

PHÂN HỦY 2,4,6-TRINITROTOLUEN (TNT) TRONG CHẤT THẢI RẮN BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI SINH HAI GIAI ĐOẠN

Đến Tòa soạn 27-10-2008

PHẠM MẠNH THẢO¹, ĐỖ NGỌC KHUÊ², PHẠM KIẾN CƯỜNG², ĐỖ BÌNH MINH²

¹Học viện Kỹ thuật Quân sự

²Trung tâm KHKH & CNQS

ABSTRACT

A method for biodegrading 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) as contaminant in solid waste by treatment of the contaminated waste under anaerobic using natural microorganisms is disclosed. Dry solid waste was first converted into a fluid medium by addition of water with a source of carbohydrate such as starch, potato processing waste, sewage sludge... The mixture was maintained in anaerobic condition and natural microorganisms fermented the carbohydrate and exhausted the oxygen in the fluid medium thereby rendering the slurry anaerobic which lowered the redox potential of the environment and promoted degradation of TNT in the followed stage. Anaerobic conditions were preferably determined via a potentiometric measurement, where a redox potential of -200 mV or less indicated strict anaerobic conditions. In the subsequent anaerobic stage, an inoculum of a mixed population of anaerobic microorganisms completed the mineralization of TNT, using the remaining carbohydrate as a carbon and energy source. Microbial activity can assist degradation of organic contaminants either directly by enzyme production, or indirectly, by maintaining the reduction conditions of the environment and thereby enhancing the inorganic and biochemical mechanisms. Bench scale experiment was conducted to assess the rate and extent of TNT biodegradation. Results indicated that after 6 to 7 weeks incubation the concentration of TNT reduced greater than 95% from 277 mg.kg⁻¹ at the initial to below 13 mg.kg⁻¹.

I - GIỚI THIỆU

Các loại chất nổ có năng lượng cao như 2,4,6 trinitrotoluen (TNT), cyclotrimetylen-trinitramin (RDX) gọi chung là các nitro thơm, là những chất độc và có khả năng gây ung thư [3]. Việc sản xuất, tàng trữ và sử dụng rộng rãi các chất trên gây tình trạng ô nhiễm không khí, đất và nguồn nước ở nhiều nơi trên thế giới [2 - 5].

Ở Việt Nam cùng với sự phát triển của ngành công nghiệp quốc phòng (CNQP) nói chung và sự phát triển của các cơ sở, nhà máy sản xuất, gia công vật liệu nổ nói riêng, nguy cơ

gây ô nhiễm môi trường bởi các loại chất thải công nghiệp khác nhau trong đó có các hoá chất có tính nổ, cháy ngày càng gia tăng [2]. Trong số các chất nổ có độc tính cao kể trên, 2,4,6-trinitrotoluen là chất có nguy cơ gây ô nhiễm cao nhất do đây là thành phần chủ yếu trong nhiều loại chất nổ đang được sản xuất hiện nay. Nước thải từ các cơ sở sản xuất thuốc phóng thuốc nổ (TPTN) đều chứa một hàm lượng nào đó các chất trên và là nguyên nhân gây ô nhiễm đất, nguồn nước ngầm, ảnh hưởng không nhỏ đến sự sống của con người và các sinh vật sinh sống gần các cơ sở trên.

Vấn đề xử lý các chất thải chứa TPTN để

giảm thiểu ô nhiễm môi trường tại các cơ sở CNQP mới được quan tâm đến gần đây và bước đầu quan tâm đến xử lý nước thải. Việc xử lý chất thải rắn bị nhiễm các hoá chất có tính nổ, cháy từ các cơ sở CNQP hiện nay chủ yếu là dùng phương pháp đốt [1]. Phương pháp này kém an toàn và không giải quyết được vấn đề ô nhiễm khí thải sinh ra [3, 4, 6]. Trong quá trình tìm kiếm các công nghệ thích hợp để xử lý chất thải sinh hoạt và loại chất thải rắn vừa nguy hiểm vừa độc hại như TPTN, người ta rất chú ý đến các giải pháp công nghệ giá thành hạ trong đó có các giải pháp sử dụng các chế phẩm hoá học, sinh học và hoá sinh để vừa khử tính nổ vừa phân huỷ được các chất nổ đến các sản phẩm không độc hoặc ít độc hơn với môi trường [2].

Trong bài báo này chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu phân huỷ TNT trong chất thải rắn từ các cơ sở CNQP bằng phương pháp vi sinh. Quá trình gồm hai giai đoạn, giai đoạn đầu là giai đoạn lên men: Các vi sinh vật tự nhiên có sẵn trong hỗn hợp sẽ lên men cacbohydrat trong điều kiện kỵ khí và tiêu thụ hết oxy hòa tan tạo ra môi trường khử có tác dụng thúc đẩy sự phân huỷ TNT trong giai đoạn sau. Mức độ phát triển của vi sinh vật (VSV) kỵ khí có thể xác định thông qua việc đo thế oxy hóa khử của dung dịch. Trong giai đoạn tiếp theo, một mẻ cấy vi sinh có khả năng phân huỷ TNT được đưa vào hỗn hợp. TNT trong chất thải rắn bị VSV phân huỷ trên 95% sau 6 - 7 tuần. Một phần hỗn hợp chất thải sau khi đã xử lý như trên, trong đó có chứa quần thể vi sinh vật có khả năng phân giải TNT được giữ lại để làm mốc cho những lần thử nghiệm tiếp theo.

II - THỰC NGHIỆM

1. Thiết bị và hóa chất

Để phân tích hàm lượng TNT và các nhận dạng sản phẩm phân huỷ đã sử dụng phương pháp Jenkin trên máy Spectro UVS-2800 Labomed, phương pháp 8330-EPA trên máy HPLC 1050 HP với detector UV, và thiết bị LC-MSD-Trap-SL-Agilent, USA. Hóa chất được sử dụng là các hóa chất tinh khiết phân tích: izobutylmetylaxeton, dicyclohexylamin, xetylpiridin, các dung môi tinh khiết sắc ký:

axetonitrin, axeton, etanol của hãng Merck (CHLB Đức).

2. Phương pháp thực nghiệm

Đối tượng nghiên cứu là chất thải rắn tại nhà máy ZX thuộc Tổng cục CNQP, gồm các loại giẻ lau, bao bì, mùn cưa, rác, đất, cát... có chứa TNT với hàm lượng bằng 277 mg.kg^{-1} (ppm theo khối lượng).

Chất thải rắn (rác và các loại bao bì) được cắt nhỏ với kích thước 0,3 - 0,5 cm, cho vào thùng, thêm vào đó khối lượng nước tỷ lệ 1:1 (để dễ được hỗn hợp như vữa) để sử dụng cho nghiên cứu.

3. Chế tạo men vi sinh có khả năng khử TNT

Trong một bình kín thể tích 300 ml cho vào đó các chất dinh dưỡng như nước rau quả, nước thịt, tinh bột, đường, vài gam chất thải rắn tại nhà máy ZX, thêm nước đến 250 ml. Đậy kín để VSV kỵ khí phát triển. Để giám sát mức độ phát triển của các VSV kỵ khí đã sử dụng phương pháp đo thế oxy hóa khử của dung dịch. Thế oxy hóa khử của dung dịch càng âm chứng tỏ VSV kỵ khí càng phát triển mạnh [6]. Khi thế khử giảm xuống nhỏ hơn -200 mV thêm dần từng lượng nhỏ (1 ml) dung dịch chứa TNT (nồng độ 79 mg/lit) để VSV thích nghi dần. Trong quá trình này chủng vi khuẩn nào không thích nghi được với đối tượng mới và không có khả năng phân huỷ TNT sẽ bị ức chế sinh trưởng hoặc bị tiêu diệt. Sau mỗi lần thêm, để cho thế khử giảm xuống dưới -200 mV (thời gian này khoảng 2 - 4 ngày) lại cho thêm những lượng tăng dần dung dịch chứa TNT (1,5; 2; 3 ml). Sau khi VSV đã thích nghi với sự có mặt của TNT, lấy một phần ba dung dịch trong bình chuyển sang bình mới (thể tích 300 ml), thêm vào đó dung dịch TNT cho đầy bình. Lúc này lượng dinh dưỡng trong bình đã giảm, VSV sẽ chuyển dần sang sử dụng TNT như một nguồn thức ăn chính. Tiếp tục ngâm ủ như vậy cho đến khi thế khử giảm xuống còn -300 đến -400 mV (thường sau khoảng 2 - 3 tuần). Chuyển toàn bộ lượng dung dịch trong bình sang bát sứ, thêm vào đó tinh bột khoai tây đã nấu chín, sấy ở nhiệt độ 60°C trong 3 giờ. Tốc độ gia nhiệt là 20°C/giờ . Sau đó để nguội, cho bát sứ vào trong bình hút ẩm bằng silicagen. Khi lượng chất trong bát sứ đã khô,

dùng cối chày sứ nghiền nhỏ, bảo quản trong lọ kín, dùng làm men vi sinh cho quá trình phân hủy TNT.

4. Kiểm tra men vi sinh

Để kiểm tra chất lượng và mật số của vi khuẩn trong chế phẩm men có thể sử dụng phương pháp đếm. Cho thạch aga (hoặc tinh bột khoai tây nấu chín) đã tiết trùng vào đĩa petri cho tạo thành lớp mỏng. Lấy 1 gam chế phẩm men vi sinh tạo được ở trên, pha loãng bằng nước cất tiết trùng. Hút lấy 1 ml dung dịch loãng cho lên lớp thạch, láng cho dung dịch phủ đều lớp thạch, đợi kín. Sau 3 – 4 ngày, đếm số vết dốm trên mặt lớp thạch (mỗi vết dốm là một đám khuẩn lạc sinh ra từ 1 bào tử trong men vi sinh), nhân với hệ số pha loãng sẽ tính được số vi khuẩn trên 1 gam men vi sinh (mật số).

5. Giai đoạn lên men

Hỗn hợp vữa chất thải (trộn chất thải rắn với nước theo tỷ lệ 1:1 theo khối lượng) được cho

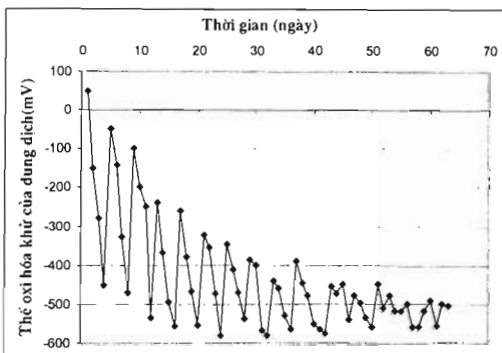
vào bình kín cùng với các chất dinh dưỡng như nước rau quả, nước thịt, tinh bột, đường, nước thải sinh hoạt, chất thải gia súc. Đậy kín bình để tránh tiếp xúc với không khí. Sau một thời gian ủ, vi sinh vật sẽ phát triển. Khi thế khử đạt ≤ -200 mV có thể coi VSV kỵ khí đã phát triển mạnh tiêu thụ hầu hết oxi hòa tan trong hỗn hợp [6, 7].

6. Giai đoạn phân hủy kỵ khí

Sau khi đã tạo được môi trường kỵ khí cần thiết, men vi sinh đã được chuẩn bị như trên được đưa vào hỗn hợp (tỷ lệ 10 gam cho 300 ml hỗn hợp vữa), trộn đều, đậy kín. Sau những khoảng thời gian nhất định phân tích hàm lượng TNT.

III - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Chế tạo men vi sinh và kiểm tra chất lượng men



Hình 1: Sự biến đổi của thế oxi hóa khử của dung dịch lên men trong quá trình nuôi cấy VSV

Biểu đồ hình 1 cho thấy thế oxi hóa khử của dung dịch thay đổi trong quá trình lên men vi sinh. Ban đầu thế của dung dịch thường dương và gần giá trị không. Chỉ sau vài ngày ủ, thế giảm rất nhanh. Khi đó nếu chỉ đưa một lượng nhỏ dung dịch (1 ml) chứa TNT nồng độ 79 mg/l vào sẽ làm cho thế tăng. Sau một vài ngày khi thích nghi dần với sự có mặt của các chất lạ và tiêu hóa hết oxi hòa tan, VSV lại phát triển mạnh và làm cho thế lại giảm. Những lần bổ

sung thêm TNT sau đó, mặc dù lượng tăng dần (1, 2, 3 ml...) nhưng biên độ dao động của thế oxi hóa khử giảm dần. Điều này chứng tỏ việc đưa TNT vào môi trường nuôi cấy theo những lượng tăng dần giúp vi khuẩn làm quen, thích nghi với đối tượng mới. Các VSV kỵ khí rất nhạy cảm với không khí hoặc các chất lạ. Mỗi lần thêm lượng TNT mới sự phát triển của VSV lại bị ức chế, đồng thời do lượng oxi hòa tan làm cho thế tăng lên, gây nên sự biến thiên tương

ứng trên đồ thị hình 1. Nếu cho vi khuẩn tiếp xúc ngay với lượng lớn TNT chúng có thể bị chết hoặc suy giảm mạnh về số lượng mà phải mất thời gian rất dài để phục hồi. Khi vi khuẩn đã thích nghi với sự có mặt của TNT thì việc đưa thêm những lượng TNT mới ít làm thay đổi thế oxy hóa khử của dung dịch. Khi đó, tiến hành pha loãng môi trường nuôi cấy, đồng thời tiếp tục tăng nồng độ TNT. Dung dịch được trộn thêm bột khoai tây chín và sấy khô theo phương pháp mô tả ở trên để chế tạo men vi sinh.

Kiểm tra men vi sinh: Khi điều kiện môi trường (nhiệt độ và độ ẩm) thuận lợi trở lại bào tử trong men vi sinh sẽ lại chuyển thành tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn. Quá trình này gọi là sự nảy mầm của bào tử, bao gồm 3 giai đoạn: hoạt hóa, nảy mầm và sinh trưởng [1].

Kết quả sau 3 ngày ở 25 - 30°C các bào tử đã nảy mầm và phát triển tốt (hình 2). Mỗi chấm tròn trên mặt đĩa thạch là một đám khuẩn lạc sinh ra từ 1 bào tử.



Hình 2: Kiểm tra sự nảy mầm và mật số của bào tử

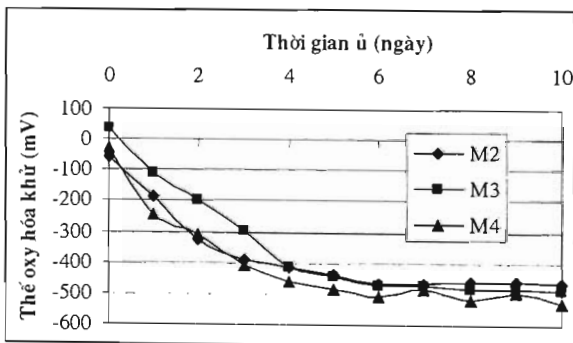
Kết quả tìm được mật số bào tử là 10^4 bào tử/gam. Theo [3] mật độ 10^2 đến 10^9 vi khuẩn cho 1 kg nước thải hoặc chất thải rắn khô là đảm bảo sự phát triển và phân hủy có hiệu quả các nitro thơm.

2. Xử lý chất thải rắn chứa TNT bằng phương pháp vi sinh

Giai đoạn lên men

Mục đích của giai đoạn này là tạo môi

trường kỵ khí để vi khuẩn trong men vi sinh có điều kiện phát triển và phân hủy TNT. Hình 3 là các giá trị thế khử đo được khi lên men hỗn hợp chất thải rắn chứa TNT. Nhiệt độ trong thời gian tiến hành thí nghiệm nằm trong vùng nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của nhóm VSV ưa ấm (từ 25 - 40°C) nên thế khử giảm khá nhanh. Sau 5 - 7 ngày thế khử giảm xuống -400 đến -500 mV là điều kiện thích hợp cho quá trình khử TNT.



Hình 3: Biểu đồ thế khử của quá trình lên men kỵ khí

Giai đoạn phân hủy kỵ khí

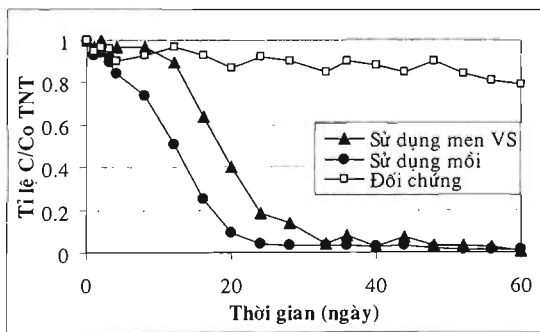
Thông thường khi thế khử giảm xuống dưới -200 mV thì có thể coi VSV kỵ khí đã phát triển mạnh và tiêu thụ hầu hết lượng oxy hòa tan [6, 7], khi đó có thể đưa men vi sinh vào hỗn hợp. Trong các mẻ xử lý tiếp theo thì không cần phải sử dụng men vi sinh nữa vì có thể lấy ngay một phần hỗn hợp trong mẻ xử lý trước đó làm môi. Tiếp tục ủ kín khí để các bào tử phát triển. Lúc này bắt đầu quá trình nảy mầm của bào tử. Quá trình này cần một thời gian nhất định từ 4 - 8 ngày (hình 4). Nếu điều kiện môi trường là lý tưởng (nhiệt độ $25 - 40^{\circ}\text{C}$, độ ẩm cao, pH = 7, dinh dưỡng...) sự sinh trưởng của VSV diễn ra rất nhanh, số lượng vi khuẩn tăng lên theo cấp số nhân. TNT và các chất ô nhiễm được vi khuẩn chuyển hóa thành các hợp chất trung gian như amin, nitrozo, hydroxyl và cuối cùng thành các chất vô cơ không độc hại. Trong điều kiện thí nghiệm để hoàn thành quá trình lên men kỵ khí đối với chất thải rắn có nồng độ TNT 277 ppm theo khối lượng cần thời gian là 5 - 6 tuần. Giai đoạn kỵ khí kết thúc khi hàm lượng TNT giảm xuống dưới mức cho phép theo US EPA là 17,2 ppm [5].

Tiếp theo giai đoạn 1, men vi sinh chế tạo ở

trên hoặc mỗi được đưa vào với liều lượng 10 gam men trong 150 gam chất thải rắn. Hình 4 trình bày kết quả khử TNT trong chất thải rắn bằng VSV kỵ khí ở điều kiện nhiệt độ thường (từ $25 - 30^{\circ}\text{C}$). Trường hợp thứ nhất sử dụng men vi sinh vừa chế tạo được làm nguồn cung cấp VSV có khả năng khử TNT cho hỗn hợp. Trường hợp thứ hai sử dụng ngay một phần hỗn hợp đã ủ kỹ trong mẻ xử lý trước đó làm môi. Với mục đích so sánh đã tiến hành thử nghiệm mẫu đối chứng không có men hoặc môi vi sinh.

Trong một tuần đầu tiên sau khi đưa men vi sinh vào, hàm lượng TNT không có sự thay đổi đáng kể vì trong lúc này các bào tử đang trong thời kỳ hoạt hóa, nảy mầm và bắt đầu sinh trưởng. Khi số lượng VSV đủ lớn thì hàm lượng TNT sẽ giảm do bị VSV phân giải. Sau 5 - 6 tuần kể từ khi đưa men vi sinh vào hỗn hợp, hàm lượng TNT đã giảm 95% (từ 277 ppm xuống còn 13 ppm sau 44 ngày), trong khi đó hàm lượng TNT trong mẫu đối chứng giảm không đáng kể.

Trong trường hợp sử dụng môi, hàm lượng TNT giảm nhanh hơn, hiệu quả phân hủy cũng cao hơn do VSV đã thích nghi với môi trường và không cần thời gian hoạt hóa ban đầu.



Hình 4: Sự suy giảm nồng độ của TNT khi phân hủy bằng VSV

III - KẾT LUẬN

Quá trình nuôi cấy vi khuẩn có khả năng phân hủy TNT đã được nghiên cứu và đã chế tạo được chế phẩm men vi sinh có khả năng phân hủy TNT. Các vi sinh vật tự nhiên có sẵn trong

chất thải sẽ lên men cacbohydrat và tiêu thụ hết oxy hòa tan, làm giảm thế oxy hóa khử của môi trường có tác dụng thúc đẩy sự phân hủy TNT. Mức độ phát triển của vi sinh vật kỵ khí có thể xác định thông qua việc đo thế oxy hóa khử của dung dịch. Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể

phân hủy TNT trong chất thải rắn tại các nhà máy quốc phòng bằng phương pháp vi sinh và quy trình xử lý gồm 2 giai đoạn:

Giai đoạn lên men từ 4 – 7 ngày;

Giai đoạn phân hủy kỵ khí từ 6 – 7 tuần.

Quy trình xử lý như vậy cho phép giảm trên 95% hàm lượng TNT trong chất thải rắn từ 277 mg.kg⁻¹ ban đầu xuống còn dưới 13 mg.kg⁻¹ sau 6 - 7 tuần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Dũng và cộng sự. Vi sinh vật học, tái bản lần thứ nhất, Nxb Giáo dục, Hà Nội (1998).
2. Đỗ Ngọc Khuê và cộng sự. Tạp chí Khoa học quân sự, số 5-2001 (2001).
3. Alan G. Seech, James E. Cairns, Igor J. Marvan. Composition and Method for Degradation of Nitroaromatic Contaminants, US Patent 5,618,427 (1997).
4. Donald L. Crawford, Todd O. Stevens, Ronald L. Crawford. Biological System for Degrading Nitroaromatics in Water and Soils, US Patent 5,616,162 (1997).
5. L. S. Hundal, J. Singh, E. L. Bier, P. J. Shea, S. D. Comfort, W. L. Powers. Environmental Pollution, Vol. 97(1), 55 - 64 (10) (1997).
6. P. Hwang, T. Chow, N. R. Adrian. Transformation of TNT to Triaminotoluene by Mixed Cultures Incubated Under Methanogenic Conditions, US Army Corps of Engineers, Construction Engineering Research Laboratories, Technical Report 98/116 (1998).
7. National risk management research laboratory office of research and development-U.S. Environmental Protection Agency, J. R. Simplot Ex-situ Bioremediation Technology for Treatment of TNT-contaminated Soils. Innovative technology evaluation report, OHIO 45268, EPA/540/R-95/529 (1995).

Tác giả liên hệ: **Phạm Mạnh Thảo**

Học viện Kỹ thuật Quân sự