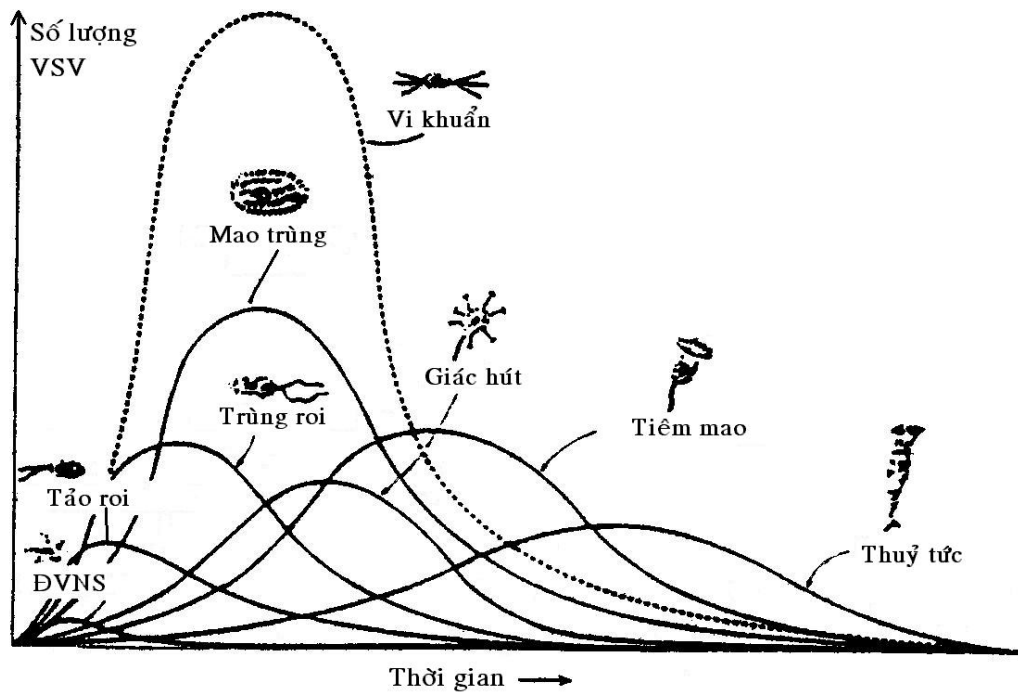


TS. Lê Quốc Tuấn

**Bài giảng**

# VI SINH MÔI TRƯỜNG



**Lưu hành nội bộ**

-2009-

## GIỚI THIỆU

Vi sinh vật học môi trường là ngành nghiên cứu các đối vi sinh vật tồn tại trong môi trường tự nhiên và nhân tạo. Nguồn gốc của các nghiên cứu bắt đầu từ sự quan sát của Antony van Leeuwenhoek (1677). Van Leeuwenhoek đã sử dụng một kính hiển vi để khám phá những gì mà ông gọi là “những động vật nhỏ” chúng sống và sinh sản trong nước mưa, nước giếng, nước biển và nước băng tan. Trong suốt nhiều thế kỷ, sự hiểu biết của chúng ta về vi sinh vật môi trường dựa trên những quan sát chi tiết và các thí nghiệm với sự giúp đỡ của kính hiển vi và các công cụ hoá sinh cũng như toán học hiện đại.

Nhiều nghiên cứu của van Leeuwenhoek dựa vào việc kiểm tra các mẫu vật được đặt trong ống nghiệm, trong chai thuỷ tinh tại nhà ông. Hiện tại, người ta cho rằng ông đã tạo nên một môi trường nhân tạo, cũng nhờ đó mà ngày nay chúng ta có những kỹ thuật nuôi cấy vi sinh vật trong phòng thí nghiệm để xác định cấu trúc cũng như chức năng của chúng.

Như chúng ta đã biết vi sinh vật hiện diện khắp nơi, trong đất, trong nước, không khí, trong cơ thể sinh vật khác, đặc biệt chúng có thể tồn tại trong những môi trường khắc nghiệt nhất. Chúng đóng một vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn vật chất. Vì thế, chúng được xem là là một mắt xích quan trọng trong quá trình chuyển hoá vật chất.

Trong phần vi sinh vật môi trường này, chúng ta sẽ tìm hiểu các quá trình chuyển hoá vật chất trong môi trường tự nhiên và nhân tạo. Qua đó, có thể nắm bắt được các quy luật chuyển hoá chất hữu cơ và vô cơ bởi vi sinh vật nhằm điều khiển và áp dụng chúng một cách hiệu quả trong các công trình xử lý chất thải. Nghiên cứu sự tác động tương hỗ giữa các cơ thể vi sinh vật, giữa vi sinh vật và môi trường (các tác nhân lý hoá và sinh học) nhằm kiểm soát sự phát triển của chúng, và nhằm tăng cao hiệu quả xử lý chất thải của chúng khi được áp dụng. Từ đó chúng ta sẽ có những hiểu biết đúng đắn về vi sinh vật và tầm quan trọng của chúng trong môi trường tự nhiên cũng như nhân tạo.



**Khoa Môi Trường và Tài Nguyên**  
**Đại Học Nông Lâm TP. HCM**

## MỤC LỤC

<b>Chương 1. Sự phân bố của vi sinh vật trong môi trường</b>	<b>Trang</b>
<b>1.1. Môi Trường đất và sự phân bố của vi sinh vật trong đất</b>	1
1.1.1. Môi trường đất	1
1.1.2. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất và mối quan hệ giữa các nhóm VSV	1
1.1.3. Mối quan hệ giữa đất, vi sinh vật và thực vật	4
<b>1.2. Môi trường nước và sự phân bố của vi sinh vật trong nước</b>	5
1.2.1. Sự phân bố của vi sinh vật trong nước	5
<b>1.3. Môi trường không khí và sự phân bố của vi sinh vật trong không khí</b>	7
<b>Chương 2. Khả năng chuyển hóa các hợp chất trong môi trường tự nhiên của VSV</b>	
<b>2.1. Vòng tuần hoàn nitrogen trong tự nhiên</b>	8
<b>2.2. Quá trình amôn hóa</b>	8
2.2.1. Sự amôn hóa urea	8
2.2.2. Sự amôn hóa protein	9
<b>2.3. Quá trình nitrate hóa</b>	10
2.3.1. Giai đoạn nitrite hóa	10
2.3.2. Giai đoạn nitrate hóa	10
<b>2.4. Quá trình phản nitrate hóa</b>	11
<b>2.5. Quá trình cố định nitrogen phân tử</b>	12
<b>2.6. Sự chuyển hóa các hợp chất phosphore của vi sinh vật</b>	12
2.6.1. Vòng tuần hoàn phosphore trong tự nhiên	12
2.6.2. Sự phân giải phosphore hữu cơ trong đất do vi sinh vật	13
2.6.3. Sự phân giải phosphore vô cơ do vi sinh vật	14
<b>2.7. Sự chuyển hóa các hợp chất lưu huỳnh của vi sinh vật</b>	15
2.7.1. Vòng tuần hoàn lưu huỳnh trong tự nhiên	15
2.7.2. Sự oxy hóa các hợp chất lưu huỳnh	15
2.7.3. Sự khử các hợp chất lưu huỳnh vô cơ do vi sinh vật	16
<b>Chương 3. Sinh trưởng và phát triển ở vi sinh vật</b>	
<b>3.1. Mẫu lý thuyết về sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn</b>	17
<b>3.2. Sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn trong điều kiện nuôi cấy tĩnh – Đường cong sinh trưởng</b>	19
3.2.1. Pha lag	19
3.2.2. Pha log	20
3.2.3. Pha ổn định	23
3.2.4. Pha tử vong	24
<b>3.3. Sinh trưởng của vi khuẩn trong quá trình nuôi cấy liên tục</b>	25
<b>3.4. Làm đồng bộ sự phân chia tế bào</b>	27
<b>3.5. Các phương pháp xác định sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn</b>	29
3.5.1. Các phương pháp xác định số lượng tế bào	29
3.5.2. Các phương pháp xác định sinh khối tế bào	30

<b>3.6. Tác dụng của các yếu tố bên ngoài lên sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn</b>	31
3.6.1. Cơ chế tác dụng của các yếu tố bên ngoài lên vi khuẩn	32
3.6.2. Các yếu tố vật lý	33
3.6.3. Các yếu tố hóa học	36
3.6.4. Các yếu tố sinh học	38
<b>Chương 4. Thành phần vi sinh vật tham gia trong quá trình xử lý nước thải</b>	
<b>4.1. Vi khuẩn</b>	40
4.1.1. Cấu trúc tế bào	40
4.1.2. Điều kiện môi trường	41
4.1.3. Sự phát triển của vi khuẩn	42
4.1.4. Động học của quá trình xử lý sinh học	45
4.1.5. Ứng dụng sự phát triển của vi khuẩn và hoạt động sử dụng chất nền trong xử lý sinh học.	47
<b>4.2. Nấm</b>	47
<b>4.3. Tảo</b>	48
<b>Chương 5. Xử lý nước thải bằng vi sinh vật</b>	
<b>5.1. Xử lý nước thải bằng vi sinh dính bám trong môi trường hiếu khí</b>	51
5.1.1. Cơ sở lý thuyết của phương pháp	51
5.1.2. Bể lọc sinh học có vật liệu tiếp xúc không ngập nước	52
5.1.3. Bể lọc sinh học có lớp vật liệu ngập trong nước	59
<b>5.2. Xử lý nước thải bằng vi sinh vật yếm khí trong môi trường cặn lơ lửng và môi trường vi sinh dính bám</b>	60
5.2.1. Các quá trình sinh học và phân loại công trình	60
5.2.2. Bể xử lý yếm khí có lớp cặn lơ lửng	63
5.2.3. Bể lọc yếm khí	65
5.2.4. Đánh giá quá trình	66
<b>Chương 6. Các quá trình khử nitrogen bằng vi sinh vật</b>	
<b>6.1. Sự chuyển hóa amonia bằng quá trình nitrate hóa sinh học</b>	68
6.1.1. Mô tả quá trình	68
6.1.2. Phân loại các quá trình nitrate	69
6.1.3. Sự oxy hóa carbon và nitrate hóa ở giai đoạn đơn (sơ đồ phối hợp)	70
6.1.4. Nitrate hóa giai đoạn kép (sơ đồ tách biệt)	73
6.2.1. Loại bỏ nitrogen bằng nitrate hóa/phản nitrate hóa sinh học	74
6.2.2. Phân loại các quá trình nitrate hóa/phản nitrate hóa	76
<b>Chương 7. Khử phosphorus bằng các phương pháp sinh học</b>	
<b>7.1. Các quá trình khử phosphorus</b>	82
7.1.1. Quá trình A/O (khử phosphorus dòng chính)	84
7.1.2. Quá trình PhoStrip (khử phosphorus dòng phụ)	84
7.1.3. Bể phản ứng mẻ liên tục	85
7.1.4. So sánh các quá trình khử phosphorus sinh học	85
<b>7.2. Việc khử nitrogen và phosphorus kết hợp bằng các phương pháp xử lý</b>	86

<i>sinh học</i>	
7.2.1. Quá trình A <sup>2</sup> /O	87
7.2.2. Quá trình 5 giai đoạn	87
7.2.3. So sánh các quá trình khử nitrogen và phosphorus sinh học kết hợp	88
<b>Chương 8. Các hệ thống xử lý tự nhiên và ứng dụng</b>	
<b>8.1. Các hệ thống xử lý tự nhiên</b>	90
8.1.1. Sự phát triển của các hệ thống xử lý tự nhiên	90
8.1.2. Tốc độ chậm	93
8.1.3. Rỉ nhanh	95
8.1.4. Hệ chảy tràn bề mặt	97
8.1.5. Đất ngập nước	99
8.1.6. Hệ thực vật thủy sinh bậc cao	100
8.1.7. Hệ nuôi trồng thủy sản	100
<b>8.2. Những nghiên cứu cơ bản trong việc ứng dụng hệ thống xử lý tự nhiên</b>	101
8.2.1. Các đặc tính của nước thải và cơ chế xử lý	101
8.2.2. Những vấn đề về sức khỏe cộng đồng	106
<b>Tài liệu tham khảo</b>	108

## Chương 1

# SỰ PHÂN BỐ CỦA VI SINH VẬT TRONG MÔI TRƯỜNG



## 1.1. Môi trường đất và sự phân bố của vi sinh vật trong đất

### 1.1.1. Môi trường đất.

Đất là một môi trường thích hợp nhất đối với vi sinh vật, vì thế nó là nơi cư trú rộng rãi nhất của vi sinh vật, cả về thành phần cũng như số lượng so với các môi trường khác. Sở dĩ như vậy là do trong đất có một lượng lớn các chất hữu cơ. Đó là nguồn thức ăn cho các nhóm vi sinh vật dị dưỡng (vi sinh vật phân huỷ các chất carbon hữu cơ, nhóm vi sinh vật phân huỷ các chất nitrogen hữu cơ...). Các chất vô cơ có trong đất cũng là nguồn dinh dưỡng cho các nhóm vi sinh vật tự dưỡng (các nhóm phân huỷ các chất vô cơ, chuyển hoá các chất S, P, Fe...)

Các chất dinh dưỡng không những tập trung nhiều ở tầng đất mặt mà còn phân tán xuống các tầng đất sâu. Bởi vậy, ở các tầng đất khác nhau, sự phân bố vi sinh vật khác nhau phụ thuộc và hàm lượng các chất dinh dưỡng.

Mức độ thoáng khí của đất cũng là một điều kiện ảnh hưởng đến sự phân bố của vi sinh vật. Các nhóm hiếu khí phát triển nhiều ở những nơi có nồng độ oxy cao. Những nơi yếm khí, hàm lượng oxy thấp thường phân bố nhiều loại vi sinh vật kỵ khí.

Độ ẩm và nhiệt độ trong đất cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của vi sinh vật đất. Đất vùng nhiệt đới thường có độ ẩm 70-80% và nhiệt độ 20<sup>0</sup>C – 30<sup>0</sup>C. Đó là nhiệt độ và độ ẩm thích hợp với đa số vi sinh vật. Bởi vậy, trong mỗi gam đất thường có hàng chục triệu đến hàng tỉ tế bào vi sinh vật bao gồm nhiều nhóm khác nhau về vị trí phân loại cũng như hoạt tính sinh lý, sinh hoá và sinh thái.

### 1.1.2. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất và mối quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật.

#### 1.1.2.1. Sự phân bố của vi sinh vật trong đất.

Vi sinh vật là những cơ thể nhỏ bé dễ dàng phát tán nhờ gió và các sinh vật khác. Bởi vậy chúng có thể di chuyển dễ dàng đến mọi nơi trong tự nhiên. Nhất là những vi sinh vật có bào tử, bào tử của chúng có khả năng sống tiềm sinh trong các điều kiện khó khăn. Khi gặp điều kiện thuận lợi, chúng lại phát triển và sinh sôi. Tuy nhiên, đất là nơi vi sinh vật tồn tại nhiều nhất so với các môi trường khác. Sự phân bố của vi sinh vật đất còn gọi là khu hệ vi sinh đất.

Chúng bao gồm các nhóm có đặc tính sinh lý, sinh hoá và sinh thái rất khác nhau. Các nhóm vi sinh vật chính cư trú trong đất bao gồm: Vi khuẩn, Vi nấm, Xạ khuẩn, Virus, Tảo, Nguyên sinh động vật. Trong đó vi khuẩn là nhóm chiếm nhiều nhất về số lượng. Chúng bao gồm vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn kỵ khí, vi khuẩn tự dưỡng, vi khuẩn dị dưỡng...Nếu chia theo các nguồn dinh dưỡng thì nó lại có nhóm tự dưỡng carbon, tự dưỡng amin, dị dưỡng amin, vi khuẩn cố định nitrogen...

Theo nhiều tài liệu thì trung bình trong đất vi khuẩn chiếm khoảng 90% tổng số. Xạ khuẩn chiếm khoảng 8%, vi nấm 1%, còn lại 1% là tảo, nguyên sinh động vật. Tỷ lệ này thay đổi tùy theo các loại đất khác nhau cũng như khu vực địa lý, tầng đất, thời vụ, chế độ canh tác... Ở những đất có đầy đủ chất dinh dưỡng, độ thoáng khí tốt, nhiệt độ, độ ẩm và pH thích hợp thì vi sinh vật phát triển nhiều về số lượng và thành phần. Sự phát triển của vi sinh vật lại chính là nhân tố làm cho đất thêm phì nhiêu, màu mỡ.

Sự phân bố của vi sinh vật trong đất có thể chia ra như sau:

*\* Phân bố theo chiều sâu.*

Quần thể vi sinh vật thường tập trung nhiều nhất ở tầng canh tác. Đó là nơi tập trung rễ cây, chất dinh dưỡng, có cường độ chiếu sáng, nhiệt độ, độ ẩm thích hợp nhất. Số lượng vi sinh vật giảm dần theo tầng đất, càng xuống sâu càng ít vi sinh vật.

Riêng đối với các đất bạc màu, do hiện tượng rửa trôi, tầng 0 – 20 cm ít chất hữu cơ hơn tầng 20 – 40 cm. Bởi vậy, ở tầng này số lượng vi sinh vật nhiều hơn ở tầng trên. Sau đó giảm dần ở các tầng dưới.

Thành phần vi sinh vật cũng thay đổi theo tầng đất: vi khuẩn hiếu khí, vi nấm, xạ khuẩn thường tập trung ở tầng mặt vì tầng này có nhiều oxy. Càng xuống sâu, các nhóm vi sinh vật hiếu khí càng giảm mạnh. Ngược lại, các nhóm vi khuẩn kỵ khí như vi khuẩn phản nitrate hoá phát triển mạnh ở độ sâu 20 – 40 cm. Ở vùng khí hậu nhiệt đới nóng ẩm thường có quá trình rửa trôi, xói mòn nên tầng 0 – 20 cm dễ biến động, tầng 20 – 40 cm ổn định hơn.

*\* Phân bố theo các loại đất.*

Các loại đất khác nhau có điều kiện dinh dưỡng, độ ẩm, độ thoáng khí, pH khác nhau. Bởi vậy sự phân bố của vi sinh vật cũng khác nhau. Ở đất lúa nước, tình trạng ngập nước lâu ngày làm ảnh hưởng đến độ thông khí, chế độ nhiệt, chất dinh dưỡng... Chỉ có một lớp mỏng ở trên khoảng 0 – 3 cm là có quá trình oxy hoá, ở tầng dưới quá trình khử oxy chiếm ưu thế. Bởi vậy, trong đất lúa nước các loại vi sinh vật kỵ khí phát triển mạnh. Ví dụ như vi khuẩn amôn hoá, vi khuẩn phản nitrate hoá. Ngược lại, các loại vi sinh vật hiếu khí như vi khuẩn nitrate hoá, vi khuẩn cố định nitrogen, vi nấm và xạ khuẩn đều rất ít. Tỷ lệ giữa vi khuẩn hiếu khí và yếm khí luôn nhỏ hơn 1.

Ở đất trồng hoa màu, không khí lưu thông tốt, quá trình oxy hoá chiếm ưu thế, bởi vậy các loài vi sinh vật hiếu khí phát triển mạnh, vi sinh vật yếm phát triển yếu. Tỷ lệ giữa vi khuẩn hiếu khí và yếm khí thường lớn hơn 1, có trường hợp đạt tới 4 – 5. Ở đất giàu dinh dưỡng như đất phù sa sông Hồng, số lượng vi sinh vật tổng số rất cao. Ngược lại, vùng đất bạc màu Hà Bắc có số lượng vi sinh vật ít nhất.

*\* Phân bố theo cây trồng.*

Đối với tất cả các loại cây trồng, vùng rễ cây là vùng vi sinh vật phát triển mạnh hơn so với vùng không có rễ. Sở dĩ như thế vì rễ cây cung cấp một lượng lớn chất hữu cơ khi nó chết đi. Khi còn sống, bản thân rễ cây cũng thường xuyên tiết ra các chất hữu cơ làm nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật. Rễ cây còn làm cho đất thoáng khí, giữ được độ

ẩm. Tất cả những nhân tố đó làm cho số lượng vi sinh vật ở vùng rễ phát triển mạnh hơn vùng ngoài rễ.

Tuy nhiên, mỗi loại cây trồng trong quá trình sống của nó thường tiết qua bộ rễ những chất khác nhau. Bộ rễ khi chết đi cũng có thành phần các chất khác nhau. Thành phần và số lượng các chất hữu cơ tiết ra từ bộ rễ quyết định thành phần và số lượng vi sinh vật sống trong vùng rễ đó. Ví dụ như vùng rễ cây họ đậu thường phân bố nhóm vi khuẩn cố định nitrogen cộng sinh còn ở vùng rễ lúa là nơi cư trú của các nhóm cố định nitrogen tự do hoặc hội sinh v.v... Số lượng và thành phần vi sinh vật cũng thay đổi theo các giai đoạn phát triển của cây trồng. Đất vùng phù sa sông Hồng, số lượng vi sinh vật đạt cực đại ở giai đoạn lúa chồi nhanh, đẻ nhánh, giai đoạn này là cây lúa sinh trưởng mạnh. Bởi vậy thành phần và số lượng chất hữu cơ tiết qua bộ rễ càng lớn – đó là nguồn dinh dưỡng cho vi sinh vật vùng rễ. Số lượng vi sinh vật đạt cực tiểu ở thời kỳ lúa chín. Thành phần vi sinh vật cũng biến động theo các giai đoạn phát triển của cây phù hợp với hàm lượng các chất tiết qua bộ rễ.

#### *1.1.2.2. Mối quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật trong đất.*

Sự phân bố của vi sinh vật trong đất vô cùng phong phú cả về số lượng cũng như thành phần. Trong quá trình sống chung như thế, chúng có một mối quan hệ tương hỗ vô cùng chặt chẽ. Dựa vào tính chất của các loại quan hệ giữa các nhóm vi sinh vật, người ta chia ra làm 4 loại quan hệ: ký sinh, cộng sinh, hỗ sinh và kháng sinh.

##### *\* Quan hệ ký sinh:*

Quan hệ ký sinh là hiện tượng vi sinh vật này sống ký sinh trên vi sinh vật khác, hoàn toàn ăn bám và gây hại cho vật chủ. Ví dụ như các loại virus sống ký sinh trong tế bào vi khuẩn hoặc một vài loài vi khuẩn sống ký sinh trên vi nấm. Các loại vi khuẩn cố định nitrogen cộng sinh thường hay bị một loại thực khuẩn *Rhizobium* ký sinh, trên môi trường dịch thể có hiện tượng môi trường đang đục trở nên trong. Nguyên nhân là do thực khuẩn thể xâm nhập và làm tan tất cả các tế bào vi khuẩn – gọi là hiện tượng sinh tan. Khi nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường đặc cũng có hiện tượng như vậy. Các thực khuẩn này tồn tại ở trong đất trồng cây họ đậu làm ảnh hưởng rất lớn đến quá trình hình thành nốt sần ở cây đậu.

##### *\* Quan hệ cộng sinh*

Là quan hệ hai bên cùng có lợi, bên này không thể thiếu bên kia trong quá trình sinh sống. Ở vi sinh vật người ta ít quan sát thấy quan hệ cộng sinh. Có một số giả thiết cho rằng: ty thể – cơ quan hô hấp của tế bào vi nấm chính là một vi khuẩn cộng sinh với vi nấm. Giả thiết đó dựa trên cấu tạo của ty thể có cả bộ máy DNA riêng biệt, có thể tự sao chép như một cơ thể độc lập. Giả thiết này chưa được công nhận hoàn toàn. Lại có giả thiết cho rằng: các plasmid có trong vi nấm và vi khuẩn chính là sự cộng sinh giữa virus và vi nấm hay vi khuẩn đó. Ví dụ như các plasmid mang gen kháng thuốc đã mang lại mối lợi cho vi khuẩn chủ là kháng được thuốc kháng sinh vì thế mà hai bên cùng có lợi và gọi là quan hệ cộng sinh.



### *\* Quan hệ hỗ sinh*

Là quan hệ hai bên cùng có lợi nhưng không nhất thiết phải có nhau mới sống được như quan hệ cộng sinh. Quan hệ này thường thấy trong sự sống của vi sinh vật vùng rễ. Ví dụ như mối quan hệ giữa nấm mốc phân huỷ tinh bột thành đường và những nhóm vi khuẩn phân giải loại đường đó. Mối quan hệ giữa nhóm vi khuẩn phân giải phosphore và nhóm vi khuẩn phân giải protein cũng là quan hệ hỗ sinh, trong đó nhóm thứ nhất cung cấp P cho nhóm thứ hai và nhóm thứ hai cung cấp N cho nhóm thứ nhất.

### *\* Quan hệ kháng sinh*

Quan hệ kháng sinh là mối quan hệ đối kháng lẫn nhau giữa hai nhóm vi sinh vật. Loại này thường tiêu diệt loại kia hoặc hạn chế quá trình sống của nó. Ví dụ điển hình là xạ khuẩn kháng sinh và nhóm vi khuẩn mẫn cảm với chất kháng sinh do xạ khuẩn sinh ra. Khi nuôi cấy 2 nhóm này trên môi trường thạch đĩa, ta có thể thấy rõ hiện tượng kháng sinh: xung quanh nơi xạ khuẩn mọc có một vòng vô khuẩn, tại đó vi khuẩn không mọc được. Người ta căn cứ vào đường kính của vòng vô khuẩn đó mà đánh giá khả năng kháng sinh của xạ khuẩn. Tất cả các mối quan hệ trên đây của khu hệ vi sinh vật đất tạo nên những hệ sinh thái vô cùng phong phú trong từng loại đất. Chúng làm nên độ màu mỡ của đất, thay đổi tính chất lý hoá của đất và từ đó ảnh hưởng đến cây trồng.

### **1.1.3. Môi quan hệ giữa đất, vi sinh vật và thực vật**

#### *1.1.3.1. Quan hệ giữa đất và vi sinh vật đất.*

Đất có kết cấu từ những hạt nhỏ liên kết với nhau thành cấu trúc đất. Có quan điểm cho rằng vi sinh vật đóng vai trò gián tiếp trong sự liên kết các hạt đất với nhau. Hoạt động của vi sinh vật, nhất là nhóm hiếu khí đã hình thành nên một thành phần của mùn là acid humic. Các muối của acid humic tác dụng với ion  $Ca^{2+}$  tạo thành một chất dẻo gắn kết những hạt đất với nhau. Sau này người ta đã tìm ra vai trò trực tiếp của vi sinh vật trong việc tạo thành kết cấu đất. Trong quá trình phân giải chất hữu cơ, nấm mốc và xạ khuẩn phát triển một hệ khuẩn ty khá lớn trong đất. Khi nấm mốc và xạ khuẩn chết đi, vi khuẩn phân giải chúng tại thành các chất dẻo có khả năng kết dính các hạt đất với nhau. Bản thân vi khuẩn khi chết đi và tự phân huỷ cũng tạo thành các chất kết dính. Ngoài ra lớp dịch nhầy bao quanh các vi khuẩn có vỏ nhầy cũng có khả năng kết dính các hạt đất với nhau.

Các chất kết dính tạo thành kết cấu đất còn được gọi là mùn hoạt tính. Như vậy mùn không những là nơi tích lũy chất hữu cơ làm nên độ phì nhiêu của đất mà còn là nhân tố tạo nên kết cấu đất.

### *\* Tác động của phân bón đến vi sinh vật đất*

Khi ta bón phân vào đất, phân tác dụng nhanh hay chậm đến cây trồng là nhờ hoạt động của vi sinh vật. Vi sinh vật phân giải phân hữu cơ thành dạng vô cơ cho cây trồng hấp thụ, biến dạng vô cơ khó tan thành dễ tan. Ngược lại các loại phân bón cũng ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật trong đất.

*\* Tác động của chế độ nước đối với vi sinh vật:*

Đại đa số các loại vi khuẩn có ích đều phát triển mạnh ở độ ẩm 60 – 80%. Độ ẩm quá thấp hoặc quá cao đều ức chế vi sinh vật. Chỉ có nấm mốc và xạ khuẩn là có thể phát triển được ở điều kiện khô.

*\* Tác động của chế độ canh tác khác tới vi sinh vật:*

Ngoài các chế độ phân bón, nước, làm đất, chế độ canh tác khác cũng có tác dụng rõ rệt tới hoạt động của vi sinh vật. Ví dụ như chế độ luân canh cây trồng. Mỗi loại cây trồng đều có một khu hệ vi sinh vật đặc trưng sống trong vùng rễ của nó. Bởi vậy luân canh cây trồng làm cho khu hệ vi sinh vật đất cân đối và phong phú hơn. Người ta thường luân canh các loại cây trồng khác với cây họ đậu để tăng cường hàm lượng đạm cho đất.

Các loại thuốc hoá học trừ sâu, diệt cỏ gây tác động có hại tới vi sinh vật cũng như hệ sinh thái đất nói chung. Việc dùng các loại thuốc hoá học làm ô nhiễm môi trường đất, tiêu diệt phần lớn các loại vi sinh vật và động vật nguyên sinh trong đất.

Tất cả những biện pháp canh tác có ảnh hưởng trực tiếp và sâu sắc đến sự phát triển của vi sinh vật trong đất, từ đó ảnh hưởng đến quá trình hoạt động sinh học, cụ thể là sự chuyển hoá các chất hữu cơ thành vô cơ trong đất, ảnh hưởng đến quá trình hình thành mùn và kết cấu đất.

*1.1.3.2. Mối quan hệ giữa vi sinh vật và thực vật*

Mỗi loại cây đều có một khu hệ vi sinh vật vùng rễ đặc trưng cho cây đó vì rễ thực vật thường tiết ra một lượng lớn các chất hữu cơ và vô cơ, các chất sinh trưởng..., thành phần và số lượng của các chất đó khác nhau tùy loại cây. Những chất tiết của rễ có ảnh hưởng quan trọng đến vi sinh vật vùng rễ. Trên bề mặt của rễ và lớp đất nằm sát rễ chứa nhiều chất dinh dưỡng nên tập trung vi sinh vật với số lượng lớn. Càng xa rễ số lượng vi sinh vật giảm càng giảm đi.

Thành phần vi sinh vật vùng rễ không những phụ thuộc vào loại cây trồng mà còn phụ thuộc vào thời kỳ phát triển của cây. Vi sinh vật phân giải cellulose có rất ít khi cây còn non nhưng khi cây già thì rất nhiều. Điều đó chứng tỏ vi sinh vật không những sử dụng các chất tiết của rễ mà còn phân huỷ rễ khi rễ cây già và chết đi.

Vi sinh vật sống trong vùng rễ có quan hệ mật thiết với cây, chúng sử dụng những chất tiết của cây làm chất dinh dưỡng, đồng thời cung cấp chất dinh dưỡng cho cây qua quá trình hoạt động phân giải của mình. Vi sinh vật còn tiết ra các vitamin và chất sinh trưởng có lợi đối với cây trồng. Bên cạnh đó có rất nhiều vi sinh vật gây bệnh cho cây, có những loại ức chế sự sinh trưởng của cây, có những loại tàn phá mùa màng nghiêm trọng.

## **1.2. Môi trường nước và sự phân bố của vi sinh vật trong nước.**

### *1.2.1. Sự phân bố của vi sinh vật trong môi trường nước.*

Vi sinh vật có mặt ở khắp nơi trong các nguồn nước. Sự phân bố của chúng hoàn toàn không đồng nhất và rất khác nhau tùy thuộc vào đặc trưng của từng loại môi trường. Các yếu tố môi trường quan trọng quyết định sự phân bố của vi sinh vật là độ mặn, chất

hữu cơ, pH, nhiệt độ và ánh sáng. Nguồn nhiễm vi sinh vật cũng rất quan trọng vì ngoài những nhóm chuyên sống ở nước ra còn có những nhóm nhiễm từ các môi trường khác vào.

Ở môi trường nước ngọt, đặc biệt là những nơi luôn có sự nhiễm khuẩn từ đất, hầu hết các nhóm vi sinh vật có trong đất đều có mặt trong nước, tuy nhiên với tỉ lệ khác biệt. Nước ngầm và nước suối thường nghèo vi sinh vật nhất do ở những nơi này nghèo chất dinh dưỡng. Trong các suối có hàm lượng sắt cao thường chứa các vi khuẩn như *Leptothrix ochracea*. Ở các suối chứa lưu huỳnh thường có nhóm vi khuẩn lưu huỳnh màu lục hoặc màu tím. Những nhóm này đều thuộc loại tự dưỡng hoá năng và quang năng. Ở những suối nước nóng thường chỉ tồn tại các nhóm vi khuẩn ưa nhiệt như *Leptothrix thermalis*.

Ở ao, hồ và sông do hàm lượng chất dinh dưỡng cao nên số lượng và thành phần vi sinh vật phong phú hơn nhiều. Ngoài những vi sinh vật tự dưỡng còn có nhiều nhóm vi sinh vật dị dưỡng có khả năng phân huỷ các chất hữu cơ. Hầu hết các nhóm vi sinh vật trong đất đều có mặt ở đây. Ở những nơi bị nhiễm bẩn bởi nước thải sinh hoạt còn có mặt các vi khuẩn đường ruột và các vi sinh vật gây bệnh khác. Tuy những vi khuẩn này chỉ sống trong nước một thời gian nhất định nhưng nguồn nước thải lại được đổ vào thường xuyên nên lúc nào chúng cũng có mặt. Đây chính là nguồn ô nhiễm vi sinh nguy hiểm đối với sức khoẻ con người.

Ở những thủy vực có nguồn nước thải công nghiệp đổ vào thì thành phần vi sinh vật cũng bị ảnh hưởng theo các hướng khác nhau tùy thuộc vào tính chất của nước thải.

Sự phân bố của vi sinh vật trong thủy vực còn phù thuộc vào các tầng nước khác nhau. Ở tầng mặt nhiều ánh sáng thường có những nhóm vi sinh vật tự dưỡng quang năng. Dưới đáy hồ giàu chất hữu cơ thường có các nhóm vi khuẩn dị dưỡng phân giải chất hữu cơ. Ở những tầng đáy có sự phân huỷ chất hữu cơ mạnh tiêu thụ nhiều oxy tạo ra những vùng không có oxy hoà tan thì chỉ có mặt nhóm kỵ khí bắt buộc.

Có những vi sinh vật có khả năng chịu mặn cao, nhưng có những vi sinh vật chỉ có thể sống trong nước ngọt. Các vi sinh vật sống trong môi trường nước mặn nói chung có khả năng sử dụng chất dinh dưỡng có nồng độ thấp. Chúng phát triển chậm hơn nhiều so với vi sinh vật đất. Chúng thường bám vào các hạt phù sa để sống. Vi sinh vật ở biển thường thuộc nhóm ưa lạnh và chịu được áp suất cao.

Nói chung các nhóm vi sinh vật sống ở các nguồn khác nhau rất đa dạng về hình thái cũng như hoạt tính sinh học. Chúng tham gia vào việc chuyển hoá vật chất. Ở trong môi trường nước cũng có mặt đầy đủ các nhóm tham gia vào các chu trình chuyển hoá các hợp chất carbon, nitrogen và các chất khoáng khác. Mối quan hệ giữa các nhóm với nhau cũng rất phức tạp, quan hệ ký sinh, cộng sinh, hỗ sinh, kháng sinh như trong môi trường đất.

Ngày nay các nguồn nước, ngay cả nước ngầm và nước biển ở những mức độ khác nhau đã bị ô nhiễm do các nguồn chất thải khác nhau. Do đó khu hệ vi sinh vật bị ảnh

hưởng rất nhiều và do đó khả năng tự làm sạch các nguồn nước do hoạt động phân giải của vi sinh vật cũng bị ảnh hưởng.

### **1.3. Môi trường không khí và sự phân bố của vi sinh vật trong không khí.**

Môi trường không khí không phải là đồng nhất, tuy từng vùng khác nhau, môi trường khí rất khác nhau về thành phần các loại khí. Ở những vùng không khí trong lành như vùng núi, tỷ lệ khí O<sub>2</sub> thường cao. Ở những vùng không khí bị ô nhiễm, tỷ lệ các khí độc như H<sub>2</sub>S, SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>...thường cao, nhất là ở thành phố và các khu công nghiệp.

Sự phân bố của vi sinh vật trong không khí cũng khác nhau tùy từng vùng. Không khí không phải là môi trường sống của vi sinh vật. Tuy nhiên trong không khí có rất nhiều vi sinh vật tồn tại. Nguồn gốc của những vi sinh vật này là từ đất, từ nước, từ con người, động vật, thực vật, theo gió, theo bụi phát tán đi khắp nơi trong không khí. Một hạt bụi có thể mang theo rất nhiều vi sinh vật, đặc biệt là những vi sinh vật có bào tử có khả năng tồn tại lâu trong không khí. Nếu đó là những vi sinh vật gây bệnh thì đó chính là nguồn gây bệnh có trong không khí. Các vi sinh vật gây bệnh đường hô hấp có thể tồn tại lâu trong không khí. Khi người hít phải không khí có nhiễm khuẩn đó sẽ có khả năng nhiễm bệnh. Những vi khuẩn gây bệnh rỉ sắt có thể theo gió bay đi và lây bệnh cho các cánh đồng ở rất xa nguồn bệnh.

## Chương 2

# KHẢ NĂNG CHUYỂN HOÁ CÁC HỢP CHẤT TRONG MÔI TRƯỜNG TỰ NHIÊN CỦA VI SINH VẬT



### 2.1. Vòng tuần hoàn nitrogen trong tự nhiên

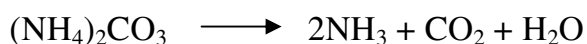
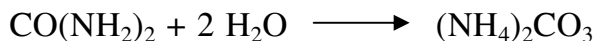
Trong các môi trường tự nhiên, nitrogen tồn tại ở các dạng khác nhau, từ nitrogen phân tử ở dạng khí cho đến các hợp chất hữu cơ phức tạp có trong cơ thể động vật, thực vật và con người. Trong cơ thể vi sinh vật, nitrogen tồn tại chủ yếu dưới dạng các hợp chất hữu cơ như protein, acid amin. Khi cơ thể vi sinh vật chết đi, lượng nitrogen hữu cơ này tồn tại ở trong đất. Dưới tác động các nhóm vi sinh vật hoại sinh, protein được phân giải thành các acid amin. Các acid amin lại được một nhóm vi sinh vật phân giải thành  $\text{NH}_3$  hoặc  $\text{NH}_4^+$  gọi là nhóm vi khuẩn amôn hoá. Quá trình này gọi là sự khoáng hoá chất hữu cơ vì qua đó nitrogen hữu cơ được chuyển thành dạng nitrogen khoáng. Dạng  $\text{NH}_4^+$  sẽ được chuyển hoá thành dạng  $\text{NO}_3^-$  nhờ nhóm vi khuẩn nitrate hoá. Các hợp chất nitrate lại được chuyển hoá thành nitrogen phân tử, quá trình này gọi là phản nitrate hoá được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn phản nitrate. Khí  $\text{N}_2$  sẽ được cố định lại trong tế bào vi khuẩn và tế bào thực vật sau đó được chuyển hoá thành dạng nitrogen hữu cơ nhờ nhóm vi khuẩn cố định nitrogen. Như vậy, vòng tuần hoàn nitrogen được khép kín. Trong hầu hết các khâu chuyển hoá của vòng tuần hoàn đều có sự tham gia của các nhóm vi sinh vật khác nhau. Nếu sự hoạt động của một nhóm nào đó ngừng lại, toàn bộ sự chuyển hoá của vòng tuần hoàn cũng sẽ bị ảnh hưởng nghiêm trọng.

### 2.2. Quá trình amôn hoá

Trong thiên nhiên tồn tại nhiều dạng hợp chất nitrogen hữu cơ như protein, acid amin, acid nucleic, urea... Các hợp chất này đi vào đất từ nguồn xác động vật, thực vật, các loại phân chuồng, phân xanh, rác thải hữu cơ. Thực vật không thể đồng hoá được dạng nitrogen hữu cơ phức tạp như trên, nó chỉ có thể sử dụng được sau quá trình amôn hoá. Qua quá trình amôn hoá, các dạng nitrogen hữu cơ được chuyển hoá thành  $\text{NH}_4^+$  hoặc  $\text{NH}_3$ .

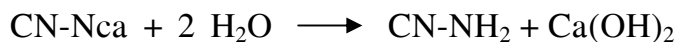
#### 2.2.1. Sự amôn hoá urea.

Urea có trong thành phần nước tiểu của người và động vật, chiếm khoảng 2.2% nước tiểu. Urea chứa tới 46.6% nitrogen, vì thế nó là một nguồn dinh dưỡng đạm tốt đối với cây trồng. Tuy nhiên, thực vật không thể đồng hoá trực tiếp urea mà phải qua quá trình amôn hoá. Quá trình amôn hoá urea chia làm 2 giai đoạn, giai đoạn đầu dưới tác dụng của enzyme urease tiết ra bởi các vi sinh vật, urea sẽ bị thủy phân tạo thành muối carbonate amoni. Giai đoạn 2, carbonate amoni chuyển hoá thành  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  và  $\text{H}_2\text{O}$ .



Trong nước tiểu còn có acid uric, tồn tại trong đất một thời gian acid uric sẽ bị phân giải thành urea và acid tartaric. Sau đó urea tiếp tục bị phân giải thành NH<sub>3</sub>.

Nhóm vi sinh vật phân giải urea và acid uric còn có khả năng amôn hoá cyanamid calci là một loại phân bón hoá học. Chất này sau khi đi vào đất cũng bị chuyển hoá thành urea rồi sau đó qua quá trình amôn hoá được chuyển thành NH<sub>3</sub>.



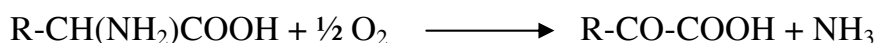
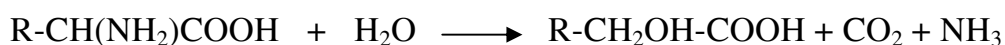
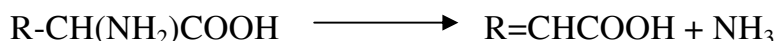
Nhiều loại vi khuẩn có khả năng amôn hoá urea, chúng đều tiết ra enzyme urease. Trong đó có một số loài có hoạt tính phân giải cao như *Planosarcina urea*, *Micrococcus urea*, *Bacillus amylovorum*, *Proteus vulgaris*...

Đa số vi sinh vật phân giải urea thuộc nhóm hiếu khí hoặc kỵ khí không bắt buộc, chúng ưa pH trung tính hoặc hơi kiềm. Bởi vậy khi sử dụng urea làm phân bón người ta thường kết hợp với bón vôi hoặc tro, đồng thời làm thoáng đất.

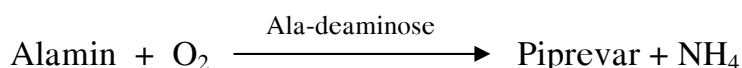
### 2.2.2. Sự amôn hoá protein.

Protein là thành phần quan trọng của tế bào sinh vật, khi động vật, thực vật chết đi, nguồn protein có trong tế bào của chúng được tích lũy trong đất. Protein chứa tới 15 – 17% nitrogen, nhưng cây trồng không thể hấp thu trực tiếp protein mà phải thông qua sự phân huỷ của vi sinh vật.

Nhóm vi sinh vật phân huỷ protein có khả năng tiết ra enzyme protease bao gồm proteinase và peptidase. Dưới tác dụng của proteinase phân tử protein sẽ được phân giải thành các chuỗi polypeptide và oligopeptide (chứa từ 3 – 5 acid amin). Sau đó dưới tác dụng của enzyme peptidase các polypeptide và oligopeptide sẽ được phân giải thành các acid amin. Một phần acid amin sẽ được tế bào vi sinh vật hấp thu làm chất dinh dưỡng. Phần khác sẽ thông qua quá trình khử amin tạo thành NH<sub>3</sub> và nhiều sản phẩm trung gian khác. Sự khử amin có thể xảy ra theo một trong những phương thức sau:



Một số acid amin bị deamin hoá bởi vi sinh vật nhờ enzyme deaminase, sau đó tạo ra sản phẩm cuối cùng là amôn, ví dụ:



Đối với các acid amin có vòng như triptophan, khi phân giải sẽ tạo thành các hợp chất có mùi thối như indon và scatone. Khi phân giải các acid amin chứa S như methionin, cystein, vi sinh vật giải phóng ra H<sub>2</sub>S, chất này độc đối với cây trồng. Một số hợp chất amin sinh ra trong quá trình amôn hoá có tác dụng độc đối với người và động vật. Ví dụ

như histamin, armatin...đó chính là nguyên nhân bị nhiễm độc thức ăn thịt cá thiu thối hoặc thịt hộp để quá lâu (ô nhiễm thực phẩm).

Tỷ lệ C:N trong đất rất quan trọng đối với nhóm vi sinh vật phân huỷ protein. Nếu như tỷ lệ này quá cao, trong đất quá ít đạm vi sinh vật sẽ tranh chấp thức ăn đạm đối với cây trồng, chúng phân huỷ được bao nhiêu là hấp thu bấy nhiêu.

Nếu tỷ lệ C:N quá thấp, đạm dư thừa, quá trình phân huỷ sẽ chậm lại, cây trồng không có đạm khoáng để hấp thụ. Nhiều công trình nghiên cứu đã rút ra tỷ lệ C:N bằng 20 là thích hợp nhất cho quá trình amôn hoá protein, có lợi nhất đối với cây trồng.

Nhiều vi sinh vật có khả năng amôn hoá protein. Trong nhóm vi khuẩn có *Bacillus mycoides*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Clostridium sporogenes*...Xạ khuẩn có *Streptomyces griseus*...Vi nấm có *Aspergillus oryzae*, *A. flavus*, *A. niger*, *Penicilium camemberti*...

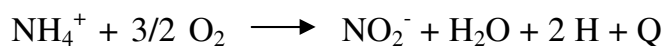
Ngoài protein và urea, nhiều loài vi sinh vật có khả năng amôn hoá kitin. Kitin là thành phần của vỏ nhiều loại côn trùng, giáp xác. Hàng năm kitin được tích lũy lại trong đất với một lượng không nhỏ, nhóm vi sinh vật phân huỷ kitin có khả năng tiết enzyme kitinase và kitobiase phân huỷ phân tử kitin thành các gốc đơn phân tử, sau đó gốc amin được amôn hoá tạo thành NH<sub>3</sub>.

### 2.3. Quá trình nitrate hoá.

Sau quá trình amôn hoá NH<sub>3</sub> được hình thành, một phần phản ứng với các anion trong đất tạo thành các muối amôn. Một phần muối amôn cũng được cây trồng hấp thu, phần còn lại được oxy hoá thành dạng nitrate gọi là quá trình nitrate hoá. Nhóm vi sinh vật tiến hành quá trình này gọi chung là nhóm vi khuẩn nitrate hoá bao gồm 2 nhóm tiến hành qua 2 giai đoạn.

#### 2.3.1. Giai đoạn nitrite hoá

Quá trình oxy hoá NH<sub>4</sub><sup>+</sup> tạo thành NO<sub>2</sub><sup>-</sup> được tiến hành bởi vi khuẩn nitrite hoá. Chúng thuộc nhóm vi sinh vật tự dưỡng hoá năng có khả năng oxy hoá NH<sub>4</sub><sup>+</sup> bằng oxy không khí vào tạo ra năng lượng.

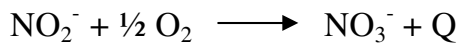


Năng lượng được vi khuẩn sử dụng để đồng hoá CO<sub>2</sub> thành carbon hữu cơ.

Enzyme xúc tác cho quá trình này là các enzyme của quá trình hô hấp hiếu khí. Nhóm vi khuẩn nitrite hoá bao gồm 4 chi khác nhau: *Nitrosomonas*, *Nitrosocystis*, *Nitrosolobus* và *Nitrosospira* chúng đều thuộc loại tự dưỡng bắt buộc, không có khả năng sống trên môi trường thạch. Bởi vậy phân lập chúng rất khó, phải dùng silicagen thay cho thạch.

#### 2.3.2. Giai đoạn nitrate hoá

Quá trình oxy hoá NO<sub>2</sub><sup>-</sup> thành NO<sub>3</sub><sup>-</sup> được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn nitrate. Chúng cũng là những vi sinh vật tự dưỡng hoá năng có khả năng oxy hoá NO<sub>2</sub><sup>-</sup> tạo thành năng lượng. Năng lượng này được dùng để đồng hoá CO<sub>2</sub> tạo thành đường.



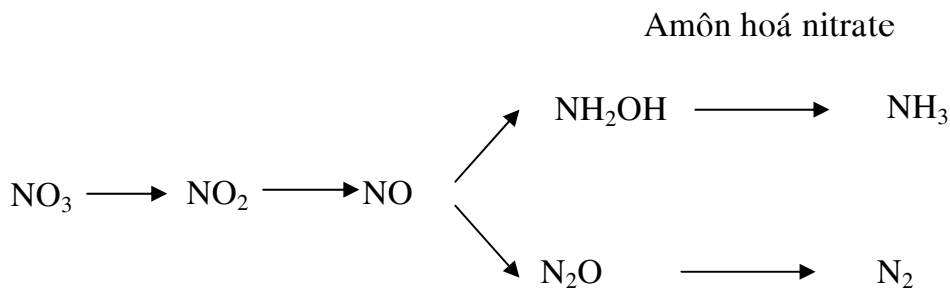
Nhóm vi khuẩn tiến hành oxy hoá  $\text{NO}_2^-$  thành  $\text{NO}_3^-$  bao gồm 3 chi khác nhau: *Nitrobacter*, *Nitrospira* và *Nitrococcus*.

Ngoài nhóm vi khuẩn tự dưỡng hoá năng nói trên, trong đất còn có một số loài vi sinh vật dị dưỡng cũng tiến hành quá trình nitrate hoá. Đó là các loài vi khuẩn và xạ khuẩn thuộc các chi *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Streptomyces*...

Quá trình nitrate hoá là một khâu quan trọng trong vòng tuần hoàn nitrogen, nhưng đối với nông nghiệp nó có nhiều điều bất lợi. Dạng đạm nitrate thường dễ bị rửa trôi xuống các tầng sâu, dễ bị đi vào quá trình phản nitrate hoá tạo thành khí  $\text{N}_2$  làm cho đất mất đạm. Anion  $\text{NO}_3^-$  thường kết hợp với ion  $\text{H}^+$  trong đất tạo thành  $\text{HNO}_3$  làm cho pH đất giảm xuống rất bất lợi cho cây trồng. Hơn nữa, lượng  $\text{NO}_3^-$  dư thừa trong đất được cây trồng hấp thu nhiều làm cho hàm lượng nitrate trong sản phẩm lương thực, thực phẩm cao gây độc cho người và gia súc. Bởi vậy ngày nay người ta thường hạn chế việc bón phân đạm hoá học có gốc nitrate.

#### 2.4. Quá trình phản nitrate hoá

Các hợp chất đạm dạng nitrate ở trong đất rất dễ bị khử biến thành nitrogen phân tử. Quá trình này gọi là quá trình phản nitrate hoá. Nó khác với quá trình oxy hoá nitrate tạo thành  $\text{NH}_4^+$  còn gọi là quá trình amôn hoá nitrate. Có thể phân biệt được hai quá trình trên qua sơ đồ sau.



Phản nitrate hoá

Quá trình amôn hoá nitrate do một số vi khuẩn dị dưỡng tiến hành trong điều kiện hiếu khí có chức năng cung cấp  $\text{NH}_4^+$  cho tế bào vi khuẩn để tổng hợp acid amin.

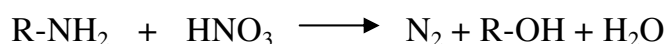
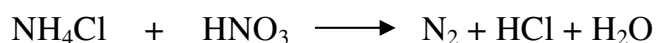
Phản ứng khử  $\text{NO}_3^-$  thành  $\text{N}_2$  chỉ xảy ra trong điều kiện kỵ khí.  $\text{NO}_3^-$  là chất nhận điện tử cuối cùng trong chuỗi hô hấp kỵ khí, năng lượng tạo ra được dùng để tổng hợp nên ATP.

Nhóm vi sinh vật thực hiện quá trình phản nitrate hoá phân bố rộng rãi trong đất. Thuộc nhóm tự dưỡng hoá năng có *Thiobacillus denitrificans*, *Hydrogenomonas agilis*... Thuộc nhóm dị dưỡng có *Pseudomonas denitrificans*, *Micrococcus denitrificans*, *Bacillus licheniformis*... sống trong điều kiện kỵ khí, trong những vùng đất ngập nước.



Đối với nông nghiệp quá trình phản nitrate hoá là một quá trình bất lợi vì nó làm cho đất mất đạm. Quá trình này xảy ra mạnh trong điều kiện kỵ khí. Oxy có tác dụng ức chế các enzyme xúc tác cho quá trình khử nitrate, đó là các enzyme nitrate reductase và nitrite reductase. Ở các ruộng lúa nước người ta thường làm cỏ xục bùn để hạn chế quá trình này, đồng thời bón đạm amôn chứ không bón đạm nitrate.

Trong các môi trường tự nhiên ngoài quá trình phản nitrate sinh học nói trên còn có quá trình phản nitrate hoá học thường xảy ra khi  $\text{pH} < 5.5$ . Các quá trình này không có sự tham gia của vi sinh vật



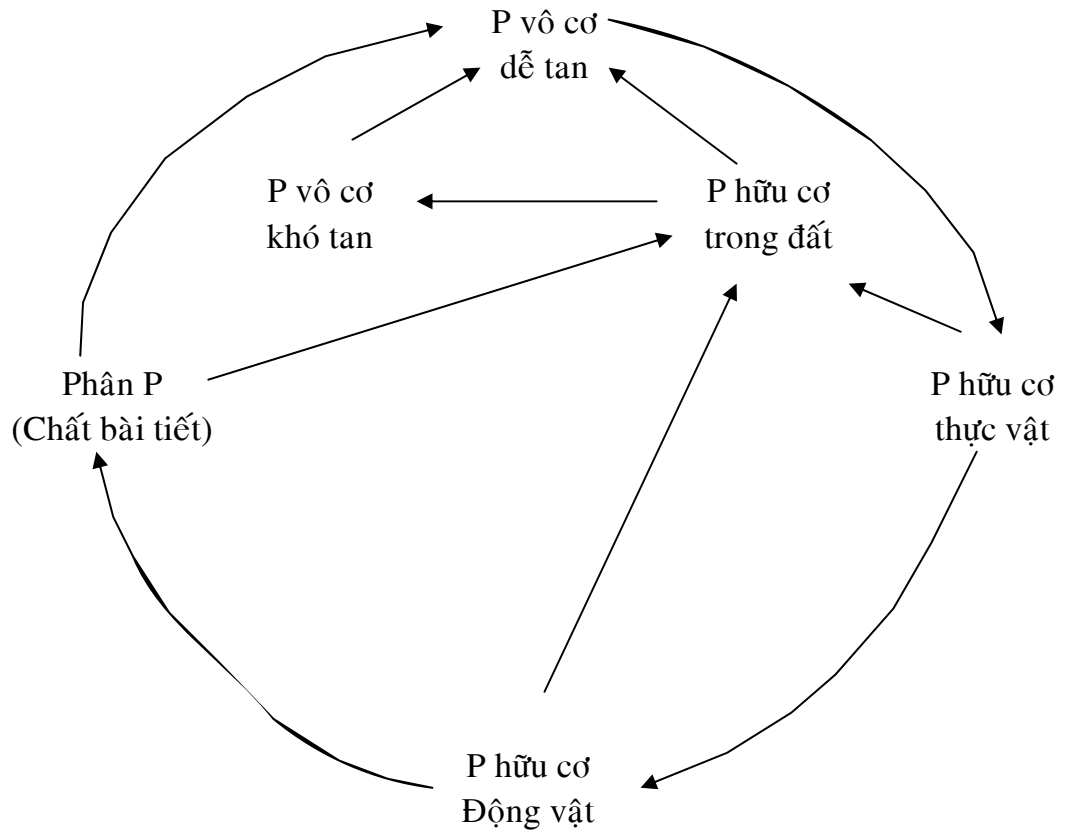
## **2.5. Quá trình cố định nitrogen phân tử (xem phần vi sinh vật học đại cương)**

## **2.6. Sự chuyển hoá các hợp chất phosphore của vi sinh vật.**

### **2.6.1. Vòng tuần hoàn phosphore trong tự nhiên.**

Trong tự nhiên, P nằm trong nhiều dạng hợp chất khác nhau. P hữu cơ có trong cơ thể động thực vật, được tích lũy trong đất khi động vật và thực vật chết đi. Những hợp chất phosphore hữu cơ này được vi sinh vật phân giải tạo thành các hợp chất phosphore vô cơ khó tan, một số ít được tạo thành dạng dễ tan. Các hợp chất phosphore vô cơ khó tan có nguồn gốc từ những quặng thiên nhiên như apatit, phosphorite, phosphate sắt, phosphate nhôm... Những hợp chất này rất khó hoà tan và cây trồng không thể hấp thu trực tiếp được. Cây trồng chỉ có thể hấp thu được khi chúng được chuyển hoá thành dạng dễ tan. Quá trình này được thực hiện một phần quan trọng là nhờ vi sinh vật phân huỷ phosphore vô cơ.

Các muối của acid phosphoric dạng dễ tan được cây trồng hấp thụ và vận chuyển thành các hợp chất phosphore hữu cơ trong cơ thể thực vật. Động vật và người sử dụng các sản phẩm thực vật làm thức ăn lại biến phosphore hữu cơ của thực vật thành P hữu cơ của động vật và người. Vòng tuần hoàn của các dạng hợp chất phosphore trong tự nhiên cứ diễn ra. Vi sinh vật đóng một vai trò quan trọng trong vòng tuần hoàn đó. Nếu như thiếu sự hoạt động của một nhóm vi sinh vật nào đó thì sự chuyển hoá của vòng tuần hoàn sẽ bị ảnh hưởng nghiêm trọng. Vòng tuần hoàn của các dạng phosphore trong tự nhiên được biểu diễn như sơ đồ sau.

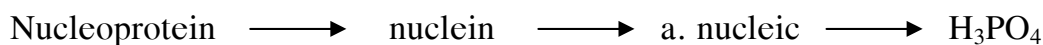


### 2.6.2. Sự phân giải phosphore hữu cơ trong đất do vi sinh vật.

Các hợp chất P hữu cơ trong đất có nguồn gốc từ xác động vật, thực vật, phân xanh, phân chuồng...Hợp chất phosphore hữu cơ quan trọng nhất được phân giải ra từ tế bào vi sinh vật là nucleotide.

Nucleotide có trong thành phần nhân tế bào. Nhờ tác động của các nhóm vi sinh vật hoại sinh trong đất, chất này tách ra khỏi thành phần tế bào và được phân giải thành 2 phần protein và nuclein. Protein sẽ đi vào vòng chuyển hoá các hợp chất nitrogen, nuclein sẽ đi vào vòng chuyển hoá các hợp chất phosphore.

Sự chuyển hoá các hợp chất phosphore hữu cơ thành muối của  $H_3PO_4$  được thực hiện bởi nhóm vi sinh vật phân huỷ phosphore hữu cơ. Những vi sinh vật này có khả năng tiết ra enzyme phosphatase để xúc tác cho quá trình phân giải. Nhóm vi sinh vật phân giải phosphore hữu cơ được phát hiện từ năm 1911 do J. Stoklasa, ông đã phân lập được 3 loài vi khuẩn có khả năng phân huỷ phosphore hữu cơ đều thuộc giống *Bacillus*. Sau đó ông nuôi cấy những vi khuẩn này trong môi trường chỉ có acid nucleic làm nguồn P và N duy nhất và nhận thấy lượng phosphore được phân giải từ 15 đến 23%. Nếu bổ sung vào môi trường một ít  $(NH_4)_2SO_4$  thì lượng P được phân giải tăng lên. Sau đó người ta đã tìm ra nhiều loài vi sinh vật có khả năng phân huỷ P hữu cơ theo sơ đồ tổng quát sau:



H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> thường phản ứng với các kim loại trong đất tạo thành các muối phosphate khó tan như Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, FePO<sub>4</sub>, AlPO<sub>4</sub>...

Vi sinh vật phân giải P hữu cơ chủ yếu thuộc 2 chi *Bacillus* và *Pseudomonas*. Các loài có khả năng phân giải mạnh là *B. megatherium*, *B. mycoides* và *Pseudomonas* sp.

Ngày nay, người ta đã phát hiện thấy một số xạ khuẩn và vi nấm cũng có khả năng phân giải phosphore hữu cơ.

### 2.6.3. Sự phân giải phosphore vô cơ do vi sinh vật.

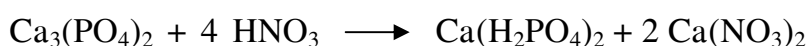
Các hợp chất phosphore vô cơ được hình thành do quá trình phân giải lân hữu cơ (còn gọi là quá trình khoáng hoá lân hữu cơ) phần lớn là các muối phosphate khó tan. Cây trồng không thể hấp thu được những dạng khó tan này. Nếu không có các quá trình phân giải các hợp chất phosphore khó tan biến thành dạng dễ tan thì hàm lượng phosphore tổng số trong đất dẫu có nhiều cũng trở thành vô dụng.

Về cơ chế của quá trình phân giải phosphore vô cơ do vi sinh vật cho đến nay vẫn còn nhiều tranh cãi. Nhưng đại đa số các nhà nghiên cứu đều cho rằng sự sản sinh acid trong quá trình sống của một số nhóm vi sinh vật đã làm cho nó có khả năng chuyển các hợp chất phosphore từ dạng khó tan thành dạng dễ tan. Đa số các vi sinh vật phân giải phosphore vô cơ đều sinh CO<sub>2</sub> trong quá trình sống, CO<sub>2</sub> sẽ phản ứng với H<sub>2</sub>O có trong môi trường tạo thành H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sẽ phản ứng với phosphate khó tan tạo thành phosphate dễ tan theo phương trình sau:

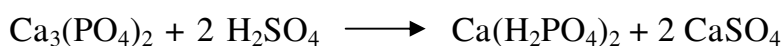


Dạng khó tan  $\longrightarrow$  Dạng dễ tan                      Dạng dễ tan

Các vi khuẩn nitrate hoá trong đất cũng có khả năng phân giải phosphore vô cơ do nó có khả năng chuyển hoá NH<sub>3</sub> thành NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sẽ phản ứng với H<sup>+</sup> tạo thành HNO<sub>3</sub>. Sau đó HNO<sub>3</sub> phản ứng với muối phosphate khó tan tạo thành dạng dễ tan.



Các vi khuẩn sulphate hoá cũng có khả năng phân giải phosphate khó tan do sự tạo thành H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> trong quá trình sống.



Ngoài ra các nhóm vi sinh vật có khả năng tạo thành các acid hữu cơ trong quá trình sống cũng có thể làm cho dạng phosphate khó tan chuyển thành dạng dễ tan.

Tuyệt đại đa số các vi sinh vật phân huỷ phosphore vô cơ trong quá trình sống đều làm giảm pH của môi trường. Tuy nhiên, gần đây có một vài tác giả đã công bố tìm ra một vài chủng vi khuẩn phân giải phosphore mà trong quá trình nuôi cấy không làm giảm pH môi trường.

Rất nhiều vi sinh vật có khả năng phân giải phosphore vô cơ, trong đó nhóm vi khuẩn được nghiên cứu nhiều hơn cả. Các loài có khả năng phân giải mạnh là *Bacillus megatherium*, *B. butyricus*, *B. mycoides*, *Pseudomonas radiobacter*, *P. gracilis*... trong

nhóm vi nấm thì *Aspergillus niger* có khả năng phân giải mạnh nhất. Ngoài ra một số xạ khuẩn cũng có khả năng phân giải phosphore vô cơ.

## 2.7. Sự chuyển hoá các hợp chất lưu huỳnh của vi sinh vật.

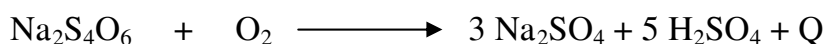
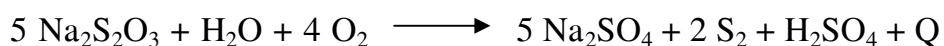
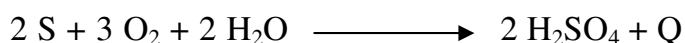
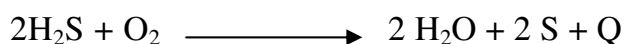
### 2.7.1. Vòng tuần hoàn lưu huỳnh trong tự nhiên.

Cũng như phosphore, lưu huỳnh là một trong những chất dinh dưỡng quan trọng của cây trồng. Trong đất nó thường ở dạng các hợp chất muối vô cơ như  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{FeS}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{S}$ ... một số ở dạng hữu cơ. Trong cơ thể sinh vật, S nằm trong thành phần của các acid amin chứa lưu huỳnh như methionin, cystein và trong nhiều loại enzyme quan trọng khác. Thực vật hút các hợp chất lưu huỳnh vô cơ trong đất chủ yếu dưới dạng  $\text{SO}_4^{2-}$  và chuyển sang dạng S hữu cơ của tế bào. Động vật và người sử dụng thực vật làm thức ăn và cũng biến S của thực vật thành S của động vật và người. Khi động thực vật chết đi để lại một lượng lưu huỳnh hữu cơ trong đất. Nhờ sự phân giải của vi sinh vật, S hữu cơ sẽ được chuyển hoá thành  $\text{H}_2\text{S}$ .  $\text{H}_2\text{S}$  và các hợp chất vô cơ khác có trong đất sẽ được oxy hoá bởi các nhóm vi khuẩn tự dưỡng thành S và  $\text{SO}_4^{2-}$ , một phần được tạo thành lưu huỳnh hữu cơ của tế bào vi sinh vật.  $\text{SO}_4^{2-}$  lại được thực vật hấp thụ, cứ thế vòng chuyển hoá các hợp chất lưu huỳnh diễn ra liên tục. Trong đó các nhóm vi sinh vật đóng một vai trò quan trọng không thể thiếu được.

### 2.7.2. Sự oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh.

#### 2.7.2.1. Sự oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh do vi khuẩn tự dưỡng hoá năng.

Trong nhóm vi khuẩn tự dưỡng hoá năng có một số loài có khả năng oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh vô cơ như thiosulphate, khí hydro sulfur và lưu huỳnh nguyên chất thành dạng  $\text{SO}_4^{2-}$  theo các phương trình sau:



$\text{H}_2\text{SO}_4$  sinh ra làm pH đất hạ xuống (diệt trừ được bệnh thối do *Streptomyces* gây ra và pH thấp vi khuẩn của một số loài gây bệnh cho cây trồng không sống được).

Năng lượng sinh ra trong quá trình oxy hoá trên được vi sinh vật sử dụng để đồng hoá  $\text{CO}_2$  tạo thành đường. Đồng thời một số ít hợp chất dạng S cũng được đồng hoá tạo thành S hữu cơ của tế bào vi khuẩn. Các loài vi khuẩn có khả năng oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh theo phương thức trên là *Thiobacillus thioparus* và *Thiobacillus thiooxidans*. Cả hai loài này đều sống ở pH thấp, thường là pH=3, đôi khi ở pH=1 – 1.5 hai loài này vẫn có thể phát triển. Nhờ đặc điểm này mà người ta dùng 2 loài vi khuẩn trên để làm tăng độ hoà tan của quặng apatide.

Ngoài 2 loài vi khuẩn trên còn có 2 loài vi khuẩn khác có khả năng oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh vô cơ, đó là *Thiobacillus denitrificans* và *Beggiatira minima*.

*Thiobacillus denitrificans* có khả năng vừa khử nitrate vừa oxy hoá lưu huỳnh theo phương trình sau:

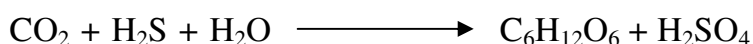


Vi khuẩn *Beggiatoa minima* có thể oxy hoá  $H_2S$  hoặc S. Trong điều kiện có nhiều  $H_2S$  nó sẽ oxy hoá  $H_2S$  tạo thành S tích lũy trong tế bào. Trong điều kiện thiếu  $H_2S$  các hạt S sẽ được oxy hoá đến khi S dự trữ hết thì vi khuẩn chết hoặc ở trạng thái tiềm sinh.

#### 2.7.2.2. Sự oxy hoá các hợp chất lưu huỳnh do vi khuẩn tự dưỡng quang năng.

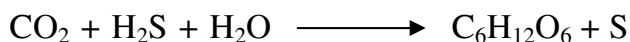
Một số nhóm vi khuẩn tự dưỡng quang năng có khả năng oxy hoá  $H_2S$  tạo thành  $SO_4^{2-}$ .  $H_2S$  đóng vai trò chất cho điện tử trong quá trình quang hợp của vi khuẩn. Các vi khuẩn thuộc họ *Thiodiaceae* thường oxy hoá  $H_2S$  theo phương trình sau:

*ánh sáng*



Các vi khuẩn thuộc họ *Chlorobacteriaceae* thường oxy hoá  $H_2S$  theo phương trình sau:

*ánh sáng*



Ở nhóm vi khuẩn trên, S được hình thành không tích lũy trong cơ thể mà ở ngoài môi trường.

#### 2.7.3. Sự khử các hợp chất lưu huỳnh vô cơ do vi sinh vật.

Ngoài quá trình oxy hoá, trong đất còn có quá trình khử các hợp chất lưu huỳnh vô cơ thành  $H_2S$ . Quá trình này còn gọi là quá trình phản sulphate hoá. Quá trình này được tiến hành ở điều kiện kỵ khí, ở những tầng nước sâu. Nhóm vi sinh vật tiến hành quá trình này gọi là nhóm vi khuẩn phản sulphate hoá.



Ở đây chất hữu cơ đóng vai trò cung cấp hydro trong quá trình khử  $SO_4$  có thể là đường hoặc các acid hữu cơ hoặc các hợp chất hữu cơ khác.  $H_2SO_4$  sẽ bị khử dần tới  $H_2S$ .

Quá trình phản sulphate hoá dẫn đến việc tích lũy  $H_2S$  trong môi trường làm ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng đến đời sống của thực vật và động vật trong môi trường đó. Lúa mọc trong điều kiện yếm khí có quá trình phản sulphate hoá mạnh sẽ bị đen rễ và ảnh hưởng xấu đến quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng.

## Chương 3

# SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN Ở VI SINH VẬT



Sinh trưởng và phát triển là thuộc tính cơ sở của sinh vật. Cũng như động vật và thực vật, vi sinh vật cũng sinh trưởng và phát triển. Sinh trưởng là sự tăng kích thước và khối lượng của tế bào, còn phát triển (hoặc sinh sản) là sự tăng số lượng tế bào. Trong phần này chúng ta chủ yếu đề cập đến sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn.

Khi nói về sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn tức là đề cập đến sinh trưởng và phát triển của một số lượng lớn tế bào của cùng một loại. Rõ ràng, việc nghiên cứu ở một cá thể tế bào vi khuẩn quá nhỏ là rất khó.

Tuy nhiên, sự tăng khối lượng tế bào không phải bao giờ cũng diễn ra song song với sự tăng sinh khối. Chẳng hạn, khi chất dinh dưỡng trong môi trường đã cạn, vi khuẩn tuy còn phân chia 1 - 2 lần nhưng cho 2 - 4 tế bào nhỏ hơn tế bào bình thường; trong pha mở đầu, sinh khối vi khuẩn tăng lên, nhưng số tế bào không thay đổi, ngược lại, vào cuối pha logarit kích thước tế bào giảm đi nhưng số tế bào vẫn còn tăng. Vì vậy cần phân biệt các thông số và hằng số khác nhau khi xác định số lượng hoặc khối lượng vi khuẩn.

Khi xác định số lượng hay khối lượng của vi khuẩn ta thường dùng dịch treo đồng đều của các tế bào trong môi trường dịch thể nào đó mà xác định nồng độ vi khuẩn (số tế bào trong 1ml) hoặc mật độ vi khuẩn (mg/ml). Từ kết quả đó các chỉ số này có thể tính được hằng số tốc độ phân chia tế bào (thể hiện bằng số lần tăng đôi nồng độ vi khuẩn sau 1 giờ) và đại lượng ngược lại, tức thời gian thế hệ (thời gian cần cho số lượng tế bào trong một quần thể vi khuẩn tăng gấp đôi).

Trong điều kiện phòng thí nghiệm thường ta theo dõi ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn nhờ các phương pháp nuôi cấy thích hợp. Tùy tính chất thay đổi trong hệ vi khuẩn - môi trường ta phân biệt hai phương pháp cơ bản nuôi cấy vi khuẩn : nuôi cấy tĩnh và nuôi cấy liên tục.

Một vi sinh vật trong điều kiện môi trường thích hợp sẽ không ngừng hấp thụ chất dinh dưỡng và tiến hành trao đổi chất. Nếu quá trình đồng hoá lớn hơn quá trình dị hoá thì tổng số nguyên sinh chất (khối lượng, thể tích, kích thước) sẽ không ngừng tăng lên. Đó là hiện tượng sinh trưởng của cá thể. Nếu quá trình sinh trưởng cân bằng thì các thành phần của tế bào cũng tăng lên theo những tỉ lệ thích hợp, khi đạt đến một mức độ nhất định thì sẽ hình thành sự sinh sản. Khi đó số lượng cá thể tăng lên. Cá thể ban đầu sẽ phát triển dần lên thành một quần thể, sự tiếp tục sinh trưởng của cá thể trong quần thể tạo ra sự sinh trưởng của quần thể.

### 3.1. Mẫu lý thuyết về sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn

Giả sử trong một bình kín chứa một lượng lớn môi trường dinh dưỡng, ta cấy vào đó một tế bào vi khuẩn. Nếu thành phần môi trường hoàn toàn phù hợp với nhu cầu của tế bào, vi khuẩn sẽ sinh trưởng, tăng khối lượng và thể tích, tổng hợp các thành phần của

tế bào (thành tế bào, màng tế bào chất, DNA, RNA, protein...) cho đến khi kích thước lớn gấp đôi. Rồi vi khuẩn phân chia cho hai tế bào. Hai tế bào này lại tiếp tục sinh trưởng và phân chia để cho 4 rồi 8, 16... tế bào.

Nếu số tế bào ban đầu không phải là 1 mà là  $N_0$  thì sau  $n$  lần phân chia ta sẽ có số tế bào tổng cộng là  $N$  :

$$N = N_0 \cdot 2^n \quad (1)$$

Các giá trị  $N$  và  $N_0$  có thể xác định nhờ phòng đếm hoặc tính số khuẩn lạc mọc trên môi trường đặc. Còn giá trị  $n$  (số thế hệ) có thể tính nhờ logarit thập phân :

$$\log N = \log N_0 + n \cdot \log 2$$

Từ đó :

$$n = \frac{1}{\log 2} \cdot (\log N - \log N_0) \quad (2)$$

Ví dụ vi khuẩn phân chia  $n$  lần sau thời gian  $t$ , khoảng thời gian giữa hai lần phân chia liên tiếp (hoặc thời gian cần cho việc tăng đôi số tế bào) gọi là thời gian thế hệ và biểu thị bằng  $g$  :

$$g = \frac{t}{n} = \log 2 \frac{t_2 - t_1}{\log N - \log N_0} \quad (3)$$

Ở đây  $t_2 - t_1$  biểu thị sự sai khác giữa thời gian đầu ( $t_1$ ) và thời gian cuối ( $t_2$ ) tính bằng giờ trong đó số tế bào được xác định. Giá trị đảo ngược của thời gian thế hệ hay là số lần phân chia sau một đơn vị thời gian (tức sau 1 giờ) gọi là hằng số tốc độ phân chia  $C$

Hằng số tốc độ phân chia phụ thuộc vào một số điều kiện :

a. Loài vi khuẩn :

Ví dụ : ở  $37^\circ\text{C}$ ,  $C = 3$  đối với *E. coli* và  $C = 0,07$  đối với *Mycobacterium tuberculosis*.

b. Nhiệt độ nuôi cấy :

Ví dụ : *E. coli* nuôi cấy trong nước thịt :

Nhiệt độ ( $^\circ\text{C}$ )	Thời gian thế hệ (phút)	Hằng số tốc độ phân chia $C$
18	120	0,5
22	60	1
30	30	2
37	20	3
42	20	3
43	-	0

### c. Môi trường nuôi cấy

Khi nuôi cấy *B. subtilis* ở 37<sup>0</sup>C, trong :

- nước thịt C = 2
- môi trường khoáng - glucose C = 0,8
- môi trường khoáng - citrate C = 0,3
- môi trường khoáng - glucose - citrate C = 1,2

Đối với một số cơ chất đã cho hằng số tốc độ phân chia không phụ thuộc vào nồng độ trong một giới hạn rộng. Chẳng hạn, đối với *B. subtilis*, khi nuôi cấy trong môi trường chứa glucose, dù nồng độ glucose bằng 0,3 hay 50g/l ta vẫn có C = 0,8 ; C chỉ giảm khi nồng độ đường vượt ra ngoài các giới hạn nói trên.

Tuy nhiên, không phải bao giờ sinh trưởng (tăng sinh khối vi khuẩn) cũng diễn ra song song với sinh sản (tăng số lượng vi khuẩn), trường hợp này chỉ gặp trong pha logarit. Vì vậy, khi nghiên cứu động học trong các quá trình nuôi cấy liên tục ta thường theo dõi sinh trưởng và sinh sản của quần thể vi khuẩn bằng một tiêu chuẩn khác. Cũng có thể biểu thị bằng số lượng tế bào nhưng phổ biến hơn là biểu thị bằng sinh khối vi khuẩn, bằng chất khô hay bằng mật độ quang học ... (cần chú ý rằng mật độ quang học tỉ lệ với số tế bào).

## **3.2. Sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn trong điều kiện nuôi cấy tĩnh. Đường cong sinh trưởng**

Nếu theo dõi sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn trong điều kiện phòng thí nghiệm ta nhận thấy số lượng chúng tăng lên rất nhanh. Điều này dễ hiểu, vì với điều kiện thích hợp thời gian t thế hệ (hay nói đúng hơn, thời gian tăng đôi) của nhiều loài vi khuẩn chỉ vào khoảng 30 phút. Rõ ràng các quá trình sinh tổng hợp cũng như các quá trình dị hoá (như hô hấp) nhằm cung cấp nguyên liệu và năng lượng cho các phản ứng tổng hợp đã diễn ra trong tế bào với tốc độ rất nhanh, hoàn toàn không thấy ở các sinh vật khác. Dĩ nhiên hiện tượng nói trên không bao giờ xảy ra vì sinh trưởng và sinh sản của vi khuẩn trong một hệ thống đóng kín chỉ sau một thời gian nhất định, vì nhiều nguyên nhân khác nhau, sẽ bị ngừng lại.

Phương pháp nuôi cấy mà trong suốt thời gian đó ta không thêm vào chất dinh dưỡng cũng không loại bỏ đi các sản phẩm cuối cùng của trao đổi chất gọi là nuôi cấy tĩnh. Sự sinh trưởng trong một hệ thống như vậy tuân theo những quy luật bắt buộc không những đối với các cơ thể đơn bào mà cả đối với các cơ thể đa bào.

### **3.2.1. Pha lag**

Pha này tính từ lúc bắt đầu cấy đến khi vi khuẩn đạt được tốc độ sinh trưởng cực đại. Trong pha lag vi khuẩn chưa phân chia (nghĩa là chưa có khả năng sinh sản) nhưng thể tích và khối lượng tế bào tăng lên rõ rệt do quá trình tổng hợp các chất, trước hết là các cao phân tử (protein, enzyme, acid nucleic...) diễn ra mạnh mẽ. Một số enzyme cần



cho quá trình tổng hợp thuộc các endoenzyme loại proteinase, amylase và các enzyme nằm trong quá trình chuyển hoá glucide, đều được hình thành trong pha này.

Độ dài của pha lag phụ thuộc trước hết vào tuổi của ống giống và thành phẩm môi trường. Chẳng hạn, pha lag sẽ không có nếu ta dùng ống giống gồm các tế bào đang ở pha sinh trưởng logarit và cấy chúng vào cùng một môi trường dưới những điều kiện nuôi cấy như nhau. Trái lại nếu ta cấy các tế bào ở pha ổn định hoặc các bào tử vào cùng một môi trường dưới những điều kiện nuôi cấy như nhau, pha lag vẫn có. Thường thường tế bào càng già thì pha lag càng dài. Rõ ràng nguyên nhân của pha lag là sự khác biệt giữa các tế bào ở pha ổn định (hoặc bào tử) với các tế bào đang sinh trưởng logarit. Trong pha lag diễn ra việc xây dựng lại các tế bào nghỉ thành các tế bào sinh trưởng logarit.

Nhưng ngay khi dùng các tế bào đang sinh trưởng logarit mà cấy vào môi trường mới khác với môi trường trước đây ta vẫn thấy pha lag. Nguyên nhân của pha lag trong trường hợp này chính là sự thích ứng của vi khuẩn với điều kiện nuôi cấy mới. Sự thích ứng đó có liên quan với sự tổng hợp các enzyme mới mà trước đây tế bào chưa cần. Các enzyme mới này được tổng hợp nhờ sự cảm ứng với của các cơ chất mới.

Việc tìm hiểu độ dài thời gian của pha lag là cần thiết trong việc phán đoán đặc tính của vi khuẩn và tính chất của môi trường.

Như ta đã biết, pha lag biểu thị sự thích nghi của vi khuẩn với một môi trường đã cho. Trạng thái sinh lý của vi khuẩn càng xa với sinh trưởng logarit trong môi trường mới thì pha lag càng dài. Nhưng yếu tố thứ hai ảnh hưởng đến độ dài thời gian của pha lag là tốc độ của các quá trình diễn ra trong tế bào, trước hết là tốc độ tổng hợp các enzyme thích ứng mới.

Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến pha lag. Đáng chú ý nhất là 3 yếu tố sau đây:

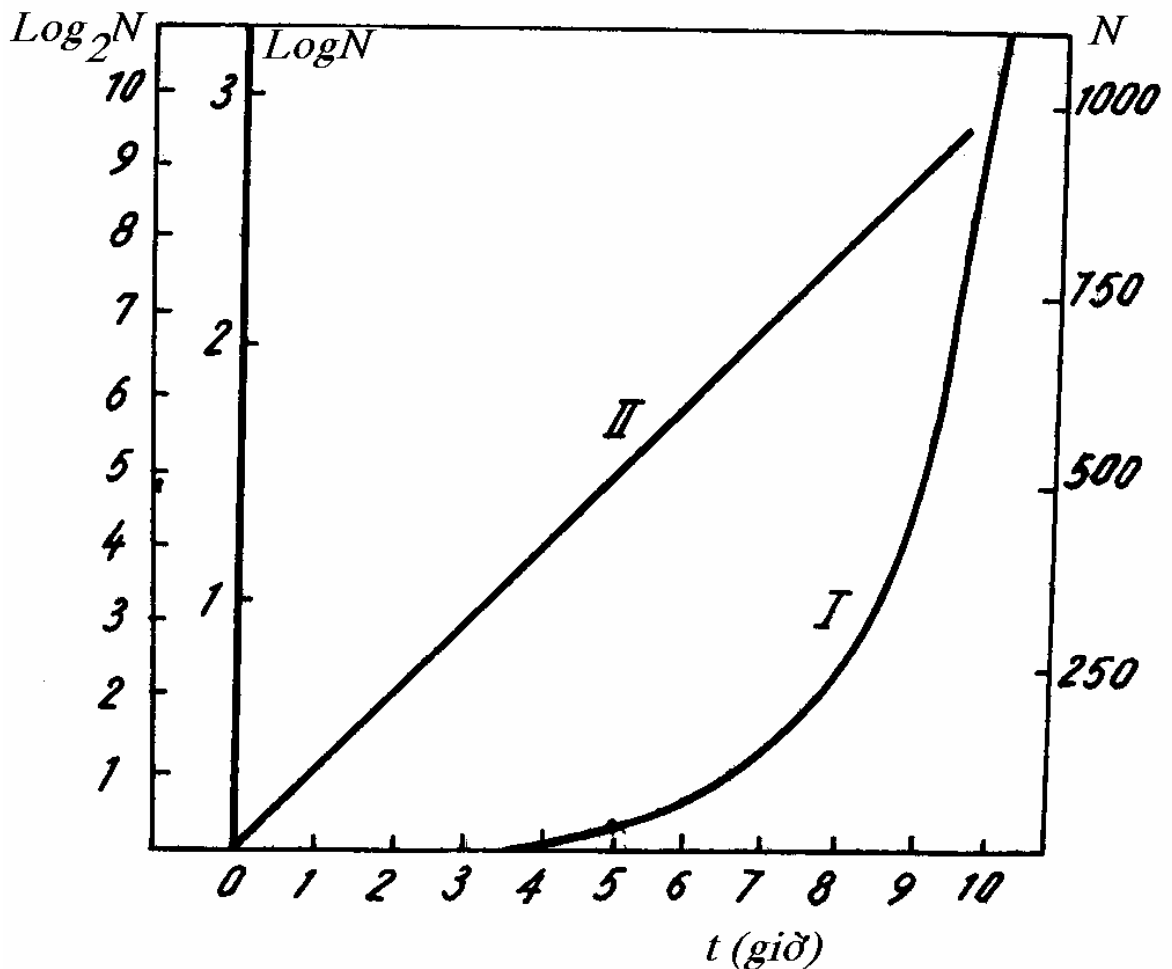
- Tuổi giống cấy : Tuổi của quần thể giống cấy tức là chúng đang ở giai đoạn sinh trưởng nào, có ảnh hưởng rất rõ đến pha lag. Thực nghiệm chứng minh nếu giống cấy ở giai đoạn pha lag (hay pha chỉ số) thì pha lag sẽ ngắn. Ngược lại nếu giống cấy ở pha tử vong thì pha lag ở vật nuôi sẽ kéo dài.
- Lượng cấy giống : nói chung lượng cấy giống nhiều thì pha lag ngắn và ngược lại. Trong công nghiệp lên men tỷ lệ cấy giống thường ở mức 1/10.
- Thành phần môi trường : Môi trường có thành phần dinh dưỡng phong phú (thường là môi trường có cơ chất thiên nhiên) thì cho pha lag ngắn. Trong công nghiệp lên men thành phần của môi trường lên men thường tránh sai khác nhiều so với thành phần của môi trường nhân giống.

### 3.2.2. *Pha lag*

Trong pha này vi khuẩn sinh trưởng và phát triển theo lũy thừa, nghĩa là sinh khối và số lượng tế bào tăng theo phương trình  $N = N_0 \cdot 2^{ct}$  hay  $X = X_0 \cdot c^{mt}$ . kích thước của tế

bào, thành phần hoá học, hoạt tính sinh lý ... nói chung không thay đổi theo thời gian. Tế bào ở trạng thái động học và được coi như là “những tế bào tiêu chuẩn”.

Nếu ta lấy trục tung là số tế bào, trục hoành là thời gian ta sẽ có đường biểu diễn là đường cong I.



**Sinh trưởng theo lũy thừa của các vi sinh vật đơn bào**  
**I - Phương pháp thông thường biểu diễn kết quả**  
**II - Thang logarit**  
**N = Số tế bào**

Một đồ thị như vậy rõ ràng không có lợi cho việc tính toán. Cho nên người ta thường lấy trục tung là logarit của số tế bào và đường biểu diễn sinh trưởng theo lũy thừa của vi khuẩn sẽ là đường thẳng. Vì pha sinh trưởng theo lũy thừa của vi khuẩn được biểu diễn bằng sự phụ thuộc theo đường thẳng giữa thời gian và logarit của số tế bào nên pha này được gọi là pha logarit. Hơn nữa, người ta thường dùng logarit cơ số 2 là thích hợp

hơn cả vì sự thay đổi một đơn vị của  $\log_2$  trên trục tung chính là sự tăng đôi số lượng vi khuẩn và thời gian cần để tăng một đơn vị của  $\log_2$  lại là thời gian thế hệ.

Ba thông số quan trọng của pha log là thời gian thế hệ (hoặc thời gian tăng đôi)  $g$ , hằng số tốc độ phân chia  $c$  và hằng số tốc độ sinh trưởng  $\mu$ . Nếu xác định thời gian thế hệ  $g$  theo số tế bào bằng phương pháp nói trên ta sẽ nhận được giá trị trung bình. Trên thực tế, trong một quần thể vi khuẩn luôn luôn có một số tế bào không có khả năng phân chia. Vì vậy các tế bào phân chia mạnh thường có thời gian thế hệ nhỏ hơn giá trị trung bình tìm thấy. Các hằng số  $c$  và  $\mu$  có thể tính được từ phương trình :

$$\mu = \frac{\log_2 X_2 - \log_2 X_1}{\log_2 e(t_2 - t_1)}$$

Các hằng số này thay đổi tùy theo hàng loạt yếu tố môi trường và điều kiện nuôi cấy. Tuy nhiên trong điều kiện thí nghiệm có thể điều chỉnh sao cho tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn chỉ mẫn cảm, nghĩa là chỉ phụ thuộc vào một yếu tố, còn các yếu tố khác của môi trường không có ảnh hưởng gì. Trong trường hợp như vậy yếu tố đã cho là yếu tố hạn chế tốc độ sinh trưởng. Monod (1942) là người đầu tiên đã chứng minh rằng nếu tất cả các chất dinh dưỡng đều ở nồng độ dư thừa trừ một chất hạn chế thì hằng số tốc độ phân chia (hoặc sinh trưởng) sẽ là hàm số của nồng độ chất dinh dưỡng hạn chế này. Chất dinh dưỡng hạn chế có thể là đường (saccharose, glucose) acid amin (tryptophan, arginin), chất vô cơ (phosphate,  $\text{CO}_2$ ).

### Sinh trưởng theo lũy thừa của một vi khuẩn có thời gian thế hệ là 20 phút

Thời gian (phút)	Số lần phân chia	Số tế bào biểu thị bằng		
		số số học	$\log_2$	$\log_{10}$
0	0	1	0	0,000
20	1	2	1	0,301
40	2	4	2	0,602
60	3	8	3	0,903
80	4	16	4	1,204
100	5	32	5	1,505

Vì vậy Monod đã nêu lên một cách tương tự mối quan hệ giữa các hằng số  $c$  và  $\mu$  với nồng độ chất dinh dưỡng hạn chế qua các phương trình :

$$c = c_{\max} \frac{[S]}{K_s + [S]}$$

và 
$$\mu = \mu_{\max} \frac{[S]}{K_s - [S]}$$

Ở đây  $c_{\max}$  và  $\mu_{\max}$  lần lượt là hằng số tốc độ phân chia và hằng số tốc độ sinh trưởng cực đại,  $K_s$  là hằng số bão hòa và  $[S]$  là nồng độ chất dinh dưỡng hạn chế. Giống

như hằng số Michaelis  $k_m$ , hằng số bão hoà  $K_s$  biểu thị ái lực của tế bào đối với chất dinh dưỡng : Giá trị của  $K_s$  càng nhỏ thì ái lực càng lớn. Đó là nồng độ của chất dinh dưỡng hạn chế mà ở đó  $\mu$  đạt được nửa giá trị cực đại, tức  $\mu = \frac{1}{\mu_{\max}}$ . Giá trị của  $K_s$  thường rất thấp.

### Một số hằng số bão hoà

Vi sinh vật	Chất dinh dưỡng hạn chế	$K_s$
<i>E. coli</i>	glucose	4mg/l
<i>E. coli</i>	mannitol	2mg/l
<i>E. coli</i>	lactose	20mg/l
<i>E. coli</i>	glucose	7,5mg/l
<i>E. coli</i>	tryptophan	0,2 đến 1,0 $\mu\text{g/l}$
<i>E. coli</i>	tryptophan	0,4 $\mu\text{g/l}$
<i>M. tuberculosis</i>	glucose	3,9 $\mu\text{g/l}$
<i>A. aerogenes</i>	phosphate	0,6mmol/l
<i>B. megatherium</i>	O <sub>2</sub>	$3,1 \cdot 10^{-8}$ mol/l
<i>E. coli</i>	O <sub>2</sub>	$6,0 \cdot 10^7$ mol/l
	O <sub>2</sub>	$2,2 \cdot 10^{-8}$ mol/l

### 3.2.3. Pha ổn định

Trong pha này quần thể vi khuẩn ở trạng thái cân bằng động học, số tế bào mới sinh ra bằng số tế bào cũ chết đi. Kết quả: số tế bào và cả sinh khối không tăng cũng không giảm. Tốc độ sinh trưởng bây giờ phụ thuộc vào nồng độ cơ chất. Cho nên khi giảm nồng độ cơ chất (trước khi cơ chất bị cạn hoàn toàn) tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn cũng giảm. Do đó việc chuyển từ pha lag sang pha ổn định diễn ra dần dần.

Nguyên nhân tồn tại của pha ổn định là do sự tích lũy các sản phẩm độc của trao đổi chất (các loại rượu, acid hữu cơ) và sự cạn chất dinh dưỡng (thường là chất dinh dưỡng có nồng độ thấp nhất). Nguyên nhân thứ nhất rất phức tạp và khó phân tích, nguyên nhân thứ hai đã được nghiên cứu kỹ hơn. Sự tăng sinh khối tổng cộng tỷ lệ thuận với nồng độ ban đầu của chất dinh dưỡng hạn chế.

$$G = K \cdot c$$

Ở đây G là độ tăng sinh khối tổng cộng, c là nồng độ ban đầu của chất dinh dưỡng hạn chế. K là hằng số hiệu suất :

$$K = G / c$$

Hằng số hiệu suất K thường được biểu thị bằng số mg chất khô đối với 1mg chất dinh dưỡng. Đối với các đường, K thường dao động khoảng từ 0,20 đến 0,30 nghĩa là từ 100mg đường được tạo thành 20 - 30mg khối lượng khô của tế bào.

Cần chú ý rằng ngay trong pha ổn định có thể diễn ra các quá trình như sử dụng chất dinh dưỡng, phân huỷ một phần ribosome. Những tế bào miễn cảm sẽ chết trước, những tế bào khác còn tồn tại một thời gian cho tới khi nào việc oxy hoá các chất dự trữ hoặc các protein của tế bào đã cạn. Lượng sinh khối đạt được trong pha ổn định gọi là hiệu suất hoặc sản lượng. Sản lượng phụ thuộc vào tính chất và số lượng các chất dinh dưỡng sử dụng và vào điều kiện nuôi cấy. Đó là sự sai khác giữa số lượng vi khuẩn cực đại và khối lượng vi khuẩn ban đầu.

$$X = X_{\max} - X_0$$

Đại lượng này được biểu thị bằng gam.

### 3.2.4. Pha tử vong

Trong pha này số lượng tế bào sống có khả năng sống giảm theo lũy thừa (mặc dù số lượng tế bào tổng cộng có thể không giảm). Đôi khi các tế bào tự phân nhờ các enzyme của bản thân. Ở các vi khuẩn sinh bào tử thì phức tạp hơn do quá trình hình thành bào tử.

Thực ra chưa có một quy luật chung cho pha tử vong. Sự chết của tế bào có thể nhanh hay chậm, có liên quan đến sự tự phân hay không tự phân. Do sức sống lớn, bào tử bị chết chậm nhất (trong những điều kiện thích hợp như khô và nhiệt độ thấp bào tử có thể duy trì được khả năng sống hàng trăm năm). Nguyên nhân của pha tử vong chưa thật rõ ràng, nhưng có liên quan với điều kiện bất lợi của môi trường. Trong trường hợp môi trường tích lũy các acid (*Escherichia*, *Lactobacillus*) nguyên nhân của sự chết tế bào tương đối dễ hiểu. Nồng độ chất dinh dưỡng thấp dưới mức cần thiết, sẽ làm giảm hoạt tính trao đổi chất, phân huỷ dần dần các chất dự trữ và cuối cùng dẫn đến sự chết của hàng loạt tế bào. Ngoài đặc tính của bản thân chủng vi khuẩn, tính chất của các sản phẩm trao đổi chất tích lũy cũng ảnh hưởng đến tiến trình của pha tử vong.

Một số enzyme thể hiện hoạt tính xúc tác cực đại trong pha tử vong như deaminase, decarboxylase, các amilase và proteinase ngoại bào. Ngoài chức năng xúc tác một số quá trình tổng hợp những enzyme nói trên chủ yếu xúc tác các quá trình phân giải.

Tốc độ tử vong của tế bào có liên quan trực tiếp đến thực tiễn vi sinh vật học và kỹ thuật, đó là vấn đề bảo quản các chủng vi sinh vật quan trọng về mặt lý thuyết (các chủng và các biến chủng đặc biệt) và kỹ thuật (các chủng sinh chất kháng sinh, acid amin, vitamine... với sản lượng cao). Ngoài khả năng sống ta còn cần bảo quản cả các đặc tính di truyền của vi khuẩn. Có nhiều phương pháp bảo quản khác nhau, nhưng tất cả đều nhằm làm giảm trao đổi chất đến tối thiểu chủ yếu bằng cách giảm nhiệt độ và độ ẩm. Sau đây là một số phương pháp thường dùng trong việc bảo quản vi sinh vật :

- a. Cấy chuyển thường xuyên trên thạch nghiêng hoặc trích sâu vào thạch. Sau khi đã sinh trưởng, vi khuẩn được giữ trong tủ lạnh ở + 4<sup>0</sup>C. Phương pháp này đơn giản nhất và thường được dùng, nhưng kém hiệu quả nhất.
- b. Bảo quản dưới dầu vô trùng : dầu parafin vừa ngăn cản môi trường khô vừa làm giảm trao đổi chất do cản trở sự xâm nhập của oxy.
- c. Bảo quản trong cát hoặc đất sét vô trùng : Do cấu trúc lý - hoá cát và đất sét đều là những vật chất tốt mang các tế bào vi sinh vật, chủ yếu là các bào tử. Sau khi làm khô không khí cát (hoặc đất sét) cùng với vi khuẩn có thể bảo quản tế bào rất lâu.
- d. Đông khô ; là phương pháp hoàn thiện và có hiệu quả nhất. Vi khuẩn được trộn với môi trường thích hợp (sữa, huyết thanh,...) rồi làm lạnh và làm khô nhờ băng khô. Sau mấy năm bảo quản tế bào vẫn giữ được khả năng sống mà không bị biến đổi về di truyền.
- e. Bảo quản trong glycerin (10%) và giữ trong tủ lạnh sâu (-60<sup>0</sup>C hay -80<sup>0</sup>C) : Đây là phương pháp rất thích hợp nhưng cần mua được loại ống nhựa chịu nhiệt (khi khử trùng).

### 3.3. Sinh trưởng của vi khuẩn trong quá trình nuôi cấy liên tục

Trong phương pháp nuôi cấy tĩnh nói trên, các điều kiện môi trường luôn luôn thay đổi theo thời gian, mật độ vi khuẩn tăng lên còn nồng độ cơ chất giảm xuống. Vi khuẩn phải sinh trưởng và phát triển theo một số pha nhất định, sinh khối đạt được không cao. Tuy nhiên trong nhiều nghiên cứu và thực tiễn sản xuất ta cần cung cấp cho vi sinh vật những điều kiện ổn định để trong một thời gian dài chúng có thể vẫn sinh trưởng trong pha log. Dĩ nhiên ở một mức độ nào đó có thể cấy chuyển tế bào nhiều lần (qua những khoảng thời gian ngắn) vào môi trường dinh dưỡng mới. Nhưng đơn giản hơn, người ta đưa liên tục môi trường dinh dưỡng mới vào bình nuôi cấy vi khuẩn đồng thời loại khỏi bình một lượng tương ứng dịch vi khuẩn. Đây chính là cơ sở của phương pháp nuôi cấy liên tục trong chemostat và turbidostat.

Giả sử ta có một bình nuôi cấy trong đó vi khuẩn đang sinh trưởng phát triển, cho chảy liên tục vào bình môi trường mới có thành phần không đổi. Thể tích bình nuôi cấy được giữ không đổi, nghĩa là dòng môi trường đi vào được bù bởi dòng môi trường đi ra với cùng tốc độ.

Ta gọi thể tích bình là v (lít) là tốc độ vào của môi trường dinh dưỡng, tốc độ dòng đi vào là f (lít/giờ). Do đó tốc độ pha loãng (còn gọi là hệ số pha loãng) D là f/v. Đại lượng D biểu thị sự thay đổi thể tích sau 1 giờ.

Nếu vi khuẩn không sinh trưởng và phát triển, chúng sẽ bị rút khỏi bình nuôi cấy với tốc độ :

$$v^- = -\frac{dX}{dt} = D.X$$

Ở đây X là sinh khối tế bào (g/l).

Tốc độ sinh trưởng của quần thể vi khuẩn trong bình cho bởi phương trình :

$$v^+ = \frac{dX}{dt} = \mu X$$

tốc độ thay đổi cuối cùng (tăng hoặc giảm) mật độ vi khuẩn trong nuôi cấy liên tục là sự sai khác giữa tốc độ tăng và tốc độ giảm  $v^-$  :

$$v = v^+ - v^- = \frac{dX}{dt} = (\mu - D)X$$

Nếu  $\mu < D$  giá trị  $v = dX/dt$  có giá trị dương, nghĩa là mật độ vi khuẩn trong bình tăng, ngược lại nếu  $\mu > D$ ,  $v$  sẽ có giá trị âm và mật độ vi khuẩn trong bình giảm. Trong trường hợp đặc biệt  $\mu = D$  ta có  $v = 0$ , nghĩa là mật độ tế bào không tăng không giảm theo thời gian, quần thể vi khuẩn ở trong trạng thái cân bằng động học.

Nếu bình thí nghiệm có thiết bị duy trì sao cho  $\mu$  luôn luôn bằng  $D$  ta sẽ thu được quần thể vi khuẩn sinh trưởng và phát triển theo lý thừa thường xuyên ở một mật độ tế bào không đổi và không phụ thuộc vào thời gian. Trong trường hợp như vậy không những kích thước trung bình của tế bào, trạng thái sinh lý của chúng mà cả môi trường nuôi cấy đều không đổi và không phụ thuộc vào thời gian. Điều này, một mặt tạo điều kiện cho việc nghiên cứu sinh trưởng và sinh lý của tế bào vi khuẩn, mặt khác cải thiện quá trình sản xuất vi sinh vật ở quy mô công nghiệp.

Chemostat và turbidostat là hai thiết bị nuôi cấy trong đó ta có thể duy trì được điều kiện  $\mu = D$

Chemostat gồm một bình nuôi cấy, dung dịch dinh dưỡng từ một bình dự trữ chảy vào đây với một tốc độ không đổi. Nhờ thông khí và khuấy cơ học bình nuôi cấy được cung cấp đầy đủ oxy và bảo đảm việc phân bố nhanh và đồng đều các chất dinh dưỡng trong dòng môi trường đi vào. Theo mức độ vào của môi trường mà dịch vi khuẩn được rút khỏi bình một cách thích hợp.

Sinh trưởng của vi khuẩn trong chemostat được điều chỉnh bởi nồng độ cơ chất. Chất dinh dưỡng hạn chế này có thể là một thành phần chủ yếu nào đó của môi trường. Phổ biến hơn cả là nguồn carbon và năng lượng, nhưng thường người ta cũng chọn nguồn nitrogen, phosphore, lưu huỳnh hoặc  $Mg^{2+}$ . Như đã nói trên,  $\mu$  là hàm số của nồng độ chất dinh dưỡng hạn chế.

$$\mu = \mu_{\max}$$

Nghĩa là có vô số hằng số  $\mu$  từ  $\mu = 0$  đến  $\mu = \mu_{\max}$  (hằng số tốc độ sinh trưởng cực đại đạt được khi bão hòa cơ chất) tùy theo nồng độ chất dinh dưỡng hạn chế sao cho mật độ vi khuẩn trong bình không bị giảm. Như thế sẽ có một tốc độ pha loãng  $D_m$ , ở đó sinh khối vi khuẩn đạt được cực đại, nghĩa là  $D_m = \mu_{\max}$ .

Trái với chemostat hoạt động của turbidostat (từ chữ turbidity = độ đục) dựa vào việc duy trì mật độ (hoặc độ đục) vi khuẩn không đổi. Tế bào quang điện đo độ đục điều chỉnh môi trường đi vào bình qua một hệ thống rơle. Trong bình nuôi cấy tất cả chất dinh dưỡng đều ở nồng độ dư thừa và vi khuẩn sinh trưởng với tốc độ gần cực đại.

Nếu mật độ tế bào tăng quá giá trị cần thiết thì hệ số pha loãng sẽ tăng và phần tế bào thừa bị loại ra ngoài (vì  $D > \mu_{\max}$ ). Ngược lại nếu mật độ tế bào giảm xuống dưới mức chọn lựa hệ số  $D$  lại giảm và mật độ tế bào sẽ tăng (vì  $\mu_{\max} > D$ ). kết quả của sự điều chỉnh là duy trì cho hệ số pha loãng  $D = \mu_{\max}$ .

Rõ ràng về mặt kỹ thuật phương pháp turbidostat phức tạp hơn chemostat.

Tóm lại, có những sai khác chính giữa nuôi cấy tĩnh và nuôi cấy liên tục:

Nuôi cấy tĩnh được xem như là hệ thống đóng, quần thể tế bào sinh trưởng trong đó phải trải qua các pha mở đầu logarit, ổn định và tử vong. Mỗi pha sinh trưởng được đặc trưng bởi những điều kiện nhất định. Việc điều khiển tự động khó thực hiện.

Nuôi cấy liên tục, trái lại, là hệ thống mở có khuynh hướng dẫn đến việc thiết lập một cân bằng động học. Yếu tố thời gian ở đây, trong phạm vi nhất định, bị loại trừ. Tế bào được cung cấp những điều kiện môi trường không đổi, nhờ việc điều chỉnh tự động.

### 3.4. Làm đồng bộ sự phân chia tế bào

Bình thường quần thể vi khuẩn đang sinh trưởng và phân chia là một hỗn hợp tế bào ở các pha sinh trưởng rất khác nhau của sự phân chia tế bào, nghĩa là vào lúc bất kỳ, trong môi trường nuôi cấy ta có thể đồng thời gặp các tế bào vừa phân chia xong, sắp phân chia hoặc ở những giai đoạn kế tiếp. Tuy nhiên, muốn nghiên cứu các quá trình trao đổi chất trong suốt chu kỳ phân chia tế bào ta cần có một quần thể vi khuẩn trong đó các tế bào phân chia đồng thời (đồng bộ). Có thể làm đồng bộ sự phân chia tế bào bằng một phương pháp nhân tạo như *thay đổi sinh lý tế bào* hoặc dựa vào việc *chọn lọc cơ học các tế bào* có cùng kích thước.

Phương pháp sinh lý làm đồng bộ sự phân chia tế bào phổ biến là phương pháp gây choáng nhiệt. Như ta biết, trong những điều kiện nuôi cấy bình thường ở nhiệt độ thích hợp (ở vi khuẩn là  $30^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$ ) các quá trình tổng hợp phần lớn các cao phân tử (DNA, RNA, protein) diễn ra song song và ở trạng thái cân bằng. Bằng cách giảm nhiệt độ ta sẽ phá huỷ cân bằng này. Trong khi tổng hợp DNA còn tiếp tục một thời gian thì việc tổng hợp RNA và protein bị ngừng. Kết quả là sự phân chia tế bào cũng bị ngừng. Nếu phục hồi lại nhiệt độ thích hợp ban đầu thì chỉ sau một thời gian lag ngắn, tế bào sẽ bắt đầu phân chia nhưng bây giờ phân chia đồng bộ tức là phần lớn tế bào đều phân chia trong một khoảng thời gian tương đối ngắn. Sau khi nâng nhiệt độ quá trình tổng hợp RNA và protein được phục hồi còn hàm lượng DNA vẫn ở mức ban đầu tương ứng với chạng kết thúc nhân đôi của nhiễm sắc thể.

Tuy nhiên, sự phân chia đồng bộ, không phải là trạng thái bền vững, chỉ sau vài thế hệ tính đồng bộ lại bị phá huỷ và quần thể vi khuẩn lại là một hỗn hợp tế bào ở các pha phân chia khác nhau.

Phương pháp nâng cao nhiệt độ đã được ứng dụng đầu tiên với động vật nguyên sinh (Tetrahymena).

Việc phân tích sinh lý các tế bào phân chia đồng bộ chứng minh rằng do sự phá huỷ thứ tự bình thường của sự phân chia nhiễm sắc thể và sự phân chia tế bào mà gây



nên hiện tượng sinh trưởng mất cân bằng đó là nguyên nhân của sự phân chia đồng bộ. Như ta biết điều kiện để mở đầu việc phân chia tế bào là sự kết thúc quá trình nhân đôi nhiễm sắc thể. Mặt khác, một khi đã ở trong trạng thái nhân đôi nhiễm sắc thể sẽ độc lập với các điều kiện sinh trưởng và chu trình nhân đôi sẽ hoàn thành ngay khi tổng hợp protein bị kìm hãm bởi cloramphenicol hoặc bởi thiếu một acid amin chủ yếu.

Trên cơ sở của những kết quả này ta có thể hiểu được nguyên tắc làm đồng bộ không phải chỉ bằng gây choáng nhiệt mà nói chung bằng mọi tác động khác đến trạng thái sinh lý bình thường của tế bào. Nhiệt độ thấp làm ngừng tổng hợp RNA và protein nhưng việc nhân đôi nhiễm sắc thể vẫn được hoàn thành mặc dù với tốc độ chậm. Do tổng hợp RNA và protein bị kìm hãm mà sự phân chia tế bào và sinh trưởng cũng bị ngừng. Bởi vì dễ hiểu rằng, tổng hợp protein là cần không những cho việc mở đầu một chu trình nhân đôi mới của DNA mà cả cho việc tổng hợp các enzyme và các cấu trúc cần thiết đối với sự hình thành vách ngăn ngang. Còn sinh trưởng bị ngừng thì có thể hiểu rằng vì protein là thành phần chủ yếu của tế bào và sinh trưởng đòi hỏi có những enzyme thường xuyên hoạt động không những tham gia vào các quá trình sinh tổng hợp mà cả vào các quá trình phân giải (quá trình cung cấp năng lượng và các tiền chất cho việc tổng hợp). Nguyên nhân trực tiếp của sự phân chia đồng bộ sau khi phục hồi nhiệt độ thích hợp là trạng thái giống nhau của sự nhân đôi nhiễm sắc thể. Vào cuối lúc gây choáng lạnh tất cả vi khuẩn đều chứa một nhiễm sắc thể đã nhân đôi, bất kể tế bào đã ở giai đoạn nào của sự nhân đôi khi hạ nhiệt độ. Việc phục hồi nhiệt độ dẫn đến việc hoạt động đồng thời của các quá trình kế tiếp sự nhân đôi : phân ly nhiễm sắc thể và hình thành các vách ngang.

Một phương pháp sinh lý khác làm đồng bộ sự phân chia tế bào là thay đổi thành phần của môi trường.

Nếu vào một lúc nào đó ta loại khỏi môi trường nuôi cấy một chất dinh dưỡng hoặc một chất trao đổi chủ yếu nào đó vi khuẩn sẽ sinh trưởng mất cân bằng : sau khi phục hồi nồng độ chất này, tế bào sẽ phân chia đồng bộ. Chẳng hạn, có thể gây đói timin trong thời gian ngắn ở các biến chủng *E. coli* trợ dưỡng đối với timin hoặc gây đói một số acid amin cần thiết cho sinh tổng hợp các protein của tế bào.

Về nguyên tắc làm đồng bộ sự phân chia tế bào bằng gây đói acid amin ta có thể giải thích như sau: Trong trường hợp này tổng hợp RNA và protein bị ngừng ngay nhưng quá trình nhân đôi nhiễm sắc thể, nếu đã mở đầu, vẫn có thể diễn ra cho đến khi hoàn thành. Nguyên nhân ở đây lại là sự sinh trưởng mất cân bằng trong thời gian đói acid amin. Vì bước mở đầu một chu trình nhân đôi mới liên quan chặt chẽ đến tổng hợp protein nên nhiễm sắc thể của tất cả vi khuẩn sau khi đã nhân đôi thì ngừng lại. Việc thêm acid amin sẽ phục hồi tổng hợp RNA và protein, do đó cũng kích thích phản ứng mở đầu chu trình nhân đôi mới sau khi các nhiễm sắc thể nhân đôi đã được phân ly. Như thế làm đồng bộ sự phân chia tế bào là hậu quả của việc làm đồng bộ sự phân chia nhiễm sắc thể.

Nguyên tắc làm đồng bộ bằng gây đói timin, từ quan điểm tổng hợp DNA, vẫn chưa được giải thích. Việc loại bỏ timin cũng đồng thời làm ngừng tổng hợp DNA, nghĩa

là các tế bào trong quần thể chứa nhiễm sắc thể ở các giai đoạn khác nhau của sự nhân đôi. Khoảng thời gian gây đói không được quá giới hạn 30 - 45 phút, nếu không sau đó tế bào sẽ chết vì thiếu timin. Đây là quá trình không thuận nghịch, không thể loại bỏ bằng cách thêm đầy đủ timin.

Phương pháp chọn lọc cơ học xuất phát từ thực tế các tế bào cá thể vào thời kỳ trước khi phân chia đều tăng thể tích. Trong một quần thể vi khuẩn sinh trưởng dưới những điều kiện bình thường, những tế bào nhỏ nhất chính là những tế bào vừa phân chia xong. Nếu chọn lọc riêng những tế bào này ta sẽ thu được các vi khuẩn mà sau khi nuôi cấy tiếp sẽ phân chia đồng bộ. Người ta đã dùng các màng lọc có kích thước lỗ tương ứng với các vi khuẩn nhỏ nhất, kết quả cho khá tốt. Ngoài ra cũng có thể chọn lọc bằng cách ly tâm các tế bào.

Ý nghĩa của việc làm đồng bộ sự phân chia tế bào là ở chỗ nó cho ta khả năng nghiên cứu một quần thể tế bào đồng nhất, nghĩa là trong đó các đặc tính hình thái và sinh lý của một tế bào tương ứng với của cả quần thể. Nhờ đó ta có thể chứng minh được rằng các thành phần của tế bào vi khuẩn không được tổng hợp với tốc độ như nhau vào thời gian giữa hai lần phân chia. Chẳng hạn, trong quá trình phân chia tế bào *Azotobacter vinelandii* ngừng tổng hợp DNA nhưng tăng cường tổng hợp các acid amin tự do. Trái lại, hàm lượng RNA và protein tăng như nhau trong pha này.

### **3.5. Các phương pháp xác định sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn**

Số lượng tế bào và sinh khối mặc dù có mối liên hệ theo tỷ lệ thuận  $y = kx$  nhưng mối liên hệ này chỉ đúng trong điều kiện thí nghiệm rất hạn chế, không có ý nghĩa phổ biến. Điều này chính là do kích thước và khối lượng của từng vi khuẩn thay đổi tùy theo loài và chủng, trong quá trình sinh trưởng thì phụ thuộc vào thời gian (ở các pha của đường cong sinh trưởng), vào tốc độ sinh trưởng, thành phần môi trường nuôi cấy và vào điều kiện nuôi cấy. Vì vậy trong việc theo dõi sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn cần phân biệt các phương pháp xác định số lượng tế bào và sinh khối.

#### **3.5.1. Các phương pháp xác định số lượng tế bào**

Trong một quần thể vi khuẩn không phải mọi tế bào đều có khả năng sống. Những vi khuẩn gọi là sống phải tạo thành khuẩn lạc trên (hoặc trong) môi trường thạch và phát triển trong môi trường dịch thể. Do đó tùy theo mục đích thí nghiệm ta có thể xác định số lượng tế bào tổng cộng (cả tế bào sống và chết) hoặc số lượng tế bào sống.

Để xác định số lượng tế bào tổng cộng người ta thường dùng phương pháp đếm tế bào trực tiếp dưới kính hiển vi nhờ các “phòng đếm” (phòng đếm Neubauer, Thom hoặc Petrof - Hauser). Nếu chiều dày của lớp dịch chứa vi khuẩn là 0,02mm và cạnh hình vuông là 0,05mm (thể tích  $5 \cdot 10^{-8} \text{cm}^3$ ) thì muốn xác định số lượng tế bào trong 1ml phải nhân số tìm thấy với  $2 \cdot 10^7$ .

Cần chú ý là sau khi tế bào vào “phòng đếm” phải đợi một thời gian để vi khuẩn lắng và nằm trong một mặt phẳng quang học. Nếu tế bào chuyển động tích cực phải dùng formaldehyde giết chết trước.

Có thể dùng kỹ thuật nhuộm đặc biệt để phân biệt tế bào sống và tế bào chết. Do tế bào sống có màng sinh chất hoạt động, không thấm thuốc nhuộm nên hai loại tế bào bắt màu không giống nhau. Chẳng hạn đồ congo chỉ nhuộm màu tế bào chết còn tế bào sống không màu. Tuy nhiên, kết quả nhuộm màu phụ thuộc vào nhiều yếu tố : loài vi khuẩn, độ pha loãng của thuốc nhuộm, pH... Ví dụ, các tế bào sống của *C. acetobutylicum* bắt màu xanh và các tế bào chết bắt màu đỏ khi dùng Acridin orange với nồng độ 1 : 10.000. Kết quả sẽ ngược lại nếu dùng Acridin orange 1 : 5.000.

Trong trường hợp xác định số lượng tế bào sống người ta thường đếm số khuẩn lạc tạo thành bởi các vi khuẩn sống trong điều kiện sinh trưởng thuận lợi. Dịch treo vi khuẩn được pha loãng và một thể tích nhất định được đưa lên môi trường thạch trong hộp petri. Sau khi nuôi cấy người ta đếm số khuẩn lạc mọc lên. Nếu giả dụ rằng mỗi tế bào tạo thành một khuẩn lạc thì đếm số khuẩn lạc ta sẽ đếm được số tế bào sống. Tất nhiên điều này không đúng đối với các vi khuẩn mọc thành chuỗi, thành đôi hay thành đám hoặc đối với các dịch treo vi khuẩn không đồng nhất. Ngoài ra cũng cần chọn độ pha loãng vi khuẩn thích hợp sao cho số khuẩn lạc không ít (kém chính xác), không nhiều (khuẩn lạc có thể bị sát vào nhau và 2 tế bào có thể cho 1 khuẩn lạc). Thường trên một hộp thạch số khuẩn lạc từ 40 - 400 là thích hợp.

Số khuẩn lạc cũng rất phụ thuộc vào thành phần môi trường. Tế bào mọc thành khuẩn lạc trên môi trường này không nhất thiết cũng cho xuất hiện khuẩn lạc trên môi trường khác.

Với một số loại vi khuẩn khó phát triển trên môi trường thạch người ta có thể kiểm tra số lượng bằng phương pháp pha loãng liên tiếp sau đó cấy từ mỗi độ pha loãng 1ml vào từng ống đựng môi trường chỉ thị (nếu có 1 vi khuẩn đưa vào cũng đủ cho phản ứng dương tính sau khi nuôi cấy). Phương pháp này gọi là phương pháp số lượng có khả năng nhất (MPN, Most Probable Number). Có thể cấy vào 5 ống và lấy số liệu ở 3 độ pha loãng cuối (có phản ứng dương tính) rồi tra bảng để tìm ra số lượng gần đúng mật độ vi khuẩn.

Còn có thể lọc chất dịch qua màng lọc vi khuẩn rồi đặt màng lọc lên đĩa môi trường thạch để kiểm tra số khuẩn lạc sẽ mọc và suy ra mật độ vi sinh vật trong chất dịch.

### **3.5.2. Các phương pháp xác định sinh khối tế bào**

Việc chọn phương pháp để xác định sinh khối vi khuẩn tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu. Chẳng hạn, muốn đánh giá sản lượng tế bào thì ta cần sinh khối tươi hoặc khô sau khi đã ly tâm tế bào; muốn xác định cường độ trao đổi chất hay hoạt tính men, người ta lại tính hàm lượng protein hoặc nitrogen. Như vậy, trong thực tế có thể sử dụng các phương pháp trực tiếp hoặc gián tiếp.

#### **Các phương pháp trực tiếp gồm có :**

1. Xác định sinh khối tươi hoặc sinh khối khô (phương pháp này kém chính xác)

2. Xác định hàm lượng nitrogen tổng số (phương pháp micro - Kjehdal) và phương pháp vi khuẩn tán xác định  $\text{NH}_3$  hay hàm lượng carbon tổng số (theo Van Slike-Folch). Các phương pháp này cho độ chính xác cao.
3. Trong thực tế hàng ngày người ta thường xác định hàm lượng protein của vi khuẩn. Có thể dùng phương pháp biure cải tiến hoặc phương pháp so màu khác. Các phương pháp vi lượng dựa vào việc đo số lượng các thành phần đặc trưng của protein như tirosine, triptophan (theo Lowry hoặc Folin-Ciocalteu) cũng cho kết quả tốt.

Có thể nói xác định hàm lượng protein trong sinh khối là phương pháp thích hợp nhất vì một mặt protein là thành phần chủ yếu của chất khô, mặt khác đó là những thành phần hoạt động trong sinh khối (hầu hết protein của tế bào là enzyme)

#### ***Các phương pháp gián tiếp để đo sinh khối vi khuẩn:***

1. Đo độ đục của dịch treo tế bào. Đây là phương pháp rất thuận lợi. Trong thực tế ta thường đo mật độ quang học của dịch treo (dịch huyền phù). Trong một số trường hợp người ta cũng xác định sự khuếch tán ánh sáng.

Tuy nhiên sự phụ thuộc theo đường thẳng giữa hai chỉ số này với sinh khối vi khuẩn chỉ thấy trong vùng các giá trị rất thấp của mật độ tế bào. Vì sự khuếch tán ánh sáng phụ thuộc vào đường kính, hình dạng và chỉ số chiết quang của các hạt khuếch tán nên thỉnh thoảng cần kiểm tra lại tương quan giữa các đại lượng quang học và các chỉ số đo như sinh khối khô, hàm lượng nitrogen hoặc hàm lượng carbon.

Cũng cần chú ý rằng đối với khí cùng một sinh khối vi khuẩn trong dịch treo nhưng có thể có mật độ quang học khác nhau. Chẳng hạn mật độ quang học đối với 1mg/ml chất khô của *E.coli* trong pha log là 1,54 còn trong pha ổn định là 2,38. giá trị của mật độ quang học (O.D)/mg chất khô cũng thay đổi theo tốc độ sinh trưởng .

2. Đo các chỉ số cường độ trao đổi chất như hấp thụ  $\text{O}_2$ , tạo thành  $\text{CO}_2$  hay acid, vì các chỉ số này liên quan trực tiếp với sinh trưởng. Dĩ nhiên ta chỉ dùng các phương pháp này trong trường hợp không sử dụng các phương pháp khác, ví dụ khi mật độ sinh khối rất nhỏ.

Để đo các chỉ số nói trên có thể dùng các phương pháp chuẩn độ, điện hoá...

### **3.6. Tác dụng của các yếu tố bên ngoài lên sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn**

Sinh trưởng và trao đổi chất của vi khuẩn liên quan chặt chẽ với các điều kiện của môi trường bên ngoài. Các điều kiện này bao gồm hàng loạt các yếu tố khác nhau tác động qua lại với nhau. Đa số các yếu tố đó đều có một đặc tính tác dụng chung biểu hiện ở 3 điểm hoạt động : tối thiểu, tối thích và cực đại.

Với tác dụng tối thiểu của yếu tố môi trường vi khuẩn bắt đầu sinh trưởng và mở đầu các quá trình trao đổi chất, với tác dụng tối thích vi khuẩn sinh trưởng, với tác dụng

cực đại và biểu hiện hoạt tính trao đổi chất, trao đổi năng lượng lớn nhất, với tác dụng cực đại vi khuẩn ngừng sinh trưởng và thường chết.

Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên vi khuẩn có thể là thuận lợi hoặc bất lợi. Ảnh hưởng bất lợi sẽ dẫn đến tác dụng ức khuẩn hoặc diệt khuẩn. Do tác dụng ức khuẩn của yếu tố môi trường, tế bào ngừng phân chia, nếu loại bỏ yếu tố này khỏi môi trường vi khuẩn lại tiếp tục sinh trưởng và phát triển. Khi có mặt chất diệt khuẩn, trái lại vi khuẩn ngừng sinh trưởng, phát triển và chết nhanh chóng. Sự chết của tế bào thường không xảy ra ngay một lúc trong cả quần thể mà diễn ra dần dần, có thể biểu diễn bằng đường cong tử vong logarit.

Một số yếu tố, chủ yếu là các hoá chất có thể hiện tác dụng ức khuẩn hoặc diệt khuẩn tùy nồng độ.

Tác dụng kháng khuẩn của các yếu tố bên ngoài chịu ảnh hưởng của một số điều kiện như tính chất và cường độ tác dụng của bản thân yếu tố, đặc tính của cơ thể và tính chất của môi trường.

### **3.6.1. Cơ chế tác dụng của các yếu tố bên ngoài lên vi khuẩn**

Các yếu tố của môi trường bên ngoài tác dụng lên tế bào vi khuẩn thuộc 3 loại : yếu tố vật lý (độ ẩm, nhiệt độ...), yếu tố hoá học (pH môi trường, thế oxy hoá khử...) và yếu tố sinh học (chất kháng sinh). Dù là yếu tố nào nhưng khi đã tác dụng bất lợi lên tế bào thì thường trước hết gây tổn hại đến các cấu trúc quan trọng cho sự sống của tế bào.. Những tổn hại đó dẫn đến phá huỷ chức phân hoạt động của các cấu trúc và làm tế bào chết..

Tác dụng có hại của các yếu tố bên ngoài tế bào vi khuẩn thể hiện chủ yếu ở những biến đổi sau :

#### **3.6.1.1. Phá huỷ thành tế bào.**

Một số chất như lisozyme (chứa trong lá lách, bạch cầu, lòng trắng trứng,...) có khả năng phân huỷ thành tế bào vi khuẩn dẫn đến tạo thành các nguyên lập chủ yếu ở vi khuẩn  $G^+$  và các cầu lập ở vi khuẩn  $G^-$

Trong sự có mặt của penicillin, các cầu lập được hình thành và dễ phân huỷ. Ở vi khuẩn  $G^-$ , do tác dụng của chất kháng sinh này, tế bào tạo thành các dạng hình cầu miễn cảm với áp suất thẩm thấu tương tự với các dạng L của vi khuẩn.

#### **3.6.1.2. Biến đổi tính thấm của màng tế bào chất**

Một số chất không nhất thiết phải xâm nhập tế bào nhưng vẫn gây tác dụng kháng khuẩn. Do tác dụng lên một hoặc một số chức năng sinh lý của màng tế bào chất này làm vi khuẩn mất khả năng sinh sản.

Tác dụng kháng khuẩn của các chất oxy hoá và các chất khử ( $H_2O_2$ , các halogen...) là do ảnh hưởng của chúng lên các thành phần của màng tế bào chất. Cũng có thể xếp vào nhóm các hợp chất này, các rượu, phenol, các chất tẩy rửa tổng hợp và một số kháng sinh.

### 3.6.1.3. Thay đổi đặc tính keo của nguyên sinh chất

Các yếu tố vật lý cũng như hoá học đều có thể gây nên tác dụng này. Chẳng hạn, nhiệt độ cao làm biến tính protein và làm chúng đông tụ.

### 3.6.1.4. Kim hãm hoạt tính

Một số chất tác động vào các hệ thống sinh năng lượng của tế bào, cyanide kim hãm enzyme cytochrome - oxydase, fluoride ngăn cản quá trình đường phân. Các chất oxy hoá mạnh ( $H_2O_2$ , các halogen) phá huỷ các hệ thống tế bào làm tổn hại đến chức năng trao đổi chất....

### 3.6.1.5. Huỷ hoại các quá trình tổng hợp

Trong sự có mặt của một số chất tương tự về mặt cấu trúc với các chất trao đổi tự nhiên, gọi là chất antimetabolite quá trình sinh tổng hợp có thể bị ức chế. Cơ chế tác dụng của các chất antimetabolite không giống nhau. Một số gắn với trung tâm hoạt động của enzyme nhưng không tham gia vào phản ứng khiến enzyme mất hoạt tính phân huỷ cơ chất; một số khác có thể tham gia vào phản ứng enzyme và được lắp vào sản phẩm của phản ứng nhưng sau đó không được sử dụng trong trao đổi chất với cùng mức độ như trong trường hợp của cơ chất thực.

## 3.6.2. Các yếu tố vật lý

### 3.6.2.1. Độ ẩm

Hầu hết các quá trình sống của vi khuẩn có liên quan đến môi trường nước do đó độ ẩm là một yếu tố quan trọng của môi trường. Đa số vi khuẩn thuộc các sinh vật ưa nước nghĩa là chúng cần nước ở dạng tự do, dễ hấp thụ. Chỉ một số xạ khuẩn có thể xếp vào bọn ưa khô vì chúng sử dụng được cả nước hygroscopic gắn trên bề mặt các hạt đất ở dạng các phân tử. Khi thiếu nước sẽ xảy ra hiện tượng loại nước khỏi tế bào vi khuẩn, trao đổi chất bị giảm và tế bào chết. So với tế bào dinh dưỡng, các bào tử chịu đựng được khô hạn hơn rất nhiều. Nếu làm lạnh tế bào đồng thời làm khô trong chân không ta có thể bảo quản được sức sống của tế bào trong một thời gian dài. Đây là nguyên tắc của phương pháp làm đông khô vi khuẩn.

### 3.6.2.2. Nhiệt độ

Hoạt động trao đổi chất của vi khuẩn có thể coi là kết quả của các phản ứng hoá học. Vì các phản ứng này phụ thuộc chặt chẽ vào nhiệt độ nên yếu tố nhiệt độ rõ ràng ảnh hưởng sâu sắc đến các quá trình sống của tế bào. Tế bào thu được nhiệt chủ yếu từ môi trường bên ngoài, một phần cũng do cơ thể thải ra do kết quả của hoạt động trao đổi chất.

Hoạt động của vi sinh vật giới hạn trong môi trường chứa nước có thể hấp thụ. Vùng này của nước nằm từ  $2^0$  đến khoảng  $100^0$  gọi là vùng sinh động học. Hầu hết tế bào sinh dưỡng của vi sinh vật bị chết ở nhiệt độ cao protein bị biến tính, một hoặc hàng loạt enzyme bị bất hoạt. Các enzyme hô hấp đặc biệt là các enzyme trong chu trình Krebs rất mẫn cảm với nhiệt độ. Sự chết của vi khuẩn ở nhiệt độ cao cũng có thể còn là hậu quả của sự bất hoạt hoá RNA và sự phá hoại màng tế bào chất.

Nhiệt độ thấp (dưới vùng sinh động học) có thể làm bất hoạt quá trình vận chuyển các chất hoà tan qua màng tế bào chất do thay đổi cấu hình không gian của một số permease chứa trong màng hoặc ảnh hưởng đến việc hình thành và tiêu thụ ATP cần cho quá trình vận chuyển chủ động các chất dinh dưỡng.

Vi khuẩn thường chịu đựng được nhiệt độ thấp. Ở nhiệt độ dưới điểm băng hoặc thấp hơn chúng không thể hiện hoạt động trao đổi chất rõ rệt. Nhiệt độ thấp có thể coi là yếu tố ức khuẩn nếu làm lạnh quá nhanh. Nếu làm lạnh trong chân không các tinh thể băng sẽ thăng hoa. Đó là phương pháp đông khô để bảo quản vi sinh vật.

Giới hạn giữa nhiệt độ cực tiểu và nhiệt độ cực đại là vùng nhiệt sinh trưởng của vi sinh vật. Giới hạn này rất khác nhau giữa các loài vi khuẩn : tương đối rộng ở các vi khuẩn hoại sinh, nhưng rất hẹp ở các vi khuẩn gây bệnh. Tuy theo quan hệ với vùng nhiệt có thể chia vi khuẩn thành một số nhóm :

- a. Vi khuẩn ưa lạnh : sinh trưởng tốt nhất ở nhiệt độ dưới  $20^{\circ}\text{C}$ , thường gặp trong nước biển, các hồ sâu và suối nước lạnh. Hoạt tính trao đổi chất ở các vi khuẩn này thấp. Trong điều kiện phòng thí nghiệm nhiều vi khuẩn ưa lạnh dễ dàng thích ứng với nhiệt độ cao hơn.
- b. Vi khuẩn ưa ấm: chiếm đa số, cần nhiệt độ trong khoảng  $20^{\circ}\text{C}$  -  $40^{\circ}\text{C}$ . Ngoài các dạng hoại sinh ta còn gặp các loài ký sinh gây bệnh cho người và động vật.
- c. Vi khuẩn ưa nóng : sinh trưởng tốt nhất ở  $55^{\circ}\text{C}$ . Nhiệt độ sinh trưởng cực đại của các vi khuẩn ưa nóng dao động giữa  $75^{\circ}\text{C}$  và  $80^{\circ}\text{C}$ .

Các vi khuẩn ưa nóng gồm chủ yếu là các xạ khuẩn, các vi khuẩn sinh bào tử, thanh táo và nấm mốc. Thường gặp chúng trong suối nước nóng, trong phân ủ.

Áp lực, áp suất thẩm thấu và áp suất thuỷ tĩnh có thể ảnh hưởng đến cấu trúc của tế bào vi khuẩn.

Màng tế bào chất của vi khuẩn là bán thấm do các hiện tượng thẩm thấu và việc điều chỉnh thẩm áp qua các hệ thống permease đều có liên quan đến màng. Trong môi trường ưu trương tế bào mất khả năng rút nước và các chất dinh dưỡng hoà tan bao quanh : tế bào chịu trạng thái khô sinh lý, bị co sinh chất và có thể bị chết nếu kéo dài. Trong thực tế người ta ứng dụng tác dụng co sinh chất của các nồng độ muối cao (10 - 15%) hoặc đường cao (50 - 80%) để bảo quản thực phẩm (muối dưa, cà, ướp thịt cá) hoa quả (làm mứt) vì đa số vi sinh vật rất mẫn cảm với thẩm áp cao của môi trường. Ngược lại, khi vi khuẩn vào dung dịch nhược trương nước sẽ xâm nhập tế bào, áp lực bên trong sẽ tăng lên. Tuy nhiên do có thành tế bào cứng ở vi khuẩn không xảy ra hiện tượng vỡ sinh chất như ở tế bào thực vật.

Đa số vi khuẩn sinh trưởng tốt trong môi trường chứa ít hơn 2% muối, nồng độ cao hơn có hại cho tế bào. Nhưng cũng có một số vi khuẩn lại sinh trưởng tốt nhất trong môi trường chứa tới 30% muối. Ta gọi là các vi khuẩn ưa muối.

Trong hoạt động sống của mình vi khuẩn thường chịu ảnh hưởng của những thay đổi áp lực thuỷ tĩnh. Ở nhiệt độ bình thường áp lực cao có thể làm chậm hoặc làm mất

khả năng di động, làm ngừng sinh trưởng, làm yếu động lực và làm thay đổi trao đổi chất nhưng không làm chết vi khuẩn. Tuy nhiên, nhiều vi khuẩn ở đáy biển và các mỏ dầu có thể chịu áp suất thủy tĩnh tới 200 – 300 atm. Ta gọi đó là các vi khuẩn ưa áp.

Về cơ chế tác dụng của áp suất thủy tĩnh cao lên vi khuẩn vẫn chưa có ý kiến dứt khoát. Có lẽ do áp suất cao mà thể tích tế bào bị giảm, độ nhớt của nội thất tế bào tăng lên, từ đó dẫn đến làm bất hoạt một số enzyme, nhất là các enzyme nằm trong quá trình phân chia tế bào và làm giảm tốc độ hoặc làm ngừng các phản ứng sinh hoá. Cũng có thể, do áp lực thủy tĩnh cao mà chức năng của màng tế bào chất bị tổn thương.

*Âm thanh.* Sóng âm thanh, đặc biệt trong vùng siêu âm (trên 20kHz), có ảnh hưởng lớn đến sinh trưởng của vi khuẩn. Các tế bào sinh dưỡng bị chết nhanh chóng, tế bào non mẫn cảm hơn nhiều so với tế bào già. Mẫn cảm nhất đối với tác dụng của siêu âm là các vi khuẩn hình sợi, ít mẫn cảm hơn là các trực khuẩn và có sức đề kháng cao nhất là các cầu khuẩn. Đặc biệt, siêu âm hầu như không ảnh hưởng gì lên bào tử vi khuẩn và các vi khuẩn kháng acid.

*Sức căng bề mặt.* Khi sinh trưởng trong môi trường dịch thể vi khuẩn chịu ảnh hưởng của sức căng bề mặt của môi trường. Đa số các môi trường dịch thể dùng trong phòng thí nghiệm có sức căng bề mặt khoảng 0,57 - 0,63mN/cm. Những thay đổi mạnh mẽ sức căng bề mặt có thể làm ngừng sinh trưởng và làm tế bào chết. Khi sức căng bề mặt thấp, các thành phần của tế bào chất bị tách khỏi tế bào. Điều này chứng tỏ màng tế bào chất bị tổn thương. Các chất nâng cao sức căng bề mặt chủ yếu là các muối vô cơ. Các chất làm giảm sức căng bề mặt chủ yếu là các acid béo, alcohol và các chất khác với chuỗi carbon dài, thẳng và thơm. Các chất này được gọi là các chất có hoạt tính bề mặt. Tác dụng của chúng thể hiện trong việc làm thay đổi các đặc tính bề mặt của vi khuẩn., trước hết là nâng cao tính thấm của tế bào. Trong thực tế người ta sử dụng hiện tượng này trong việc nuôi cấy các vi khuẩn kháng acid. Sức căng bề mặt thấp còn ngăn cản vi khuẩn gắn vào bề mặt cứng, tránh cho chúng khỏi cạnh tranh sinh trưởng.

*Các tia bức xạ.* Ánh sáng có thể gây ra những biến đổi hoá học và do đó những tổn thương sinh học nếu được tế bào hấp thụ. Mức độ gây hại tùy thuộc vào mức năng lượng trong lượng tử ánh sáng được hấp thụ và mức năng lượng trong lượng tử lại phụ thuộc gián tiếp vào chiều dài sóng của tia chiếu. Các lượng tử bức xạ gây nên những biến đổi hoá học của các phân tử và nguyên tử có chiều dài sóng khoảng 10.000 Å. Bao gồm ánh sáng mặt trời, tia tử ngoại, tia X, tia gamma và tia vũ trụ. Các tia vũ trụ tia gamma và tia X có năng lượng rất lớn. Khi được vật chất hấp thụ chúng có thể bắn ra các electron từ các nguyên tử của vật chất đó. Vì vậy các tia này được gọi là các bức xạ ion hoá.

*Ánh sáng mặt trời.* Là nguồn tia chiếu tự nhiên nhất có tác dụng phá huỷ tế bào vi khuẩn (ngoại lệ : các vi khuẩn quang hợp lại sử dụng ánh sáng mặt trời làm nguồn năng lượng). Tác dụng này bị yếu đi nếu tế bào chứa sắc tố hay các vỏ nhầy.

So với các bức xạ ion hoá thì tia tử ngoại (10 - 300nm) có năng lượng nhỏ hơn. Khi bị vật chất hấp thụ, tia tử ngoại không gây nên hiện tượng ion hoá nhưng kích thích các phân tử, nghĩa là chuyển các điện tử đến một năng lượng cao hơn. Dưới ảnh hưởng của



tia tử ngoại vi khuẩn bị chết hoặc bị đột biến tùy theo loài vi khuẩn và liều lượng chiếu, bào tử của mốc có sức đề kháng cao.

Điều đáng chú ý là những hư hại do tia tử ngoại gây nên trong tế bào phần nào có thể đảo ngược. Nếu sau khi chiếu tia tử ngoại ta lại cho vi khuẩn chịu tác dụng của ánh sáng ban ngày thì nhiều vi khuẩn có khả năng sống sót và tiếp tục sinh trưởng, phân chia. Hiện tượng này được gọi là quang tái hoạt.

Tia sáng mặt trời tuy có chứa một phần tia tử ngoại nhưng phần lớn những tia này bị khí quyển (ozon, mây...) giữ lại. Vì vậy ánh nắng có tác dụng diệt khuẩn nhỏ hơn so với tia tử ngoại dùng trong phòng thí nghiệm.

Hiện nay các bức xạ ion hoá được ứng dụng trong việc khử trùng thực phẩm, dược phẩm... và để gây đột biến ở vi sinh vật.

### 3.6.3. Các yếu tố hoá học

Trong số các yếu tố hoá học ảnh hưởng đến tế bào trước hết phải kể nồng độ ion hydro ( $\text{pH}$ ), thế oxy hoá khử ( $\text{Eh}$ ) của môi trường, các chất sát trùng và các chất hoá trị liệu.

#### 3.6.3.1. Ảnh hưởng của $\text{pH}$ môi trường

$\text{pH}$  của môi trường có ý nghĩa quyết định đối với sinh trưởng của nhiều vi sinh vật. Các ion  $\text{H}^+$  và  $\text{OH}^-$  là hai ion hoạt động lớn nhất trong tất cả các ion, những biến đổi dù nhỏ trong nồng độ của chúng cũng có ảnh hưởng mạnh mẽ. Cho nên việc xác định thích hợp ban đầu và việc duy trì  $\text{pH}$  cần thiết trong thời gian sinh trưởng của tế bào là rất quan trọng.

Các giá trị  $\text{pH}$  (cực tiểu, tối thích, cực đại) cần cho sinh trưởng và sinh sản của vi khuẩn tương ứng với các giá trị  $\text{pH}$  cần cho hoạt động của nhiều enzyme. Giới hạn  $\text{pH}$  hoạt động đối với vi sinh vật ở trong khoảng 4 - 10. Đa số vi khuẩn sinh trưởng tốt nhất ở  $\text{pH}$  trung bình (7,0). Các vi khuẩn nitrate hoá, vi khuẩn nốt sần, xạ khuẩn, vi khuẩn phân giải urea lại ưa môi trường hơi kiềm. Một số vi khuẩn chịu acid như vi khuẩn lactic, *Acetobacter*... có thể sinh trưởng ở  $\text{pH} < 1$ . nấm sợi và nấm men ưa  $\text{pH}$  acid ( $\text{pH} : 4 - 6$ )

$\text{pH}$  của môi trường không những ảnh hưởng mạnh mẽ đến sinh trưởng mà còn tác động sâu sắc đến các quá trình trao đổi chất.

Màng tế bào chất của vi sinh vật tương đối ít thấm đối với các ion  $\text{H}^+$  và  $\text{OH}^-$ . Vì vậy, mặc dù  $\text{pH}$  của môi trường bên ngoài dao động trong giới hạn rộng, nồng độ của 2 ion nói trên trong tế bào chất nói chung vẫn ổn định. Ảnh hưởng của  $\text{pH}$  môi trường lên hoạt động của vi sinh vật có thể là do kết quả tác động qua lại giữa ion  $\text{H}^+$  và enzyme chứa trong màng tế bào chất và thành tế bào.

Để duy trì  $\text{pH}$  thích hợp đối với vi sinh vật trong thời gian nuôi cấy, nhất là đối với các vi khuẩn sinh acid nhưng lại không chịu được acid (*Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, nhiều *Pseudomonas*), người ta thường thêm vào môi trường chất đệm hoặc dùng các cơ chất oxy hoá hoàn toàn. Dung dịch đệm thường dùng là muối của các acid yếu (phosphate, acetate, carbonate).

### 3.6.3.2. Thế oxy hoá khử (Eh)

Để biểu thị mức độ thoáng khí của môi trường người ta dùng đại lượng rH. Theo định nghĩa :  $rH = -\log (H_2)$ , ở đây  $(H_2)$  là áp lực của hydro trong khí quyển.

Dung dịch nước bão hoà hydro có  $rH = 0$ , bão hoà oxy có  $rH = 41$ . Thang từ 0 đến 41 xác định mức độ thoáng khí của môi trường. pH có ảnh hưởng đến giá trị rH của môi trường, sự phụ thuộc này được biểu thị bởi phương trình :

$$rH = \frac{Eh}{0.03} + 2pH \text{ (Eh = thế oxy hoá khử tính ra volt)}$$

Các vi sinh vật kỵ khí bắt buộc có thể sinh sản ở những giá trị rH rất thấp (không quá 8 - 10), các vi sinh vật hiếu khí hoặc kỵ khí tùy tiện ở giới hạn khá rộng rH từ 0 đến 30 còn các vi sinh vật hiếu khí bắt buộc rH từ 10 đến 30. Các giá trị  $rH > 30$  không có lợi cho sự sinh sản của các vi sinh vật hiếu khí bắt buộc.

Các vi khuẩn kỵ khí có thể sinh trưởng ở giá trị Eh khá thấp. bằng cách thêm một số chất nhất định vào môi trường có thể giảm giá trị Eh.

Oxy có vai trò hết sức quan trọng trong hoạt động sống của vi sinh vật. Tùy thuộc vào nhu cầu đối với oxy mà người ta chia vi sinh vật thành các nhóm sau:

#### - Hiếu khí bắt buộc :

Thuộc nhóm này là các vi sinh vật chỉ có thể sinh trưởng được khi có mặt oxy phân tử ( $O_2$ ). Chúng có chuỗi hô hấp hoàn chỉnh, dùng  $O_2$  làm thể nhận hydro cuối cùng. Trong tế bào có chứa enzyme SOD (superoxide dismutase) và peroxidase. Tuyệt đại đa số vi nấm và số đông vi khuẩn thuộc nhóm này.

#### - Hiếu khí không bắt buộc

Thuộc nhóm này là các vi sinh vật có thể sinh trưởng được cả trong điều kiện có oxy lẫn trong điều kiện không có oxy. Trong tế bào có chứa SOD và peroxidase. Có oxy chúng sinh trưởng tốt hơn. Phần lớn nấm men và nhiều vi khuẩn thuộc nhóm này. Có thể kể đến các loài như *Saccharomyces cerevisiae*, *E. coli* ...

#### - Vi hiếu khí :

Thuộc nhóm này là các vi sinh vật chỉ có thể sinh trưởng được điều kiện áp lực oxy rất thấp (khoảng 0.01 – 0.03atm). Chúng cũng thông qua chuỗi hô hấp và dùng oxy làm thể nhận hydro cuối cùng. Có thể kể đến các loài như *Vibrio cholerae*, *Hydrogenomonas* spp. ...

#### - Kỵ khí chịu đựng :

Đó là những vi khuẩn kỵ khí nhưng lại tồn tại được khi có mặt oxy. Chúng không sử dụng oxy, không có chuỗi hô hấp nhưng sự có mặt của oxy không có hại đối với chúng. Trong tế bào có SOD, peroxidase nhưng thiếu hydrogenperoxidase. Thuộc nhóm này có thể kể đến *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus lactis*...

#### - Kỵ khí :

Với các vi sinh vật thuộc nhóm này sự có mặt của oxy phân tử là có hại. Chúng không sinh trưởng được trên môi trường đặc hoặc bán đặc khi để trong không khí hay trong không khí có chứa 10% CO<sub>2</sub>. Chúng chỉ sinh trưởng được ở lớp dịch thể sâu, ở nơi không có oxy, quá trình lên men, quá trình phosphoryl hoá quang hợp, quá trình methane. Trong tế bào của các vi sinh vật này không có SOD, cytochromoxydase, phần lớn không có hydrogen peroxidase. Có thể kể đến rất nhiều loài trong các chi *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium* ...

#### 3.6.3.3. Các chất diệt khuẩn (sát trùng)

Các chất diệt khuẩn thường dùng nhất là phenol và các hợp chất của phenol, các alcohol, halogen, kim loại nặng, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ...

Hiện nay ngoài việc dùng một số hoá chất để sát trùng da, các dụng cụ dược phẩm, thực phẩm, nước uống... người ta còn dùng các dung dịch như nước brom 1%, HgCl<sub>2</sub> 0,1%, cồn, AgNO<sub>3</sub> 0,05%, hypochloride calci (1% Cl<sub>2</sub>) để sát trùng bề mặt hạt. Hạt được ngâm trong các dung dịch tương ứng khoảng 5 - 30 phút, trước đó cần xử lý hạt bằng xà phòng và các chất có hoạt tính bề mặt khác để đảm bảo cho bề mặt hạt thấm hoàn toàn, xử lý xong phải rửa hạt nhiều lần bằng nước vô trùng. Đa số các chất dùng làm thuốc nhuộm vi khuẩn đều là chất kìm hãm chúng.

#### 3.6.3.4. Các chất hoá trị liệu

Đó là các chất hoá học có tác dụng độc lên vi khuẩn nhưng không gây hại cho cơ thể bậc cao (khác với các chất sát trùng). Nói chung thành phần hoá học của các chất này đã được biết, do đó ta có thể điều chỉnh bằng con đường nhân tạo.

Cơ chế tác dụng của các chất hoá trị liệu rõ ràng dựa vào sự tương tự về cấu trúc của các chất này với các hợp chất mà vi khuẩn cần để tạo thành các coenzyme, protein và các acid nucleic. Các chất hoá trị liệu cạnh tranh vị trí gắn với các hợp chất đó trên phân tử enzyme và kìm hãm nhiều phản ứng sinh hoá quan trọng. Đa số các chất hoá trị liệu được sử dụng để điều trị các bệnh khác nhau.

Các chất hoá trị liệu quan trọng nhất là các sulfonamide dẫn xuất từ acid p-aminosulfonic. Đó là những chất đối kháng của acid p-aminobenzoic (APAB). Do cạnh tranh vị trí gắn trên phân tử enzyme với PAB các sulfonamide kìm hãm việc tạo thành acid folic là tiền chất của coenzyme tham gia vào quá trình tổng hợp một số acid amin và purin.

#### 3.6.4. Các yếu tố sinh học

Trong số các yếu tố sinh học có ảnh hưởng có hại lên các quá trình sống của vi khuẩn cần kể đến các kháng thể và các chất kháng sinh. Kháng thể là các globulin trong máu động vật, có khả năng liên kết đặc hiệu với kháng nguyên đã kích thích sinh ra nó, kháng thể này còn được gọi là kháng thể đặc hiệu. Kháng thể được tìm thấy chủ yếu trong huyết thanh của động vật, vì vậy huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu kháng nguyên được gọi là kháng huyết thanh.

Kháng thể cũng có thể được tìm thấy trong các dịch khác của cơ thể, như sữa. Những kháng thể có sẵn trong sữa hay huyết tương của người hay động vật từ trước khi có sự tiếp xúc với kháng nguyên được gọi là kháng thể tự nhiên hay kháng thể không đặc hiệu.

## Chương 4

# THÀNH PHẦN VI SINH VẬT THAM GIA TRONG QUÁ TRÌNH XỬ LÝ NƯỚC THẢI

❧❧❧

Vi sinh vật là một thành phần quan trọng trong quá trình xử lý nước thải sinh học. Về mặt cấu trúc và chức năng, vi sinh vật được xếp vào loại sinh vật có nhân và tiền nhân. Bọn tiền nhân gồm (eubacteria, archaebacteria) là quan trọng nhất trong xử lý sinh học và được hiểu đơn giản là vi khuẩn. Bọn có nhân bao gồm thực vật, động vật và nguyên sinh vật. Bọn có nhân quan trọng trong quá trình xử lý sinh học bao gồm nấm, động vật nguyên sinh và trùng bánh xe, tảo.

### 4.1. Vi khuẩn (bacteria)

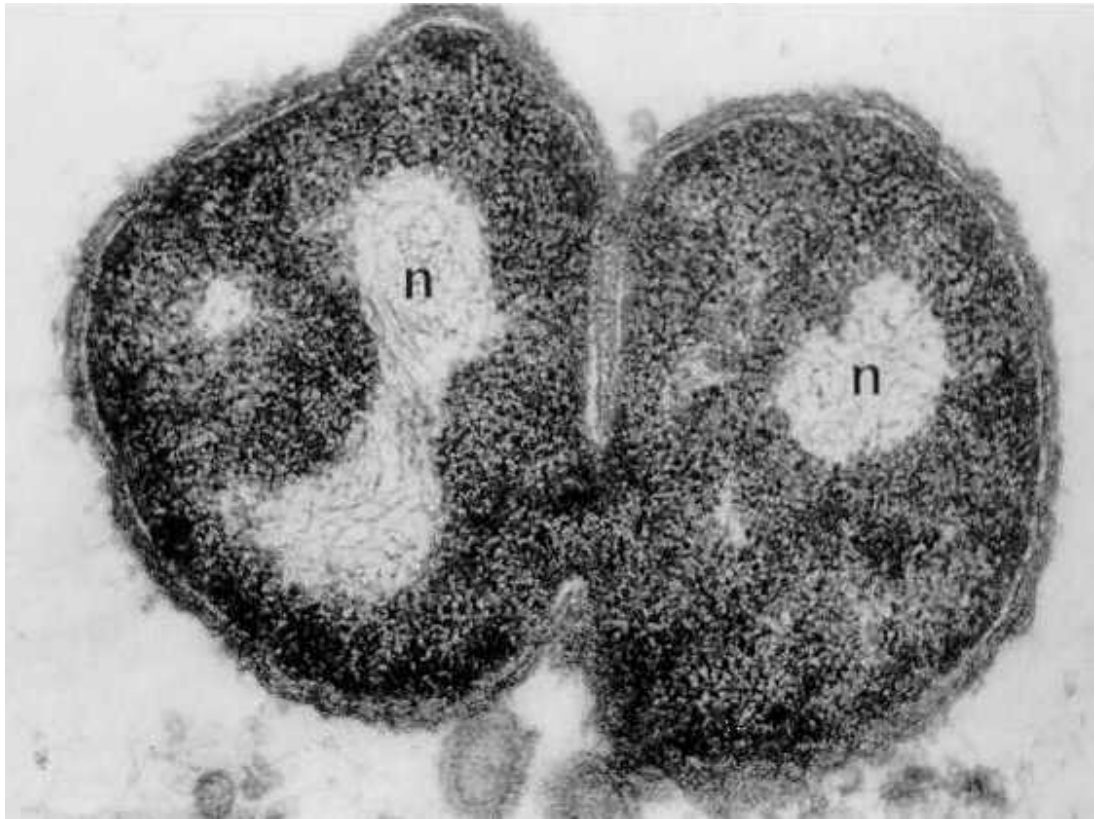
Là các sinh vật tiền nhân đơn bào. Hình thức sinh sản chủ yếu là nhân đôi mặc dù có một số loài sinh sản hữu tính hoặc bằng cách nảy chồi. Cho dù có hàng ngàn loại vi khuẩn khác nhau nhưng dạng tổng quát chỉ có ba loại sau: spherical, cylindrical và helical. Kích thước chúng biến đổi. Một vài kích thước của vi khuẩn như sau : đường kính từ 0.5 - 1.0 $\mu\text{m}$  đối với spherical, rộng từ 0.5-1 $\mu\text{m}$  và dài từ 1.5-3 $\mu\text{m}$  đối với cylindrical và rộng từ 0.5-5 $\mu\text{m}$  dài từ 6-15 $\mu\text{m}$  đối với helical.

#### 4.1.1. Cấu trúc tế bào

Có cấu trúc tế bào đơn giản (hình 4.1) bên trong tế bào gọi là tế bào chất, chứa protein, carbohydrate và các chất hữu cơ phức tạp. Vùng dịch bào chứa ribonucleic acid (RNA), có vai trò chủ yếu trong việc sinh tổng hợp protein. Cũng bên trong tế bào chất có vùng chứa deoxyribonucleic acid (DNA), DNA chứa tất cả những thông tin cần thiết cho sự sản xuất tất cả các cấu thành của tế bào và có thể được gọi là vật liệu di truyền của tế bào.

Thành phần tế bào: kiểm tra trên một số lượng lớn các vi khuẩn khác nhau người ta cho rằng chúng chứa khoảng 80% là nước và 20% là chất khô trong đó có 90% là chất hữu cơ và 10% là vô cơ. Thành phần cơ bản của tế bào vi khuẩn như sau:

Nguyên tố	Phần trăm trọng lượng khô	
	Khoảng	Trung bình
Carbon (C)	45-55	50
Oxygen (O)	16-22	20
Nitrogen (N)	12-16	14
Hydrogen (H)	7-10	8
Phosphorus (P)	2-5	3
Sulfur (S)	0.8-1.5	1
Potassium (K)	0.8-1.5	1
Sodium (Na)	0.5-2.0	1
Calcium (Ca)	0.4-0.7	0.5
Magnesium (Mg)	0.4-0.7	0.5
Chlorine (Cl)	0.4-0.7	0.5
Sắt (Fe)	0.1-0.4	0.2
Các chất khác	0.2-0.5	0.3



**Hình 4.1:** Cấu trúc tế bào dưới kính hiển vi điện tử

Công thức được ước tính cho chất hữu cơ đơn giản nhất là  $C_5H_7O_2N$ , theo công thức này thì có khoảng 53% về trọng lượng cơ thể là carbon. Công thức  $C_{60}H_{87}O_{23}N_{12}P$  có thể được sử dụng khi có tính đến phosphorus. Thành phần vô cơ bao gồm  $P_2O_5$  (50%),  $SO_3$  (15%),  $Na_2O$  (11%),  $CaO$  (9),  $MgO$  (8),  $K_2O$  (6%) và  $Fe_2O_3$  (1%). Bởi vì tất cả các đơn chất và hợp chất đều có nguồn gốc từ môi trường, nên sự thiếu hụt một trong những chất này trong chất nền sẽ là nhân tố hạn chế và trong một vài trường hợp có thể tác động đến sự phát triển của vi khuẩn.

#### **4.1.2. Điều kiện môi trường**

Các điều kiện của môi trường về nhiệt độ và pH có ảnh hưởng quan trọng lên sự tồn tại và phát triển của vi khuẩn. Nói một cách tổng quát, sự phát triển tối ưu chỉ xảy ra trong một giới hạn hẹp của nhiệt độ và pH, cho dù vi khuẩn có thể tồn tại trong một khoảng rộng về giới hạn của hai yếu tố này. Nhiệt độ dưới nhiệt độ tối ưu thường có ảnh hưởng ý nghĩa lên sự phát triển hơn là nhiệt độ trên nhiệt độ tối ưu. Tốc độ phát triển của vi khuẩn sẽ tăng lên gấp đôi khi nhiệt độ tăng lên  $10^0C$  cho đến khi đạt đến nhiệt độ tối ưu.

pH của môi trường cũng là nhân tố ảnh hưởng chủ yếu đến sự phát triển của vi khuẩn. Hầu hết vi khuẩn không thể thích ứng được ở  $pH > 9.5$  hoặc  $pH < 4.0$ . pH tối ưu cho sự phát triển của vi khuẩn nằm trong khoảng 6.5-7.5.

### 4.1.3. Sự phát triển của vi khuẩn

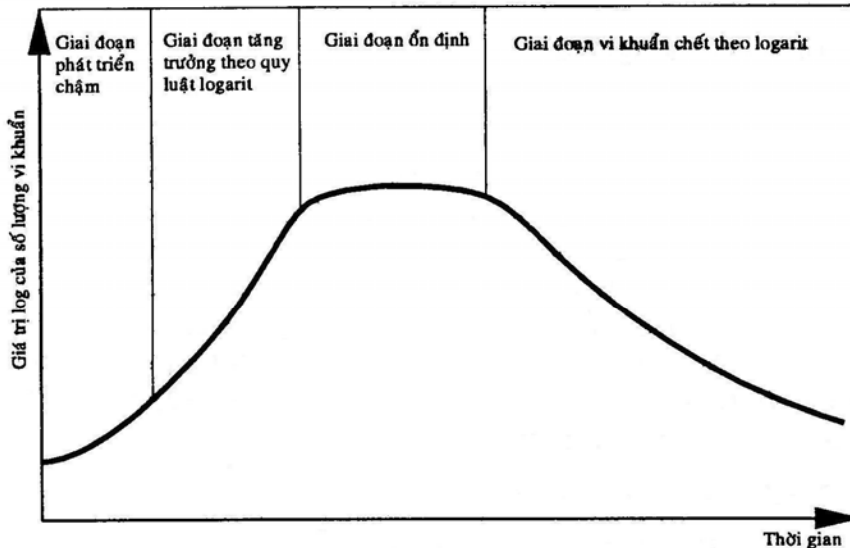
Việc kiểm soát môi trường có hiệu quả trong xử lý sinh học dựa vào sự hiểu biết các quy tắc cơ bản nhằm chế ngự sự phát triển của vi sinh vật. Sau đây bàn luận về sự phát triển của vi khuẩn, các vi sinh vật quan trọng trong xử lý sinh học.

#### *Sự phát triển của vi khuẩn trong nuôi cấy thuần khiết.*

Như đã đề cập trước đây, vi khuẩn có thể sinh sản bằng cách tự nhân đôi, sinh sản giới tính hoặc sinh sản bằng nảy mầm, nhưng chủ yếu chúng sinh sản bằng cách nhân đôi (tức là từ một tế bào ban đầu sinh ra hai tế bào mới). Thời gian cho mỗi một quá trình nhân đôi tế bào được gọi là thời gian sinh sản, có thể thay đổi từ vài ngày cho đến ít hơn 20 phút. Ví dụ, nếu thời gian giữa hai thế hệ là 30 phút, một cá thể vi khuẩn sẽ nhân lên thành 16.777.216 cá thể sau 12 giờ. Điều này được tính theo lý thuyết, đối với vi khuẩn sẽ không tiếp tục phân chia bởi vì một số giới hạn của nhân tố môi trường như nồng độ dinh dưỡng, pH, nhiệt độ và thậm chí cả kích thước của hệ thống.

#### *Sự phát triển qua từng giai đoạn theo số lượng vi khuẩn*

Hình thức phát triển tổng quát của vi khuẩn trong nuôi cấy được mô tả qua đồ thị, qua đồ thị ta thấy sự phát triển của vi khuẩn trải qua 4 giai đoạn, mỗi một giai đoạn tương ứng với mỗi số lượng vi khuẩn khác nhau. (hình 4.2)



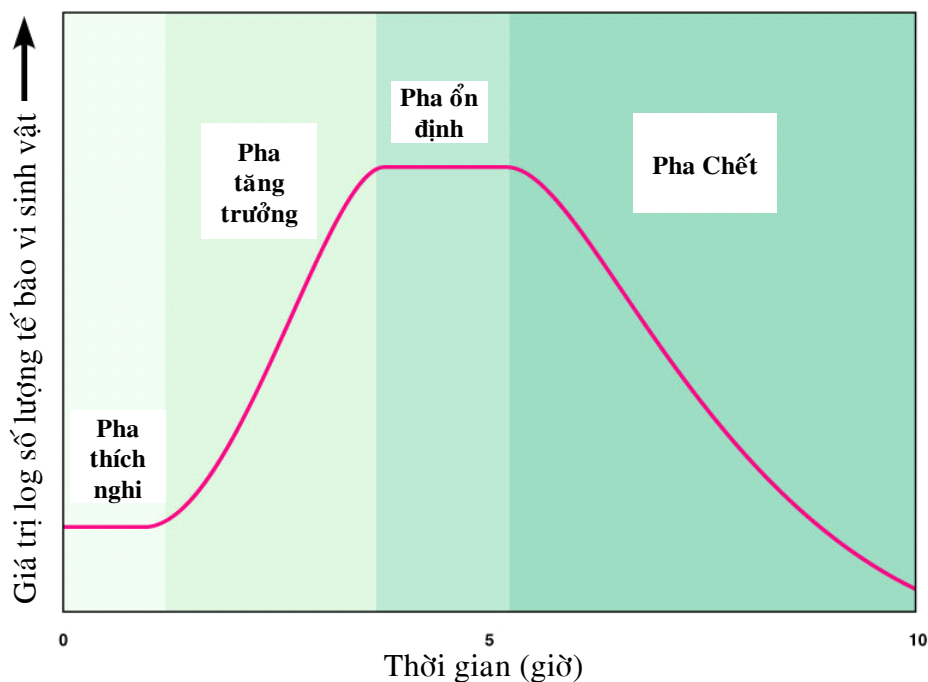
**Hình 4.2.** Đường cong biểu diễn các giai đoạn phát triển của vi khuẩn về số lượng theo thang logarit

- (1) Giai đoạn phát triển chậm (pha lag): trong suốt thời kỳ này vi khuẩn phải tiết vào môi trường chất kháng thể nhằm thích ứng với môi trường mới của chúng và bắt đầu phân chia.

- (2) Giai đoạn tăng trưởng về số lượng theo Logarit (pha log) : suốt thời gian này vi khuẩn nhân đôi với một tốc độ xác định bởi thời gian sinh sản và khả năng thu nhận và đồng hóa thức ăn của chúng (tốc độ tăng trưởng theo phần trăm là không đổi).
- (3) Giai đoạn phát triển ổn định : Trong giai đoạn này quần thể vi khuẩn ở trong trạng thái ổn định. Lý do trước tiên của hiện tượng này là: các tế bào đã sử dụng cạn kiệt chất nền hoặc chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển; sự phát triển của tế bào mới cân bằng với sự chết của tế bào cũ.
- (4) Giai đoạn vi khuẩn tự chết : Suốt giai đoạn này, tốc độ chết của vi khuẩn vượt quá sự sản sinh ra tế bào mới. Tốc độ chết thường là một chức năng của quần thể sống và các đặc tính của môi trường. Trong một vài trường hợp, trị số logarit của số lượng tế bào chết tương đương với trị số của số lượng tế bào sinh ra ở gian đoạn sinh trưởng nhưng có dấu ngược lại.

### **Sự phát triển về mặt số sinh khối.**

Sự phát triển được thảo luận ở đây trong mối tương quan của những thay đổi về sinh khối của vi sinh vật theo thời gian. Sự phát triển này bao gồm 4 giai đoạn. (hình 4.3).



Hình 4.3. Đường biểu diễn sự tăng sinh khối của vi sinh vật

- (1) Giai đoạn tăng trưởng chậm. Một lần nữa vi khuẩn đòi hỏi phải thích ứng với môi trường dinh dưỡng của chúng. Giai đoạn tăng trưởng chậm đối với sinh khối không kéo dài như giai đoạn tăng trưởng chậm đối với số lượng bởi vì sinh khối bắt đầu tăng trước khi sự phân chia tế bào xảy ra (tế bào lớn lên rồi mới phân chia).

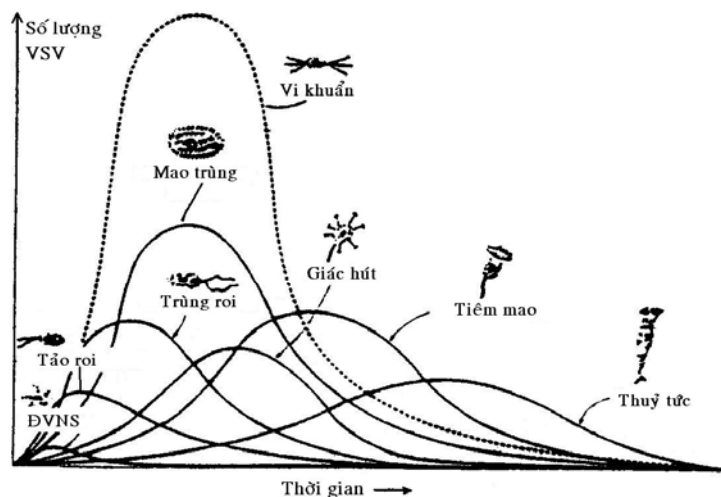


- (2) Giai đoạn tăng sinh khối theo logarit : luôn có thừa thức ăn xung quanh vi sinh vật, và tốc độ trao đổi chất và tăng trưởng của vi khuẩn chỉ phụ thuộc vào khả năng xử lý chất nền của chúng.
- (3) Giai đoạn tăng trưởng chậm dần: tốc độ tăng trưởng sinh khối của vi khuẩn giảm bởi vì sự cạn kiệt dần chất dinh dưỡng.
- (4) Giai đoạn hô hấp nội bào: vi khuẩn bắt buộc thực hiện quá trình trao đổi chất bằng chính các nguyên sinh chất có trong tế bào bởi vì nồng độ các chất dinh dưỡng cấp cho tế bào đã bị cạn kiệt. Suốt giai đoạn xảy ra hiện tượng giảm dần sinh khối trong khi đó các chất dinh dưỡng còn lại trong tế bào chết khuếch tán ra ngoài để nuôi dưỡng những tế bào còn sống.

### **Phát triển trong môi trường hỗn hợp**

Các quá trình phát triển ở trên liên quan đến một quần thể vi sinh vật. Hầu hết các quá trình xử lý sinh hóa xảy ra trong môi trường hỗn hợp gồm nhiều chủng loại vi sinh tác động lên môi trường và có tác động tương hỗ lẫn nhau. Mỗi loại vi sinh vật trong hệ thống có một đường cong sinh trưởng và phát triển riêng của nó, vị trí và các dạng đường cong tăng trưởng theo thời gian phụ thuộc vào thức ăn và chất dinh dưỡng có sẵn và phụ thuộc vào các nhân tố môi trường như nhiệt độ, pH, và cả điều kiện kỵ khí hoặc hiếu khí.

Sự biến đổi về ưu thế vi sinh vật theo thời gian trong quá trình ổn định hiếu khí chất thải hữu cơ được mô tả ở hình 4.4. Có nhiều loại vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong quá trình ổn định chất hữu cơ có trong nước thải. Khi thiết kế hoặc phân tích quá trình xử lý sinh học, nhà thiết kế nên nghĩ đến các giai đoạn của một hệ thống sinh thái hoặc quần xã như được mô tả ở hình 4.4.



**Hình 4.4.** Sự phát triển của vi sinh vật trong nước thải

#### 4.1.4. Động học của quá trình xử lý sinh học.

Để đảm bảo cho quá trình xử lý sinh học diễn ra có hiệu quả thì phải tạo được các điều kiện môi trường như pH, nhiệt độ, chất dinh dưỡng, thời gian...tốt nhất cho hệ vi sinh. Khi các điều trên được bảo đảm quá trình xử lý diễn ra như sau:

Tăng trưởng tế bào: ở cả hai trường hợp nuôi cấy theo mẻ hay nuôi cấy trong các bể có dòng chảy liên tục, nước thải trong các bể này phải được khuấy trộn một cách liên tục và hoàn chỉnh. Tốc độ tăng trưởng các tế bào vi sinh có thể biểu diễn bằng công thức sau:

$$r_t = \mu X$$

Trong đó :

$r_t$  : tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn. Khối lượng/đơn vị thể tích trong một đơn vị thời gian ( $\text{g/m}^3 \cdot \text{s}$ ).

$\mu$  : tốc độ tăng trưởng riêng.  $1/\text{thời gian} = 1/\text{s}$ .

$X$  : nồng độ sinh vật trong bể hay nồng độ bùn hoạt tính ( $\text{g/m}^3 = \text{mg/l}$ )

#### Chất nền - giới hạn tăng trưởng

Trong trường hợp nuôi cấy theo mẻ nếu chất nền và chất dinh dưỡng cần thiết cho sự tăng trưởng chỉ có với số lượng hạn chế thì các chất này sẽ được dùng đến cạn kiệt và quá trình tăng trưởng ngừng lại. Ở trường hợp nuôi cấy trong bể có dòng cấp chất nền và chất dinh dưỡng liên tục thì ảnh hưởng của việc giảm dần chất nền và chất dinh dưỡng có thể

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S}$$

biểu diễn bằng phương trình Monod đề xuất (1942, 1949)

Trong đó:

$\mu$  : tốc độ tăng trưởng riêng ( $1/\text{s}$ )

$\mu_m$  : tốc độ tăng trưởng riêng cực đại ( $1/\text{s}$ )

$S$  : nồng độ chất nền trong nước thải ở thời điểm sự tăng trưởng bị hạn chế.

$K_s$  : hằng số bán tốc độ, thể hiện ảnh hưởng của nồng độ chất nền ở thời điểm tốc độ tăng trưởng bằng  $1/2$  tốc độ cực đại ( $\text{g/m}^3$ ,  $\text{mg/l}$ )

#### Sự tăng trưởng tế bào và sử dụng chất nền.

Trong cả hai trường hợp nuôi cấy theo mẻ và nuôi cấy trong bể có dòng chảy liên tục, một phần chất nền được chuyển thành các tế bào mới, một phần được oxy hóa thành chất vô cơ và hữu cơ ổn định. Bởi vì số tế bào mới sinh ra lại hấp thu chất nền và sinh sản tiếp nên có thể thiết lập quan hệ giữa tốc độ tăng trưởng và lượng chất nền được sử dụng theo phương trình sau:

$$r_t = -Yr_d$$

Trong đó:

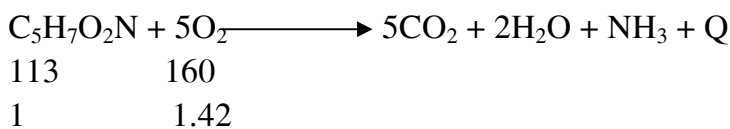
$r_t$ : tốc độ tăng trưởng của tế bào ( $g/m^3.s$ )

$Y$ : hệ số năng suất sử dụng chất nền cực đại ( $mg/mg$ ) (là tỷ số giữa khối lượng tế bào và khối lượng chất nền được tiêu thụ đo trong một thời gian nhất định ở giai đoạn tăng trưởng Logarit).

$r_d$ : tốc độ sử dụng chất nền ( $g/m^3.s$ )

### **Ảnh hưởng của hô hấp nội bào.**

Trong các công trình xử lý nước thải không phải tất cả các tế bào vi sinh vật đều có tuổi như nhau và đều ở giai đoạn sinh trưởng Logarit mà có một số đang ở giai đoạn chết và giai đoạn sinh trưởng chậm. Khi tính toán tốc độ tăng trưởng của tế bào phải tính toán tổ hợp hiện tượng này, để tính toán giả thiết rằng: sự giảm khối lượng của các tế bào do chết và tăng trưởng chậm tỷ lệ với nồng độ vi sinh vật có trong nước thải và gọi sự giảm này là do phân hủy nội bào. Quá trình hô hấp nội bào có thể biểu diễn đơn giản bằng phản ứng sau:



Từ phương trình trên cho thấy: nếu tất cả các tế bào bị oxy hóa hoàn toàn thì lượng COD của các tế bào bằng 1.42 lần nồng độ tế bào.

$$r_d \text{ (do phân hủy nội bào)} = -K_d.X$$

Trong đó  $K_d$ : hệ số phân hủy nội bào (1/s)

$X$ : nồng độ tế bào (nồng độ bùn hoạt tính) ( $g/m^3$ )

$$r_t' = \frac{\mu_m X S}{(K_s + S)} - K_d X$$

Kết hợp với tăng trưởng nội bào, tốc độ tăng trưởng thực tế của tế bào:

$$\text{Hay } r_t' = -Yr_d - K_d X.$$

Trong đó:  $r_t'$ : tốc độ tăng trưởng thực của vi khuẩn (1/s)

$$\mu' = \mu_m \frac{S}{K_s + S} - K_d$$

Tốc độ tăng trưởng riêng thực sẽ là:

Tốc độ tăng sinh khối bùn hoạt tính sẽ là:

$$y_b = \frac{r_t'}{r_d}$$

### ***Anh hưởng của nhiệt độ***

Nhiệt độ nước có ảnh hưởng rất lớn đến tốc độ của phản ứng sinh hóa trong quá trình xử lý nước thải. Nhiệt độ không chỉ ảnh hưởng đến hoạt động chuyển hóa của vi sinh vật mà còn tác động lớn đến quá trình hấp thụ khí oxy vào nước thải và quá trình lắng các bông cặn vi sinh vật ở bể lắng đợt 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ phản ứng sinh hóa trong quá trình xử lý nước thải được biểu diễn bằng công thức :

$$r_T = r_{20}\theta^{(T-20)}$$

Trong đó :  $r_T$  : tốc độ phản ứng ở  $T^{\circ}\text{C}$

$r_{20}$  : tốc độ phản ứng ở  $20^{\circ}\text{C}$

$\theta$  : hệ số hoạt động do nhiệt độ

$T$  : nhiệt độ nước đo bằng  $^{\circ}\text{C}$

Giá trị  $\theta$  trong quá trình xử lý sinh học dao động từ 1.02-1.09 thường lấy 1.04

#### ***4.1.5. Ứng dụng sự phát triển của vi khuẩn và hoạt động sử dụng chất nền trong xử lý sinh học.***

Trước khi thảo luận về các quá trình phát triển riêng biệt được sử dụng cho xử lý chất thải, thì việc áp dụng các động thái phát triển sinh học và sử dụng chất nền sẽ được giải thích. Mục đích ở đây là mô tả (1) sự phát triển của vi sinh vật và sự cân bằng chất nền và (2) dự đoán được nồng độ các vi sinh vật và chất nền ở đầu ra. Trong phần thảo luận này, quá trình xử lý hiếu khí thực hiện trong một phản ứng trộn hoàn chỉnh không có sự hồi lưu. Qua nghiên cứu cho thấy quá trình trên giống như quá trình bùn hoạt tính không có sự hồi lưu.

### **4.2. Nấm (fungi)**

Nấm có thể được xem là nguyên sinh vật đa tế bào không quang hợp và dị dưỡng. Nấm thường được phân loại dựa vào hình thức sinh sản. Chúng sinh sản hữu tính hoặc vô tính bằng cách nhân đôi, nảy chồi hoặc tạo thành bào tử. Mốc hay “nấm thật” thường có hình dạng sợi gọi là mycelium, men cũng là nấm nhưng không thể tạo thành mycelium và thường không phải là dạng tế bào.

Hầu hết các loại nấm đều có thể sống trong điều kiện thiếu khí. Chúng có khả năng phát triển trong điều kiện độ ẩm thấp và có thể thích ứng được trong môi trường pH thấp. pH tối ưu cho sự phát triển của hầu hết các loài nấm là 5.6 và khoảng biến động từ 2-9. Nấm cũng có nhu cầu nitrogen thấp, nhu cầu của chúng chỉ khoảng bằng  $\frac{1}{2}$  so với vi khuẩn. Khả năng của nấm có thể tồn tại trong điều kiện pH và nhu cầu nitrogen thấp, khả năng phân hủy cellulose gấp đôi, làm cho chúng trở nên quan trọng trong xử lý sinh học các chất thải công nghiệp và các chất thải hữu cơ ở dạng rắn.

### 4.3. Tảo (algae)

Tảo là bọn thực vật đa bào hay đơn bào, tự dưỡng và quang hợp được. Chúng có tầm quan trọng trong các quá trình xử lý sinh học bởi hai lý do. Trong thủy vực chúng có khả năng tạo ra oxygen qua quá trình quang hợp là sự sống của hệ sinh thái môi trường nước. Đối với ao hiếu khí hoặc ao oxy hóa kỵ khí không bắt buộc hoạt động hiệu quả, thì tảo là cần thiết cho việc cung cấp oxygen cho vi khuẩn dị dưỡng hiếu khí.

Tảo thường sống trôi nổi và phân phối trong cả khối nước, cũng có loại tảo bám (bám vào những vật chìm trong nước) hoặc sống đáy (tạo thành lớp trên bề mặt của nền đáy).

Những loài hiện diện chính trong xử lý sinh học gồm:

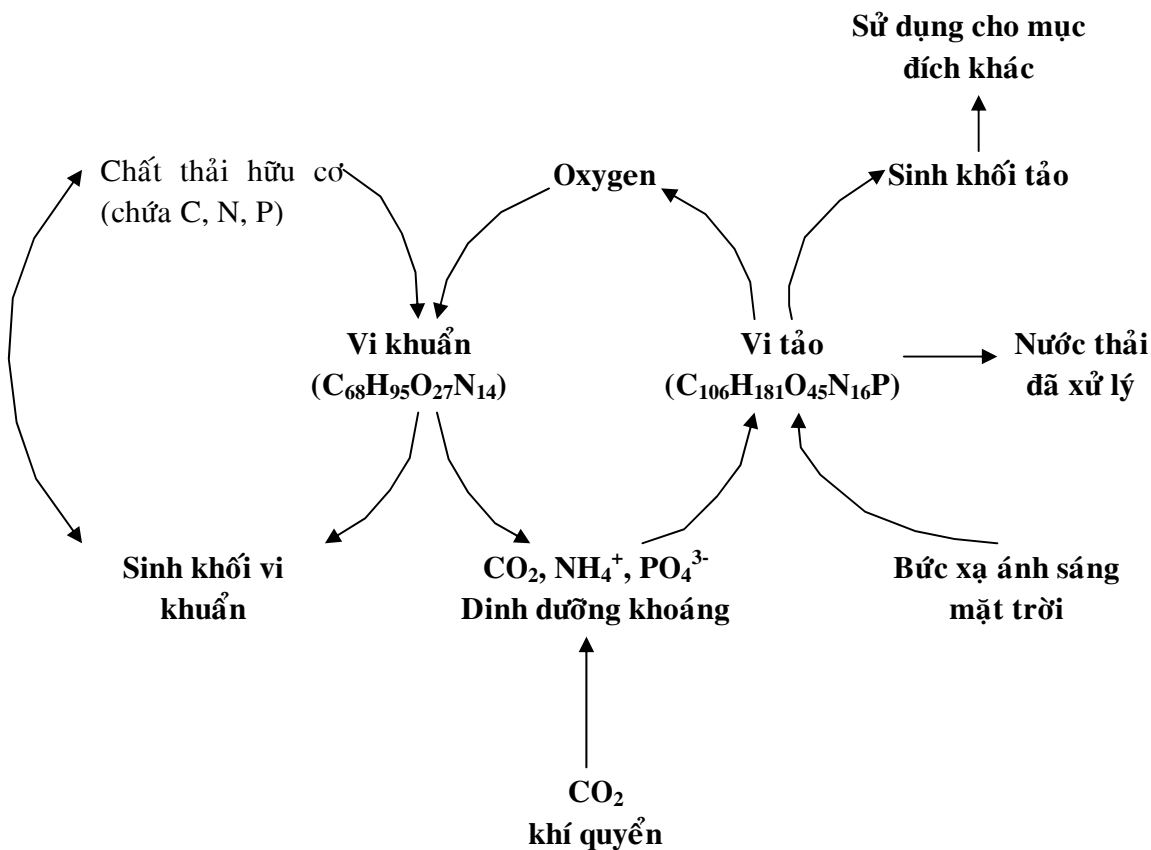
Tảo lam (cyanophyta) gần giống với vi khuẩn.

Tảo lục (chlorophyta)

Tảo nâu (chrysophyta)

Tảo mắt (euglena)

Mối tương quan sinh học giữa tảo và vi khuẩn trong xử lý nước thải thể hiện ở mô hình dưới đây.



**Hình 4.5.** Mối tương quan giữa tảo và vi khuẩn trong xử lý nước thải (theo W. J. Oswald, 1977)

Vi khuẩn

Nước thải + O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{\text{Vi khuẩn}}$  bùn vi khuẩn + nước thải đã được xử lý

Oxy trong trường hợp này được cung cấp bởi thực vật phù du và trao đổi nước bề mặt và không khí.

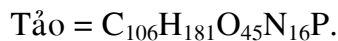
Muối khoáng + CO<sub>2</sub>  $\xrightarrow{\text{Thực vật + ánh sáng}}$  sinh khối thực vật + O<sub>2</sub>

Chlorophylle chứa trong vi tảo cho phép chúng sử dụng ánh sáng mặt trời như là nguồn năng lượng: đó là cái cơ bản của quá trình quang hợp. Tảo phát triển dưới ánh sáng đồng thời trích lấy CO<sub>2</sub> và chất khoáng trong nước để làm nguồn thức ăn cho cơ thể rồi thải oxy vào môi trường.

Quá trình quang hợp được mô tả bởi phương trình sau:

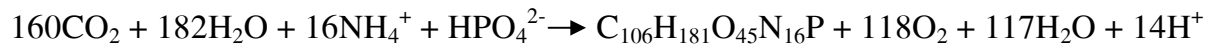


(CH<sub>2</sub>O)<sub>x</sub> được xem là chất hữu cơ của tảo, kết quả phân tích tảo cho ra công thức phức tạp như sau:



Và phương trình được viết lại

Ánh sáng



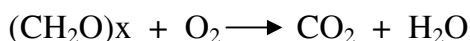
Phương trình này là bằng chứng cho sự có mặt cần thiết của muối dinh dưỡng trong sự sản sinh tảo.

Cần chú trọng đến sự cân bằng vì trong cân bằng này số mol O<sub>2</sub> được giải phóng ra ít hơn số mol CO<sub>2</sub> được tiêu thụ.

Sự tăng pH do CO<sub>2</sub> chuyển dịch cân bằng như sau:



Vào ban đêm, quá trình quang hợp bị ngừng lại và sự hô hấp của tảo góp phần vào việc giảm hàm lượng oxy hòa tan



Tảo cũng có vai trò quan trọng trong các quá trình xử lý sinh học nhưng vấn đề ngăn cản sự phát triển vượt mức của tảo trong các loại nước tiếp nhận (receiving waters) phải được quan tâm đến.

Tảo nếu không được sử dụng hết bởi bọ động vật phù du thường lắng xuống đáy, điều đó cho thấy có một sự ô nhiễm xảy ra nhưng không đáng kể trong nền đáy của các ao xử lý. Nước thải sau khi được xử lý đổ vào môi trường tiếp nhận vì vậy mà có chứa vi tảo ở dạng phù du cho thấy sự ô nhiễm hữu cơ trực tiếp (hàm lượng chất hữu cơ lơ lửng có thể đạt đến  $0.2\text{kg/m}^3$ ). Điều đó cần phải có một quá trình thu hồi và làm tăng giá trị của tảo khi thải ra. Một vài kỹ thuật lắng lọc bằng các phương pháp vật lý (ly tâm, lọc qua màng, làm khô, đông tụ bằng dòng điện, tuyển nổi bằng điện...) quá tốn kém vì vậy hoàn toàn không thể chấp nhận được trong việc xử lý sinh học.

Phương pháp khả thi được thực hiện bằng cách ổn định và kéo dài chuỗi thức ăn ở những ao cuối là những ao nuôi cá sử dụng tảo làm nguồn thức ăn. Trong tất cả các trường hợp, nếu có sự quản lý chính xác (sục khí nhân tạo trong các ao, thu hoạch cá thường xuyên...) người ta cho rằng lúc đó có một sự kìm hãm đáng kể lượng tảo được thải ra môi trường tiếp nhận. Mặt khác, sự hiện diện của các sinh vật sống (cá, tôm, động vật phù du...) ở các ao cuối là vật chỉ thị sinh học có giá trị cho biết chất lượng nước đã được xử lý

Ngày nay, do phải tập trung vào việc đào thải chất dinh dưỡng trong các quá trình xử lý. Một vài nhà khoa học biện hộ sự loại bỏ nitrogen từ các chất thải, những người khác thì đề nghị sự loại bỏ phosphorus và một số khác lại khuyên loại bỏ cả hai. Sự lựa chọn khách quan cho việc xử lý tác động đến kiểu của quá trình xử lý được lựa chọn.

## Chương 5

# XỬ LÝ NƯỚC THẢI BẰNG VI SINH VẬT



## 5.1. Xử lý nước thải bằng vi sinh dính bám trong môi trường hiếu khí (attached growth treatment process)

### 5.1.1. Cơ sở lý thuyết của phương pháp

#### 5.1.1.1. Mô tả quá trình hình thành sinh vật dính bám trên vật liệu

Phần lớn vi khuẩn có khả năng sinh trưởng và phát triển trên bề mặt vật rắn, khi có đủ độ ẩm và thức ăn là các hợp chất hữu cơ, muối khoáng và oxy. Vi khuẩn dính bám vào bề mặt vật rắn bằng chất gelatin do chúng tiết ra và chúng có thể dễ dàng di chuyển trong lớp gelatin dính bám này. Đầu tiên vi khuẩn cư trú tập trung ở một khu vực, sau đó màng vi sinh (biofilm) không ngừng phát triển, phủ kín toàn bộ vật rắn bằng một lớp đơn bào. Chất dinh dưỡng (hợp chất hữu cơ, muối khoáng) và oxy có trong nước thải cần xử lý tạo điều kiện cho lớp vi khuẩn này phát triển.

Sau một thời gian, sự phân lớp hình thành: lớp ngoài cùng là lớp hiếu khí, được oxy khuếch tán thâm nhập, lớp trong là lớp yếm khí không có oxy. Bề dày của hai lớp này phụ thuộc vào loại vật liệu nâng đỡ (vật liệu lọc), cường độ gió và nước qua lớp lọc. Bề dày lớp hoạt tính hiếu khí thường khoảng 300-400 $\mu$ m.

#### 5.1.1.2. Hiệu quả và phân loại.

Vi khuẩn trong màng vi sinh dính bám hoạt động có hiệu quả cao hơn vi khuẩn trong môi trường hạt cặn lơ lửng.

Quá trình xử lý bằng vi sinh dính bám hiếu khí trong các bể lọc sinh học đang được dùng hiện nay có thể phân làm hai loại:

- Loại có vật liệu tiếp xúc không ngập nước
- Loại có vật liệu tiếp xúc ngập trong nước.



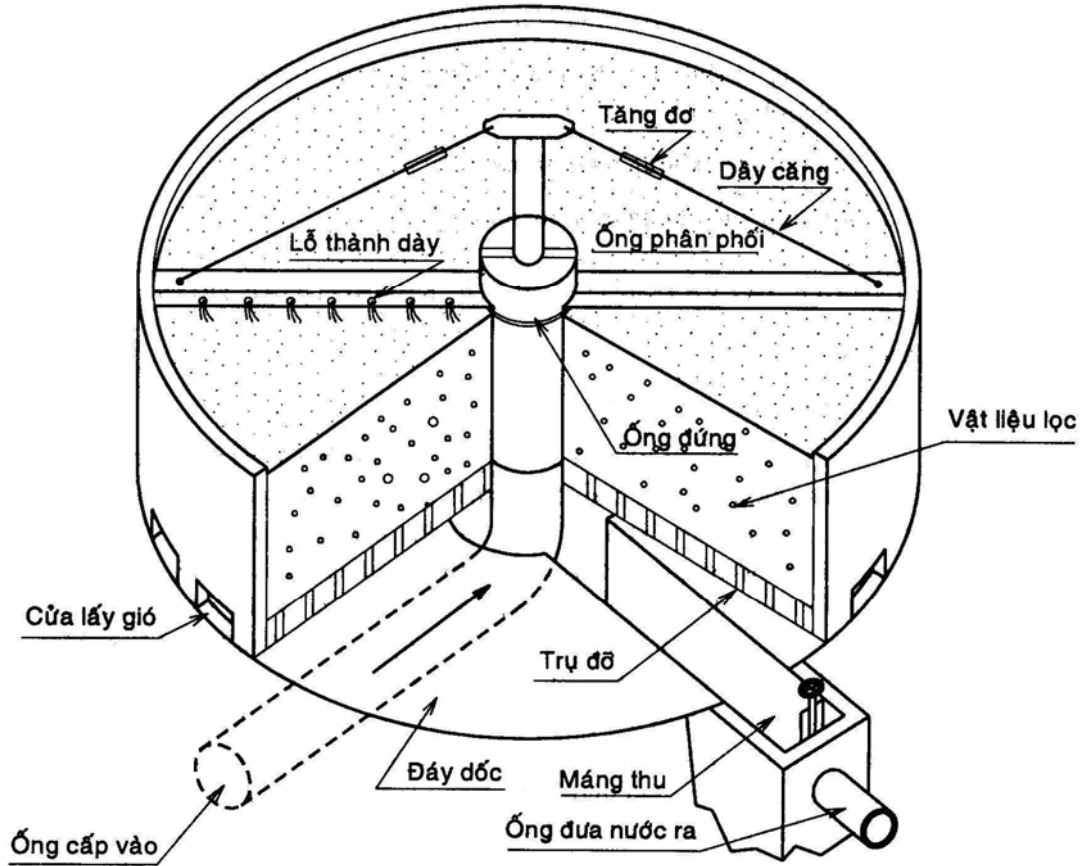
## **5.1.2. Bể lọc sinh học có vật liệu tiếp xúc không ngập nước.**

### **5.1.2.1. Cấu tạo**

#### ***Bể lọc sinh học nhỏ giọt***

Trong bể lọc, các lớp vật liệu có độ rỗng và diện tích mặt tiếp xúc trong một đơn vị thể tích lớn nhất trong điều kiện có thể. Nước thải được hệ thống phân phối phun thành giọt đều khắp trên bề mặt của lớp vật liệu. Nước sau khi chạm lớp vật liệu chia thành các hạt nhỏ chảy thành màng mỏng qua khe vật liệu đi xuống dưới. Trong thời gian chảy như vậy nước thải tiếp xúc với màng nhầy gelatin bám quanh vật liệu lọc. Sau một thời gian lớp này dày lên ngăn cản oxy của không khí thấm vào trong lớp màng nhầy. Do không có oxy, tại lớp trong của lớp màng nhầy sát với bề mặt cứng của vật liệu lọc, vi khuẩn yếm khí phát triển tạo ra sản phẩm phân hủy yếm khí cuối cùng là khí methan và CO<sub>2</sub> làm tróc lớp màng ra khỏi vật cứng rồi bị nước cuốn xuống phía dưới. Mặt khác khi chất nền không còn khuếch tán tới lớp bên trong nữa, các vi sinh vật có trong lớp ưa hiếu khí sẽ chết và tự tiêu đi. Do vậy xuất hiện những khoảng trống tế bào cho các vi sinh hiếu khí và kỵ khí khác. Khi chất nền thật sự cạn kiệt, việc tiêu hủy các tế bào còn lại làm cho màng sinh học bị tách rời từng vùng ra khỏi bề mặt. Trên mặt vật liệu lọc hình thành lớp mang mới. Sự tách màng sinh học được tạo ra và thúc đẩy bởi dòng nước chảy qua bề mặt. Hiện tượng này được lặp đi lặp lại tuần hoàn và nước thải được làm sạch BOD và các chất dinh dưỡng. Để tránh hiện tượng tắc nghẽn trong hệ thống phun, trong khe rỗng lớp vật liệu, trước bể sinh học nhỏ giọt, phải thiết kế song chắn, lưới chắn, bể lắng đợt 1. Nước sau bể lọc sinh học có nhiều bùn lơ lửng do các màng sinh học tróc ra nên phải được xử lý tiếp bằng bể lắng đợt 2.

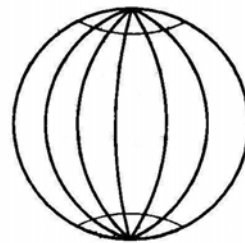
*Cấu tạo bể lọc sinh học nhỏ giọt* (xem hình 5.1)



Hình 5.1. Bể lọc sinh học nhỏ giọt



a) Tấm nhựa gấp nếp

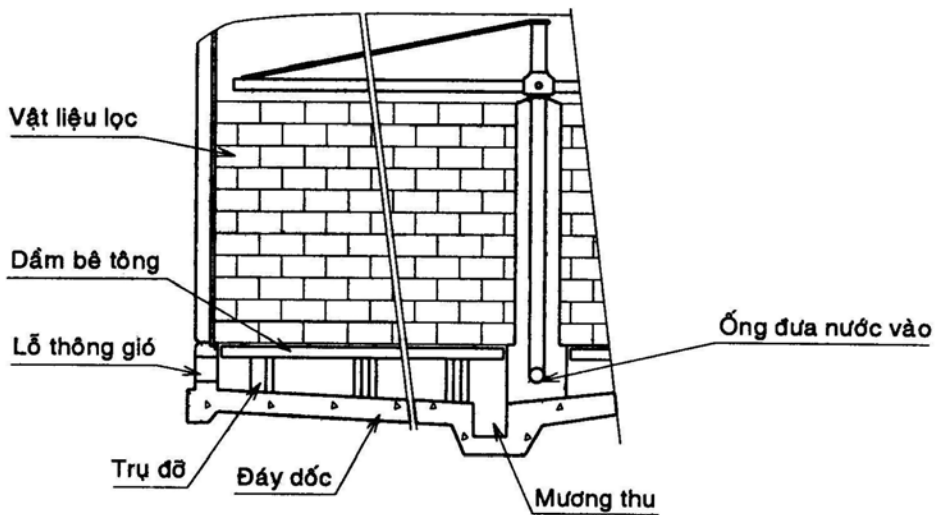


b) Quả cầu có khe rỗng

a. *Vật liệu lọc.*

Vật liệu lọc tốt nhất là vật liệu có diện tích bề mặt tiếp xúc trong một đơn vị thể tích lớn, độ bền cao theo thời gian, không bị tắc nghẽn và giá rẻ. Tùy thuộc vào điều kiện ứng dụng có thể chọn : than đá, đá cục, cuội sỏi lớn, đá ong có kích thước trung bình 60-100mm, nếu kích thước vật liệu nhỏ hơn sẽ làm giảm độ rỗng, gây tắc nghẽn cục bộ. Nếu kích thước lớn hơn thì diện tích mặt tiếp xúc bị giảm nhiều, làm giảm hiệu quả xử lý. Chiều cao lớp vật liệu từ 1.2-2.5m.

Những thập niên gần đây, do kỹ thuật sản xuất nhựa PVC phát triển, những tấm nhựa đục lượn sóng, gấp nếp và các dạng khác nhau của quả cầu nhựa đã được dùng làm lớp vật liệu lọc (xem hình 5.1). Do vật liệu lọc nhẹ, dễ lắp đặt và tháo dỡ nên chiều cao bể lọc sinh học đã được tăng lên từ 6-9m gọi là tháp lọc sinh học (xem hình 5.2) tăng chiều cao làm giảm diện tích mặt bằng của bể lọc sinh học.



Hình 5.2. Tháp lọc sinh học

b. *Hệ thống phân phối nước.*

Hệ thống phân phối nước làm bằng dàn ống nhựa tự quay đã được đưa vào tiêu chuẩn thiết kế bể lọc sinh học vì có cấu tạo đơn giản, làm việc ổn định, dễ quản lý. Hệ thống gồm ống đứng dẫn nước vào được đặt ở tâm bể, đỉnh ống lắp khớp quay hình cầu đưa nước ra 2 hoặc 3 ống nhánh đặt nằm ngang song song với bán kính bể (xem hình 5-1) trên ống nhánh lắp vòi phun hoặc lỗ phun nước xuống bề mặt bể lọc. Các tia nước phun ra cùng trên một phía, vuông góc và ngược với chiều quay của ống nhánh. Động lượng của các tia nước biến thành lực làm cho dàn ống nhánh quay quanh trục. Tốc độ quay thay đổi theo lưu lượng nước, thường tốc độ quay khoảng 1 vòng trong 10 phút (tùy theo điều kiện thời tiết và mục đích xử

lý mà lượng nước đưa vào khác nhau nên tốc độ quay sẽ khác nhau). Khi giàn phun cố định phải bố trí đều lỗ phun nước trên toàn diện tích bể, phải có thùng chứa lắp xiphông hoạt động tự động để cấp nước cho dàn phun theo từng mẻ liên tiếp.

Khoảng cách từ bề mặt của lớp vật liệu đến vòi phun từ 0.2-0.3m để lấy không khí và để cho các tia nước phun ra võ đều thành giọt nhỏ trên toàn diện tích bể.

*c. Sàn đỡ và thu nước.*

Sàn đỡ và thu nước trong bể lọc sinh học làm hai nhiệm vụ:

- (1) Thu đều nước có các mảnh vỡ của màng sinh học bị tróc ra chảy từ trên xuống để dẫn sang bể lắng đợt 2.
- (2) Phân phối đều gió vào bể lọc để duy trì môi trường hiếu khí trong các khe rỗng.

Sàn đỡ làm bằng tấm bê tông, sành nung hay tấm nhựa tăng cường bằng sợi thủy tinh có khoan lỗ hoặc khe cho nước và khí đi qua, đồng thời đỡ được lớp vật liệu lọc. Khoảng cách từ sàn phân phối đến đáy bể thường 0.6-0.8m. Đáy bể có độ dốc 1-2% về máng trung tâm.

Xung quanh tường và độ cao giữa đáy và sàn phân phối đặt các cửa thông gió, tổng diện tích các cửa sổ thông gió bằng 20% diện tích sàn phân phối.

Gió đi vào bể lọc theo dòng đối lưu của không khí được tạo ra do chênh lệch nhiệt độ giữa nước thải và không khí quanh bể.

Nếu nhiệt độ nước thấp hơn nhiệt độ không khí, thì không khí trong các khe rỗng của lớp lọc lạnh hơn không khí bên ngoài, gió sẽ đi từ trên mặt bể lọc xuống đáy bể rồi thoát ra qua các cửa thông gió. Ngược lại, nếu nhiệt độ nước cao hơn nhiệt độ không khí, gió sẽ đi từ dưới lên. Khi nhiệt độ nước và không khí bằng nhau, không có gió đi vào bể lọc, vì vậy ở những bể diện tích và chiều cao lớn nên bố trí các quạt thông gió.

*5.1.2.2. Phân loại bể lọc sinh học nhỏ giọt.*

Bể lọc sinh học nhỏ giọt được phân loại theo tải trọng thủy lực hoặc tải trọng các chất hữu cơ, bể có tải trọng thấp, bể có tải trọng cao. Theo bảng 5.1.

**Bảng 5.1.** Phân biệt tải trọng các bể lọc sinh học nhỏ giọt. (các chỉ tiêu thiết kế)

Thông số	Đơn vị đo	Tải trọng thấp	Tải trọng cao
Chiều cao lớp vật liệu	m	1-3	0.9-2.4 (đá) 6-8 (nhựa tấm)
Loại vật liệu		Đá cục, than cục, đá ong, cuội lớn	Đá cục, tan cục, sỏi lớn, tấm nhựa đục, cầu nhựa.
Tải trọng BOD	kg BOD <sub>5</sub> /m <sup>3</sup> .ngày	0.08-0.4	0.4-1.6
Tốc độ tải thủy	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> .ngày	1-4.1	4.1-40.7
Hệ số tuần hoàn	R=Q <sub>2</sub> /Q	Tùy chọn 0-1	0.5-2
Tốc độ tải thủy trên bề mặt của bể lắng đợt 2	m <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> .ngày	25	16
Hiệu quả khử BOD sau bể lọc và bể lắng đợt 2	%	80-90	65-85

Ghi chú: Tốc độ tải thủy nêu trong bảng là tỷ số của lưu lượng nước xử lý Q (m<sup>3</sup>/ngày) cộng với lưu lượng tuần hoàn Q<sub>c</sub> (m<sup>3</sup>/ngày) (nếu có) chia cho diện tích bề mặt của bể lọc.

Bể lọc sinh học nhỏ giọt tải trọng thấp quản lý đơn giản, hiệu quả xử lý ổn định ngay cả khi nguồn nước có chất lượng dao động lớn, hiệu quả xử lý của bể lọc phụ thuộc vào chế độ tưới nước tức là phụ thuộc vào vòng quay của thiết bị tưới, hay thể tích thùng đo và tích nước rồi lấy đi bằng xi phông, thời gian gián đoạn khoảng ≤5 phút.

#### 5.1.2.3. Tuần hoàn nước.

Đối với bể lọc cao tải muốn tăng hiệu quả xử lý phải tuần hoàn nước lại để tăng thời gian tiếp xúc của nước thải với vi sinh dính bám và giảm tải trọng hữu cơ. Khi tuần hoàn lại nước, tải trọng thủy lực tăng lên, đẩy mạnh quá trình tách màng vi sinh vật cũ và hình thành màng mới trên bề mặt vật liệu, làm giảm hiện tượng tắc nghẽn trong các lỗ rỗng của lớp vật liệu, tăng lưu lượng trong hệ phân phối để đảm bảo tốc độ quay của dàn ống.

Nói chung, lớp lọc có lượng nước vào lớn, cần có sự tuần hoàn. Trong trường hợp này lượng nước cấp cần bảo đảm sao cho có sự đồng hóa các vi khuẩn ở nhiều mức độ khác nhau. Sự tự vét của vật liệu lớp lọc mà trên những vật liệu này chỉ tồn tại một lớp màng hoạt tính mỏng sẽ tạo ra sự trao đổi nhanh chóng và thúc đẩy mạnh mẽ ngay tại lớp lọc sự phân hủy các chất tế bào đã được tạo nên. Việc khoáng hóa (ổn định) được đảm nhận bởi các thiết bị khác trong hệ thống như các bể lắng sơ cấp và thứ cấp.

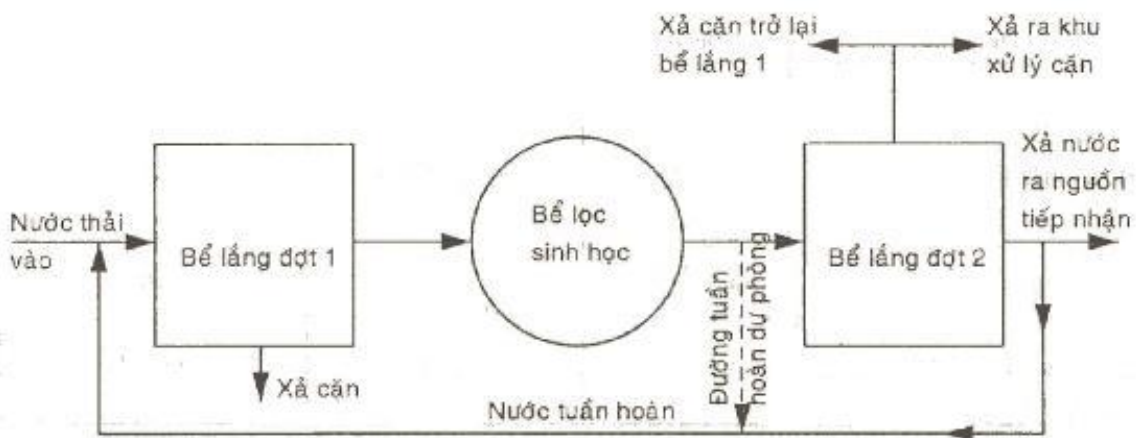
Có thể áp dụng một trong 3 sơ đồ sau: (hình 5.3)

- Sơ đồ a: bể lọc sinh học cao tải, chiều cao lớp lọc từ 0.9-2m. Tuần hoàn nước liên tục, nước tuần hoàn lấy từ sau bể lắng đợt 2 hoặc có thể sau bể lọc, đưa về trước bể lắng đợt 1. Bùn lắng ở bể lắng đợt 2 cũng đưa về bể lắng đợt 1 để tăng cường quá trình keo tụ trong bể lắng đợt 1. Bùn xả ra từ đáy bể lắng đợt 1 đưa đi xử lý tiếp.

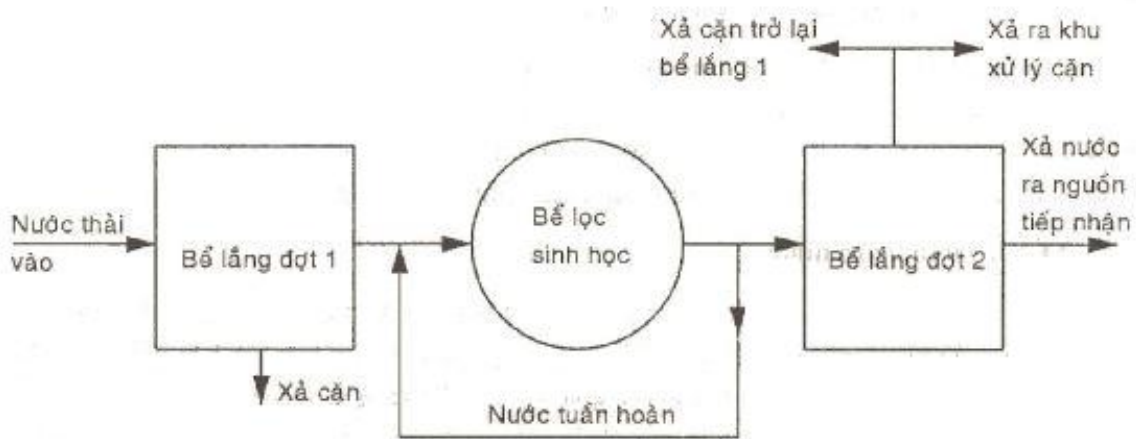
- *Sơ đồ b*: nước tuần hoàn lấy từ sau bể lọc đưa về trước bể lọc, sơ đồ này có thể áp dụng cho cả bể lọc tải trọng thấp và bể lọc tải trọng cao. Khi cần nitrate hóa (chuyển  $\text{NH}_4^+$  thành  $\text{NO}_3^-$ ) triệt để nên dùng sơ đồ này cho bể tải trọng thấp.

- *Sơ đồ c*: được sử dụng khi thiết kế dàn phân phối là dàn phun mưa liên tục đặt cao hơn lớp lọc 0.5-0.6m, các giọt mưa nhỏ trải đều khắp diện tích lọc.

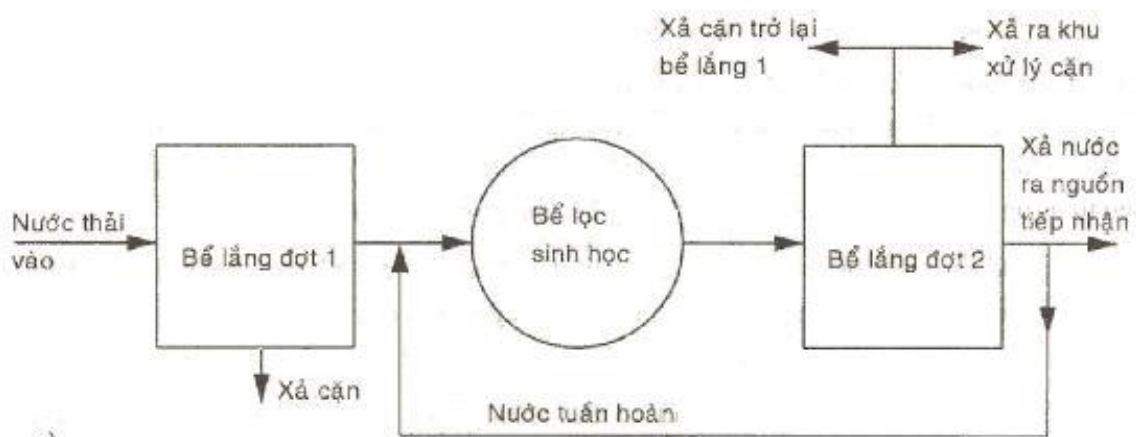
Khi áp dụng bể lọc sinh học để xử lý nước thải cần quan tâm đến môi trường để loại trừ khả năng sinh sản của ruồi, muỗi, giun sán, ốc, rêu...



a)



b)



c)

**Hình 5.3.** Các sơ đồ tuần hoàn nước ở bể lọc sinh học

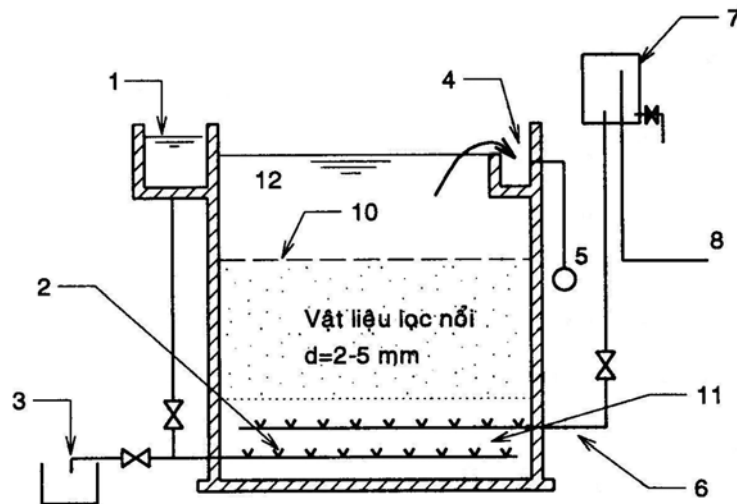
#### 5.1.2.4. Bể lắng đợt 2.

Bể lắng đợt 2 đặt sau bể lọc sinh học làm nhiệm vụ lắng gạn ra khỏi nước những bông cặn do các vảy màng sinh học tróc ra. Khác với bể lắng đợt 2 đặt sau bể aerotank, bể lắng đợt 2 đặt sau bể lọc sinh học chỉ có tuần hoàn nước mà không cần hoàn bùn trực tiếp vào bể lọc sinh học, nếu tuần hoàn bùn phải đưa vào đầu bể lắng đợt 1, cho nên nồng độ bùn trong nước đi vào bể lắng thường nhỏ hơn 500mg/l không xảy ra hiện tượng lắng hạn chế. Tính toán bể lắng đợt 2 này giống như tính toán bể lắng đợt 1, chỉ khác là trọng tải bề mặt bể lắng tính với lưu lượng nước xử lý cộng thêm lưu lượng tuần hoàn. Tải trọng bề mặt thường lấy từ 16-25m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.ngày.

#### 5.1.3. Bể lọc sinh học có lớp vật liệu ngập trong nước

Từ đầu những năm 1990 đến nay, các nhà khoa học trong lĩnh vực xử lý nước thải đã nghiên cứu và áp dụng thành công vào sản xuất công nghệ lọc sinh học có lớp vật liệu lọc ngập trong nước. Ở Mỹ, Pháp, Úc công nghệ này đã áp dụng để xử lý nước thải sinh hoạt và công nghiệp thực phẩm công suất 40.000m<sup>3</sup>/ngày, đưa vào vận hành từ 1994. Ở Việt Nam cũng đã áp dụng thành công công nghệ này từ năm 1995 để xử lý nước thải Bệnh viện Đa khoa Khánh Hòa, Ninh Thuận, Long Xuyên.

##### 5.1.3.1. Cấu tạo (xem hình 5.4)



Hình 5.4. Sơ đồ bể lọc sinh học vật liệu nổi

1. Máng phân phối nước thải sau khi qua bể lắng 1 vào các bể.
2. Dàn ống có khoan lỗ phân phối nước vào và thu nước xả rửa.
3. Ống xả nước rửa lọc.
4. Máng thu nước lọc
5. Ống dẫn nước đã lọc sang bể lọc đợt 2 hoặc vào bể tiếp xúc khử trùng nước.



6. Ống dẫn và dàn ống phân phối khí
7. Hộp ngăn nước trở lại máy gió.
8. Ống dẫn gió từ máy nén tới
9. Hạt vật liệu lọc nổi polystyrene đường kính 2-5mm. Diện tích bề mặt 700-800m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> vật liệu.
10. Lưới chắn Inox có mắt lưới 1.5x1.5mm có thể thay bằng sàn gắn chụp lọc, có khe hở 1.5mm đặt ngược.
11. Khoảng trống để lớp vật liệu lọc giảm nở khi rửa = ½ chiều dày lớp lọc.
12. Chiều cao lớp nước để rửa lọc thường từ 1.2-1.4m.

#### 5.1.3.2. Quy trình vận hành.

Nước thải đã qua bể lắng đợt 1 được bơm lên máng phân phối 1, theo dàn ống 2 phân phối đều trên diện tích đáy bể, nước được trộn đều với không khí cấp từ ngoài vào qua dàn ống phân phối 6. Hỗn hợp khí nước đi cùng chiều từ dưới lên qua lớp vật liệu lọc. Trong lớp vật liệu lọc xảy ra quá trình khử BOD và chuyển hóa NH<sub>4</sub><sup>+</sup> thành NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, lớp vật liệu lọc có khả năng giữ lại cặn lơ lửng. Nước trong được thu vào máng 4 theo ống 5 đi ra ngoài. Nếu muốn khử BOD, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> và P, nên lọc từ hai bậc trở lên, ở bậc lọc cuối, dàn phân phối khí đặt vào giữa lớp vật liệu lọc ở cao độ sao cho lớp vật liệu lọc nằm dưới dàn phân phối khí có đủ thể tích là vùng thiếu khí để khử NO<sub>3</sub><sup>-</sup> và P. độ chênh lệch mực nước giữa các bể lọc làm việc nối tiếp ΔH=0.5m.

Bể lọc sinh học dùng vật liệu nổi có khả năng giữ được trong khe rỗng các vảy tróc ra của màng sinh học bám quanh hạt, nên mặc dù cường độ gió lớn, nhưng hàm lượng cặn lơ lửng trong nước ra khỏi bể lọc đều ≤20mg/l. Do đó không cần thiết kể bể lắng đợt 2.

Tóm lại việc xử lý nước thải bằng vi sinh dính bám có hiệu quả cao, trong nhiều trường hợp có thể đạt đến 95% việc loại bỏ BOD ra khỏi nước thải, đặc biệt là hệ thống lọc cao áp có công suất làm việc rất lớn, nhưng diện tích mặt bằng chiếm ít cho nên nó rất thuận tiện trong công việc lắp đặt thiết kế hệ thống cũng như dễ dàng vận hành và kiểm soát thường xuyên.

## 5.2. Xử lý nước thải bằng vi sinh yếm khí trong môi trường cặn lơ lửng và môi trường vi sinh dính bám.

### 5.2.1. Các quá trình sinh học và phân loại công trình.

#### 5.2.1.1. Các quá trình sinh học.

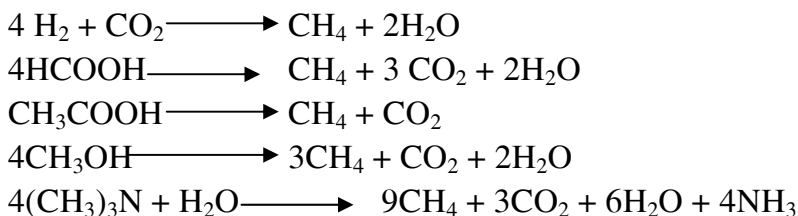
Xử lý sinh học vi sinh yếm khí là quá trình phân hủy các chất hữu cơ, vô cơ có trong nước thải khi không có oxy. Quy trình này được áp dụng từ trước đến nay để xử lý ổn định cặn và xử lý nước thải công nghiệp có nồng độ BOD, COD cao. Mười năm trở lại đây do

công nghệ sinh học phát triển, quy trình xử lý bằng vi sinh yếm khí được áp dụng để xử lý nước thải sinh hoạt và nước thải công nghiệp có nồng độ BOD tương tự. Khi nồng độ BOD trong nước thải lớn hơn 500mg/l áp dụng quy trình xử lý 2 bậc. Bậc 1 xử lý yếm khí, bậc 2 xử lý hiếu khí.

Quá trình chuyển hóa các hợp chất hữu cơ trong nước thải bằng vi sinh yếm khí xảy ra theo 3 bước:

- (1) Một nhóm vi sinh tự nhiên có trong nước thải thủy phân các hợp chất hữu cơ phức tạp và lipid thành các chất hữu cơ đơn giản có trọng lượng nhẹ như monosaccharide, amino acid để tạo ra nguồn thức ăn và năng lượng cho vi sinh hoạt động.
- (2) Nhóm vi khuẩn tạo ra men acid biến đổi các hợp chất hữu cơ đơn giản thành các acid hữu cơ thường là acid acetic. Nhóm vi khuẩn này thường được gọi là nhóm “acidogen” hay “acid former”. Trong số các vi khuẩn được phân lập từ bể kỵ khí bao gồm *Clostridium spp.*, *Peptococcus anaerobus*, *Bifidobacterium spp.*, *Staphylococcus* và *Escherichia coli*.
- (3) Nhóm vi khuẩn tạo methane chuyển hóa hydro và acid acetic thành khí methane và carbonic. Nhóm vi khuẩn này được gọi là vi khuẩn sinh methane hay “methanogen” hay “methane former”. Bọn vi khuẩn này thường được tìm thấy trong dạ dày của động vật và trong chất nền hữu cơ lấy từ sông và hồ. Các chi vi khuẩn chủ yếu được xác định bao gồm nhóm vi khuẩn hình que (*Methanobacterium*, *Methanobacillus*) và nhóm vi khuẩn hình cầu (*Methanococcus*, *Methanosarcina*). Vai trò quan trọng của chúng là tiêu thụ hydro và acid acetic, chúng tăng trưởng rất chậm và quá trình xử lý yếm khí chất thải được thực hiện khi khí methane và carbonic thoát ra khỏi hỗn hợp.

Điều quan trọng cần nhớ là vi khuẩn sinh methane có thể sử dụng một số giới hạn các chất nền để tạo thành khí methane. Ngày nay, người ta biết rằng vi khuẩn sinh methane có thể sử dụng các chất nền sau:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ , formate, acetate, methanol, methylamin và CO. Phản ứng chuyển hóa sinh năng lượng điển hình liên quan đến các phức hợp sau:



Để duy trì sự ổn định của các quá trình xử lý yếm khí, phải duy trì được tình trạng cân bằng động của quá trình theo 3 bước đã nêu trên. Muốn vậy phải :

- Không có oxy
- Không có hàm lượng quá mức của kim loại nặng
- Giá trị pH của hỗn hợp từ 6.6 đến 7.6.

- Phải duy trì độ kiềm đủ khoảng 1000-1500mg/l làm dung dịch đệm để ngăn cản pH giảm xuống dưới 6.2
- Nhiệt độ của hỗn hợp (nước thải) từ 27-38<sup>0</sup>c.
- Phải có đủ chất dinh dưỡng theo tỷ lệ cod:n:p = 350:5:1 và nồng độ thấp của các kim loại sắt, nikel, đồng ....

#### 5.2.1.2. Phân loại quá trình.

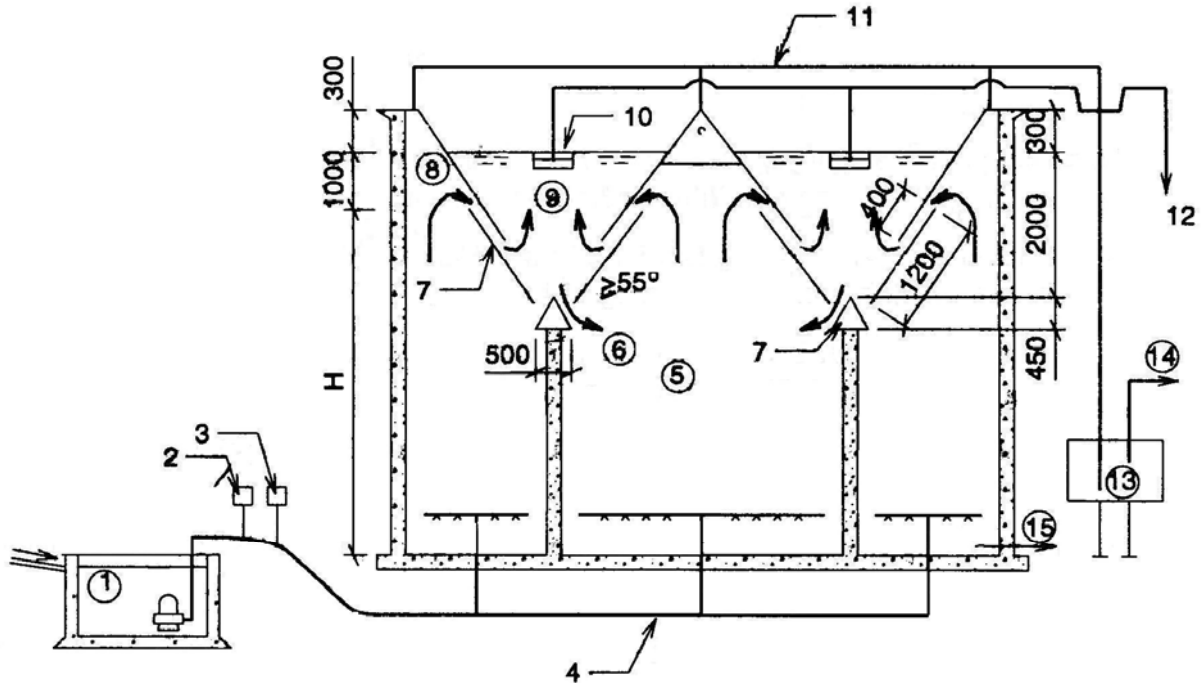
Theo nguyên tắc hoạt động và cấu tạo công trình các bể phản ứng xử lý bùn và xử lý nước thải trên thực tế và trong các tài liệu xử lý nước thải quá trình xử lý được phân ra như sau:

- Bể phản ứng yếm khí tiếp xúc: nước thải chưa xử lý được trộn đều và liên tục với bùn yếm khí tuần hoàn lại trong bể kín.
- Bể phản ứng vi sinh yếm khí dính bám có trên các tấm phẳng đặt trong bể, có dòng nước từ dưới lên, hoặc từ trên xuống.
- Bể phản ứng vi sinh yếm khí dính bám trên các hạt cát lơ lửng trong nước do vận tốc nước đi từ dưới lên làm gián nở lớp cát.
- Bể phản ứng có dòng nước xử lý đi từ dưới lên qua lớp cặn lơ lửng (UASB-Upflow Anaerobic Sludge Blanket)
- Bể phản ứng có dòng nước đi qua lớp cặn lơ lửng và lọc tiếp qua lớp vật liệu lọc cố định (upflow sludge blanket/fixed bed).
- Hồ xử lý yếm khí.

Trong phần này chỉ giới thiệu bể UASB và bể lọc yếm khí là hai loại công trình đã được xây dựng và vận hành có hiệu quả ở nước ta.

## 5.2.2. Bể xử lý yếm khí có lớp cặn lơ lửng (UASB).

### 5.2.2.1. Cấu tạo (Xem hình 5.5)



Sơ đồ cấu tạo và nguyên tắc hoạt động  
của bể phản ứng yếm khí UASB

**Hình 5.5.** Sơ đồ cấu tạo và nguyên tắc hoạt động của bể phản ứng yếm khí UASB

1. Bể điều hòa lưu lượng và trạm bơm nước thải.
2. Bộ phận đo và điều chỉnh pH.
3. Định lượng chất dinh dưỡng N, P nếu cần.
4. Ống dẫn và dàn ống phân phối đều nước thải trong bể.
5. Thể tích vùng phản ứng yếm khí.
6. Cửa tuần hoàn lại cặn lắng.
7. Tấm chắn khí.
8. Cửa dẫn hỗn hợp bùn nước sau khi đã tách khí vào ngăn lắng.
9. Thể tích vùng bùn lắng.
10. Máng thu nước.
11. Ống dẫn hỗn hợp khí methane.
12. Ống dẫn nước sang bể xử lý hiếu khí (đợt 2).
13. Thùng chứa khí.
14. Ống dẫn khí đốt.
15. Ống xả bùn dư thừa.

#### 5.2.2.2. Quy trình hoạt động.

Nước thải sau khi điều chỉnh pH theo ống dẫn vào hệ thống phân phối đảm bảo phân phối đều nước trên diện tích đáy bể. Nước thải đi từ dưới lên với vận tốc  $V=0.6-0.9\text{m/h}$ . Hỗn hợp bùn yếm khí trong bể hấp phụ chất hữu cơ hòa tan trong nước thải, phân hủy và chuyển hóa chúng thành khí (khoảng 70-80% là methane, 20-30% là carbonic). Bọt khí sinh ra bám vào hạt bùn cặn nổi lên trên làm xáo trộn và gây ra dòng tuần hoàn cục bộ trong lớp cặn lơ lửng, khi hạt cặn nổi lên trên va phải tấm chắn (7) vỡ ra, khí thoát lên trên, cặn rơi xuống dưới. Hỗn hợp bùn nước đã tách hết khí ra cửa (8) vào ngăn lắng. Nước thải trong ngăn lắng tách bùn lắng xuống đáy qua cửa (6) tuần hoàn lại vùng phản ứng yếm khí. Nước trong dâng lên trên được thu vào máng (10) theo ống (12) dẫn sang bể làm sạch hiếu khí (làm sạch đợt 2). Khí biogas được giàn ống (11) thu về bình chứa (13) rồi theo ống dẫn khí đốt (14) đi ra ngoài.

#### 5.2.2.3. Phân bố bùn trong bể.

Bùn trong bể là sinh khối đóng vai trò quyết định trong việc phân hủy và chuyển hóa chất hữu cơ, bùn được chia thành 2 vùng rõ rệt trong bể phản ứng. Ở chiều cao khoảng  $\frac{1}{4}$  bể tính từ đáy lên, lớp bùn hình thành do các hạt cặn keo tụ nồng độ từ 5-7%, trên lớp này là lớp bùn lơ lửng nồng độ từ 1000-3000mg/l gồm các bông cặn chuyển động giữa lớp bùn đáy và bùn tuần hoàn từ ngăn lắng rơi xuống. Trên mặt tiếp giáp với pha khí, nồng độ bùn trong nước bé nhất. Nồng độ cao của bùn hoạt tính trong bể làm việc với tải lượng chất hữu cơ cao. Để hình thành khối bùn hoạt tính đủ nồng độ, làm việc có hiệu quả đòi hỏi thời gian vận hành khởi động từ 3-4 tháng. Nếu cấy vi khuẩn tạo acid và vi khuẩn tạo men methane trước với nồng độ thích hợp và vận hành với chế độ thủy lực  $\leq \frac{1}{2}$  công suất thiết kế, thời gian khởi động có thể rút xuống từ 2-3 tuần.

Cặn dư thừa định kỳ xả ra ngoài. Lượng cặn dư thừa chỉ bằng 0.15-0.2 hàm lượng COD, tức bằng  $\frac{1}{2}$  cặn sinh ra so với khi xử lý hiếu khí. Cặn xả ra ổn định có thể đưa trực tiếp đến thiết bị làm khô.

#### 5.2.2.4. Quá trình lắng

Hỗn hợp vi sinh yếm khí phân hủy chất hữu cơ trong bể ở tình trạng trộn lẫn giữa 3 pha: khí, nước, bùn. Để đưa nước ra khỏi bể, trước hết phải tách khí ra khỏi hỗn hợp bằng các tấm tách khí đặt nghiêng so với phương ngang  $\geq 55^\circ$  (kích thước và cách bố trí xem hình 4-1). Sau khi tách khí, hỗn hợp bùn nước chảy theo cửa (8) với vận tốc 9-10m/h vào ngăn lắng (9). Thể tích ngăn lắng tính theo thời gian lưu nước  $\geq 1$  giờ. Cặn rơi xuống đáy hình nón của ngăn lắng chảy qua khe (6) trở lại ngăn phân hủy yếm khí (5). Tổng chiều cao ngăn lắng 2m, chiều cao phần lắng  $\geq 1$  m.

#### 5.2.2.5. Chỉ tiêu thiết kế.

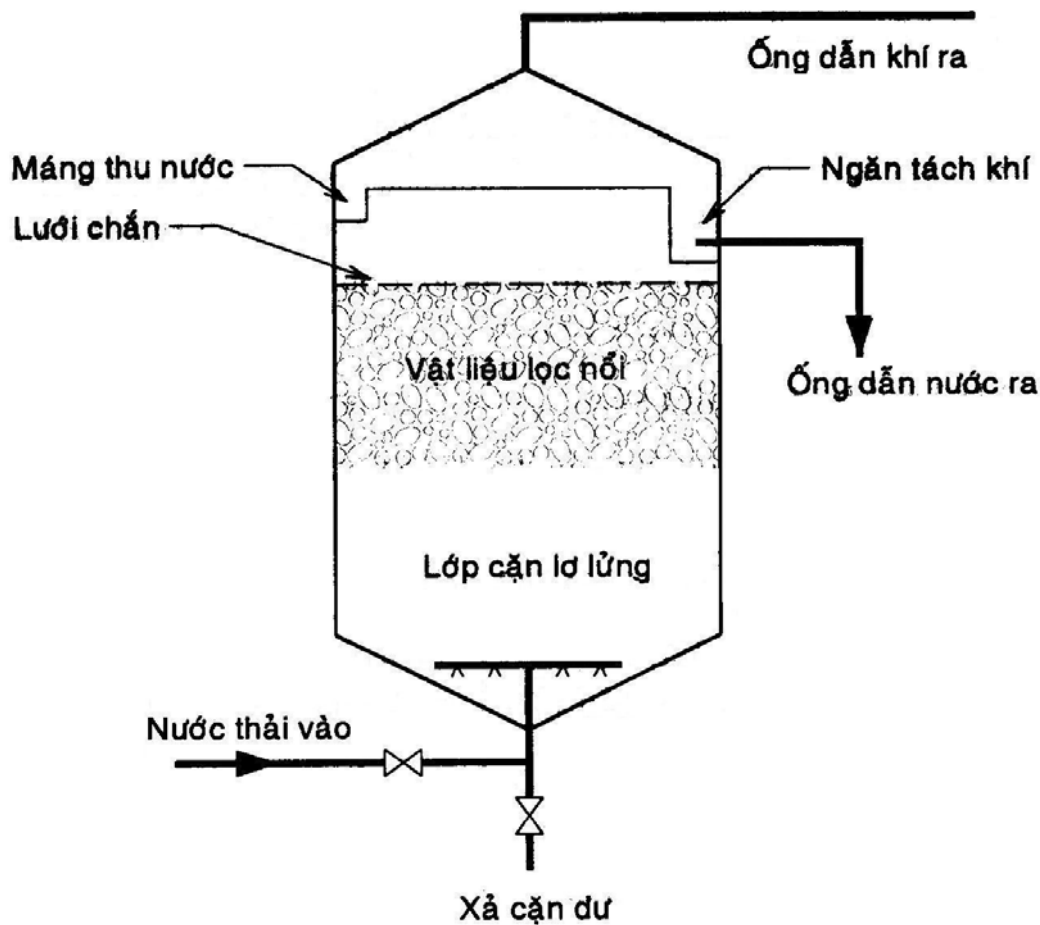
Khi thiết kế bể phản ứng yếm khí UASB và bể lọc yếm khí có thể tham khảo số liệu cho trong bảng 5.1, để chọn thông số thiết kế thích hợp.

**Bảng 5.2.** Số liệu kỹ thuật từ kết quả vận hành bể UASB và bể lọc yếm khí

Nguồn nước thải	Hàm lượng COD đầu vào (mg/l)	Thời gian lưu nước trong bể	Tải lượng COD (kgCOD/m <sup>3</sup> .ngày)	Hiệu quả khử COD (%)
Nước thải sinh hoạt	500-800	4-10	4-10	70-25
Nhà máy rượu, men rượu	20.000	5-10	14-15	60
Chế biến bột khoai tây	4.500-7.000	5-10	8-9	75-80
Chế biến sữa	3.000-3.400	5-10	12	80
Nhà máy hóa chất hữu cơ tổng hợp	18.000	5-10	7-9	90
Chế biến rau và hoa quả	8.300	5-10	18	55
Giấy các loại	7.700	5-10	12	80
Chế biến hải sản	2.300-3.000	5-10	8-10	75-80

#### 5.2.3. Bể lọc yếm khí.

Bể lọc yếm khí là cột lọc dùng vật liệu lọc nổi thường là polystyrene, có đường kính hạt từ 3-5 mm, chiều dày 2m. Cấu tạo bể lọc (xem hình 5.6).



Hình 5.6. Sơ đồ cấu tạo bể lọc yếm khí

Nước thải đi vào bể được phân phối đều theo diện tích đáy bể. Dòng nước đi từ dưới lên tiếp xúc với khối bùn lơ lửng ở lớp lọc rồi tiếp xúc với khối hạt lọc có vi khuẩn yếm khí dính bám. Chất hữu cơ hòa tan trong nước thải được hấp thụ và phân hủy, bùn cặn được giữ lại trong khe rỗng của lớp lọc, sau thời gian 2-3 tháng xả bùn dư một lần.

Nước đi qua lớp lọc được tách khí rồi chảy vào máng thu theo ống dẫn đưa sang xử lý hiếu khí.

#### 5.2.4. Đánh giá quá trình.

Có nhiều điểm thuận lợi và không thuận lợi trong việc xử lý kỵ khí các hợp chất hữu cơ so với các quá trình xử lý hiếu khí, vấn đề chính là tốc độ phát triển của các vi khuẩn sinh methane quá thấp. Tốc độ phát triển thấp đòi hỏi phải có thời gian lưu nước dài trong bể phân hủy để quá trình ổn định chất thải xảy ra. Tuy nhiên, sự phát triển chậm được ghi nhận

cho thấy chỉ có một phần chất hữu cơ được sử dụng cho việc tổng hợp nên tế bào mới. Với vi khuẩn sinh methane thì hầu hết các chất thải hữu cơ được chuyển hóa thành khí methane là loại sản phẩm hữu dụng dùng làm nhiên liệu.

Bởi vì tốc độ phát triển của tế bào thấp và sự chuyển hóa các hợp chất hữu cơ thành khí methane và  $\text{CO}_2$ , kết quả là chất rắn hữu cơ được ổn định hợp lý. Sau khi phơi khô và tách nước, bùn có thể được sử dụng làm phân bón cho đất.

Nhiệt độ cao cần thiết để đạt đến xử lý hoàn toàn thường được xem là bất tiện nhất của quá trình xử lý kỵ khí; tuy nhiên, nhiệt độ cao chỉ cần thiết khi thời gian lưu tế bào đủ lâu không thể đạt được tại một nhiệt độ thấp. Trong hệ thống xử lý kỵ khí thì thời gian lưu tế bào vi sinh trong bể phản ứng bằng thời gian lưu nước của dịch trộn trong bể phản ứng. Bởi vì nhiệt độ vận hành tăng cao, thời gian lưu tế bào thấp nhất giảm xuống đáng kể. Cho nên, cung cấp nhiệt cho bể phản ứng làm giảm không chỉ thời gian lưu tế bào cần thiết để đạt đến xử lý hoàn toàn mà còn thời gian lưu nước, vì thế thể tích bể phản ứng nhỏ hơn có thể được sử dụng



## Chương 6

# CÁC QUÁ TRÌNH KHỬ NITROGEN BẰNG VI SINH VẬT



### 6.1. Sự chuyển hóa ammonia bằng quá trình nitrate hóa sinh học (conversion of ammonia by biological nitrification)

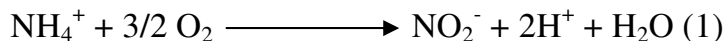
Quá trình mà trong đó nitrogen của nước thải chưa xử lý lần lượt được chuyển hóa để tạo thành nitrate dưới tác dụng của vi sinh vật được gọi là “quá trình nitrate hóa sinh học”. Nước thải đã được xử lý khi được thải ra đòi hỏi thỏa mãn các yêu cầu của môi trường nước tiếp nhận nơi cần có sự giảm thiểu nhu cầu oxy nitrogen (oxy cần thiết để oxy hóa các hợp chất có chứa nitrogen) hoặc nơi cần thiết phải có sự giảm thiểu khả năng gây độc của ammonia. Trong phần này, quá trình nitrate hóa sinh học được trình bày. Các quá trình xử lý được phân loại và mô tả, ứng dụng, xem xét và so sánh kỹ lưỡng.

#### 6.1.1. Mô tả quá trình

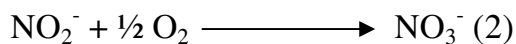
Nitrate hóa là một quá trình tự dưỡng (ví dụ, năng lượng cho sự phát triển của vi khuẩn được lấy từ sự oxy hóa các hợp chất có chứa nitrogen, đầu tiên là ammonia). Trái với quá trình dị dưỡng, các vi khuẩn nitrate hóa sử dụng CO<sub>2</sub> (carbon vô cơ) hơn là carbon hữu cơ để tổng hợp tế bào.

Quá trình nitrate hóa ammonium là một quá trình gồm hai bước liên quan đến hai chi vi sinh vật, *Nitrosomonas* và *Nitrobacter*. Bước thứ nhất, ammonium được chuyển thành nitrite; tiếp đó nitrite được chuyển thành nitrate. Quá trình chuyển hóa được mô tả như sau:

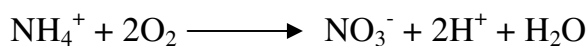
Bước 1:



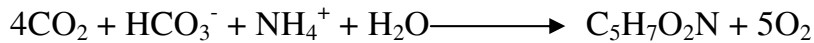
Bước 2:



Phương trình 1 và 2 và những phản ứng tạo ra năng lượng. *Nitrosomonas* và *Nitrobacter* sử dụng năng lượng được sinh ra từ những phản ứng đó cho sự phát triển và duy trì tế bào. Toàn bộ phản ứng được trình bày qua phương trình sau:

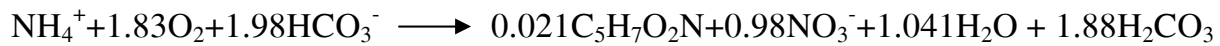


Với năng lượng thu được, một vài ion ammonium được tích lũy trong tế bào. Phản ứng tổng hợp sinh khối có thể được thể hiện như sau:



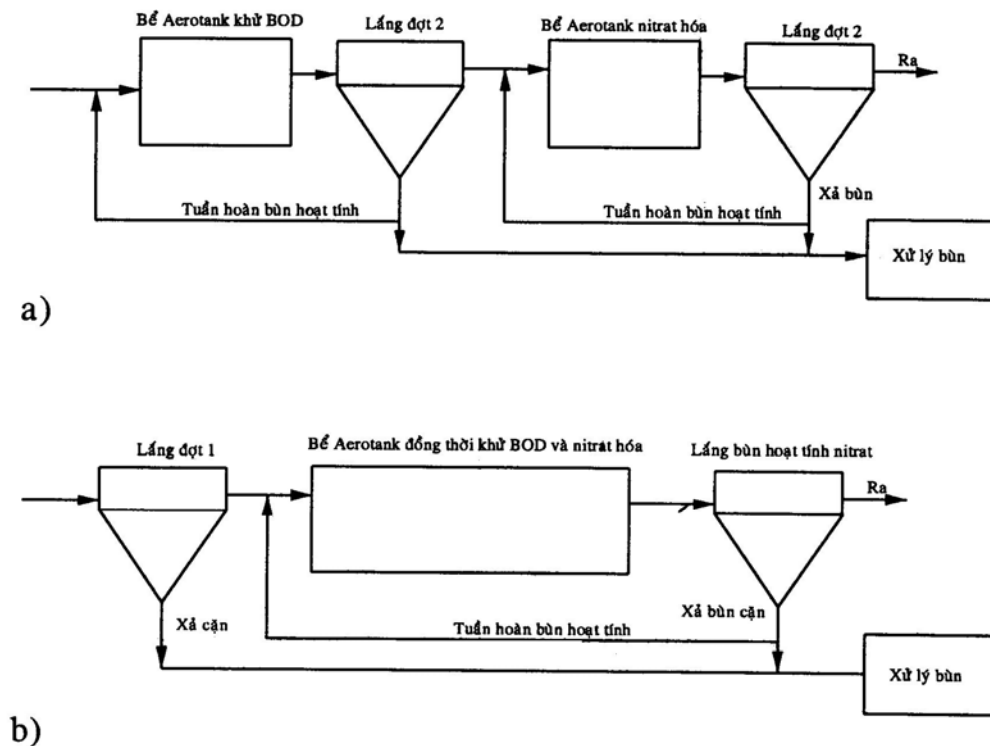
Công thức hóa học  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  được sử dụng cho tế bào vi khuẩn được tổng hợp

Toàn bộ phản ứng oxy hóa và tổng hợp có thể được thể hiện như sau:



### 6.1.2. Phân loại các quá trình nitrate hóa

Các quá trình nitrate hóa có thể được phân loại theo mức độ khác biệt của sự oxy hóa carbon liên quan đến nitrate hóa. Sự oxy hóa carbon và nitrate hóa có thể xảy ra trong một phản ứng đơn, liên quan đến “giai đoạn đơn”. Trong quá trình nitrate hóa tách biệt, sự oxy hóa carbon và nitrate hóa xảy ra ở các phản ứng khác nhau. Phản ứng tăng cường chất lơ lửng hoặc tăng cường chất kết dính có thể được sử dụng cho cả hệ thống phản ứng đơn và phản ứng tách biệt. Mô hình phản ứng đơn và phản ứng tách biệt được mô tả ở hình 6.1.



**Hình 6.1.** Quá trình oxy hóa carbon và nitrate hóa tăng cường chất lơ lửng : (a) sơ đồ lọc sinh học tách biệt, (b) sơ đồ phối hợp.

Sinh vật nitrate hóa hiện diện trong hầu hết các quá trình xử lý sinh học, nhưng số lượng của chúng thường giới hạn. Khả năng của các quá trình bùn hoạt tính để nitrate hóa liên quan đến tỉ số BOD<sub>5</sub>/TKN (total Kjeldahl nitrogen - tổng nitrogen tính theo phương pháp phân tích Kjeldahl). Vì tỉ số BOD<sub>5</sub>/TKN nằm trong khoảng từ 1-3 tương xứng với các giá trị gặp phải trong các hệ thống nitrate hóa tách biệt. Tỉ số sinh vật nitrate hóa được đánh giá biến động từ 0.21 tại BOD<sub>5</sub>/TKN = 1 đến 0.083 tại BOD<sub>5</sub>/TKN=3 (xem bảng 6.1). Trong hầu hết quá trình bùn hoạt tính truyền thống, tỉ số sinh vật nitrate hóa thường thấp hơn 0.083. Điều đó cho thấy rằng khi BOD<sub>5</sub>/TKN >5, quá trình có thể được xem như là một quá trình kết hợp giữa oxy hóa carbon và nitrate hóa, và khi tỉ số này <3, có thể được xếp vào quá trình nitrate hóa tách biệt.

**Bảng 6.1.** Mối tương quan giữa phân số sinh vật nitrate hóa và tỉ số BOD<sub>5</sub>/TKN

Tỉ số BOD <sub>5</sub> /TKN	Phân số sinh vật nitrate hóa	Tỉ số BOD <sub>5</sub> /TKN	Phân số sinh vật nitrate hóa
0.5	0.35	5	0.054
1	0.21	6	0.043
2	0.12	7	0.037
3	0.083	8	0.033
4	0.064	9	0.029

### 6.1.3. Sự oxy hóa carbon và nitrate hóa ở giai đoạn đơn (sơ đồ phối hợp).

Quá trình nitrate hóa có thể được thực hiện trong hệ bùn hoạt tính tăng cường chất lơ lửng. Các quá trình thường được sử dụng là chảy truyền thống (conventional plug-flow), trộn hoàn chỉnh (complete-mix), sục khí tăng cường (extended aeration) và nhiều dạng sửa đổi của mương oxy hóa (oxidation ditch). Để đạt được nitrate hóa, đòi hỏi có sự duy trì các điều kiện có thể cho sự phát triển của các sinh vật nitrate hóa. Ví dụ, trong vùng khí hậu ấm áp, sự nitrate hóa tăng cường có thể được gia tăng nhờ sự gia tăng thời gian tồn tại của các tế bào trong hệ thống xử lý và sự cung cấp khí. Kỹ thuật này thường được sử dụng để đạt được nitrate hóa theo mùa.

Hai quá trình tăng cường kết dính, có thể được sử dụng cho quá trình nitrate hóa và oxy hóa carbon kết hợp, là lọc nhỏ giọt và tiếp xúc sinh học. Với các quá trình tăng cường chất lơ lửng có thể được tăng cường nhờ việc điều chỉnh các thông số điều khiển. Nitrate hóa thường có thể được thực hiện bởi việc làm giảm tốc độ tải hoạt được áp dụng.

**Quá trình tăng cường chất lơ lửng.** Động thái của quá trình nitrate hóa được định nghĩa rõ ràng nhất cho hệ thống tăng cường chất lơ lửng. Điều đó cho thấy các biểu thức của động lực học được dùng trong quá trình tăng cường chất lơ lửng hiếu khí có thể được áp dụng cho quá trình nitrate hóa.

Từ kinh nghiệm và những nghiên cứu trong phòng thí nghiệm, cho thấy rằng những nhân tố sau có ảnh hưởng lên quá trình nitrate hóa : nồng độ ammonia và nitrite, tỉ số

BOD<sub>5</sub>/TKN, nồng độ oxy hòa tan, nhiệt độ và pH. Ảnh hưởng của những biến số lên quá trình nitrate hóa và việc tiếp cận để giải thích chúng được trình bày ở bảng 5-2. Các nhân tố đồng ảnh hưởng của động năng lên quá trình nitrate hóa tăng cường chất lơ lửng là kích cỡ của môi trường và độ sâu của bể.

Việc ứng dụng những tiếp cận về động năng cho những phân tích quá trình nitrate hóa trong một phản ứng phức hợp hoàn toàn liên quan đến các bước sau:

- (1) Lựa chọn một nhân tố an toàn để duy trì hoạt độ đỉnh, suốt ngày và thời gian tải hoạt ngắn.
- (2) Lựa chọn nồng độ oxy hòa tan thấp nhất. DO thấp nhất ở mức 2.0mg/l là thích hợp để tránh việc giảm hiệu quả của DO lên tốc độ nitrate hóa.
- (3) Xác định pH trong quá trình vận hành. pH biến động từ 7.0-9.0 là thích hợp. Mỗi một mg/l NH<sub>4</sub>-N bị oxy hóa có thể gây nên sự phân hủy 7.14mg/l kiềm (biểu hiện qua CaCO<sub>3</sub>).
- (4) Đánh giá tốc độ phát triển cực đại của các vi khuẩn nitrate hóa không ảnh hưởng đến sự thay đổi của nhiệt độ, DO và pH.
- (5) Xác định thời gian tồn tại ít nhất của tế bào dựa vào tốc độ phát triển được xác định trong bước (4).
- (6) Xác định thời gian tồn tại của tế bào theo dự kiến bằng cách sử dụng nhân tố an toàn được xác định ở bước (1).
- (7) Xác định nồng độ nitrogen của nước thải.
- (8) Xác định thời gian giữ nước để đạt đến nồng độ nitrogen cần thiết của nước thải.
- (9) Xác định tốc độ sử dụng chất hữu tại nơi mà quá trình nitrate hóa - oxy hóa giai đoạn đơn được sử dụng.

**Bảng 6.2.** Ảnh hưởng của những thay đổi môi trường và quá trình hoạt động lên quá trình nitrate hóa tăng cường lơ lửng.

Thông số môi trường	Mô tả ảnh hưởng
Nồng độ $\text{NH}_4^+$ và $\text{NO}_2^-$	Nồng độ $\text{NH}_4^+$ và $\text{NO}_2^-$ ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng riêng cực đại của nitrosomonas và Nitrobacter. Tốc độ tăng trưởng của nitrobacter lớn hơn rất nhiều so với nitrosomonas. Và tốc độ tăng trưởng chung của chúng trong quá trình là: $\mu = \mu_m \frac{N}{K_s + N}$ <p><math>\mu</math> : tốc độ tăng trưởng riêng (1/s)  <math>\mu_m</math> : tốc độ tăng trưởng riêng cực đại (1/s)  <math>S</math> : nồng độ chất nền trong nước thải ở thời điểm tăng trưởng bị hạn chế  <math>K_s</math> : hằng số bán tốc độ                  Lấy <math>\mu_m = 0.45 \text{ ngày}^{-1}</math> ở <math>15^\circ\text{C}</math></p>
Tỷ số BOD/TKN	Số phần trăm của các hợp chất hữu cơ bị nitrate hóa trong quá trình khử BOD chịu ảnh hưởng của tỷ số BOD/TKN. Biểu thị bằng: $F_N = [0.16(\text{NH}_3 \text{ bị khử})] / [0.6(\text{BOD}_5 \text{ bị khử} + 0.16(\text{NH}_3 \text{ bị khử}))]$
Nồng độ oxy hòa tan	Mức độ DO ảnh hưởng đến tốc độ phát triển đặc biệt $\mu_m$ của các sinh vật nitrate hóa. Ảnh hưởng đó có thể được mô hình hóa với mối tương quan sau: $\mu_m = \mu_m \frac{DO}{K_{O_2} + DO}$ Dựa vào các thông tin giới hạn có thể lấy $K_{O_2} = 1.3 \text{ mg/l}$
Nhiệt độ ( $^\circ\text{C}$ )	Nhiệt độ ảnh hưởng rất lớn đến quá trình nitrate hóa $\mu = \mu_m e^{0.098(T-15)}$
pH	Tốc độ cực đại của nitrate hóa xảy ra trong khoảng pH từ 7.2 đến 9.0. Đối với hệ thống nitrate hóa oxy hóa carbon ảnh hưởng của pH có thể được tính theo công thức $\mu = \mu_m [1 - 0.833(7.2 - pH)]$

Vấn đề chính liên quan đến phân tích này là việc xác định thời gian tồn tại tối thiểu của tế bào trong môi trường khắc nghiệt nhất và việc sử dụng nhân tố an toàn. Sự tiếp cận này là cần thiết giống như cái được sử dụng trong việc thiết kế quá trình bùn hoạt tính tăng cường chất lơ lửng trong phản ứng trộn hoàn toàn.

**Các quá trình tăng cường dính bám (*attached-growth processes*).** Quá trình tăng cường chất dính bám là lọc nhỏ giọt và bể tiếp xúc sinh học. Ngày nay, hầu hết việc tiếp cận để mô tả sự vận hành của các quá trình tăng cường dính bám là sử dụng các nhân tố tải hoạt.

Đối với lọc nhỏ giọt sử dụng môi trường đá, hoạt tải chất hữu cơ sẽ ảnh hưởng đến hiệu suất của quá trình nitrate hóa vì màng vi khuẩn chiếm ưu thế bởi vi khuẩn dị dưỡng lúc hoạt tải chất hữu cơ cao. Để đạt được hiệu quả nitrate hóa cao, sự hoạt tải chất hữu cơ được duy trì trong khoảng biến động trong khoảng  $0.8\text{-}2 \text{ m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{phút}$ . Bởi vì hệ lọc sử dụng hộp chứa plastic có bề mặt tiếp xúc lớn hơn (và số lượng vi khuẩn hoạt động nhiều hơn), hoạt tải

cao chất hữu cơ có thể được thực hiện trong khi vừa đạt được nitrate hóa tối ưu. Hệ lọc tốt khác có môi trường plastic là sự thông gió tốt hơn, điều này cho phép việc luân chuyển oxygen cao hơn. So sánh giữa hai môi trường đá và plastic cho thấy rằng môi trường plastic với 80% diện tích tiếp xúc sẽ có thể nitrate hóa khoảng hơn 60% ammonia trên một đơn vị thể tích trong một hệ thống kết hợp nitrate hóa oxy hóa carbon.

Trong hệ tiếp xúc sinh học, lượng ammonia có thể bị oxy hóa tùy thuộc vào bề mặt tiếp xúc. Nitrate hóa đáng kể sẽ không xảy ra trong hệ tiếp xúc sinh học cho đến khi nồng độ BOD<sub>5</sub> giảm xuống 15mg/l hoặc thấp hơn.

#### ***6.1.4. Nitrate hóa giai đoạn kép (sơ đồ tách biệt).***

Cả hai quá trình tăng cường chất rắn lơ lửng và kết dính đều được sử dụng trong nitrate hóa giai đoạn kép, mỗi quá trình (oxy hóa carbon và nitrate hóa) có thể được thực hiện một cách độc lập để đạt hiệu quả cao nhất. Ảnh hưởng của độc tính có thể giảm xuống bởi vì chất hữu cơ bị phân hủy sinh học, mà chính nó có thể gây độc đến các vi khuẩn nitrate hóa, được loại bỏ trong giai đoạn oxy hóa carbon.

Mức độ loại bỏ carbon hữu cơ trong giai đoạn oxy hóa carbon sẽ ảnh hưởng đến sự lựa chọn và thực hiện quá trình nitrate hóa. Carbon hữu cơ thấp trong nước thải có thể là thuận lợi đối với các phản ứng tăng cường kết lắng bởi vì mức độ thấp như thế khỏi cần phải làm sạch sau quá trình nitrate hóa. Trong các phản ứng nitrate hóa tăng cường chất lơ lửng, carbon hữu cơ thấp trong nước thải có thể gây nên sự mất cân bằng giữa chất rắn mất đi từ nền đáy của ao và chất rắn được tổng hợp trong phản ứng. Sự mất cân bằng này thường cần thiết để gia tăng BOD trong phản ứng nitrate hóa để duy trì giá trị chất rắn sinh học trong hệ thống nitrate hóa.

***Tăng cường chất lơ lửng.*** Quá trình nitrate hóa tăng cường chất lơ lửng ở giai đoạn kép giống như trong thiết kế quá trình bùn hoạt tính. Khi nồng độ ammonia rất thấp được mong đợi, các phản ứng trộn hoàn toàn và chảy dọc (plug-flow) là hợp lý.

Đối với nitrate hóa giai đoạn kết hợp, việc xác định tốc độ nitrate hóa là một tiến trình thường được sử dụng. Tốc độ đo đạt thực nghiệm được xem là có giá trị hơn là tốc độ lý thuyết bởi vì sự khó khăn để đạt đến sự chia nhỏ nitrate hóa của dung dịch phức hợp. Tốc độ nitrate hóa tăng khi nhiệt độ tăng. Giá trị BOD<sub>5</sub>/TKN quan trọng trong quá trình nitrate hóa, với tốc độ nitrate hóa tăng khi tỷ số này tăng. Tốc độ nitrate hóa cũng bị ảnh hưởng bởi giá trị pH của hỗn hợp dung dịch và làm thế nào để định hướng pH tối ưu cho quá trình nitrate hóa.

**Tăng cường dính bám.** Có hai loại khác nhau của quá trình tăng cường dính bám được sử dụng thường xuyên cho quá trình nitrate hóa kết hợp: lọc nhỏ giọt và bể tiếp xúc sinh học.

Lọc nhỏ giọt có thể được sử dụng cho nitrate hóa kép tiếp theo sau quá trình tăng cường chất lơ lửng sử dụng cho oxy hóa carbon. Sự kết hợp phổ biến hơn của quá trình này là việc sử dụng hệ thống lọc nhỏ giọt hai giai đoạn: giai đoạn một được sử dụng cho oxy hóa carbon và giai đoạn hai là nitrate hóa. Tháp lọc sử dụng chất mang plastic đặc biệt thích hợp cho nitrate hóa bởi vì diện tích bề mặt lớn. Tháp lọc nên được thiết kế để việc thông khí được tiến hành dễ dàng, nếu được đòi hỏi.

Khi sử dụng cho quá trình nitrate hóa sinh học, bể tiếp xúc sinh học được thiết kế thường dựa trên nồng độ ammonia hơn là thể tích nước thải hay nồng độ TKN. Các ứng dụng kết hợp oxy hóa carbon và nitrate hóa như là một tiếp cận có thể dẫn đến việc đòi hỏi diện tích bề mặt trong phản ứng nitrate hóa.

## **6.2. Loại bỏ nitrogen bằng nitrate hóa/phản nitrate hóa sinh học**

Trong tất cả các phương pháp được sử dụng cho việc loại bỏ nitrogen, thì nitrate hóa/phản nitrate hóa sinh học là tốt nhất vì những lý do sau: (1) hiệu suất loại bỏ cao, (2) tính ổn định và độ chính xác của quá trình cao, (3) dễ điều khiển, (4) diện tích đất yêu cầu thấp, và giá thành hợp lý. Việc loại bỏ nitrogen bằng quá trình nitrate hóa/phản nitrate hóa sinh học là một quá trình gồm hai bước. Bước thứ nhất, ammonia được chuyển hóa hiếu khí thành nitrate (nitrate hóa). Bước thứ 2, nitrate được chuyển hóa thành khí nitrogen (phản nitrate hóa).

### **6.2.1. Mô tả quá trình**

Việc loại bỏ nitrate bởi sự chuyển hóa thành khí nitrogen có thể được thực hiện bằng các quá trình sinh học trong điều kiện thiếu khí. Việc làm giảm  $\text{NO}_3^-$ -N được thực hiện thông qua đồng hóa và dị hóa. Trong quá trình đồng hóa làm giảm nitrate,  $\text{NO}_3^-$ -N được chuyển hóa thành ammonia cho việc sử dụng của tế bào trong tổng hợp sinh học và xảy ra khi  $\text{NO}_3^-$ -N chỉ là một dạng nitrogen duy nhất có sẵn. Trong quá trình dị hóa làm giảm nitrate, khí nitrogen được hình thành từ  $\text{NO}_3^-$ -N: đây là kết quả của quá trình phản nitrate hóa trong nước thải. Trong hầu hết các hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa, nước thải được nitrate hóa phải chứa đủ hàm lượng carbon (carbon hữu cơ) để cung cấp nguồn năng lượng cho việc chuyển hóa nitrate thành khí nitrogen bởi vi khuẩn. Nhu cầu carbon có thể được cung cấp từ các nguồn bên trong như nước thải và nguyên liệu tế bào hoặc từ bên ngoài (ví dụ như methanol).

**Bảng 6.3.** Sự so sánh việc lựa chọn quá trình nitrate hóa

Loại hệ thống	Thuận lợi	Không thuận lợi
<b>Nitrate hóa oxy hóa carbon kết hợp</b>		
Tăng cường chất lơ lửng	Việc xử lý kết hợp carbon và ammonia trong một giai đoạn đơn; ammonia nước thải thấp; dễ kiểm soát sự ổn định dung dịch trộn nhờ vào tỷ số BOD <sub>5</sub> /TKN cao.	Không có sự bảo vệ đối với các độc chất; sự ổn định trung bình; việc ổn định phải được liên kết với ứng dụng của việc làm sạch cấp hai để thu hồi sinh khối; bề phản ứng yêu cầu phải lớn trong thời tiết lạnh.
Tăng cường kết dính	Xử lý kết hợp carbon và ammonia trong một giai đoạn đơn; việc ổn định không cần liên kết với việc làm sạch thứ cấp vì các sinh vật đã được bám vào giá bám.	Không có sự bảo vệ chống lại các độc chất; chỉ ổn định trung bình; ammonia nước thải thường 1-3mg/l; không ứng dụng được trong mùa lạnh trong tất cả mọi trường hợp.
<b>Nitrate hóa giai đoạn kép</b>		
Tăng cường chất lơ lửng	Có sự bảo vệ tốt chống lại hầu hết các độc chất; hoạt động ổn định; ammonia thấp là có thể được	Nước thải đòi hỏi phải có sự kiểm soát cẩn thận khi tỉ số BOD <sub>5</sub> /TKN thấp; sự ổn định của hoạt động phải liên kết với hoạt động của việc làm sạch thứ cấp để thu hồi sinh khối; đòi hỏi nhiều hạng mục xử lý hơn so với nitrate hóa oxy hóa carbon kết hợp.
Tăng cường kết dính	Có sự bảo vệ tốt chống lại với hầu hết các độc chất; hoạt động ổn định; việc ổn định không cần liên kết hệ làm sạch thứ cấp vì các sinh vật được kết dính vào chất mang.	Ammonia nước thải thường thấp 1-3mg/l; đòi hỏi nhiều hạng mục xử lý hơn so với nitrate hóa oxy hóa carbon kết hợp.

Tốc độ nitrate hóa có thể được mô tả bởi công thức sau:

$$U_1 = U_0 \times 1.09^{(T-20)} (1 - DO)$$

$U_1$ : tốc độ nitrate hóa tổng số

$U_0$ : tốc độ nitrate hóa xác định. kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/kg chất rắn.d

T: nhiệt độ nước thải. °C.

DO: oxy hòa tan trong nước thải. mg/l.

Giá trị DO trong công thức trên cho thấy tốc độ nitrogen giảm đến tiệm cận không khi nồng độ oxy hòa tan tiến đến 1mg/l. Tốc độ nitrate hóa xác định tùy thuộc vào nguồn carbon được cho ở bảng 6.4.



**Bảng 6.4.** Các tốc độ nitrate hóa điển hình tùy theo nguồn carbon.

Nguồn carbon	Tốc độ nitrate hóa, $U_0$ , kg $\text{NO}_3^-$ -N/kg chất rắn.ngày	Nhiệt độ, $^{\circ}\text{C}$
Methanol	0.21 - 0.32	25
Methanol	0.12 - 0.90	20
Nước thải	0.03 - 0.11	15 - 27
Trao đổi chất nội sinh	0.017 - 0.048	12 - 20

### 6.2.2. Phân loại các quá trình nitrate hóa/phản nitrate hóa.

Các quá trình phản nitrate hóa được định nghĩa như là quá trình tăng cường lơ lửng thiếu khí và tăng cường kết dính thiếu khí. Trong thảo luận sau này, việc phân loại dựa vào quá trình nitrate hóa được thực hiện như thế nào (1) trong các hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa oxy hóa carbon kết hợp sử dụng nguồn carbon nội tại và bên ngoài hoặc (2) trong các phản ứng kép sử dụng methanol hoặc một nguồn carbon hữu cơ hợp lý bên ngoài nào đó. Như đã ghi chú trước đây, các hệ thống kết hợp thường liên quan đến “các hệ thống bùn đơn” và các hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa sử dụng các phản ứng kép thường liên quan đến “các hệ thống bùn kép”. Nên nhớ rằng bùn sinh ra trong hệ thống bùn kép thường có tính chất khác nhau.

#### 6.2.2.1. Hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa kết hợp (hệ thống bùn đơn).

Bởi vì giá thành của các nguồn carbon bên ngoài cao, các quá trình phát triển trong đó các bước nitrate hóa/phản nitrate hóa oxy hóa carbon thường được kết hợp trong một quá trình đơn, nên sử dụng nguồn carbon sinh ra tự nhiên trong nước thải. Sự thuận lợi hiển nhiên của các quá trình này bao gồm (1) sự giảm thể tích khí cung cấp cho nitrate hóa và khử  $\text{BOD}_5$ , (2) bỏ đi việc cung cấp nguồn carbon hữu cơ phụ trội (ví dụ như methanol) cho quá trình nitrate hóa, và (3) loại trừ được hệ thống làm sạch trung gian và hồi lưu bùn trong hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa một giai đoạn. Hầu hết các hệ thống đều có thể loại bỏ được từ 60 đến 80% tổng nitrogen; tốc độ loại bỏ từ 85 đến 95%.

Trong các hệ thống kết hợp này, carbon trong nước thải và nguồn carbon còn lại sau khi phân hủy tế bào của sinh vật được sử dụng để thực hiện quá trình nitrate hóa. Đối với quá trình nitrate hóa, một chuỗi luân phiên các giai đoạn thiếu khí và hiếu khí (không có ổn định trung gian) được sử dụng. Các vùng thiếu khí có thể được tiến hành trong kênh oxy hóa bởi việc kiểm soát các mức độ oxy gen cung cấp. Các quá trình phản ứng theo mẻ liên tục đặc biệt cũng được chấp nhận để cung cấp các thời kỳ hiếu khí và thiếu khí suốt chu kỳ hoạt động.

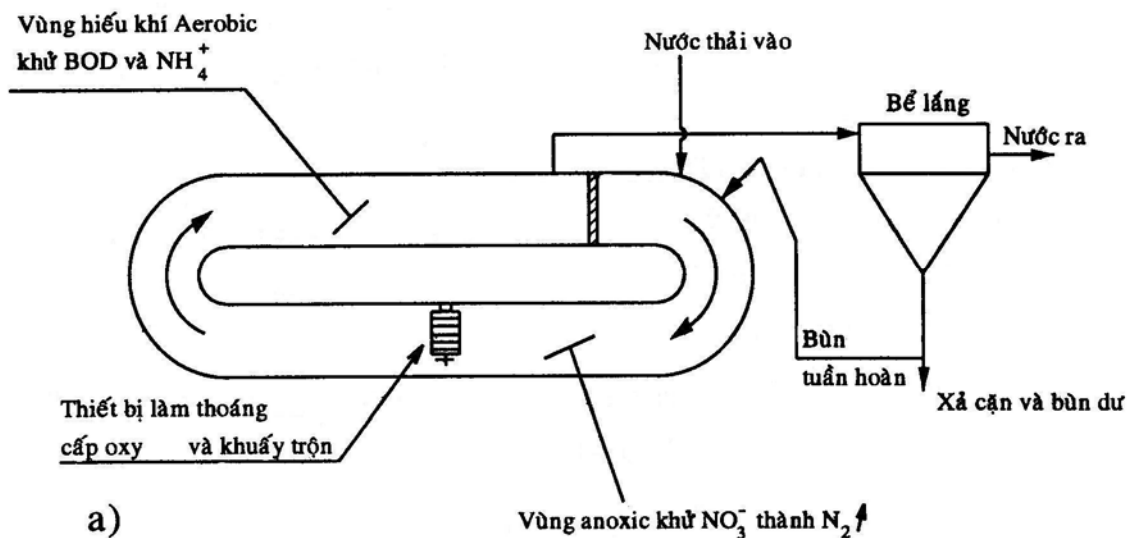
Tốc độ nitrate hóa cực đại cho nước thải trong hệ thống giai đoạn đơn biến động từ 0.075 đến 0.115 kg  $\text{NO}_3^-$ -N/kg chất rắn. ngày ở  $20^{\circ}\text{C}$  trong phản ứng thiếu khí dưới điều kiện không hạn chế carbon. Tốc độ nitrate hóa trong hệ thống bùn đơn khoảng chừng bằng một

nửa tốc độ nitrate hóa của hệ thống bùn kép. Sử dụng nguồn carbon nội sinh, tốc độ nitrate hóa biến động từ 0.017 đến 0.048 kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/kg chất rắn.ngày.

#### 6.2.2.2. *Quá trình bốn giai đoạn.*

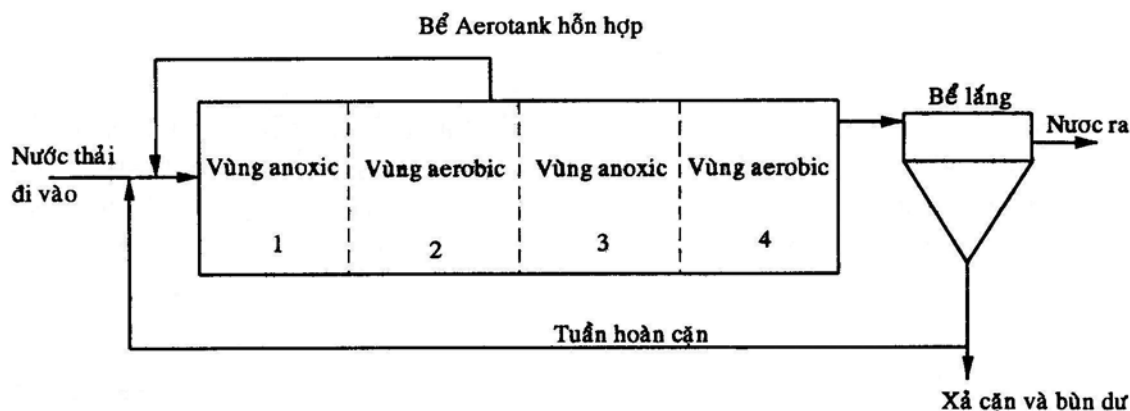
Quá trình bốn giai đoạn (hình 6.2 b) sử dụng nguồn carbon trong nước thải và nguồn carbon từ sự phân hủy nội sinh để tiến hành nitrate hóa. Các vùng phản ứng kép được sử dụng cho nitrate hóa oxy hóa carbon và phản nitrate hóa thiếu khí. Nước thải đầu tiên đi vào vùng phản nitrate hóa thiếu khí và được trộn với dung dịch được quay vòng từ khoang nitrate hóa oxy hóa carbon phía sau. Carbon hiện diện trong nước thải được sử dụng để phản nitrate hóa, nitrate được quay vòng lại. Bởi vì chất hữu cơ cao, nên quá trình phản nitrate hóa diễn ra nhanh. Ammonia trong nước thải đi qua không thay đổi qua ao thiếu khí thứ nhất để được nitrate hóa trước khi qua ao hiếu khí thứ nhất. Dịch trộn đã được nitrate hóa từ ao hiếu khí thứ nhất bằng qua vùng thiếu khí thứ hai, nơi đây quá trình phản nitrate hóa phụ trội xảy ra sử dụng nguồn carbon nội sinh.

Vùng hiếu khí thứ hai thường nhỏ hơn và được sử dụng để lấy hết khí nitrogen trước khi làm sạch. Ammonia thoát ra từ bùn trong vùng thiếu khí thứ hai cũng được nitrate hóa trong vùng hiếu khí cuối cùng. Những sự biến đổi của hệ thống có thể dùng cho quá trình loại bỏ nitrogen và phosphorus kết hợp.



a)

Vùng anoxic khử  $\text{NO}_3^-$  thành  $\text{N}_2 \uparrow$



b)

Hình 6.2. Sơ đồ công trình xử lý kết hợp khử BOD,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$

a) Mương oxy hóa

b) Bể Aerotank dòng chảy đều kết hợp 4 giai đoạn

**Mương oxy hóa.** Mương oxy hóa được sử dụng để tiến hành nitrate hóa và phản nitrate hóa (hình 6.2 a). Trong kênh oxy hóa, dịch trộn chảy vòng theo kênh, được dẫn đi và sục khí bởi các thiết bị sục khí. Đối với những ứng dụng nitrate hóa/phản nitrate hóa, một vùng hiếu khí được đặt ngay cuối dòng của máy sục, và vùng kỵ khí được thiết kế đầu dòng của máy sục. Bằng cách dẫn dòng nước thải tại ngay đầu dòng của vùng thiếu khí, một ít nguồn carbon của nước thải được sử dụng cho phản nitrate hóa. Nước thải từ bể phản ứng được lấy từ đầu cuối của vùng hiếu khí sử dụng cho việc làm sạch. Bởi vì hệ thống chỉ có vùng thiếu khí, việc loại bỏ nitrogen thấp hơn so với quá trình bốn giai đoạn.

**Thiết kế quá trình cho hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa kết hợp.** Các thủ tục thiết kế cho hệ thống nitrate hóa/phản nitrate hóa tăng cường lơ lửng kết hợp biến động dựa trên loại quá trình được sử dụng. Phương pháp khuếch đại để xác định thời gian lưu thiếu khí, hiếu khí và tỷ số quay vòng được trình bày dưới đây.

Thừa nhận quá trình nitrate hóa hoàn toàn  $\text{NO}_3^-$ -N quay vòng đến giai đoạn thiếu khí và không chú ý đến sự đồng hóa nitrogen, tỷ số quay vòng đòi hỏi (dịch trộn + bùn hoàn lưu) được cho bởi công thức

$$R = \frac{(\text{NH}_4^+ - \text{N})_0 - (\text{NH}_4^+ - \text{N})_e}{(\text{NO}_3^- - \text{N})_e} - 1$$

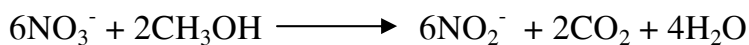
R: tỷ số hoàn lưu toàn bộ (dung dịch trộn + bùn hoàn lưu)  
 $(\text{NH}_4^+ - \text{N})_0$ ;  $(\text{NH}_4^+ - \text{N})_e$ : ammonium đầu vào và đầu ra. mg/l.  
 $(\text{NO}_3^- - \text{N})_e$ : nitrate đầu ra. mg/l.

### ***Hệ thống phản nitrate hóa giai đoạn kép.***

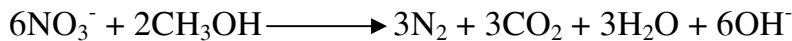
Vào đầu những năm 1970, hầu hết những tiếp cận được chấp nhận đối với quá trình phản nitrate hóa sinh học là sự cộng thêm vào của một hệ thống sinh học kép sử dụng methanol như là nguồn carbon để loại bỏ nitrate. Bởi vì quá trình nitrate hóa/phản nitrate hóa oxy hóa carbon xảy ra trong các phản ứng tách biệt, nên bùn sinh ra riêng biệt trong mỗi phản ứng, vì thế tên “hệ thống bùn tách biệt” được sử dụng thường xuyên. Bởi vì nguồn carbon dưới dạng methanol được thêm vào nhiều hơn nhu cầu đòi hỏi sẽ được đo dưới dạng BOD, nên sự chú ý cẩn thận phải được dành hết cho công việc thiết kế và hoạt động của nhân tố này của hệ thống.

Khi sử dụng methanol như là một nguồn carbon thì quá trình phản nitrate hóa giai đoạn kép có thể được mô tả như sau. Phản ứng năng lượng có thể được trình bày qua phương trình:

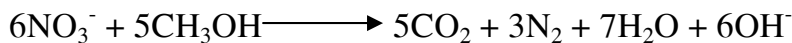
Phản ứng năng lượng, bước 1:



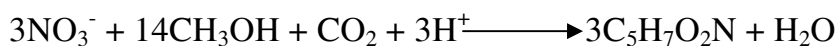
Phản ứng năng lượng, bước 2:



Phản ứng năng lượng toàn phần:



Một phản ứng tổng hợp được đưa ra bởi McCarry như sau:



Trong thực nghiệm, 25 đến 30% lượng methanol yêu cầu cấp năng lượng cho việc tổng hợp. Những nghiên cứu cơ bản trong phòng thí nghiệm, công thức sau được đưa ra để mô tả phản ứng loại nitrate toàn phần.

Việc loại bỏ nitrate hoàn toàn



Nếu tất cả nitrogen dưới dạng nitrate, thì nhu cầu methanol tổng số có thể được xác định bởi công thức trên. Tuy nhiên, nước thải được xử lý được nitrate hóa có thể chứa một vài nitrite và DO. Nơi mà nitrate, nitrite và DO hiện diện, thì nhu cầu methanol có thể được tính toán theo kinh nghiệm bởi công thức.

$$C_m = 2.47N_0 + 1.53N_1 + 0.87D_0$$

Trong đó:

$C_m$  : nồng độ methanol yêu cầu (mg/l).

$N_0$  : nồng độ nitrate ban đầu (mg/l)

$N_1$  : nồng độ nitrite ban đầu (mg/l)

$D_0$  : nồng độ oxy hòa tan ban đầu (mg/l)

**Tăng cường chất lơ lửng.** Việc thiết kế hệ thống phản nitrate hóa tăng cường chất lơ lửng giống với việc thiết kế hệ thống bùn hoạt tính được sử dụng để loại carbon hữu cơ. Cả hai phản ứng trộn hoàn toàn và chảy dọc (plug - flow) được sử dụng. Bởi vì khí nitrogen giải phóng suốt quá trình phản nitrate hóa thường bám vào chất rắn sinh học, vì thế bước giải phóng nitrogen bao gồm giữa thiết bị phản ứng và lắng nền đáy được sử dụng để tách chất rắn sinh học. Việc loại bỏ khí nitrogen bám vào có thể được thực hiện hoặc là trong kênh sục khí mà kênh này được sử dụng để nổi các thiết bị phản ứng sinh học và ổn định hoặc trong bể tách mà trong đó chất rắn được sục khí trong một khoảng thời gian ngắn (5 đến 10 phút).

Chất rắn lơ lửng dịch trộn dễ bay hơi trong các phản ứng nitrate hóa được tạo thành bởi các sinh vật có trách nhiệm trong việc chuyển hóa carbon hữu cơ (BOD) và quá trình nitrate hóa. Toàn bộ chất rắn lơ lửng của dịch trộn trong phản ứng nitrate hóa thường cao hơn từ 50 đến 100% chất rắn lơ lửng của dịch trộn dễ bay hơi và có thể bao gồm chất kết tủa hóa học nếu kết tủa phèn được sử dụng cho việc loại bỏ phosphorus. Trong các phản ứng phản nitrate hóa, chất rắn lơ lửng dễ bay hơi của dịch trộn được quan sát khoảng 40 đến 70% chất rắn lơ lửng dịch trộn.

Ảnh hưởng của những biến đổi môi trường và vận hành chính lên quá trình phản nitrate hóa giai đoạn kép là nồng độ nitrate, nồng độ carbon, nhiệt độ và pH.

**Tăng cường kết dính.** Một số các quá trình phản nitrate hóa tăng cường kết dính, nhiều cái độc quyền, được phát triển. Các quá trình tăng cường dính bám chủ yếu được mô tả ở bảng 6-5. Các bể phản ứng nền dung dịch (fluidized-bed reactors) và hệ tiếp xúc sinh học quay (rotating biological contactors - RBCs) thường được sử dụng nhất. Trong bể phản ứng nền dung dịch, nước thải được xử lý bằng qua hướng lên trên một lớp nguyên liệu có hạt mịn, như cát, với tốc độ vừa phải đến môi trường lỏng. Sự dung môi hóa gia tăng cần thiết bề mặt xác định và cho phép nồng độ sinh khối cao trong bể phản ứng. Bể phản ứng cần phải có khoảng trống nhỏ và đơn giản để thao tác.

**Bảng 6-5.** Mô tả các hệ thống phản nitrate hóa tăng cường kết dính.

Phân loại	Mô tả	Tốc độ loại thải điển hình ở 20°C (kg/m <sup>3</sup> .d)
Bể phản ứng nền đóng kín		
Đầy khí (Gas-filled)	Bể được bọc kín và lấp đầy bởi khí nitrogen, điều này loại bỏ sự cần thiết phải nhấn chìm môi trường để duy trì các điều kiện thiếu khí.	1.6 – 1.8
Đầy chất lỏng (liquid-filled)	Bể phản ứng nền đóng kín được lấp đầy chất lỏng với môi trường có độ xốp cao và thấp, đòi hỏi phải có việc rửa sạch môi trường để kiểm soát sinh khối.	0.1 – 0.13
Bể phản ứng nền chất lỏng		
Môi trường có độ xốp cao, cát mịn	Độ xốp thay đổi bằng cách tăng độ đậm đặc của môi trường và tốc độ chảy.	12 - 16
Môi trường có độ xốp cao, carbon hoạt tính		4.8 – 6.0
Bể tiếp xúc sinh học	Bể tiếp xúc giống với xử lý hiếu khí ngoại trừ môi trường được nhấn chìm	

Việc ứng dụng RBCs cho phản nitrate hóa giống như ứng dụng cho các xử lý hiếu khí, ngoại trừ môi trường hoàn toàn chìm để tránh việc oxy hóa dung dịch.

Các tiếp cận hầu như được sử dụng trong việc đánh giá sự thực hiện của quá trình phản nitrogen tăng cường kết dính liên quan đến việc sử dụng các thông số tốc độ loại thải. Cho dầu một vài dữ liệu ứng dụng được báo cáo ở bảng 6-3, các bước của hệ thống phải được điều khiển để xác định động thái của quá trình khi chúng được xem xét để sử dụng.

## Chương 7

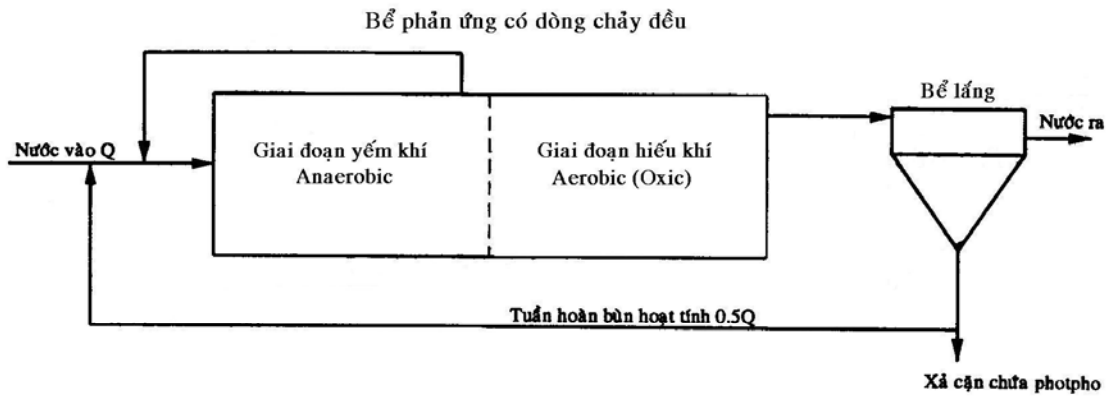
# KHỬ PHOSPHORUS BẰNG CÁC PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC



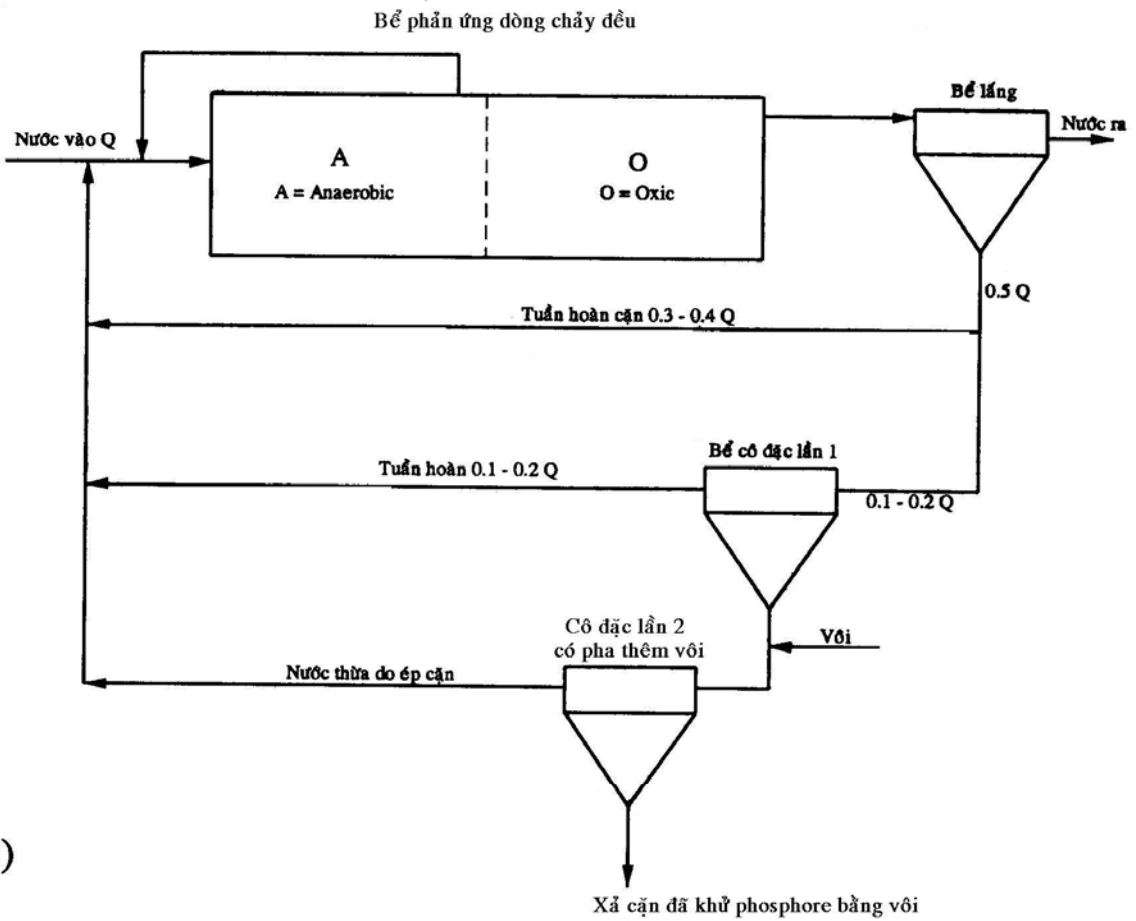
### 7.1. Các quá trình khử phosphorus

Trong những năm gần đây, một số lượng lớn các quá trình khử phosphorus bằng kỹ thuật sinh học được phát triển để thay thế cho việc xử lý hóa học. Như đã được mô tả ở phần trước, phosphorus được loại thải trong xử lý sinh học bằng việc hấp thụ orthophosphate, polyphosphate và hợp chất phosphorus hữu cơ vào trong tế bào. Tổng lượng được loại thải tùy thuộc vào lượng chất rắn thực được sinh ra. Thành phần phosphorus trong tế bào vào khoảng 1/5 hàm lượng nitrogen: thành phần phosphorus thực tế có thể biến động từ 1/7 đến 1/3 giá trị nitrogen tùy thuộc vào các điều kiện xác định của môi trường. Tính trung bình, hàm lượng phosphorus được loại thải suốt xử lý thứ cấp có thể biến động từ 10 đến 30% lượng nước thải. Bằng cách sử dụng một trong các quá trình khử, việc khử đạt được đáng kể có thể vượt ra khỏi khoảng biến động này.

Nhân tố quan trọng trong việc khử phosphorus bằng sinh học là vai trò của vi sinh vật được luân phiên trong các điều kiện kỵ khí và hiếu khí. Như được thảo luận ở tiết trước các điều kiện luân phiên tập trung vào vi sinh vật để việc đồng hóa phosphorus của chúng vượt hơn mức bình thường. Phosphorus không chỉ được sử dụng để duy trì tế bào, tổng hợp và vận chuyển năng lượng mà còn được tích lũy cho việc sử dụng sau này bởi vi sinh vật. Nước thải chứa phosphorus vượt trội hoặc là được làm sạch hoặc là được khử qua hệ thống phụ để giải phóng hàm lượng vượt trội đó. Bằng chứng của việc luân phiên từ điều kiện kỵ khí sang hiếu khí có thể được thực hiện trong quá trình xử lý chính, hoặc “dòng chính” (mainstream) hoặc dòng bùn hồi lưu, hoặc “dòng phụ” (sidestream) (xem hình 7-1). Một vài quá trình xử lý sinh học điển hình được sử dụng cho việc khử phosphorus sẽ được mô tả trong phần này. Các quá trình đó là (1) quá trình A/O (Anaerobic/Oxic stages) dùng cho việc khử phosphorus dòng chính, (2) quá trình PhoStrip (phosphorus strip - làm sạch phosphorus) được sử dụng cho khử phosphorus dòng phụ, và (3) phản ứng mẻ liên tục (sequencing batch reactor - SBR). SBR được dùng cho xử lý dòng chảy nhỏ hơn và cũng có thể tạo nên sự linh hoạt cho quá trình vận hành, điều này cho phép việc khử nitrogen có thể kết hợp thêm vào việc khử phosphorus. Thông tin về thiết kế điển hình cho các quá trình được trình bày ở bảng 7-1.



a)



b)

Hình 7.1. Sơ đồ các giải pháp khử phosphore

- a) Xử lý cặn riêng (Quá trình A/O)
- b) Xử lý cặn tại trạm xử lý kết hợp tăng cường quá trình lên men (Quá trình PhoStrip)



**Bảng 7-1.** Thông tin thiết kế điển hình cho các quá trình khử phosphorus bằng phương pháp sinh học.

Thông số thiết kế	Đơn vị	Quá trình		
		A/O	PhoStrip	Phản ứng mẻ liên tục
Tỷ số giữa thức ăn và vi sinh vật (F/M)	Kg BOD/kg chất nền.ngày	0.2 - 0.7	0.1 - 0.5	0.15 - 0.5
Thời gian lưu chất rắn	Ngày	2 - 25	10 - 30	
Chất rắn lơ lửng trong bùn lỏng	Mg/l	2000 - 4000	600 - 5000	2000 - 3000
Thời gian lưu nước	Giờ			
Vùng kỵ khí		0.5 - 1.5	8 - 12	1.8 - 3
Vùng hiếu khí		1 - 3	4 - 10	1 - 4
Bùn hoạt tính hồi lưu	% chất thải	25 - 40	20 - 50	
Tuần hoàn nội tại	% chất thải		10 - 20	

### 7.1.1. Quá trình A/O (khử phosphorus dòng chính)

Quá trình A/O được sử dụng để oxy hóa carbon với khử phosphorus kết hợp từ nước thải. Quá trình A/O là một hệ thống tăng cường chất lơ lửng bùn đơn, hệ thống này kết hợp hai phần kỵ khí và hiếu khí theo thứ tự (hình 7-1 a). Việc cung cấp có thể được tiến hành cho quá trình nitrate hóa bằng kéo dài thời gian lưu nước trong giai đoạn hiếu khí. Bùn ổn định được hồi lưu cho đầu vào của bể phản ứng và trộn với nước thải đang đi vào. Dưới điều kiện kỵ khí, phosphorus chứa trong nước thải và sinh khối của tế bào được giải phóng dưới dạng phosphate hòa tan. Việc làm giảm một ít BOD cũng xảy ra trong giai đoạn này. Rồi phosphorus được đồng hóa trong sinh khối tế bào ở vùng hiếu khí. Phosphorus được loại thải từ dòng dung dịch trong bùn hoạt tính. Nồng độ phosphorus ở đầu ra tùy thuộc chủ yếu vào tỷ số BOD và phosphorus trong nước thải đã được xử lý. Theo báo cáo thì tỷ số này vượt quá 10/1, giá trị phosphorus hòa tan đầu ra có thể đạt được 1mg/l hoặc thấp hơn. Trong trường hợp tỷ số BOD/phosphorus thấp hơn 10/1, các muối kim loại có thể được thêm vào quá trình để đạt đến nồng độ phosphorus thấp nhất.

### 7.1.2. Quá trình PhoStrip (khử phosphorus dòng phụ)

Trong quá trình PhoStrip, một phần của bùn hoạt tính hồi lưu từ quá trình xử lý sinh học được làm lệch hướng qua bể làm sạch phosphorus kỵ khí (hình 7-1 b), thời gian lưu nước trong bể làm sạch này biến động điển hình từ 8 - 12 giờ. Phosphorus được giải phóng trong bể làm sạch đi ra bên ngoài bể trong chất nổi trên mặt, và bùn hoạt tính nghèo phosphorus được đưa trở lại bể hiếu khí. Chất nổi trên mặt giàu phosphorus được xử lý với vôi hoặc chất keo tụ khác trong bể tách và được đẩy vào các bể lắng sơ cấp hoặc bể kết bông/ gạn lọc để tách chất rắn. Phosphorus được loại bỏ từ hệ thống bằng kết tủa hóa học. Hệ thống PhoStrip và các hệ thống bùn hoạt tính có liên quan khác có khả năng làm giảm lượng phosphorus ở đầu ra đến giá trị nhỏ hơn 1.5mg/l trước khi lọc.



**Bảng 7-2. Sự thuận lợi và bất lợi của các quá trình loại thải phosphorus sinh học.**

<b>Quá trình</b>	<b>Thuận lợi</b>	<b>Không thuận lợi</b>
<b>A/O</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sự vận hành đơn giản so với các quá trình khác.</li> <li>- Bùn thải có thành phần phosphorus cao (3-5%) và có giá trị làm phân bón.</li> <li>- Thời gian lưu nước ngắn.</li> <li>- Mức độ làm giảm hiệu quả của việc khử phosphorus có thể chấp nhận được, quá trình có lẽ đạt đến việc nitrate hóa hoàn toàn.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Không có khả năng đạt đến mức độ cao của việc khử phosphorus và nitrogen đồng thời.</li> <li>- Trong điều kiện thời tiết lạnh, quá trình vận hành không bảo đảm.</li> <li>- Đòi hỏi tỷ số BOD/P cao.</li> <li>- Thời gian lưu tế bào hiếu khí giảm, thì đòi hỏi phải có thiết bị cung cấp oxy với tốc độ rất cao.</li> <li>- Sự linh động kiểm soát quá trình bị giới hạn.</li> </ul>
<b>PhoStrip</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Có thể kết hợp dễ dàng vào trong các hệ thống xử lý bùn hoạt tính đang tồn tại.</li> <li>- Quá trình linh hoạt : quá trình khử phosphorus không bị điều khiển bởi tỷ số BOD/phosphorus.</li> <li>- Một vài khu xử lý ở US.</li> <li>- Ít sử dụng hóa chất hơn so với sự kết tủa hóa học dòng chính.</li> <li>- Có thể đạt đến nồng độ orthophosphate thấp hơn 1.5mg/l.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Yêu cầu thêm vôi để kết tủa phosphorus.</li> <li>- Yêu cầu oxy hòa tan cao hơn của dịch trộn để ngăn cản sự giải phóng phosphorus trong bể lọc cuối cùng.</li> <li>- Đòi hỏi phải có thêm bể cho việc làm sạch.</li> <li>- Cặn vôi là một vấn đề cho việc duy trì.</li> </ul>
<b>Phản ứng từng mẻ liên tục</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Quá trình rất linh hoạt cho việc kết hợp việc khử nitrogen và phosphorus.</li> <li>- Quá trình đơn giản để vận hành</li> <li>- Chất rắn dịch trộn không thể được rửa sạch bởi sự dâng nước</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Chỉ thích hợp với những dòng chảy nhỏ.</li> <li>- Đòi hỏi phải có các đơn vị thừa.</li> <li>- Chất lượng nước đầu ra tùy thuộc vào thiết bị lắng.</li> <li>- Thông số thiết kế hạn chế.</li> </ul>

## **7.2. Việc khử nitrogen và phosphorus kết hợp bằng các phương pháp xử lý sinh học.**

Một số các quá trình sinh học đã và đang phát triển cho việc khử kết hợp nitrogen và phosphorus. Nhiều quá trình của phương pháp này là độc quyền và sử dụng một dạng của quá trình bùn hoạt tính, nhưng kết hợp các vùng kỵ khí, thiếu khí và hiếu khí hoặc những ngăn để tiến hành loại thải nitrogen và phosphorus. Một vài quá trình xuất phát từ việc loại thải phosphorus sau đó được kết hợp vào các hệ thống loại thải phosphorus và nitrogen. Hầu hết thường sử dụng các quá trình cho việc loại thải phosphorus và nitrogen kết hợp là (1) quá trình A<sup>2</sup>/O, (2) quá trình Bardenpho 5 giai đoạn, những quá trình này sẽ được mô tả trong phần này. Hai quá trình trên được mô hình hóa ở hình 7-3. Những thông tin thiết kế điển hình được giới thiệu ở bảng 7-3. Phản ứng theo mẻ liên tục, được mô tả ở phần đầu, cũng được sử dụng cho việc khử nitrogen và phosphorus kết hợp.

**Bảng 7-3.** Các thông số thiết kế cho quá trình khử nitrogen và phosphorus kết hợp

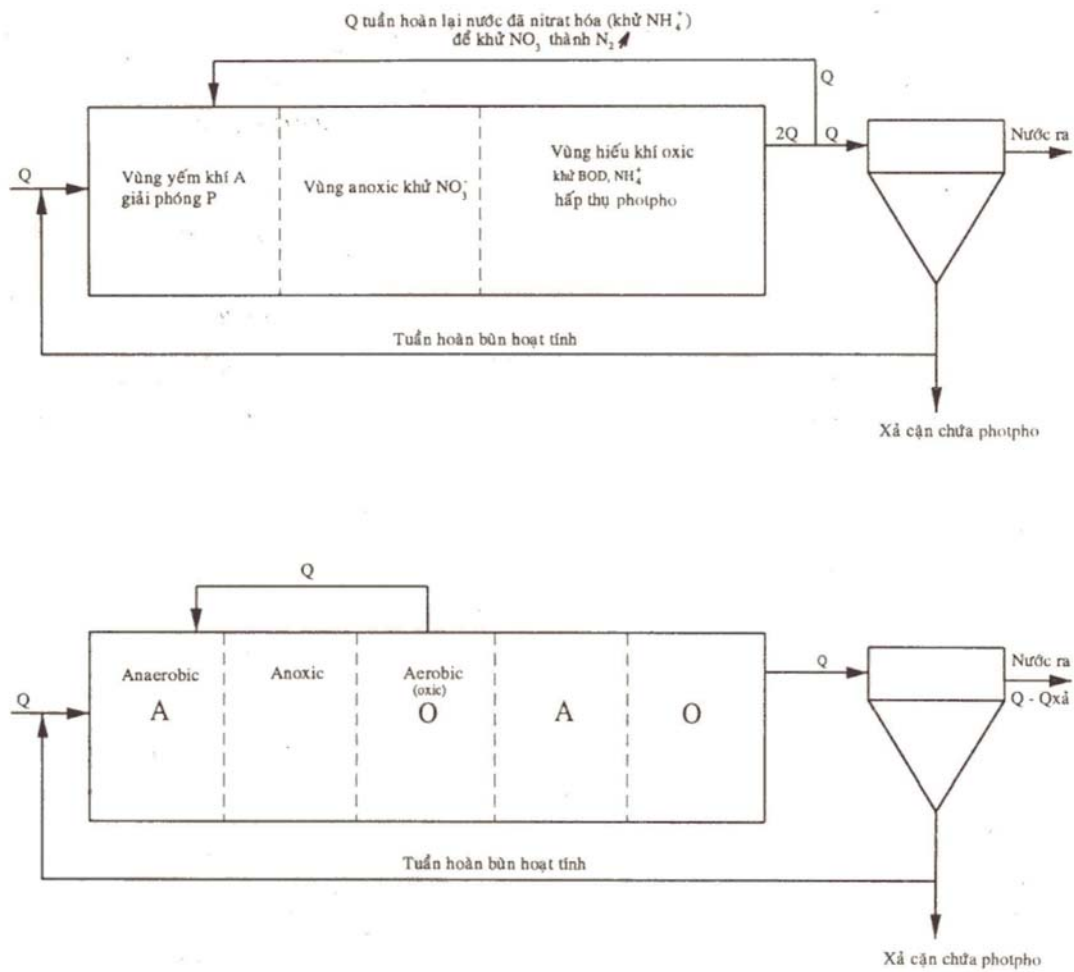
Thông số	Đơn vị	Quá trình	
		A <sup>2</sup> /O	5 giai đoạn
Tỷ số thức ăn / chất nền	Kg BOD/kg chất nền.ngày	0.15-0.25	0.1-0.2
Thời gian lưu chất rắn	Ngày	4-7	10-40
Chất rắn lơ lửng trong dịch	Mg/l	3.000-5.000	2.000-4.000
Thời gian lưu nước	Giờ		
Vùng kỵ khí		0.5-1.5	1-2
Vùng thiếu khí -1		0.5-1	2-4
Vùng hiếu khí -1		3.5-6	4-12
Vùng thiếu khí -2			2-4
Vùng kỵ khí -2			0.5-1
Bùn hoạt tính hồi lưu	% nước thải	20-50	50-100

### 7.2.1. Quá trình A<sup>2</sup>/O.

Quá trình A<sup>2</sup>/O là một sửa đổi của quá trình A/O và cung cấp thêm một vùng thiếu khí cho sự sửa đổi này (hình 7-2 bên trên trên). Thời gian lưu nước trong vùng thiếu khí khoảng chừng 1 giờ. Vùng thiếu khí thiếu hụt oxy hòa tan, nhưng oxy hóa hợp dưới dạng nitrate và nitrite được đưa vào bởi dịch trộn hồi lưu từ phần hiếu khí. Nồng độ phosphorus trong nước thải đầu ra thường nhỏ hơn 2mg/l có thể được mong đợi không cần phải qua lọc, nhưng nếu qua lọc thì nồng độ phosphorus có thể giảm xuống thấp hơn 1.5mg/l.

### 7.2.2. Quá trình 5 giai đoạn

Quá trình 5 giai đoạn có thể được sửa đổi cho việc khử kết hợp nitrogen và phosphorus. Việc sửa đổi quá trình 5 giai đoạn kết hợp thêm một giai đoạn thứ 5 (giai đoạn kỵ khí) dùng cho việc khử phosphorus (xem hình 7-3 bên dưới). Phương pháp liên tục và hồi lưu khác với quá trình A<sup>2</sup>/O. Hệ thống 5 giai đoạn cung cấp các giai đoạn kỵ khí, thiếu khí và hiếu khí để khử phosphorus, nitrogen và carbon. Giai đoạn thiếu khí thứ 2 được cung cấp cho quá trình nitrate hóa phụ thêm sử dụng nitrate được sinh ra trong giai đoạn hiếu khí như là chất nhận điện tử và carbon hữu cơ nội sinh như là chất cho điện tử. Giai đoạn hiếu khí cuối cùng được sử dụng để làm sạch khí nitrogen từ dung dịch và làm giảm tối thiểu sự giải phóng phosphorus trong thiết bị làm sạch cuối cùng. Dịch trộn từ vùng hiếu khí thứ nhất được hồi lưu trở lại vùng thiếu khí.



Hình 7-3. Sơ đồ công nghệ trạm xử lý  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^-$ , BOD

### 7.2.3. So sánh các quá trình khử nitrogen và phosphorus sinh học kết hợp.

Việc so sánh các quá trình khử nitrogen và phosphorus sinh học kết hợp được giới thiệu ở bảng 7-4. Các thuận lợi được chia sẻ bởi tất cả các quá trình này là số lượng bùn hoạt tính được sinh ra so với việc sản xuất bùn từ các hệ thống bùn hoạt tính truyền thống, và cần ít hoặc không cần thiết có các chất hóa học cho việc khử phosphorus. Một vài quá trình được sửa đổi có thể được sử dụng chỉ để khử nitrogen hoặc phosphorus.

**Bảng 7-4. Những thuận lợi và bất lợi của quá trình khử nitrogen và phosphorus kết hợp.**

<b>Quá trình</b>	<b>Những thuận lợi</b>	<b>Không thuận lợi</b>
<b>A<sup>2</sup>/O</b>	Bùn thải có thành phần phosphorus khá cao (3-5%) và có giá trị làm phân bón. Cung cấp khả năng phản nitrate hóa tốt hơn A/O	Khó vận hành dưới thời tiết lạnh. Phức tạp hơn A/O
<b>Quá trình 5 giai đoạn</b>	Sinh ra bùn hoạt ít nhất trong tất cả các hệ thống loại phosphorus. Bùn thải có thành phần phosphorus khá cao và có giá trị làm phân bón. Tổng nitrogen giảm đến mức độ thấp hơn hầu hết các quá trình khác. Kiểm quay trở lại hệ thống, bằng cách này làm giảm hoặc loại trừ sự cần thiết cho việc bổ sung hóa chất. Được sử dụng rộng rãi ở Nam phi và các dữ liệu quan trọng có sẵn.	Tuần hoàn nội lớn tăng năng lượng cung cấp và yêu cầu duy trì. Kinh nghiệm giới hạn ở US. Đòi hỏi cung cấp thêm hóa chất. Đòi hỏi thể tích bể phản ứng hơn quá trình A/O. Sự lắp đặt ban đầu giảm khả năng của quá trình để loại bỏ nitrogen và phosphorus. Yêu cầu tỷ số BOD/P cao. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên quá trình không rõ ràng.

## Chương 8

# CÁC HỆ THỐNG XỬ LÝ TỰ NHIÊN VÀ ỨNG DỤNG



### 8.1. Các hệ thống xử lý tự nhiên

Trong môi trường tự nhiên, các quá trình vật lý, hóa học, sinh học xảy ra khi nước đất, hệ thực vật, vi sinh vật và khí quyển tương tác với nhau. Hệ thống xử lý tự nhiên được thiết kế nhằm tận dụng lợi thế của các quá trình này để cung cấp cho các quá trình xử lý nước thải. Các quá trình liên quan trong hệ thống tự nhiên bao gồm nhiều quá trình được sử dụng trong các hệ thống xử lý cơ học hoặc bán cơ học - lắng đọng chất nền, lọc, trao đổi khí, hấp thụ, trao đổi ion, kết tủa hóa học, oxy hóa khử (oxydation/reduction) hóa học, chuyển hóa (conversion) và biến thoái (degradation) sinh học - đặc biệt hơn nữa là các hệ thống sinh học như quang hợp, quang oxy hóa, đồng hóa thực vật. Trong hệ thống tự nhiên, các quá trình xảy ra với tốc độ “tự nhiên” và có khuynh hướng xảy ra đồng thời trong một “phản ứng hệ sinh thái” giản đơn, trái với hệ thống cơ học mà trong đó các quá trình xảy ra tuần tự trong các bể phản ứng riêng biệt với tốc độ tăng cao liên quan đến việc cung cấp năng lượng.

Hệ thống xử lý tự nhiên trong phần này bao gồm : (1) hệ thống xử lý bằng đất - tốc độ chậm (slow-rate), rỉ nhanh (rapid infiltration), chảy tràn bề mặt (overland flow) và (2) hệ thống thủy sinh vật - đất ngập nước tự nhiên (natural wetland) và hệ thống xử lý bằng thực vật thủy sinh (floating aquatic plant). Chủ đề chính yếu trong phần này là: (1) sự phát triển của các hệ thống xử lý bằng đất đai, (2) các vấn đề đáng quan tâm cơ bản trong các hệ thống tự nhiên, (3) hệ thống tốc độ chậm, (4) hệ thống thấm nhanh, (5) hệ thống chảy tràn bề mặt, (6) các hệ thống đất ngập nước nhân tạo, và (7) các hệ thống thực vật thủy sinh. Việc áp dụng cho nước thải được thảo luận ở chương 9.

#### 8.1.1. Sự phát triển của các hệ thống xử lý tự nhiên

Một khái quát về các hệ thống xử lý tự nhiên được cung cấp trong chương này. Lịch sử ứng dụng, các tính chất và mục tiêu của các hệ thống được sử dụng trong hiện tại sẽ được trình bày.

##### 8.1.1.1. Các hệ thống xử lý tự nhiên ở Mỹ.

Việc sử dụng các hệ thống xử lý tự nhiên bằng đất đai ở US đã hình thành từ những thập niên 1880. Ở châu Âu, cánh đồng thả (được sử dụng sớm hơn) đã trở nên phổ biến như là một bước tiến để kiểm soát ô nhiễm nước. Trong nửa đầu của thế kỷ 20, những hệ thống này nhìn chung đã được thay thế bởi hoặc là hệ thống xử lý bằng thực vật hoặc bằng các

cánh đồng được quản lý nơi mà nước thải đã qua xử lý được sử dụng cho việc sản xuất nông sản, vùng tưới tiêu hoặc khu vực làm sạch nước ngầm. Những hệ thống xử lý mới bằng đất đai này đã có khuynh hướng phát triển chiếm ưu thế ở phía Tây US, nơi mà giá trị của nước thải được xem như là một lợi thế.

Số lượng những vùng ở US đang sử dụng việc xử lý tự nhiên gia tăng từ 304 năm 1940 đến 571 (phục vụ cho 6.6 triệu dân) năm 1972, nhưng tổng số này chỉ cho thấy một phần trăm nhỏ trong 15.000 vùng dân cư sử dụng hệ thống xử lý này. Theo Clean Water Act vào năm 1972, việc đầu tư vào các hệ thống xử lý bằng đất đai đã được làm sống lại như là một kết quả nhấn mạnh rằng những khu xử lý này được đặt làm nơi sử dụng lại nước thải, quay vòng chất dinh dưỡng và sử dụng nước thải cho phát triển nông nghiệp. Sự hỗ trợ tài chính bởi Act đã thúc đẩy những nghiên cứu rộng rãi và phát triển công nghệ hệ thống xử lý tự nhiên, dẫn đến sự chấp nhận nó trong các lãnh vực của kỹ thuật xử lý nước thải như là một kỹ thuật quản lý sẽ được xem là tương đương với bất kỳ hình thức xử lý nào.

Những phát triển gần đây nhất trong công nghệ hệ thống xử lý tự nhiên là sử dụng các vùng đất ngập nước với thực vật nổi và hệ thống thủy sinh với thực vật lơ lửng. Lợi ích của việc xử lý nước thải bằng vùng đất ngập nước phát triển kết quả là một hình thức xử lý mới kết vùng đất ngập nước với thực vật thủy sinh và hệ thống xử lý tự nhiên. Thực vật nổi được sử dụng ban đầu để phát triển hình thức xử lý bằng hồ sinh học cổ truyền và các ao ổn định, nhưng xa hơn nữa là sự phát triển của ứng dụng này đã đạt được kết quả trong công nghệ độc đáo của hệ thống thủy sinh.

#### *8.1.1.2. Các tính chất và mục tiêu của hệ thống xử lý tự nhiên.*

Những đặc tính vật lý, mục tiêu thiết kế, và khả năng xử lý của các loại hình khác nhau của hệ thống tự nhiên được mô tả và so sánh trong phần này. Sự so sánh các đặc tính của khu xử lý, các đặc tính thiết kế điển hình, và số lượng mong đợi của nước thải đã được xử lý từ các loại hình chủ yếu của các hệ thống xử lý tự nhiên sẽ được giới thiệu ở bảng 8-1, 8-2 và 8-3. Tất cả các hình thức của hệ thống xử lý tự nhiên đã được giới thiệu trước đây qua một vài dạng tiền xử lý cơ học. Đối với nước thải, một hệ lắng nhỏ là cần thiết để loại bỏ các chất rắn thô có thể gây cản trở cho hệ thống phân phối và tạo ra điều phiền toái không đáng có. Điều cần thiết để làm cho hệ tiền xử lý vượt quá một vài mức nhỏ sẽ tùy thuộc vào mục tiêu của hệ thống và những đòi hỏi thường xuyên. Khả năng của hệ thống tự nhiên dùng cho xử lý nước thải là hạn chế, các hệ thống phải được thiết kế và quản lý phù hợp với khả năng của hệ thống đó. Các chi tiết của việc định giá vị trí, xử lý ban đầu, và thiết kế quá trình cho mỗi loại hệ thống được thảo luận trong những phần sau.

**Bảng 8-1.** So sánh các đặc điểm của vị trí đối với hệ thống xử lý tự nhiên.



Đặc điểm	Tốc độ chậm	Rỉ nhanh	Chảy tràn bề mặt	Đất ngập nước	Thực vật thủy sinh
<b>Điều kiện khí hậu</b>	Cần lưu trữ trong mùa đông và suốt thời gian tuyết rơi	Không (có thể vận hành trong mùa đông)	Cần lưu trữ trong mùa đông và suốt thời gian tuyết rơi	Có thể không cần lưu trữ trong thời tiết lạnh	Có thể cần lưu trữ trong thời tiết lạnh
<b>Độ sâu đến nước ngầm</b>	0.6 - 1m (ít nhất)	3m (độ sâu ít hơn có thể chấp nhận ở những nơi có hệ thống thoát nước ngầm)	Không có vấn đề	Không có vấn đề	Không có vấn đề
<b>Độ dốc của đất</b>	<15% đối với đất trồng trọt, <40% đối với đất rừng	Không thành vấn đề, độ dốc quá mức thì đòi hỏi nhiều công sức hơn.	1 - 8%	Thường <5%	Thường <5%
<b>Độ thấm của đất</b>	Tốc độ trung bình đến nhanh	Nhanh (cát, cát mùn)	Thấp (sét, phù sa và đất với chấn không thấm)	Thấp đến trung bình	Thấp đến trung bình

**Bảng 8-2.** So sánh các đặc tính thiết kế của các hệ thống xử lý tự nhiên.

Đặc tính	Tốc độ chậm (loại 1)	Tốc độ chậm (loại 2)	Rỉ nhanh	Chảy tràn mặt đất	Đất ngập nước	Thực vật thủy sinh
<b>Kỹ thuật áp dụng</b>	Phun nước hoặc bề mặt	Phun nước hoặc bề mặt	Luôn luôn bề mặt	Phun nước hoặc bề mặt	Phun nước hoặc bề mặt	Bề mặt
<b>Tốc độ tải thủy hàng năm (m/năm)</b>	1.7-6.1	0.61-2.0	6.1-91.4	7.3-56.7	5.5-18.3	5.5-18.3
<b>Diện tích yêu cầu (ha/10<sup>3</sup>m<sup>3</sup>/ngày)</b>	6-21.4	18.2-58.8	0.4-6.0	0.6-4.8	2.0-6.6	2.0-6.6
<b>Xử lý tiên ứng dụng thấp nhất được cung cấp</b>	Tiền xử lý Lắng nền đáy	Tiền xử lý Lắng nền đáy	Tiền xử lý Lắng nền đáy	Sàng rác	Tiền xử lý Lắng nền đáy	Tiền xử lý Lắng nền đáy
<b>Cách thức nước thải được áp dụng</b>	Thoát hơi nước và thấm vào trong đất	Thoát hơi nước và thấm vào trong đất	Chủ yếu là thấm vào trong đất	Chảy bề mặt và thấm bay hơi với thấm vào một ít	Thoát hơi nước và thấm vào trong đất	Thoát hơi nước một ít
<b>Cần cho thực vật</b>	Yêu cầu	Yêu cầu	Không bắt buộc	Yêu cầu	Yêu cầu	Yêu cầu

Ghi chú: lắng nền đáy tùy thuộc vào việc sử dụng nước thải và loại cây trồng.

**Bảng 8-3.** So sánh chất lượng nước đã được xử lý từ các hệ thống tốc độ chậm, rỉ nhanh và chảy tràn mặt đất.

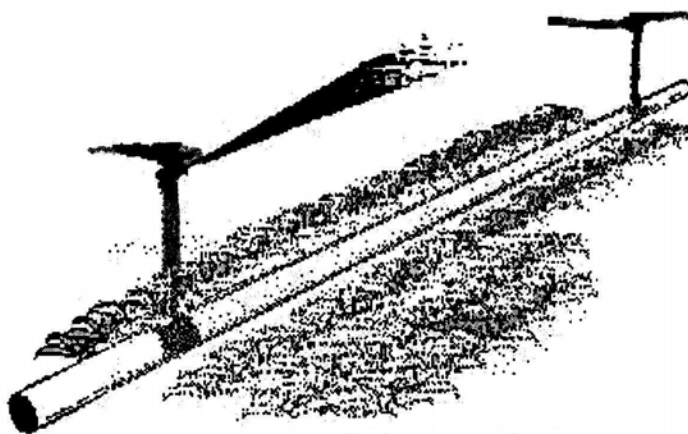
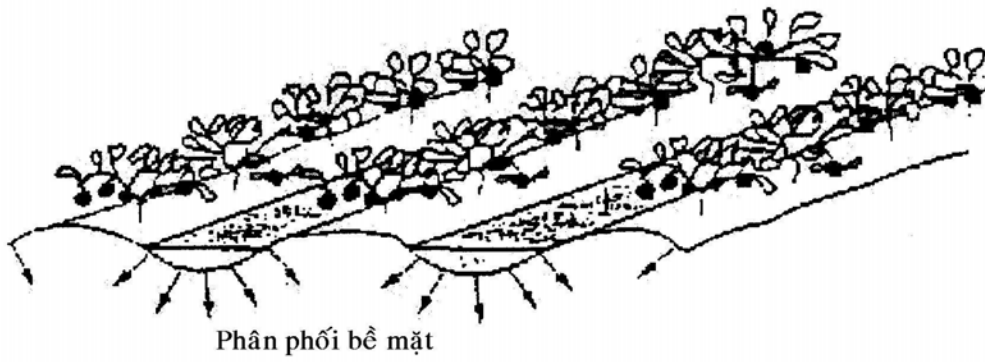
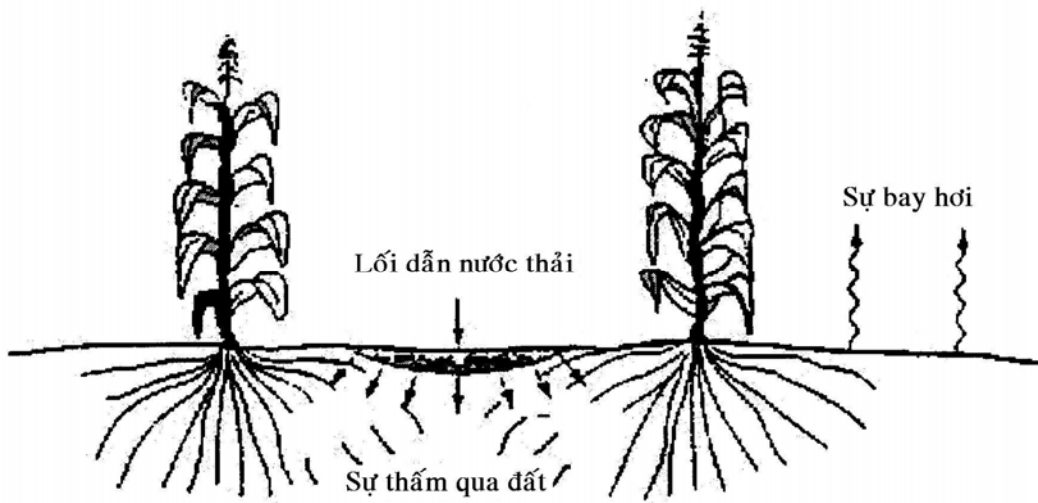
Thành phần	Giá trị, mg/l					
	Tốc độ chậm		Rỉ nhanh		Chảy tràn mặt đất	
	Trung bình	Cực đại	Trung bình	Cực đại	Trung bình	Cực đại
BOD	<2	<5	2	<5	10	<15
SS	<1	<5	2	<5	15	<25
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	<0.5	<2	0.5	<2	1	<3
Tổng N (N)	3	<8	10	<20	5	<8
Tổng P (P)	<0.1	<0.3	1	<5	4	<6

### 8.1.2. Tốc độ chậm (slow-rate) :

Xử lý tốc độ chậm là quá trình xử lý tự nhiên chiếm ưu thế ngày nay, liên quan đến việc sử dụng nước thải cho các vùng đất hoa màu dùng cho việc xử lý nước thải và cho nhu cầu phát triển của thực vật. Nước thải được sử dụng hoặc là qua quá trình bay hơi hoặc là thấm vào trong đất (hình 8-1). Mỗi dòng chảy trên bề mặt được tập trung lại và sử dụng cho hệ thống, quá trình xử lý xảy ra khi nước thải thấm qua lớp đất. Trong hầu hết các trường hợp, qua quá trình thấm nước sẽ đi vào tầng nước ngầm, nhưng trong một vài trường hợp, nước đã qua xử lý có thể được tiếp nhận bởi hệ thống nước mặt hoặc vào trong hệ thống nước giếng. Tốc độ xử lý mà hệ thống này đạt được trên một đơn vị diện tích (tốc độ tải thủy - hydraulic loading rate), sự lựa chọn và quản lý thực vật là mục tiêu của việc thiết kế hệ thống và điều kiện của vùng đất sẽ được bàn đến ở phần sau.

Hệ tốc độ chậm thường được xếp vào loại 1 hoặc loại 2 tùy thuộc vào mục tiêu thiết kế. Một hệ thống tốc độ chậm được xem là loại 1 khi mục tiêu chính là xử lý nước thải và tốc độ tải thủy là không kiểm soát được bởi những nhu cầu nước cho thực vật chứ không phải thông số thiết kế hạn chế - khả năng thấm của đất hoặc tải lượng các thành phần nước thải. Loại 2, được thiết kế với mục tiêu tái sử dụng nước thải qua việc sản xuất nông phẩm hoặc tưới tiêu cho khu giải trí (landscape irrigation) thường được nói đến như là một hệ thống tưới tiêu nước thải hoặc tưới tiêu đồng ruộng.

Nước thải có thể được dùng cho đất nông trại hoặc vùng cây xanh (bao gồm cả đất rừng) bởi các phương thức phân tán đa dạng (hình 8.1). Các chu kỳ ứng dụng không thường xuyên, điển hình từ 4-10 ngày, được dùng để duy trì điều kiện hiếu khí trong lớp đất. Hệ tốc độ chậm kết hợp với sự có mặt của thực vật và hệ thống sinh thái đất đã làm cho hệ tốc độ chậm một tiềm năng xử lý lớn nhất của hệ thống xử lý tự nhiên (bảng 8-3).

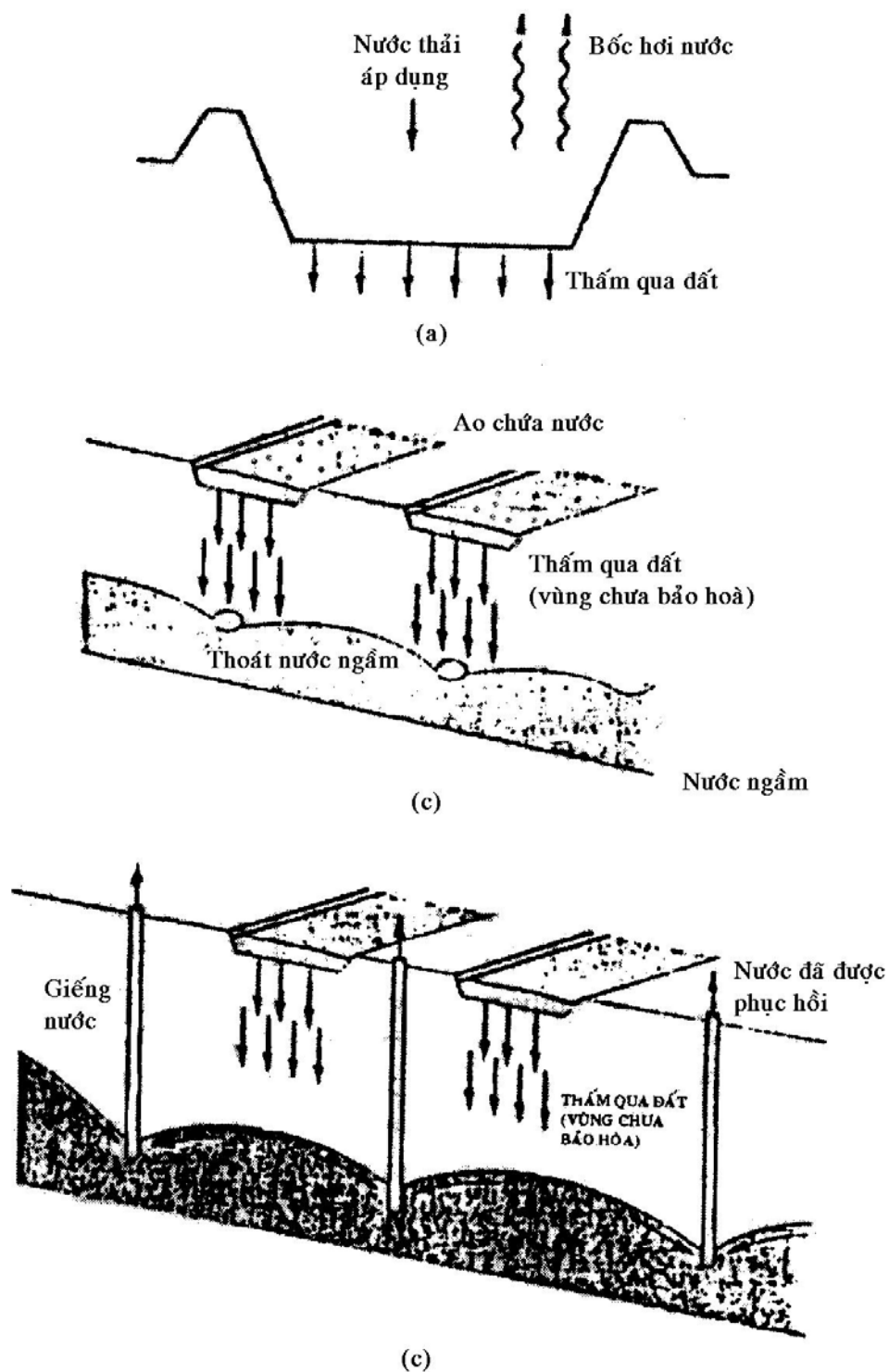


Hệ thống xử lý tốc độ chậm (slow-rate systems)

**Hình 8.1.** Các phương thức phân tán nước thải

### **8.1.3. Rỉ nhanh (*rapid infiltration*).**

Trong hệ thống rỉ nhanh, nước thải đã được xử lý sơ bộ được sử dụng cho một thời hạn không thường xuyên ở trong các ao phân tán, như hình 8-3. Xử lý nước thải bởi hệ thống tưới tốc độ cao cũng được tiến hành. Thực vật thường không được cung cấp cho các ao lọc nhưng cần thiết cho việc ứng dụng các thiết bị phun. Bởi vì tốc độ tải hoạt thường cao, nên sự thoát hơi ít và hầu hết nước thải thấm qua lớp đất nơi mà quá trình xử lý xảy ra. Mục tiêu thiết kế cho hệ lọc nhanh bao gồm (1) xử lý để tái tạo nguồn nước ngầm để tăng nguồn nước cấp hoặc bảo vệ sự xâm nhập của nước mặn (*saltwater intrusion*), (2) xử lý để tái tạo nguồn nước của túi nước ngầm nông hoặc tái thu hồi nước bơm, và (3) xử lý để tái thiết dòng chảy và lấy lại nguồn nước mặt. (xem hình 8-2). Tiềm năng của hệ rỉ nhanh thấp hơn hệ tốc độ chậm bởi vì khả năng giữ nước thấp hơn và cao hơn về tốc độ tải hoạt thủy lực (xem bảng 8-3).

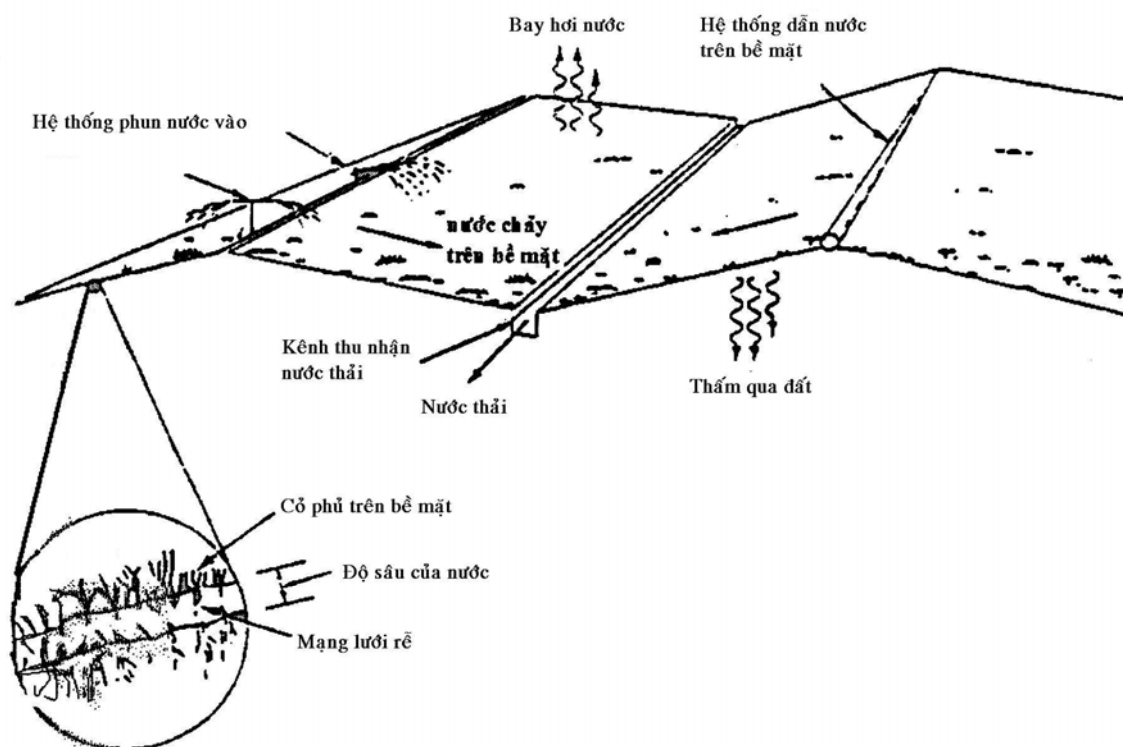


**Hình 8-2.** Các phương thức rỉ nhanh (a) con đường tải nước, (b) con đường phục hồi nước bằng hệ thống thoát nước ngầm, (c) con đường phục hồi nước bằng sử dụng hệ thống giếng.

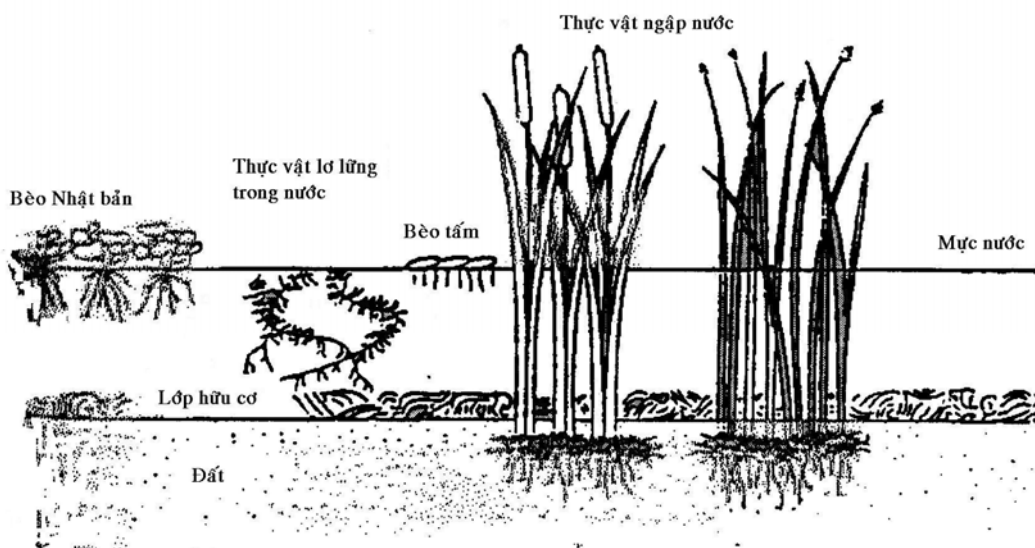
#### **8.1.4. Hệ chảy tràn bề mặt (overland-flow)**

Trong hệ chảy tràn bề mặt, nước thải đã qua tiền xử lý được phân phối dọc theo các đường dốc xuống theo các luống cây điều này cho phép nước thải có thể chảy tràn bề mặt từ các luống đến bờ đê tiếp nhận phía dưới (xem hình 8-3). Hệ chảy tràn bề mặt thường được sử dụng ở những vùng có lớp đất bề mặt hoặc lớp đất bên dưới không thấm tốt, vì thế phương thức xử lý này được ứng dụng cho sự biến động lớn về khả năng thấm của đất bởi vì đất bề mặt có khuynh hướng bị đóng cứng theo thời gian.

Quá trình thấm qua đất là một phương thức thủy lực yếu và hầu hết nước thải được tập trung theo các dòng chảy bề mặt, một phần nước sẽ bị mất đi qua quá trình bốc hơi, lượng nước bị bốc hơi biến động theo thời gian trong năm và theo thời tiết của vùng đó. Các hệ thống này được ứng dụng luân phiên tùy theo từng mùa và tùy thuộc vào mục tiêu xử lý. Sự phân phối nước thải có thể được tiến hành bằng các dụng cụ phân tán nước dưới áp suất cao, phun thành dạng sương ở áp suất thấp hoặc phân tán bề mặt bằng các ống dẫn.



**Hình 8-3 :** Quá trình chảy tràn bề mặt (overland - flow process)



**Hình 8-4.** Hệ thực vật thủy sinh bậc cao (common - aquatic plants system)

### 8.1.5. Đất ngập nước (*wetland*)

Đất ngập nước là một vùng đất có nước với độ sâu của nước nhỏ hơn 0.6m, thích hợp cho sự phát triển của thực vật nhô lên bề mặt (*emergent plant*) như đuôi mèo (*cattail*), cỏ nến (*bulrush*), lau sậy (*reed*) và lách (*sedge*) (hình 8-4). Thực vật tạo nên bề mặt cho sự bám vào của vi khuẩn tạo nên một màng lọc sinh vật, giúp ích cho quá trình lọc và hấp thụ các thành phần dinh dưỡng trong nước thải, trao đổi oxygen trong cột nước và kiểm soát tốc độ phát triển của tảo bằng cách hạn chế sự xuyên qua của ánh sáng mặt trời. Cả hai loại đất ngập nước tự nhiên (*natural wetland*) và đất ngập nước nhân tạo (*constructed wetland*) đều được sử dụng cho xử lý nước thải, cho dù việc sử dụng đất ngập nước tự nhiên nhìn chung bị hạn chế trong việc làm sạch hoặc xử lý nước thải đã được xử lý thứ cấp hoặc đã được xử lý cấp tiến.

#### 8.1.5.1. Đất ngập nước tự nhiên (*natural wetland*)

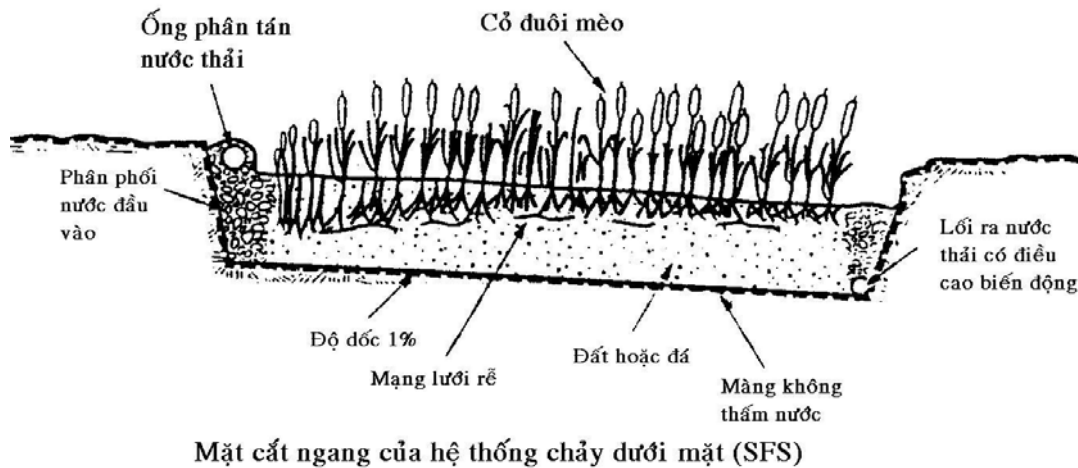
Từ quan điểm điều chỉnh, các vùng đất ngập nước được xem là nơi tiếp nhận nước. Kết quả là nước xả vào vùng đất ngập nước, trong hầu hết các trường hợp đòi hỏi phải có sự điều tiết, mà những đòi hỏi này được quy định rõ ràng là xử lý thứ cấp hoặc xử lý cấp tiến. Hơn nữa, mục tiêu chính là khi xả vào vùng đất ngập nước tự nhiên sẽ làm tăng cường sự phát triển các quần thể sinh vật tồn tại trong đó. Việc chỉnh sửa các vùng đất ngập nước tự nhiên nhằm tăng cường khả năng xử lý thường rất dễ bị phá vỡ đối với hệ thống sinh thái tự nhiên và nói một cách tổng quát sẽ không đạt được.

#### 8.1.5.2. Đất ngập nước nhân tạo (*constructed wetland*)

Đất ngập nước nhân tạo thường có đầy đủ các khả năng xử lý của đất ngập nước tự nhiên nhưng không kết hợp với việc xả vào hệ thống sinh thái tự nhiên. Hai loại đất ngập nước nhân tạo được phát triển cho việc xử lý nước thải (1) hệ thống bề mặt nước tự do (*free water surface - FWS*) và hệ thống chảy dưới bề mặt (*subsurface flow system - SFS*). Khi được sử dụng để xử lý nước ở mức độ thứ cấp hoặc mức độ cấp tiến, hệ thống FWS thường bao gồm các ao hoặc kênh song song với đất không thấm bên dưới hoặc chắn dưới bề mặt (*subsurface barrier*), thực vật nhô lên mặt nước và nước cạn 0.1 - 0.6m. Nước thải tiền xử lý thường được dùng liên tục cho những hệ thống như thế này và quá trình xử lý xảy ra khi nước chảy chậm qua thân và rễ của thực vật. Hệ thống FWS có thể cũng được thiết kế với mục đích tạo ra những quần thể hoang dã mới hoặc tăng cường các vùng đất ngập nước tự nhiên đang tồn tại bên cạnh thực vật bậc cao thủy sinh nổi. Những hệ thống như thế này bao gồm sự kết hợp của thực vật, vùng nước mở và các bán đảo cùng với sự phát triển của thực vật cung cấp thức ăn cho các quần thể động vật trong đó. Hệ thống chảy dưới mặt được thiết kế với mục đích cho mức độ xử lý cấp hai hoặc xử lý cấp tiến. Những hệ thống xử lý này



cũng được gọi là “vùng rễ” (root zone) bao gồm các kênh với lớp đáy không thấm được lấp đầy bởi các lớp đá và cát để nâng đỡ thực vật. (hình 8.5).



**Hình 8.5.** Mặt cắt ngang của hệ thống chảy dưới mặt (SFS) điển hình

#### 8.1.6. Hệ thực vật thủy sinh bậc cao (floating aquatic plant)

Hệ thống thực vật thủy sinh bậc cao giống như hệ thống FWS ngoại trừ các loài thực vật ở đây là thực vật nổi như bèo Nhật bản, bèo tấm (hình 8-4). Độ sâu của nước sâu hơn hệ thống đất ngập nước dao động từ 0.5 - 1.8 m. Sự sục khí bổ sung được sử dụng với hệ thống thực vật nổi để làm tăng khả năng xử lý và duy trì điều kiện hiếu khí cần thiết cho việc kiểm soát sinh học sự phát triển của muỗi. Cả hai hệ thống bèo Nhật bản và bèo tấm được sử dụng để loại bỏ tảo từ nước thải của hồ sinh học và ao ổn định, trong khi đó hệ thống bèo Nhật bản được thiết kế để cung cấp cho mức độ xử lý cấp hai và cấp tiến. Các quá trình tải thủy thường xuyên và đòi hỏi các vùng đặc biệt cho hệ thống thực vật nổi giống với hệ thống đất ngập nước. (xem bảng 8-2).

#### 8.1.7. Hệ nuôi trồng thủy sản (aquaculture)

Nuôi trồng thủy sản là sự phát triển cá và các loài thủy sản khác trong việc sản xuất nguồn thực phẩm. Nước thải được sử dụng trong nhiều phương thức nuôi trồng khắp thế giới. Tuy nhiên, trong hầu hết các trường hợp, việc sản xuất sinh khối là mục tiêu đầu tiên của hệ thống và bất kỳ hình thức xử lý chỉ là lợi tức phụ thêm. Hầu hết hiệu quả xử lý đạt được trong hệ thống nuôi thủy sản đều được quy cho vi khuẩn bám vào thực vật thủy sinh. Có ít bằng chứng cho thấy cá đóng vai trò trực tiếp trong xử lý. Việc kết hợp xử lý tự nhiên với nuôi trồng thủy sản trong việc ứng dụng độc lập đòi hỏi phải nghiên cứu nhiều hơn. Đặc biệt là những nguy hiểm đối với sức khỏe khi sự phát triển của thủy sinh vật trong nước thải không được kiểm soát.

## 8.2. Những nghiên cứu cơ bản trong việc áp dụng hệ thống xử lý tự nhiên.

Biết được các đặc tính của nước thải, các cơ chế xử lý, những ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng và những yêu cầu thường xuyên là nền tảng cho việc thiết kế thành công và ứng dụng các hệ thống xử lý tự nhiên.

### 8.2.1. Các đặc tính của nước thải và cơ chế xử lý

Như đã mô tả trong phần giới thiệu, xử lý nước thải trong hệ thống tự nhiên được thực hiện bởi các quá trình vật lý, hóa học và sinh học tự nhiên mà các quá trình này xảy ra trong hệ thống sinh thái đất - nước - thực vật. Hệ thống tự nhiên có khả năng loại bỏ ít nhất một vài thành phần ưu thế hay không ưu thế của nước thải chúng bao gồm các chất được xem là chất gây ô nhiễm - chất rắn lơ lửng, chất hữu cơ, nitrogen, phosphorus, vi lượng, vi lượng hữu cơ và vi sinh vật (bảng 8-4). Các quá trình cơ bản chịu trách nhiệm loại bỏ các thành phần được mô tả trong phần này.

**Bảng 8-1.** Các thành phần điển hình của nước thải sinh hoạt chưa xử lý.

Chất gây ô nhiễm	Đơn vị	Nồng độ		
		Thấp	Trung bình	Cao
Chất rắn tổng (TS)	mg/l	350	720	1200
Chất rắn hòa tan tổng (TDS)	mg/l	250	500	850
Cố định	mg/l	145	300	525
Bay hơi	mg/l	105	200	325
Chất rắn lơ lửng (SS)	mg/l	100	220	350
Cố định	mg/l	20	55	75
Bay hơi	mg/l	80	165	275
Chất rắn có thể ổn định được	ml/l	5	10	20
BOD <sub>5</sub> (20 <sup>o</sup> C)	mg/l	110	220	400
Tổng Carbon hữu cơ (TOC)	mg/l	80	160	290
COD	mg/l	250	500	1000
Tổng Nitrogen (tính theo N)	mg/l	20	40	85
Hữu cơ	mg/l	8	15	35
Ammonia	mg/l	12	25	50
Nitrite	mg/l	0	0	0
Nitrate	mg/l	0	0	0
Tổng phosphorus (tính theo P)	mg/l	4	8	15
Hữu cơ	mg/l	1	3	5
Vô cơ	mg/l	3	5	10
Chloride	mg/l	30	50	100
Sulfate	mg/l	20	30	50
Kiểm (tính theo CaCO <sub>3</sub> )	mg/l	50	100	200
Chất béo	mg/l	50	100	150
Tổng coliform	no/100ml	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup> -10 <sup>9</sup>
Các hợp chất hữu cơ bay hơi (VOCs)	µg/l	<100	100-400	>400

**Chất rắn lơ lửng.** Trong các hệ thống mà tính chất của nước chảy trên mặt đất - hệ chảy tràn, đất ngập nước, và thực vật thủy sinh - chất rắn lơ lửng trong nước thải được loại bỏ một phần nhờ sự lắng nền đáy, tăng cường bởi quá trình chảy với tốc độ rất chậm và một phần bởi sự lọc của thực vật. Việc loại bỏ chất rắn cũng xảy ra tại bề mặt tiếp xúc của đất. Trong các hệ thống mà nước thải chảy trên bề mặt đất - hệ chảy chậm, hệ rỉ nhanh, và SFS - chất rắn lơ lửng đầu tiên được loại bỏ bởi sự lọc qua đất hoặc môi trường dưới lớp đất mặt, vì vậy quá trình lắng nền đáy có thể đáng kể trong các ao rỉ nhanh suốt thời gian sử dụng. Trong hệ tốc độ chậm và rỉ nhanh, hầu hết chất rắn bị loại bỏ ngay lớp đất mặt. Vì thế, có ý kiến cho rằng các chất rắn lơ lửng có thể làm đóng cứng lớp đất lọc bề mặt của hệ thống. Do đó, các hệ thống phải được thiết kế và sử dụng để làm giảm thiểu sự biến mất khả năng lọc của đất.

**Chất hữu cơ.** Chất hữu cơ phân hủy được có trong nước thải ở dưới dạng hòa tan hoặc lơ lửng, thường được loại bỏ bằng vi sinh vật phân hủy. Vi sinh vật có trách nhiệm phân hủy thường liên kết với màng lọc, phát triển trên bề mặt của các hạt đất, thực vật và các giá bám (litter). Nhìn chung, các hệ thống tự nhiên được thiết kế và hoạt động nhằm duy trì điều kiện hiếu khí để quá trình phân hủy diễn ra một cách tối ưu và hoàn toàn hơn phân giải kỵ khí. Khả năng của hệ thống xử lý tự nhiên là làm giảm chất hữu cơ trong điều kiện hiếu khí nhưng bị giới hạn bởi sự vận chuyển oxygen vào trong hệ thống từ khí quyển. Vì thế, hệ thống phải được thiết kế sao cho tải lượng BOD ít hơn so với tốc độ vận chuyển oxygen vào hệ thống.

**Nitrogen.** Việc chuyển hóa và loại bỏ nitrogen trong các hệ thống tự nhiên liên quan đến một loạt các quá trình phức tạp và các phản ứng được mô tả trong hình 9-1. Các cơ chế liên quan trong việc loại bỏ nitrogen từ nước thải tùy thuộc vào dạng nitrogen - nitrate, ammonia, hoặc nitrogen hữu cơ. Nitrogen thường ở dưới dạng ammonia hoặc nitrogen hữu cơ.

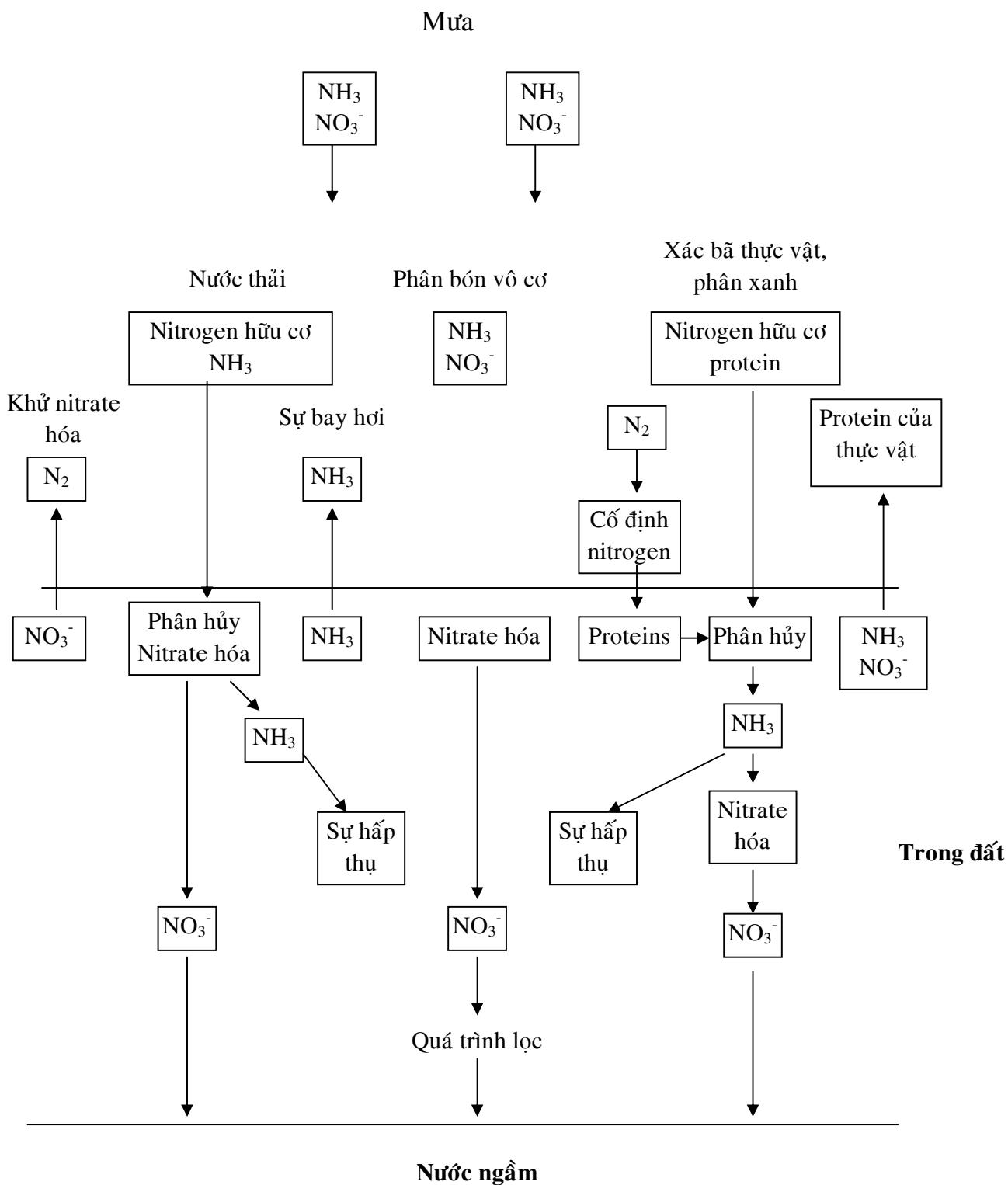
**Nitrogen hữu cơ.** Liên kết với chất rắn lơ lửng trong nước thải, được lọc bằng lắng nền đáy và lọc, như được mô tả ở trên, hữu cơ ở dạng rắn, có thể được hấp thụ bởi mùn đất, bao gồm một số rất lớn các phân tử hữu cơ phức tạp chứa cacbohydrate, protein, lignin. Một vài nitrogen hữu cơ bị thủy phân thành amino acid hòa tan mà các amino acid này có thể tiếp tục được phân hủy để giải phóng  $\text{NH}_4^+$ .

**Ammonia ( $\text{NH}_4^+$ ).** Có thể đi theo vài con đường chuyển hóa trong hệ thống xử lý tự nhiên. Ammonia hòa tan có thể được loại bỏ bởi quá trình bay hơi (volatilization) trực tiếp đi vào khí quyển ở dạng khí  $\text{NH}_3$ , cách này chỉ chiếm tỉ lệ ít (<10%), ngoại trừ trường hợp trong ao ổn định nơi mà nước thải được lưu trữ trong thời gian dài và pH cao làm tăng cường đáng kể quá trình bay hơi ammonia. Hầu hết ảnh hưởng và sự chuyển hóa ammonia trong nước thải chỉ là tạm thời qua các phản ứng trao đổi ion trong đất và các chất hữu cơ mang điện. Ammonia có thể hấp thụ bởi thực vật và vi sinh vật hoặc được chuyển hóa thành

nitrate qua quá trình nitrate hóa sinh học trong điều kiện hiếu khí. Bởi vì khả năng hấp thụ ammonia của hệ thống tự nhiên là giới hạn, nên quá trình nitrate hóa là cần thiết để giải phóng ammonia. Chu trình giải phóng - hấp thụ này đặc biệt quan trọng trong hệ chảy tràn bề mặt nơi mà sự hấp thụ bị hạn chế dọc theo bề mặt các đường dốc.

**Nitrate.** Được xem là một ion tiêu cực, không được giữ lại bởi các phản ứng trao đổi nhưng vẫn còn ở dạng dung dịch và được chuyển hóa trong quá trình thấm. Nếu chúng không được loại bỏ bởi quá trình đồng hóa thực vật hoặc khử nitrate hóa, nitrate sẽ đi sâu và thấm vào trong lớp nước ngầm. Đối với các hệ thống thể hiện tính thấm thấu của nước như hệ tốc độ chậm, lọc nhanh, và ứng dụng nước thải, nitrate trong quá trình lọc có thể gây nguy hiểm cho sức khỏe cộng đồng. Vì thế, những hệ thống này phải được thiết kế và áp dụng để tăng cường mức độ cần thiết của việc loại bỏ nitrogen để bảo vệ nguồn nước ngầm. Nitrate có thể được hấp thụ bởi thực vật, nhưng sự đồng hóa chỉ xảy ra ở vùng xung quanh rễ trong suốt thời kỳ phát triển của thực vật. Để đạt được sự loại bỏ nitrogen từ hệ thống bởi đồng hóa thực vật, thực vật cần phải được thu hoạch định kỳ và loại ra khỏi hệ thống. Nếu thực vật còn lại trong hệ thống, nitrogen trong thực vật sẽ quay trở lại và đi vào hệ thống dưới dạng nitrogen hữu cơ. Đồng hóa thực vật và thu hoạch chúng là cơ chế loại bỏ nitrogen chủ yếu trong hệ thống tốc độ chậm.

**Khử nitrate sinh học (biological denitrification).** Nitrate cũng sẽ được loại bỏ bởi quá trình khử nitrate sinh học và lần lượt giải phóng các khí NO và N<sub>2</sub> vào trong khí quyển. Khử nitrate sinh học là cơ chế loại bỏ nitrogen chủ yếu trong hệ chảy tràn mặt đất, rỉ nhanh và thủy sinh. Khử nitrate được thực hiện bởi vi khuẩn tùy nghi (facultative bacteria) trong điều kiện thiếu khí. Không cần thiết cho toàn bộ hệ thống là thiếu khí cho khử nitrate hóa xảy ra. Khử nitrate xảy ra trong tiểu vùng thiếu khí gần với vùng hiếu khí. Tuy nhiên, để phản ứng khử nitrate hóa đạt tối đa, thì các điều kiện đòi hỏi phải đạt được tối ưu. Trong điều kiện thiếu khí tỉ số C/N là cần thiết quan trọng để hoàn thành phản ứng khử nitrate hóa. Tỉ số C/N ít nhất là 2:1 (dựa vào TOC và total N) là cần thiết để đạt đến khử nitrate hóa hoàn toàn trong hệ thống tự nhiên. Carbon từ xác bã thực vật có thể được xem như là nguồn carbon, đặc biệt trong các hệ thủy sinh, nhưng trong hệ tốc độ cao như chảy tràn mặt đất, rỉ nhanh, nguồn carbon phải bao gồm cả nước thải được cung cấp. Vì thế sự loại bỏ nitrogen tối đa không thể đạt được trong nhiều hệ thống với nước thải thứ cấp có tỉ số C/N thường dưới 1:1.



**Hình 8.6.** Sự chuyển hóa nitrogen trong hệ thống xử lý tự nhiên

**Phosphorus.** Các quá trình loại bỏ phosphorus trong hệ xử lý tự nhiên là sự kết tủa và hấp thụ hóa học, cho dù thực vật hấp thụ một lượng lớn. Phosphorus tồn tại chủ yếu dưới dạng orthophosphate được hấp thụ bởi đất sét và một vài phần nhỏ đất hữu cơ trong tầng đất. Kết tủa hóa học bởi calcium (pH trung tính) và sắt hoặc nhôm (pH acid) xảy ra ở tốc độ chậm hơn quá trình hấp thụ, nhưng tầm quan trọng thì ngang bằng. Phosphorus được hấp thụ có thể bị giữ lại ít và bền vững đối với sự lọc qua đất.

Cho dù khả năng hấp thụ phosphorus của đất là giới hạn, nhưng nó vẫn khá lớn đối với đất cát. Sau 88 năm của hệ lọc nhanh dùng cho nước thải sinh hoạt chưa xử lý tại Calumet, Michigan, nồng độ phosphorus trong nước ngầm vẫn thấp (0.1-0.4mg/l). Tuy nhiên, áp dụng một thời gian dài làm cho phosphorus hòa tan trong đất tăng lên ở trên lớp bề mặt (0.3m), cho thấy rằng lớp này trở nên bão hòa với phosphorus. Mức độ loại bỏ phosphorus có thể đạt được bởi hệ thống xử lý tự nhiên tùy thuộc vào mức độ tiếp xúc của nước và đất như hệ chảy tràn và hệ thủy sinh sẽ giới hạn tiềm năng loại thải phosphorus.

**Vi lượng.** Loại bỏ vi lượng (chủ yếu là kim loại) xảy ra chủ yếu qua hấp thụ (bao gồm cả hấp thụ và các phản ứng kết tủa) và bởi sự đồng hóa của thực vật đối với một vài kim loại. Kim loại được giữ lại trong đất hoặc trong nền đáy của hệ thủy sinh. Khả năng giữ lại các kim loại của hầu hết các loại đất và nền đáy nói chung là rất cao, đặc biệt ở pH>6.5. Trong điều kiện pH thấp và kỵ khí, một vài kim loại hòa tan mạnh hơn và có thể giải phóng vào trong dịch đất. Loại bỏ kim loại biến động giữa các hệ thống, tùy thuộc vào nồng độ nước thải và điều kiện vùng đất. Những hiệu quả của việc loại bỏ đã được nghiên cứu với hầu hết các kim loại nói chung biến động trong khoảng 80-95%. Hiệu quả thấp hơn có thể đối với đất ngập nước FWS và hệ thống thực vật thủy sinh dựa vào sự tiếp xúc giới hạn giữa nước với đất và nền đáy cũng như điều kiện kỵ khí của nền đáy.

**Chất hữu cơ vi lượng (trace organics).** Hợp chất hữu cơ vi lượng được loại bỏ từ nước thải qua quá trình bay hơi và hấp thụ, bởi các quá trình phân giải sinh học và quang hóa. Nói cách tổng quát, các hệ tự nhiên có khả năng loại bỏ các hợp chất hữu cơ vi lượng. Tuy nhiên theo các cơ sở dữ liệu hiện nay quá ít để dự đoán khả năng loại bỏ các hợp chất hữu cơ có cấu tạo đơn giản. Những kết quả điển hình đối với việc loại bỏ các chất hữu cơ có thể đạt được hiệu suất từ 85-99.99% đối với tất cả các hệ thống.

**Vi sinh vật.** Cơ chế loại bỏ vi sinh vật (vi khuẩn và ký sinh trùng - nguyên sinh động vật và giun sán) phổ biến đối với hầu hết các hệ xử lý tự nhiên bao gồm : chết, lọc nước, lắng nền đáy, phóng xạ, sấy khô và hấp thụ. Virus được loại bỏ điển hình bởi hấp thụ và tự chết. Hệ tốc độ chậm và rỉ nhanh cả hai đều có dòng chảy nước thải qua lớp đất nên có khả năng loại bỏ hoàn toàn vi sinh vật của nước thải qua quá trình lọc. Trong môi trường đất mịn thường sử dụng hệ tốc độ chậm, việc loại bỏ hoàn toàn có thể đạt được khoảng chừng 1.5 m di chuyển của nước. Điều kiện phải có khoảng cách di chuyển xa hơn trong đất để đạt được sự loại bỏ trong hệ rỉ nhanh, và khoảng cách này còn tùy thuộc vào độ thấm của đất và tốc độ

tải thủy lực. Tất cả các hình thức khác của hệ xử lý tự nhiên có thể làm giảm nồng độ vi sinh vật tùy theo độ lớn của từng quá trình xử lý, nhưng nói một cách tổng quát, nếu như không đạt đến sự loại bỏ tối đa thì không thể xóa đi mọi hình thức chủng ngừa các mầm bệnh xuất phát từ các khu xử lý tự nhiên.

### 8.2.2. Những vấn đề về sức khỏe cộng đồng (*public health issues*)

Yếu tố sức khỏe cộng đồng liên quan đến việc xử lý bằng đất đai bao gồm : (1) mầm vi khuẩn và sự truyền bệnh có thể có đến các dạng sinh vật cao hơn, gồm cả con người, (2) hóa chất có thể đi vào nước ngầm và gây nguy hiểm cho sức khỏe nếu nước này được dùng cho hoạt động sống và (3) chất lượng mùa màng của các vùng đất được tưới tiêu bằng nước thải.

**Các mầm vi khuẩn (*bacteriological agents*).** Sự sống của các vi khuẩn và virus gây bệnh ở ngay trong những giọt nước bắn ra, trên và trong đất và ảnh hưởng lên người tiếp nhận. Điều quan trọng là tất cả những tiếp xúc giữa các mầm bệnh trong đất qua nước thải và sự nhiễm bệnh ở động vật và người đều phải có sự chủng ngừa dài lâu và phức tạp. Những câu hỏi được đặt ra là những tồn tại có liên quan về việc phòng ngừa có được thực hiện hay không?

Các máy phun sương, được sử dụng trong xử lý nước thải, phun ra nước dưới dạng sương mù mà những hạt sương này có thể di chuyển theo gió và vô cùng nhỏ về kích thước cũng như khối lượng (có đường kính khoảng 0.01-50 $\mu$ m). chính các hạt này xuất phát từ nước thải không được khử trùng sẽ chứa một lượng lớn các vi khuẩn và virus hoạt động. Tuy nhiên trường hợp phát tán bằng các hạt sương có chứa vi khuẩn này chỉ chiếm đến 0.3% nước thải.

Những nghiên cứu về sự di chuyển của các hạt sương có chứa vi khuẩn xuất phát từ máy phun sương là cơ sở để sử dụng nước thải chưa được xử lý hoặc chưa khử trùng. Cho dù vi khuẩn di chuyển xa hơn các hạt sương mang nó từ nước thải chưa được khử trùng, khoảng cách biến động lớn nhất từ 30-200m, điều đó cho thấy vi khuẩn di chuyển theo gió sẽ tăng lên theo sự gia tăng của độ ẩm và tốc độ gió cùng với sự giảm nhiệt độ và tia tử ngoại.

Sự cần thiết phải có các vùng đệm hoặc khử trùng để giảm thiểu rủi ro cho sức khỏe cộng đồng phải được đặt ra trong tất cả các trường hợp (1) mức độ tiếp cận của cộng đồng dân cư với khu xử lý, (2) kích cỡ của khu xử lý, (3) cung cấp các vùng đệm hoặc trồng cây và (4) đặc trưng của khí hậu trong vùng. Yêu cầu về vùng đệm thường được đánh giá thường xuyên bởi các nhà chức trách, cách 15-60m từ đường đi, dải phân cách vùng và các khu dân cư. Sự luân phiên đối với các vùng đệm bao gồm trồng cây, sử dụng máy phun để phun nước xuống dưới, hoặc theo một quỹ đạo với tốc độ chậm và ngừng hoạt động các máy phun, hoặc làm giảm thiểu tối đa quá trình phun trong khu xử lý trong suốt thời gian gió mạnh.

**Chất lượng nước ngầm (groudwater quality):** các hệ thống (chủ yếu là tốc độ chậm và rỉ nhanh) nơi mà một phần nước thải thấm qua và đi vào trong mạch nước ngầm mà lượng nước ngầm này phục vụ hoặc có thể phục vụ tiềm tàng như nước cấp phải được thiết kế và quản lý để duy trì chất lượng nước ngầm theo tiêu chuẩn nước uống của US.EPA. Bởi vì nitrate là nguyên nhân gây bệnh thiếu máu ở trẻ em, nồng độ của nó trong nước uống được giới hạn bởi tiêu chuẩn nước uống (primary drinking water standard) là 10mg/l. Sự loại bỏ nitrogen nhất thiết phải đạt được qua tiền xử lý và xử lý tự nhiên để duy trì chuẩn mực này.

Vi lượng áp dụng cho hệ xử lý tự nhiên không gây nguy hiểm cho chất lượng nước ngầm bởi vì vi lượng thường được loại bỏ qua quá trình hấp thụ và kết tủa hóa học khi chúng thấm qua chỉ một vài chục centimeter đất, ngay cả trong hệ rỉ nhanh với tốc độ tải thủy cao. Trong nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng lâu dài của việc ứng dụng nước thải, thấy rằng không có sự gia tăng nồng độ kim loại trong đất ở lớp trên của đất trên mức bình thường đối với đất nông nghiệp.

Loại bỏ vi khuẩn từ nước thải qua đất mịn khá hoàn toàn: nó có thể được mở rộng trong đất có hạt lớn, đất cát sử dụng cho hệ rỉ nhanh. Kết cấu đất đá có thể làm cho vi khuẩn vượt qua vài chục mét đất từ khu xử lý vào bên trong tầng đất. Tình trạng này có thể tránh được bởi việc đánh giá kỹ lưỡng kết cấu địa chất ban đầu khi lựa chọn vị trí áp dụng.

**Chất lượng vụ mùa (crop quality).** Vi lượng được giữ lại trong đất và nền đáy của hệ thống xử lý tự nhiên và có sẵn cho sự đồng hóa của thực vật. Từ quan điểm về sức khỏe cộng đồng, kim loại chủ yếu có liên quan là cadmium. Cadmium có thể tích lũy trong thực vật ở mức độ gây độc cho người và động vật, và những mức độ này bên dưới nồng độ gây độc cho thực vật (phytotoxic). Kết quả cadmium là một trong những thành tố giới hạn trong việc xác định tốc độ tải hoạt chất thải trên vùng đất nông nghiệp. Đối với hầu hết các áp dụng, việc tích lũy cadmium sẽ không phải là một vấn đề đang được tranh cãi. Việc giám sát tại một khu xử lý ở Melbourn, Úc, nơi đang tiếp nhận một lượng nước thải trong 76 năm, cho thấy rằng không có sự gia tăng trong việc tích lũy cadmium trong thực vật khi so sánh với sự phát triển của thực vật trong một khu không tiếp nhận nước thải. Những kim loại khác hoặc không được đồng hóa bởi thực vật (như chì) hoặc gây độc cho thực vật ở nồng độ thấp cho thấy nguy cơ gây độc cho chuỗi thức ăn (như kẽm, đồng, nickel).



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Kiều Hữu Ảnh, 1999.** *Giáo Trình Vi Sinh Vật Công Nghiệp.* Nxb KH và KT.
2. **Lê Huy Bá, 2000.** *Môi Trường.* Nxb Đại Học Quốc Gia TP Hồ Chí Minh.
3. **Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty, 2000.** *Vi Sinh Vật Học.* Nxb Giáo Dục.
4. **Nguyễn Thành Đạt, Mai Thị Hằng, 2001.** *Sinh Học – Vi Sinh Vật.* Nxb Giáo Dục.
5. **Tăng Văn Đoàn, 2001.** *Kỹ Thuật Môi Trường.* Nxb Giáo Dục.
6. **Hoàng Huệ, 1996.** *Xử Lý Nước Thải.* Nxb Xây dựng.
7. **Trịnh Xuân Lai, 2000.** *Tính Toán Thiết Kế Các Công Trình Xử Lý Nước Thải.* Nxb Xây Dựng.
8. **Mai Đình Yên, 1990.** *Cơ Sở Sinh Thái Học.* ĐH Tổng hợp Hà nội.
9. **Cục Môi Trường, Viện Môi Trường và Tài nguyên, 1998.** *Công Nghệ Môi Trường.* Nxb Nông nghiệp.
10. **Trung Tâm Đào Tạo Ngành Nước và Môi Trường, 1999.** *Sổ Tay Xử Lý Nước,* tập I, II. Nxb Xây Dựng.
11. **Lacher W, 1983.** *Sinh Thái Học Thực Vật .* Lê Trọng Cúc dịch. Nxb ĐH và THCN. 225tr.
12. **Odum E. P, 1978.** *Cơ sở sinh thái học.* Bản dịch từ tiếng Anh của Phạm Bình Quyền. Nxb ĐH và THCN. 423tr.
13. **Anthony F. Gaudy, J. Elizabeth T. Gaudy, 1980.** *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers.* Printed in United State of America.
14. **Bowen H. J. M, 1966,** *Trace metals in biochemistry.* Academic Press, New York.
15. **Christion J. H, Ronald L. C., Guy R. Knudsen, Linda D. S, 2002.** *Manual of Environmental Microbiology.* Printed in the United States of America.
16. **Edwards P, 1980.** *Food potential of aquatic macrophytes.* ICLARM Studies and Reviews, No. 5, P. 51.
17. **Melcalt & Eddy. Inc, 1991.** *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse.* Mc Graw-Hill Inter. Ed. Printed in Singapore.
18. **Gabriel Bitton, 1999.** *Wastewater Microbiology.* Printed in United State of America.
19. **Gordon M.S; Chapman D.J; Kawasaki L.Y. 1982.** *Aquaculture approaches to recycling of dissolved nutrients in secondarily treated domestic wastewaters : IV-conclusions, design and operational consideration for artificial food chains.* Vol. 16, No. 1, P. 67-71.
20. **Masanori Fujita et al, 1999.** *Nutrient removal and starch production through cultivation of *Wolffia arrhiza*.* Vol. 87, No. 2, P. 194-198.
21. **US Environmental Protection Agency, 1978.** *Municipal wastewater aquaculture.*

22. **US Environmental Protection Agency, 1981.** *Process Design Manual for Land Application of Municipal Sludges.*
23. **Tarifeno-Silva, E.; Kawasaki, L.Y.; Yu, D.P, 1982.** *Aquaculture approaches to recycling of dissolved nutrients in secondarily treated domestic wastewaters.* III-Uptake of dissolved heavy metals by artificial food chains, vol. 16, no. 1, p51-57.
24. **Water Pollution Control Federation, 1983.** *Nutrient Control, Manual of Practice.* Washington DC.
25. **Yves Piétrasanta et Daniel Bondon, 1994.** *Le Lagunage Ecologique.*