi sinh vật.

*\*Thời gian nhân sinh khối:* Nuôi cấy vsv trong môi trường dịch thể, pH, nhiệt độ thích hợp, ở điều kiện lắc 150 v/p, kiểm tra mật độ tế bào vi sinh vật sau thời gian nuôi cấy 1-7 ngày..

*\* Ảnh hưởng của môi trường nhân sinh khối:* Kiểm tra mật độ tế bào vi sinh vật có trong các môi trường nuôi cấy khác nhau và xác định môi trường lên men thích hợp nhất cho các chủng vi sinh vật.

*\*Ảnh hưởng của tỷ lệ tiếp giống:* Các chủng vi sinh vật được nuôi cấy cấp 1, dịch vi sinh vật được cấy truyền sang nuôi sinh khối cấp 2 trong thiết bị lên men 5 lít, với các tỷ lệ tiếp giống thay đổi từ 3-10%. Kết thúc quá trình nuôi cấy kiểm tra mật độ tế bào vi sinh vật để lựa chọn tỷ lệ giống thích hợp nhất.

\* **Ảnh hưởng của tốc độ cấp khí:** Các chủng vi sinh vật được nuôi cấy trong môi trường có kiểm soát lượng không khí sục vào thay đổi trong khoảng từ 0,25-1,0 lít không khí/lít môi trường/phút. Kết thúc quá trình nuôi cấy kiểm tra mật độ tế bào vi sinh vật để lựa chọn chế độ cấp không khí thích hợp nhất.

\* **Tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy theo phương pháp bề mặt đáp ứng (Response Surface methodology):** Sử dụng kỹ thuật mô hình thống kê thực nghiệm, để phân tích hồi quy đa điểm bằng phần mềm (Design Expert Version 9.0.6.2).

### 2.2.7. Nhân sinh khối vi sinh vật trên giá thể rắn

\* **Lựa chọn và xử lý chất mang:** Sử dụng tinh bột sắn, cao lanh có kích thước hạt  $\leq 0,1\text{mm}$ , phối trộn dịch lên men của mỗi chủng với chất mang (cao lanh hoặc tinh bột) theo tỉ lệ 1:10 trong các thùng vô trùng, rồi đem ủ trong buồng sinh trưởng. Xác định mật độ tế bào sau thời gian 5 ngày.

\* **Xác định tỉ lệ tiếp giống trong lên men xốp:** Dịch sinh khối các chủng vi sinh vật phối trộn với cơ chất theo các tỷ lệ khác nhau: 5/100; 10/100; 15/100 và 20/100. Nuôi cấy vi sinh vật và xác định mật độ tế bào sau thời gian 5 ngày.

\* **Xác định thời gian nhân nuôi trên cơ chất xốp:** Phối trộn dịch sinh khối của mỗi chủng vi sinh vật với cơ chất theo tỉ lệ 1:10 trong các thùng vô trùng, rồi đem ủ trong buồng sinh trưởng. Xác định mật độ tế bào sau thời gian 1-5 ngày.

**2.2.8. Tạo chế phẩm và đánh giá chất lượng chế phẩm:** VSV được nuôi cấy riêng rẽ trên cơ chất rắn, phối trộn với nhau theo tỉ lệ 1:1:1. Xác định khả năng sống sót của chúng trong chế phẩm ở điều kiện riêng lẻ và hỗn hợp bằng cách xác định mật độ tế bào sau thời gian 0, 7, 15, 30, 60 và 90 ngày bảo quản.

**2.2.9. Phương pháp xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn bằng chế phẩm vi sinh vật (Xử lý gián đoạn)**

Sử dụng thùng chứa có dung tích 80 lít, cho lượng nước thải nhất định vào thùng (2/3 thùng), đồng thời thả vòi sục khí vào để cấp khí. Bổ sung 5g chế phẩm vi sinh vật (mật độ vsv tương đương  $10^4$  CFU/ml). Xác định hàm lượng BOD, COD,  $N_{ts}$ ,  $P_{ts}$  ban đầu và các ngày thí nghiệm tiếp theo.

\* **Ảnh hưởng của oxy hòa tan đến hiệu suất xử lý:** Oxy được cung cấp bằng máy sục 1 vòi, oxy hòa tan khoảng  $3,9 \pm 0,2$ mg/l (tương đương với 0,5 lít không khí/lít nước thải/phút) và máy sục 2 vòi, oxy hòa tan khoảng  $6,0 \pm 0,3$ mg/l (tương đương với 0,8 lít không khí/lít nước thải/phút). Các điều kiện xử lý khác không thay đổi. Tính toán hiệu suất xử lý thông qua chỉ số COD với thời gian sục khí 0, 4, 6, 8 giờ.

\* **Ảnh hưởng của thời gian lưu nước thải đến hiệu suất xử lý**

Thí nghiệm thay đổi thời gian lưu nước từ 24, 36, 48, 60, 72 giờ; các điều kiện khác không thay đổi. Tính toán hiệu suất xử lý thông qua chỉ số COD với thời gian lưu nước khác nhau.

\* **Ảnh hưởng của lượng chế phẩm bổ sung:** Bổ sung chế phẩm với hàm lượng 1, 10, 100 và 1000 g chế phẩm/m<sup>3</sup> nước thải, tương ứng mật độ vsv là  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$  và  $10^5$  CFU/ml. Xác định chỉ số COD ở công thức bổ sung chế phẩm khác nhau sau thời gian xử lý 3 ngày.

### **2.2.10. Đánh giá hiệu quả xử lý nước thải CBTBS của chế phẩm**

#### **\* Hiệu quả xử lý qui mô phòng thí nghiệm**

Thử nghiệm với 2 công thức: hệ thống xử lý không bổ sung chế phẩm (đôi chứng) và hệ thống xử lý có bổ sung chế phẩm (thí nghiệm). Chế phẩm được bổ sung 100 g/m<sup>3</sup> nước thải tương đương mật độ 10<sup>4</sup> CFU/ml). Thí nghiệm được cấp khí cưỡng bức có khuấy trong thời gian 8 giờ trước khi dẫn vào thùng lắng. oxy hòa tan tương đương 6 mg/lít nước thải.

Phân tích các chỉ tiêu nước thải ở đầu ra của hệ thống xử lý có chế phẩm và không có chế phẩm (phần 2.3.2). Hiệu quả xử lý (tính theo các chỉ tiêu BOD, COD, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub>)=hàm lượng các chỉ tiêu (mg/l) giảm đi/tổng hàm lượng các chỉ tiêu ban đầu x 100 (%).

#### **\* Hiệu quả xử lý tại nhà máy chế biến tinh bột sắn tỉnh Ninh**

**Bình:** Thí nghiệm 100 g chế phẩm/m<sup>3</sup>nước thải ở công đoạn xử lý hiếu khí trong bể sục khí của nhà máy. Phân tích các chỉ tiêu nước thải trước và sau xử lý bằng chế phẩm VSV (phần 2.3.2). Hiệu quả xử lý (tính theo các chỉ tiêu BOD, COD, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub>)= hàm lượng các chỉ tiêu (mg/l) giảm đi/tổng hàm lượng các chỉ tiêu ban đầu x100 (%).

### **2.2.11. Kiểm tra sự sống sót của vi sinh vật trong bùn bằng kỹ thuật DGGE**

Kỹ thuật cho phép phân biệt các trình tự ADN khác nhau dựa trên sự khác nhau về tỷ lệ (G+C)/(A+T) giữa các trình tự. Khi được điện di trên một gel có gradien chất biến tính, tùy theo thành phần nucleotit mà một phân tử ADN sẽ dừng lại ở một vị trí nhất định đặc trưng. Vì vậy, vị trí khác nhau trên điện di đồ DGGE phản ánh sự khác nhau về trình tự của các đoạn ADN được phân tích.

### **2.2.12. Phương pháp xử lý số liệu**

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel, phân tích phương sai (ANOVA) để tính sự khác biệt có ý nghĩa, vẽ đồ thị.

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Hiện trạng nước thải nhà máy chế biến tinh bột sắn tỉnh Ninh Bình.

Hiện tại, nhà máy sử dụng công nghệ xử lý nước thải gồm hệ thống xử lý kỵ khí (bể biogas) và xử lý hiếu khí (bể sục khí). Kết quả khảo sát chất lượng nước thải của từng công đoạn chế biến tinh bột sắn tại công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình vào mùa cao điểm sản xuất tinh bột sắn được tổng hợp trong bảng 3.1, cho thấy các chỉ tiêu BOD<sub>5</sub>, COD, chất rắn lơ lửng, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub> trong nước thải sau quá trình sản xuất tinh bột sắn (trước biogas) vượt rất nhiều lần so với qui chuẩn Việt Nam (QCVN) 40:2011/BTNMT.

**Bảng 3.1.** Hiện trạng nước thải CBTBS trước và sau xử lý kỵ khí tại nhà máy công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình, năm 2012

T	Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Trước Biogas	Sau biogas	Hiệu quả xử lý (%)	QCVN40:2011/ BTNMT (cột B)
1	BOD <sub>5</sub>	mg/l	7232	423,3	94,1	50
2	COD	mg/l	13610	651,3	95,2	150
3	TSS	mg/l	1226	153,7	87,5	100
4	N <sub>ts</sub>	mg/l	135,8	98,0	27,9	40
5	N-NH <sub>4</sub> <sup>-</sup>	mg/l		52,13		10
6	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/l		64,85		-
7	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/l		0,99		-
8	P <sub>ts</sub>	mg/l	25,4	17,8	29,6	6
9	Sufua	mg/l	0,32	0,047		0,5

10	Xyanua	mg/l	< 0,01	< 0,01		0,1
11	pH		5,6	7,6		5,5-9
12	Tinh bột	mg/l	5600	90	98,4	-
13	Coliform	Vi khuẩn /100ml	Kph	Kph		5000

*Ghi chú: (-) không quy định; Kph: không phát hiện ở nồng độ pha loãng  $10^{-1}$*

Mặc dù nước thải chế biến tinh bột sản tại công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình đã được xử lý bằng hệ thống biogas, song chất lượng nước thải sau biogas vẫn không đảm bảo yêu cầu đối với nước thải cột B theo QCVN 40:2011/BTNMT. Số liệu bảng 3.1 thấy các chỉ số BOD, COD, TSS, hàm lượng  $N_{ts}$ ,  $P_{ts}$  giảm đi rất nhiều so với nước thải chưa xử lý (COD giảm 94,1%, BOD<sub>5</sub> giảm 95,2%, TSS giảm 87,5%, tinh bột giảm 98,4%,  $N_{ts}$  giảm 27,9%,  $P_{ts}$  giảm 29,6%) nhưng vẫn vượt quá giới hạn cho phép.

Kết quả khảo sát cũng xác định hàm lượng xyanua trong nước thải sản xuất tinh bột sản trước và sau xử lý kỵ khí tại công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình đều dưới ngưỡng cho phép, đảm bảo yêu cầu xả thải ra môi trường.

Để đáp ứng tiêu chuẩn xả thải ra môi trường, công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình đã đầu tư xây dựng hệ thống xử lý nước thải hiếu khí và hệ thống tách lọc bùn lắng, song kết quả xử lý vẫn chưa ổn định. Tại thời điểm khảo sát, chất lượng nước thải sau xử lý hiếu khí vẫn còn một số chỉ tiêu vượt giới hạn cho phép (bảng 3.2). Với sự trợ giúp của phèn hoặc  $C_{525}$ , các chất rắn lơ lửng đã được kết tủa và tách lọc ra khỏi nước thải, song chỉ tiêu TSS của nước thải tại hồ chứa nước trước khi xả thải ra môi trường vẫn còn cao hơn giới hạn cho phép, đặc biệt vào giai đoạn cao điểm của mùa sản xuất.

**Bảng 3.2.** Chất lượng nước thải chế biến tinh bột sắn sau xử lý hiếu khí và tách lọc chất rắn lơ lửng tại nhà máy công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình, năm 2012.

Chỉ tiêu	Đơn vị	Nước thải sau sục khí, lắng và lọc	QCVN 40:2011/BTNMT	
			Cột A	Cột B
pH		7,3	6-9	5,5-9
BOD	mg/l	320,8	30	50
COD	mg/l	443,0	100	150
TSS	mg/l	131,6	50	100
N <sub>ts</sub>	mg/l	83,3	20	40
P <sub>ts</sub>	mg/l	14,2	4	6

Thực tế xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn tại công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình nói riêng và các nhà máy chế biến tinh bột sắn nói chung ở Việt Nam cho thấy cần thiết phải triển khai các giải pháp nâng cao hiệu quả xử lý đảm bảo nước xả thải đáp ứng QCVN 40:2011/BTNMT.

### **3.2. Phân lập tuyển chọn vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn**

Từ 20 mẫu nước thải và bùn thải của cơ sở sản xuất tinh bột sắn, đề tài đã phân lập và tuyển chọn được 01 xạ khuẩn có khả năng chuyển hóa hợp chất cacbon (tinh bột, xenlulo), 01 vi khuẩn chuyển hóa Phosphat hữu cơ và đồng hóa  $PO_4^{3-}$ , 01 vi khuẩn chuyển hóa hợp chất Nitơ. Căn cứ vào kết quả đánh giá hoạt tính sinh học, bộ giống vi sinh vật sử dụng cho nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn được xác định, gồm 3 vi sinh vật ký hiệu SHX.12, SHV.22 và SHV.OA7 với các mức hoạt tính sinh học trình bày cụ thể trong bảng 3.12.

**Bảng 3.12.** Hoạt tính sinh học của vi sinh vật tuyển chọn

Hoạt tính sinh học	SHX.12	SHV.22	SHV.OA7
Vòng phân giải CMC (D-d) mm	46,2±2,5	-	-
Vòng phân giải tinh bột (D-d) mm	28,4±2,0	25,5±1,2	-
Vòng phân giải lexitin (D-d) mm	-	20,2±0,5	-
Hoạt lực enzym (CMCaza)(U/ml)	5,53	-	-
Hoạt lực enzym amylaza (U/ml)	4,68	3,17	-
Hoạt lực enzym phytaza (U/ml)	-	11,24	-
Phản ứng với thuốc thử Neisser	-	+	-
Hàm lượng $PO_4^{3-}$ hấp thu (mg/tế bào)	-	$3,05 \times 10^{-11}$	-
Phản ứng thuốc thử Griess	-	-	+
Hàm lượng $NO_2^-$ tạo thành (mg/ml)	-	-	7,04±0,05

*Ghi chú: (+) phản ứng dương tính; (-) không xác định*

Xạ khuẩn SHX.12 có khả năng chuyển hóa hợp chất cacbon (tinh bột và xellulo), đường kính vòng phân giải tinh bột và CMC trên 20 mm. Vi khuẩn SHV.22 vừa có hoạt tính chuyển hóa Phosphat hữu cơ, đường kính vòng phân giải lexitin đạt 20,2±0,5 mm vừa có khả năng đồng hóa Phospho ( $PO_4^{3-}$ ) thông qua tạo các hạt volutin trong tế bào, hàm lượng  $PO_4^{3-}$  hấp thu trong tế bào đạt  $3,05 \times 10^{-11}$  mg/tế bào. Vi khuẩn SHV.OA7 có khả năng chuyển hóa hợp chất Nitơ (khử  $NH_4^+$ ), phản ứng với thuốc thử Griess tạo phức màu hồng và hàm lượng  $NO_2^-$  tạo thành trong môi trường nuôi cấy 7,04±0,05 mg/ml.

### 3.2.4. Định danh và xác định độ an toàn của các vi sinh vật nghiên cứu.

Sử dụng phương pháp truyền thống, quan sát hình thái khuẩn lạc vsv trên môi trường thạch đĩa, xác định khả năng sinh trưởng và đặc



điểm sinh hóa của chúng trong môi trường dịch thể. Hình dạng, kích thước tế bào vi sinh vật quan sát trên kính hiển vi điện tử Fe-SEM (S-4800). Bằng kỹ thuật sinh học phân tử, giải trình tự đoạn 16S rADN của các vi sinh vật tuyển chọn, so sánh với trình tự nucleotit các loài trong ngân hàng dữ liệu gen, thiết lập cây phả hệ, đã xác định xạ khuẩn SHX.12 thuộc chi *Streptomyces fradiae*, chủng vi khuẩn SHV.22 thuộc chi *Bacillus velezensis*, vi khuẩn SHV.OA7 thuộc chi *Nitrosomonas europaea*.

So sánh với danh mục vi sinh vật theo các cấp độ an toàn của Tổ chức y tế thế giới (WHO) năm 2004, đề tài xác định bộ chủng giống vi sinh vật được tuyển chọn gồm xạ khuẩn *Streptomyces fradiae* (*S.fradiae*) SHX.12, vi khuẩn *Bacillus velezensis* (*B.velezensis*) SHV.22 và vi khuẩn *Nitrosomonas europaea* (*N.europaea*) SHV.OA7 đảm bảo độ an toàn sinh học cao (cấp độ 1), không gây ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người, vật nuôi cây trồng và môi trường, đáp ứng yêu cầu trong việc nghiên cứu tạo chế phẩm vi sinh vật ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp.

### **3.3. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm xử lý nước thải CBTBS**

#### **3.3.1. Khả năng tổ hợp các vi sinh vật nghiên cứu**

Kết quả thí nghiệm cho thấy cả 3 chủng nghiên cứu đều có khả năng phát triển và tồn tại tốt cùng nhau trong điều kiện đơn lẻ và hỗn hợp. Sau 90 ngày thí nghiệm trên chất mang khử trùng, mật độ tế bào của chủng *S.fradiae* SHX.12, *B.velezensis* SHV.22 và *N.europaea* SHV.OA7 đều đạt trên  $10^8$ CFU/g, mức độ hoạt tính sinh học của chúng trong điều kiện hỗn hợp so với điều kiện đơn lẻ hầu như không có sự khác biệt. Trong điều kiện hỗn hợp các vi sinh vật nghiên cứu có khả năng sống tương hỗ với nhau và vẫn duy trì được hoạt tính sinh học, Như vậy, có thể sử dụng ba chủng vi sinh vật

*S.fradiae* SHX.12, *B.velezensis* SHV.22 và *N.europea* SHV.OA7 ứng dụng trong sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn.

### 3.3.2. Nhân sinh khối các vi sinh vật tuyển chọn bằng phương pháp lên men chìm

Tiến hành thí nghiệm nhân sinh khối các vi sinh vật trong các điều kiện pH, nhiệt độ, thời gian nuôi cấy, môi trường dinh dưỡng cũng như tốc độ cấp khí, tỉ lệ tiếp giống trong lên men chìm. Sử dụng phần mềm Design Expert Version 9.0.6.2 để tối ưu hóa điều kiện lên men của các chủng vi sinh vật tuyển chọn đã thiết lập được điều kiện lên men thu sinh khối vi sinh vật trong bảng 3.27.

**Bảng 3.27.** Điều kiện lên men thu sinh khối vi sinh vật

Điều kiện lên men	Chủng vi sinh vật		
	<i>S.fradiae</i> SHX.12	<i>B.velezensis</i> SHV.22	<i>N.europea</i> SHV.OA7
pH	7,4	7,0	7,7
Nhiệt độ (°C)	37	28	28
Thời gian (giờ)	76	38	99
Tỷ lệ cấp giống (%)	5	5	7
Môi trường	SX2		Winogradsky
Lưu lượng cấp không khí (lít không khí/lít môi trường/phút)	0,75	0,75	0,5

Thử nghiệm lên men các chủng vi sinh vật nghiên cứu theo các điều kiện thông số (bảng 3.27) trong thiết bị lên men dung tích 30 lít. Sinh khối các vi sinh vật sau lên men chìm có mật độ tế bào đạt  $5,9 \times 10^9$  CFU/ml đối với *S.fradiae* SHX.12, đạt  $6,1 \times 10^9$  CFU/ml đối

với *B.velezensis* SHV.22 và đạt  $4,2 \times 10^8$  MPN/ml đối với *N.europea* SHV.OA7.

### **3.3.3. Nhân sinh khối vi sinh vật trên giá thể rắn**

Bằng thí nghiệm về chất mang, tỉ lệ tiếp giống, thời gian lên men xốp, đã xác định được chất mang tinh bột sắn thích hợp đối với *S.fradiae* SHX.12 và *B.velezensis* SHV.22, cao lanh phù hợp đối với *N.europea* SHV.OA7. Dịch sinh khối vi sinh vật sau lên men cấp 2 được bổ sung vào giá thể rắn với tỉ lệ 10%. Thời gian lên men xốp của chủng *B.velezensis* SHV.22 là 2 ngày ở điều kiện nhiệt độ  $28^{\circ}\text{C}$ , chủng *S.fradiae* SHX.12 là 3 ngày ở nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$  và đối với *N.europea* SHV.OA7 là 4 ngày ở nhiệt độ  $28^{\circ}\text{C}$ .

### **3.3.4. Chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn**

Trên cơ sở kết quả nghiên cứu, qui trình tạo chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn tóm tắt gồm các công đoạn chính như sau:

#### ***Nhân sinh khối dạng lỏng***

Ba chủng vi sinh vật được nuôi cấy riêng rẽ trong môi trường và điều kiện thích hợp trong thời gian 24-48 giờ sau đó chuyển sang bình lên men sinh khối với tỉ lệ tiếp giống 5% đối với *S.fradiae* SHX.12 và *B.velezensis* SHV.22, tỉ lệ tiếp giống 7% đối với *N.europea* SHV.OA7. Chủng *B.velezensis* SHV.22 được lên men trong 38 giờ, điều kiện pH7, nhiệt độ  $28^{\circ}\text{C}$ . Chủng *S.fradiae* SHX.12 thời gian lên men là 76giờ, điều kiện pH 7,4; nhiệt độ  $37^{\circ}\text{C}$ . Chủng *N.europea* SHV.OA7 lên men trong 99giờ, pH 7,7 và nhiệt độ  $28^{\circ}\text{C}$ .

#### ***Lên men xốp***

Sử dụng tinh bột sắn đã khử trùng đối với *S.fradiae* SHX.12 và *B.velezensis* SHV.22, cao lanh đã khử trùng đối với *N.europea* SHV.OA7. Dịch sinh khối vi sinh vật sau lên men cấp 2 được bổ

sung vào giá thể rắn với tỉ lệ 10%. Thời gian lên men xộp của chủng *B.velezensis* SHV.22 là 2 ngày ở điều kiện nhiệt độ 28<sup>0</sup>C, chủng *S.fradiae* SHX.12 là 3 ngày ở nhiệt độ 37<sup>0</sup>C và đối với *N.europea* SHV.OA7 là 4 ngày trong điều kiện nhiệt độ 28<sup>0</sup>C.

### **Tạo chế phẩm**

Chế phẩm VSV xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn được tạo thành bằng cách phối trộn sinh khối các chủng sau khi kết thúc lên men xộp. Kế thừa các kết quả nghiên cứu trước đây của Viện Môi trường Nông nghiệp, đề tài đã lựa chọn tỉ lệ phối trộn ba chủng nghiên cứu theo tỷ lệ 1:1:1 sau lên men xộp. Hỗn hợp sau khi phối trộn được kiểm tra mật độ tế bào và đóng gói trong túi polyetylen tráng thiếc với khối lượng 200 g/túi.

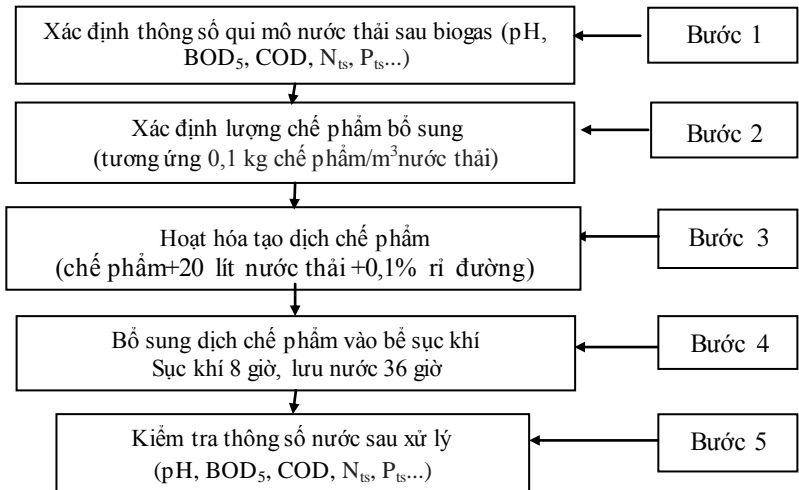
Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu, đề tài đã sản xuất thử thành công chế phẩm vi sinh vật với tên MIC-CAS 02 chứa ba chủng vi sinh vật gồm *S.fradiae* SHX.12, *B.velezensis* SHV.22 và *N.europea* SHV.OA7 có mật độ tế bào đạt 10<sup>8</sup> CFU/g sau 3 tháng bảo quản, đáp ứng yêu cầu về sản xuất chế phẩm vi sinh vật.

### **3.4. Xây dựng qui trình sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải CBTBS**

Nhằm đánh giá khả năng làm sạch nước thải của chế phẩm MIC-CAS 02, đề tài đã thử nghiệm xử lý nước thải trong phòng thí nghiệm trên hệ thống xử lý gián đoạn quy mô 80 lít/m<sup>3</sup>. Sau 3 ngày xử lý hàm lượng COD, BOD<sub>5</sub> trong nước thải tinh bột sắn giảm 76,2%, và 89,7% so với nước thải trước xử lý. Trong khi đó, mẫu đối chứng không bổ sung chế phẩm, chỉ sục khí để hoạt hóa hệ vi sinh vật có sẵn trong nước thải nên hiệu quả xử lý kém, chỉ giảm 13,1% sau 3 ngày xử lý và hàm lượng COD trong nước thải vẫn cao hơn so với mốc 2 ngày khi có chế phẩm.

Việc bổ sung chế phẩm MIC-CAS 02 cũng đã tác động tích cực đến hiệu quả xử lý Nitơ và Phospho trong nước thải. Sau 3 ngày xử lý gián đoạn, hàm lượng  $N_{ts}$  trong nước thải đã giảm được 70,4% (từ 58,6 mg/l ban đầu xuống 17,3 mg/l). Trong khi đó, mẫu đối chứng không bổ sung chế phẩm, chỉ sục khí để hoạt hóa hệ vi sinh vật có sẵn trong nước thải nên hiệu quả xử lý kém hơn (giảm 32,7%). Hàm lượng  $P_{ts}$  trong nước thải đã giảm được 74,2% (từ 16,1 mg/l ban đầu xuống 3,8 mg/l). Mẫu đối chứng không bổ sung chế phẩm chỉ giảm 34,7% sau 3 ngày xử lý.

Để xây dựng quy trình sử dụng chế phẩm vi sinh vật làm sạch nước thải và ứng dụng trong thực tiễn, đề tài đã tiến hành nghiên cứu các yếu tố có ảnh hưởng đến quá trình xử lý và đã xác định: Giá trị pH của nước thải nằm trong vùng trung tính (pH=7,6) theo kết quả trong bảng 3.1 nên không cần điều chỉnh pH trước khi xử lý. Oxy hòa tan trong nước khoảng 6,0 mg/l thì hiệu suất làm sạch nước thải đạt hiệu quả nhất, với thời gian sục khí là 8 giờ. Thời gian lưu là 36 giờ để tiết kiệm chi phí. Lượng chế phẩm bổ sung phù hợp  $100\text{g}/\text{m}^3$  hay  $0,1\text{kg}/\text{m}^3$  nước thải (tương đương  $10^4$  CFU/g). Sơ đồ quy trình sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải biogas của cơ sở CBTBS như sau:



### **3.5. Hiệu quả xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn của chế phẩm**

#### **3.5.1. Hiệu quả xử lý qui mô phòng thí nghiệm**

Thử nghiệm hiệu lực chế phẩm MIC-CAS 02 trong hệ thống xử lý qui mô 200 lít với 36 giờ lưu nước thải và sử dụng hệ thống khuấy, vận tốc 150 vòng/phút, với 2 công thức thí nghiệm bổ sung chế phẩm và không có chế phẩm. Kết quả cho thấy hiệu quả làm sạch nước thải của vi sinh vật trong chế phẩm cao hơn rõ rệt và ổn định hơn so với đối chứng (không bổ sung chế phẩm trong quá trình xử lý). Hiệu quả xử lý BOD<sub>5</sub> đạt 89,1%, COD đạt 84,2%, N<sub>ts</sub> đạt 82,5% và P<sub>ts</sub> đạt 79,2%. Chỉ tiêu BOD<sub>5</sub>, COD, N<sub>ts</sub>, P<sub>ts</sub> trong nước thải đầu ra ở thí nghiệm có bổ sung chế phẩm đều đạt tiêu chuẩn cột A theo QCVN 40:2011/BTNMT.

#### **3.5.2. Hiệu quả xử lý tại nhà máy CBTBS tỉnh Ninh Bình**

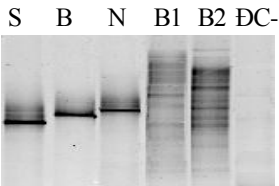
Sử dụng chế phẩm MIC-CAS 02 trong hệ thống xử lý nước thải chế biến tinh bột sắn của công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình được thực hiện trong thời gian từ tháng 10-11 năm 2014. Kết quả phân tích chất lượng nước thải của nhà máy cho thấy khi bổ sung chế phẩm MIC-CAS 02 đã cải thiện được chất lượng nước thải đầu ra. Số liệu trong bảng 3.36 cho thấy hiệu quả xử lý của chế phẩm MIC-CAS 02 tại nhà máy tinh bột sắn Elmaco Ninh Bình đạt trên 75%, giảm BOD<sub>5</sub> từ 259,5 mg/ml xuống 29,3 mg/ml, COD từ 446,3 mg/ml xuống 78,2 mg/ml, N<sub>ts</sub> từ 86,2 mg/ml xuống 15,8 mg/ml, P<sub>ts</sub> từ 15,5 mg/ml xuống 3,6 mg/ml. Nước thải chế biến tinh bột sắn của công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình sau xử lý đã đáp ứng yêu cầu theo QCVN 40:2011/BTNMT (cột A) và đủ điều kiện xả thải.

**Bảng 3.36.** Hiệu quả xử lý nước thải nhà máy tinh bột sắn Elmaco Ninh Bình bằng chế phẩm MIC-CAS 02

Chỉ tiêu phân tích	Trước Biogas	Sau Biogas	Chế phẩm xử lý	Hiệu quả chế phẩm (%)	QCVN 40:2011/BTNMT	
					Cột A	Cột B
COD (mg/l)	11745	446,3	78,2	82,5	100	150
BOD <sub>5</sub> (mg/l)	6653	259,5	29,3	88,7	30	50
pH	5,4	7,6	7,2		6-9	5,5-9
TSS (mg/l)	1176	153,9	28,4	81,5	50	100
N <sub>ts</sub> (mg/l)	119,5	86,2	15,8	81,7	20	40
P <sub>ts</sub> (mg/l)	22,1	15,5	3,6	76,8	4	6

### 3.5.3. Xác định khả năng tồn tại của các vi sinh vật nghiên cứu trong bùn thải bằng kỹ thuật DGGE

Sử dụng kỹ thuật DGGE để kiểm tra sự sống sót của vi sinh vật nghiên cứu trong bùn hoạt tính từ bể xử lý sau 1 tháng vận hành. Kết quả được thể hiện ở hình 3.23.



**Hình 3.23.** Điện di biến tính (DGGE) gien 16S rADN của vi sinh vật trong các mẫu bùn và chủng đơn

#### Chú thích:

*S: S.fradiae* SHX.12

*B1: Bùn xử lý không có CP*

*B: B.velezensis* SHV.22

*B2: Bùn hoạt tính sau xử lý có CP 1 tháng*

*N: N.europea* SHV.OA7

*DC-: Đối chứng âm*

Cả 2 mẫu bùn đều có nhiều băng đậm, nhạt khác nhau, chứng tỏ sự đa dạng nhiều loài vi sinh vật trong đó. Tuy nhiên, ở mẫu B2-bùn hoạt tính lấy sau 1 tháng xử lý có bổ sung chế phẩm thì có nhiều băng đậm hơn. Kết quả này cho thấy hệ vi sinh vật trong bể xử lý (gồm vi sinh vật có sẵn trong nước thải cùng với vi sinh vật từ chế phẩm bổ sung vào) đã được hoạt hóa nên số lượng tăng lên. Còn với mẫu B1-bùn xử lý không có chế phẩm cũng có các băng tương ứng như trong mẫu B2 nhưng ít và mờ hơn, chứng tỏ mật độ vi sinh vật ít hơn.

Hình 3.23 còn cho thấy mẫu bùn B2 có các băng tương đồng với chủng *S.fradiae* SHX.12, *B.velezensis* SHV.22 và *N.europea* SHV.OA7. Như vậy, ở mẫu bùn B2 đều có mặt 3 chủng vi sinh vật nghiên cứu. Mẫu bùn B1 thu được một băng đậm nhưng không tương ứng với băng nào của các chủng đơn. Như vậy, có thể là trong các mẫu bùn xử lý không có chế phẩm, mật độ vi sinh vật này thấp nên không thể hiện rõ nét trên ảnh điện di, hoặc trong mẫu B1 không có mặt của vi sinh vật nghiên cứu.

Phân tích mật độ VSV tổng số hiếu khí trong mẫu bùn B1 và B2, kết quả cho thấy mẫu bùn B2 (Bùn hoạt tính sau xử lý chế phẩm 1 tháng) mật độ tế bào VSV tổng số đạt  $2,3 \times 10^9$  CFU/g cao hơn so với mẫu bùn B1 (Bùn xử lý không có chế phẩm) (đạt  $1,4 \times 10^4$  CFU/g). Kết quả nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với nhận định của Lê Thị Việt Hà và cs (2003) về số vi khuẩn hiếu khí trong bùn tạo được nhờ các chủng phân lập từ nước thải tăng gấp nhiều lần (lên tới  $2.10^7$  lần) so với bùn tự nhiên.

Từ những kết quả nghiên cứu trên, đề tài đưa ra nhận xét các chủng *S.fradiae* SHX.12, *B.velezensis* SHV.22 và *N.europea*



SHV.OA7 có khả năng thích nghi và tồn tại tốt trong và sau quá trình xử lý.

## KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### KẾT LUẬN

Đã phân lập, tuyển chọn và xác định được bộ chủng vi sinh vật xử lý nước thải CBTBS gồm 01 xạ khuẩn *Streptomyces fradiae* ký hiệu SHX.12 có khả năng phân giải tinh bột, xenluloza; 01 vi khuẩn *Bacillus velezensis* ký hiệu SHV.22 vừa có khả năng chuyển hóa Phosphat hữu cơ vừa có khả năng đồng hóa Phospho và 01 vi khuẩn *Nitrosomonas europea* ký hiệu SHV.OA7 có khả năng chuyển hóa Nitơ. Ba chủng nghiên cứu trên đều thích nghi với nước thải CBTBS và thuộc nhóm an toàn sinh học cấp độ 1.

Trên cơ sở kết quả nghiên cứu tối ưu hóa các yếu tố điều kiện nhân sinh khối các chủng trong thiết bị lên men chìm, thử nghiệm và lựa chọn các thông số trong lên men xộp, đề tài đã xây dựng được qui trình sản xuất chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải chế biến tinh bột sản dạng bột với chất mang là cao lanh và tinh bột sắn. Chế phẩm chứa *Nitrosomonas europea* SHV.OA7, *Streptomyces fradiae* SHX.12 và *Bacillus velezensis* SHV.22, có mật độ tế bào vi sinh vật đạt  $10^8$  CFU/g và được đặt tên là MIC-CAS 02.

Xây dựng được 01 qui trình sử dụng chế phẩm vi sinh vật xử lý nước thải cho các cơ sở nhà máy sản xuất tinh bột sắn có hệ thống xử lý biogas và xử lý hiếu khí. Chế phẩm được bổ sung vào bể sục khí với liều lượng là 100g/m<sup>3</sup>nước thải, sục khí 8 giờ và thời gian lưu nước là 36giờ.

Đánh giá hiệu quả xử lý nước thải CBTBS của chế phẩm cho thấy chế phẩm MIC-CAS02 đạt hiệu quả xử lý BOD<sub>5</sub> 84,2%, COD 89,1%, N<sub>ts</sub> 82,5% và P<sub>ts</sub> 79,2% ở qui mô phòng thí nghiệm. Sau khi

sử dụng chế phẩm MIC-CAS 02 trong hệ thống nước thải nhà máy CBTBS của công ty TNHH MTV Elmaco Ninh Bình, nước thải sau biogas của nhà máy đã giảm BOD<sub>5</sub> từ 259,5 mg/ml xuống 29,3 mg/ml, COD từ 446,3 mg/ml xuống 78,2 mg/ml, N<sub>ts</sub> từ 86,2 mg/ml xuống 15,8 mg/ml, P<sub>ts</sub> từ 15,5 mg/ml xuống 3,6 mg/ml. Nước thải đảm bảo chất lượng yêu cầu theo QCVN 40:2011/BTNMT (cột A) và đủ điều kiện thải ra hệ thống nước thải công cộng.

Bằng kỹ thuật DGGE kiểm tra sự sống sót của vi sinh vật trong bùn hoạt tính cho thấy *Streptomyces fradiae* SHX.12, *Bacillus velezensis* SHV.22 và *Nitrosomonas europea* SHV.OA7 có khả năng thích nghi và tồn tại tốt trong và sau quá trình xử lý.

### **KIẾN NGHỊ**

Tiếp tục thử nghiệm chế phẩm vi sinh vật MIC-CAS 02 tại các cơ sở sản xuất tinh bột sắn khác làm cơ sở cho việc đăng ký, lưu hành chế phẩm trên cả nước.

## CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN TIẾN SĨ

1. Lương Hữu Thành, Vũ Thúy Nga, Lê Thị Thanh Thủy, Đào Văn Thông, Hứa Thị Sơn, Tống Hải Vân, Cao Hương Giang, Hà Thị Thúy, Nguyễn Thị Hằng Nga (2011), “Tuyển chọn bộ chủng vi sinh vật nhằm xử lý nước thải của nhà máy chế biến tinh bột sắn”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 3(24), tr. 29-33.
2. Vũ Thúy Nga, Lương Hữu Thành, Phạm Văn Toàn (2013), “Nghiên cứu cải thiện chất lượng nước thải chế biến tinh bột sắn bằng chế phẩm vi sinh vật”, *Tuyển tập báo cáo Hội nghị khoa học Công nghệ sinh học toàn quốc 2013*, quyển 2, tr. 389-392.
3. Vũ Thúy Nga, Nguyễn Đình Tráng, Lương Hữu Thành (2014), “Nghiên cứu khả năng xử lý nước thải tinh bột sắn của chủng *Streptomyces fradiae* và *Bacillus velezensis*”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 7(53), tr. 28-32.