

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 6825 : 2001

ISO 11734 : 1995

**CHẤT LƯỢNG NƯỚC – ĐÁNH GIÁ SỰ PHÂN HUỶ
SINH HỌC KỶ KHÍ "HOÀN TOÀN" CÁC HỢP
CHẤT HỮU CƠ TRONG BÙN PHÂN HUỶ –
PHƯƠNG PHÁP ĐO SỰ SINH KHÍ SINH HỌC**

*Water quality – Evaluation of the "ultimate" anaerobic
biodegradability of organic compounds in digested sludge –
Method by measurement of the biogas production*

HÀ NỘI - 2008

Lời nói đầu

TCVN 6825 : 2001 hoàn toàn tương đương với ISO 11734 : 1995.

TCVN 6825 : 2001 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F13 Các phương pháp phân tích và lấy mẫu biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường (nay là Bộ Khoa học và Công nghệ) ban hành.

Tiêu chuẩn này được chuyển đổi năm 2008 từ Tiêu chuẩn Việt Nam cùng số hiệu thành Tiêu chuẩn Quốc gia theo quy định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật.

Chất lượng nước – Đánh giá sự phân huỷ sinh học kỵ khí "hoàn toàn" các hợp chất hữu cơ trong bùn phân huỷ – Phương pháp đo sự sinh khí sinh học

Water quality – Evaluation of the "ultimate" anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge – Method by measurement of the biogas production

CẢNH BÁO – Bùn của nước thải có thể chứa sinh vật gây bệnh tiềm tàng. Do đó hết sức chú ý khi làm việc với chúng. Sự phân huỷ bùn của nước thải sẽ sinh khí và có thể gây cháy và có nguy cơ gây nổ. Đặc biệt chú ý khi vận chuyển và bảo quản bùn phân huỷ. Cẩn thận khi làm việc với những chất độc và những chất thử khi chưa biết rõ bản chất của chúng. Chú ý cẩn thận khi làm việc với đồng hồ đo áp suất và các microxylanh để tránh bị thương do kim tiêm. Loại bỏ hết kim tiêm của xylanh bị nhiễm bẩn một cách an toàn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp sàng lọc để đánh giá sự phân huỷ sinh học các hợp chất hữu cơ ở nồng độ đã cho bởi vi sinh vật kỵ khí. Những điều kiện mô tả trong tiêu chuẩn này không nhất thiết phải tương ứng với các điều kiện tối ưu cho mức phân huỷ sinh học tối đa, vì nước thải pha loãng được sử dụng với nồng độ hoá chất thử tương đối cao. Phép thử này cho phép bùn tác dụng với hoá chất trong một khoảng thời gian đến 60 ngày, thời gian này dài hơn thời gian duy trì bình thường (từ 25 ngày đến 30 ngày) trong máy phân huỷ kỵ khí, mặc dù máy phân huỷ dùng ở các khu công nghiệp có thể cần đến thời gian dài hơn.

Phương pháp này áp dụng cho các hợp chất hữu cơ đã biết trước hàm lượng cacbon và chúng:

- hoà tan trong nước;
- ít tan trong nước, với điều kiện là áp dụng phương pháp định lượng chính xác;

TCVN 6825: 2001

- không gây ức chế các vi sinh vật thử ở nồng độ thử đã chọn; ảnh hưởng của ức chế có thể xác định được trong các phép thử riêng rẽ hoặc bằng phép thử ức chế bổ sung.

Đối với các chất bay hơi thì cần kiểm tra đối với từng chất một. Một số chất có thể thử nghiệm được nếu thực hiện rất cẩn thận, thí dụ như trong quá trình thử không giải phóng khí.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

ISO 10634:1995 Chất lượng nước – Hướng dẫn chuẩn bị và xử lý các chất hữu cơ khó tan trong nước để đánh giá sự phân huỷ sinh học của chúng trong môi trường nước.

TCVN 6625 : 2000 (ISO 11923) Chất lượng nước – Xác định chất rắn lơ lửng bằng lọc qua cái lọc sợi thuỷ tinh.

3 Định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, các định nghĩa sau đây được sử dụng:

3.1 Sự phân huỷ sinh học hoàn toàn : Mức phân huỷ đạt được khi các hợp chất thử bị phân huỷ hết bởi các vi sinh vật kỵ khí tạo thành cacbon dioxit, metan, muối khoáng và các thành phần của tế bào vi khuẩn mới (sinh khối).

3.2 Sự phân huỷ sinh học kỵ khí ban đầu

Mức phân huỷ đạt được khi hợp chất thử thay đổi về cấu trúc, mà không phải là sự vô cơ hoá hoàn toàn, là kết quả hoạt động của vi sinh vật kỵ khí.

3.3 Bùn đã phân huỷ

Hỗn hợp nước thải của pha lắng và bùn hoạt hoá, đã được ủ trong máy phân huỷ kỵ khí ở khoảng 35°C để giảm sự sinh khối và mùi và để tăng khả năng làm khô của bùn. Bùn đã phân huỷ bao gồm vi khuẩn lên men kỵ khí và vi khuẩn gây bệnh sinh ra cacbon dioxit và metan.

3.4 Hàm lượng chất rắn tổng số

Lượng chất rắn thu được bằng cách sấy khô một thể tích biết trước của bùn ở 105°C đến khối lượng không đổi, trong điều kiện qui định.

4 Nguyên tắc

Bùn phân huỷ đã được làm sạch chứa một lượng rất thấp cacbon vô cơ (IC), được pha loãng đến nồng độ chất rắn tổng số từ 1 g/l đến 3 g/l và được ủ ở $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ với hoá chất thử có nồng độ cacbon hữu cơ (OC) từ 20 mg/l đến 100 mg/l trong các bình gắn kín đến khoảng 60 ngày.

Đo áp suất tăng trong khoảng trống ở các bình thử do việc sinh khí cacbon dioxit (CO_2) và khí metan (CH_4). Một lượng cacbon dioxit đáng kể được hoà tan trong nước hoặc tạo thành hidro cacbonat hoặc cacbonat dưới các điều kiện thử. Đo lượng cacbon vô cơ (IC) này ở cuối phép thử.

Lượng cacbon sinh ra do vi sinh vật được tính từ tổng lượng khí thực và cacbon vô cơ thực được sinh ra lớn hơn các giá trị thử trắng. Phần trăm phân huỷ sinh học được tính từ tổng cacbon vô cơ được tạo thành và lượng cacbon được thêm vào hợp chất thử đo được hoặc tính được. Quá trình phân huỷ sinh học được theo dõi bằng cách đo ngay sự sinh khí.

Sự phân huỷ sinh học ban đầu có thể xác định được bằng các phép phân tích đặc biệt ở điểm bắt đầu và điểm cuối phép thử.

5 Điều kiện môi trường thử

Tiến hành ủ trong các bình gắn kín ở nhiệt độ ổn định $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, đó là nhiệt độ bình thường đối với máy phân huỷ kỵ khí, không có mặt oxi, lúc đầu để trong môi trường nitơ tinh khiết.

6 Thuốc thử

6.1 Nước cất hoặc nước đã loại ion, chứa ít hơn 2 mg/l DOC.

6.2 Môi trường thử

6.2.1 Môi trường

Chỉ dùng các thuốc thử tinh khiết phân tích. Chuẩn bị môi trường pha loãng chứa các thành phần sau :

Kali dihydrophosphat khan (KH_2PO_4)	0,27 g
Dinatri hydrophosphat ngậm 12 nước ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	1,12 g
Amoni clorua (NH_4Cl)	0,53 g
Canxi clorua ngậm 2 nước ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,075 g
Magie clorua ngậm 6 nước ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,10 g
Sắt (II) clorua ngậm 4 nước ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0,02 g
Rexazurin (chất chỉ thị oxi)	0,001 g

TCVN 6825: 2001

Natri sunfua ngậm 9 nước ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (xem chú thích 1)	0,1 g
Dung dịch gốc của các nguyên tố vết (tùy chọn)	10 ml
Thêm nước đã khử oxi (6.1)	đến 1 lít.

Để đạt được môi trường thiếu oxi, ngay trước khi sử dụng phun nitơ vào môi trường khoảng 20 phút để loại hết oxi.

Nếu cần, dùng axit khoáng hoặc kiềm để chỉnh pH của môi trường đến $7 \pm 0,2$.

Chú thích 1 – Nên sử dụng natri sunfua mới được cung cấp hoặc nên rửa và làm khô nó trước khi sử dụng để đảm bảo được khả năng khử tốt.

6.2.2 Dung dịch gốc của các nguyên tố vết (tùy chọn)

Nên cung cấp cho môi trường thử các nguyên tố vết sau để cải thiện các quá trình phân huỷ, đặc biệt nếu sử dụng các nồng độ chất cấy thấp.

Mangan clorua ngậm 4 nước ($\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0,05 g
Axit boric (H_3BO_3)	0,005 g
Kẽm clorua (ZnCl_2)	0,005 g
Đồng (II) clorua (CuCl_2)	0,003 g
Dinatri molibdat ngậm 2 nước ($\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,001 g
Coban clorua ngậm 6 nước ($\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,1 g
Niken clorua ngậm 6 nước ($\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,01 g
Dinatri selenit (Na_2SeO_3)	0,005 g
Thêm nước (6.1) cho đến	1 lít.

6.3 Hợp chất thử

Bổ sung thêm hợp chất thử là dung dịch gốc ở dạng huyền phù, nhũ tương, hoặc trực tiếp ở dạng rắn hoặc lỏng để có được nồng độ thử là 100 mg/l cacbon hữu cơ. Nếu sử dụng dung dịch gốc thì chuẩn bị dung dịch thích hợp với nước (6.1) có nồng độ như thế nhưng thể tích thêm vào phải nhỏ hơn 5% tổng thể tích của hỗn hợp phản ứng. Đối với các hợp chất thử không tan hoàn toàn trong nước, xem ISO 10634, không sử dụng dung môi hữu cơ biết trước là có hạn chế việc sinh khí metan, thí dụ như clorofom hoặc cacbon tetracolorua.

Chú thích 2 – Nếu sử dụng các dung môi, thì nên kiểm tra dung môi.

6.4 Chất đối chứng

Các chất đối chứng như natri benzoat, phenol hoặc polyetylen glycol 400 là có thể chấp nhận được. Các chất này nên có độ phân huỷ sinh học lớn hơn 60%. Chuẩn bị dung dịch gốc theo cách tương tự như đối với hợp chất thử.

6.5 Kiểm tra ức chế (tuỳ chọn)

Cho hợp chất thử và chất đối chứng có các nồng độ giống như đã được thêm vào trong 6.3 và 6.4 vào bình chứa môi trường thử (6.2).

6.6 Bùn đã phân huỷ

Thu lấy bùn đã phân huỷ từ máy phân huỷ ở trạm xử lý nước thải sinh hoạt. Dùng các bình rộng cổ được làm từ polyetylen có tỷ trọng cao hoặc từ vật liệu tương tự có thể giãn nở.

Cảnh báo – Vì lý do an toàn, không sử dụng dụng cụ thủy tinh.

Cho bùn đã phân huỷ vào các bình đến cách miệng bình 1 cm và gắn kín bình. Sau khi chuyển đến phòng thí nghiệm, dùng trực tiếp hoặc đặt vào trong máy phân huỷ của phòng thí nghiệm. Giải phóng khí sinh học dư.

Cách khác, sử dụng bùn kỵ khí của phòng thí nghiệm làm chất cấy.

Coi việc phân huỷ trước của bùn là làm giảm sự sinh khí và giảm ảnh hưởng của mẫu trắng. Cho bùn phân huỷ ở nhiệt độ $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ đến 7 ngày, không cho thêm bất kỳ một chất dinh dưỡng hay chất nền nào.

Chú thích 3 – Kinh nghiệm cho thấy rằng việc phân huỷ trước trong khoảng 5 ngày làm giảm sự sinh khí tối ưu trong mẫu trắng mà cũng không làm tăng pha trễ hoặc thời gian ủ trong suốt quá trình thử.

Đối với các hợp chất thử dự đoán trước là có khả năng phân huỷ sinh học kém, thì phơi nhiễm trước bùn với chất thử để thu được chất cấy thích nghi hơn. Trong trường này, cho chất thử có nồng độ cacbon hữu cơ từ 5 mg/l đến 20 mg/l vào bùn đã phân huỷ. Trước khi sử dụng, làm sạch bùn đã phân huỷ trước một cách cẩn thận. Nêu rõ sự phơi nhiễm trước trong báo cáo kết quả.

6.7 Chất cấy

Làm sạch bùn (6.6) ngay trước khi sử dụng, để giảm nồng độ cacbon vô cơ trong dung dịch thử cuối cùng nhỏ hơn 10 mg/l, trước hết cho ly tâm các ống nghiệm đã gắn kín ở tốc độ tương đối chậm (thí dụ ở khoảng 3000 g) đến 5 phút. Cho các viên bùn vón này vào môi trường thử không chứa oxi (6.2), ly tâm và loại bỏ nước rửa. Nếu nồng độ cacbon vô cơ vẫn còn chưa đủ thấp thì làm sạch bùn thêm hai lần nữa. Cuối cùng cho các viên bùn vón này vào một thể tích môi trường thử cần thiết và xác định hàm lượng chất rắn tổng số (3.4). Hàm lượng chất rắn tổng số cuối cùng trong các bình thử phải nằm trong phạm vi từ 1 g/l đến 3 g/l. Thực hiện các thao tác trên theo cách sao để bùn tiếp xúc tối thiểu với oxi (thí dụ như sử dụng môi trường nitơ).

7 Thiết bị, dụng cụ

Dùng các thiết bị thông thường trong phòng thí nghiệm và các dụng cụ sau:

7.1 Tủ ấm hoặc nồi cách thủy hoặc bếp cách cát, kiểm soát được nhiệt độ ở $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

TCVN 6825: 2001

7.2 Bình thử bằng thủy tinh chịu lực, dung tích từ 0,1 lít đến 1 lít, được gắn với vách ngăn làm kín khí, có thể chịu được 2 bar (xem thí dụ trong phụ lục A). Thể tích trống trong bình phải chiếm từ 10% đến 30% tổng thể tích của bình. Nếu khí sinh học được giải phóng định kỳ, thì khoảng 10% là thích hợp nhưng nếu sự giải phóng khí chỉ xảy ra ở cuối phép thử thì 30% là thích hợp.

Chú thích 4 – Từ thực tế cho thấy nên sử dụng các bình huyết thanh được hàn kín bằng nắp huyết thanh cao su butyl và các vòng nhôm uốn sóng.

7.3 Dụng cụ đo áp suất, thí dụ như đồng hồ đo áp suất được nối với một xy lanh tiêm thích hợp; một van kín khí ba nhánh để giải phóng áp suất vượt quá. Sử dụng và hiệu chuẩn dụng cụ này theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

Điều này cần thiết để giữ thể tích bên trong của ống chuyển đổi áp suất và van càng thấp càng tốt, sao cho các sai số do bỏ qua thể tích của thiết bị là không đáng kể.

7.4 Máy phân tích cacbon, thích hợp để xác định trực tiếp cacbon vô cơ từ 1 mg/l đến 200 mg/l.

8 Cách tiến hành

Thực hiện các quá trình ban đầu sau đây, dùng kỹ thuật để duy trì sự tiếp xúc giữa bùn phân huỷ và oxi càng thấp càng tốt, thí dụ : tiến hành trong hộp ở môi trường nitơ hoặc làm sạch các bình bằng nitơ.

8.1 Chuẩn bị thử nghiệm và thí nghiệm kiểm tra

Chuẩn bị các bình thử (7.2) ít nhất là ba bình giống nhau dùng cho hợp chất thử (6.3) và thử mẫu trắng và ít nhất một bình cho chất đối chứng (6.4) và kiểm tra ức chế (6.5) (tùy chọn). Kiểm tra mẫu trắng có thể được dùng cho một số hợp chất thử. Chuẩn bị chất cấy pha loãng (6.7) trước khi cho vào các bình. Bổ sung phần chất lỏng của chất cấy sao cho có được hàm lượng chất rắn tổng số từ 1 g/l đến 3 g/l và cũng như thế trong tất cả các bình. Bổ sung các dung dịch gốc của hợp chất thử và chất đối chứng. Nồng độ thử của cacbon phải là 100 mg/l. Trong trường hợp các chất thử có độc tính, có thể cần phải giảm cacbon hữu cơ đến 20mg/l hoặc thậm chí có thể thấp hơn nếu chỉ có sự phân huỷ sinh học ban đầu bằng các phép phân tích đặc biệt.

Chú thích 5 – Nồng độ thử càng thấp thì sai lệch về kết quả thử có thể càng cao.

Trong trường hợp các bình thử trắng, cho thêm các lượng nước đã loại oxi (6.1) tương đương. Chuẩn bị thêm một bình giống hệt với hợp chất thử và đo giá trị pH. Nếu cần, chỉnh pH về $7 \pm 0,2$ bằng các lượng nhỏ axit khoáng loãng hoặc kiềm. Cho cùng một lượng như nhau chất trung hoà vào tất cả các bình thử (7.2). Nếu phải đo sự phân huỷ sinh học ban đầu, lấy một lượng mẫu thích hợp từ bình kiểm tra pH hoặc từ hỗn hợp thử bổ sung và dùng các phép phân tích đặc biệt để đo nồng độ hợp chất thử. Cho que khuấy từ vào các bình nếu cần phải khuấy hỗn hợp phản ứng (tùy chọn). Đảm bảo rằng tổng thể tích chất lỏng V_1 và thể tích khoảng trống V_h trong bình của tất cả các bình phải giống nhau. Ghi lại V_1 và V_h (xem điều 9). Nếu cần, bổ sung môi trường thử thiếu oxi (6.2). Hàn kín tất cả các bình bằng màng ngăn khí và đặt chúng vào tủ ấm (7.1).

Cho các chất ít tan trong nước trực tiếp vào các bình đã chuẩn bị sau khi đã cân hoặc định lượng chúng bằng dung môi vào trong các bình trống. Cho bay hơi dung môi bằng cách cho khí nitơ đi qua các bình và sau đó cho thêm các thành phần khác. Các chất thử dạng lỏng có thể định lượng bằng xylanh trong các bình gắn kín đã chuẩn bị xong. Nếu chắc chắn rằng pH không vượt quá 7 ± 1 , thì lấy lượng khác như mô tả ở trên.

8.2 Ủ và đo khí

Ủ các bình đã chuẩn bị ở $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong khoảng 1 h để cho cân bằng và giải phóng khí dư vào không khí, thí dụ : bằng cách lắc đi lắc lại bình, cho kim của đồng hồ đo áp suất (7.3) đi qua màng ngăn kín và mở van cho đến khi đồng hồ đo áp suất về vị trí zero. Nếu ở giai đoạn này hoặc khi thực hiện các phép đo trung gian, áp suất của khoảng trống trong bình nhỏ hơn áp suất khí quyển, đưa khí nitơ vào để tái lập áp suất khí quyển. Đóng van (xem 7.3) và ủ tiếp ở nơi tối, đảm bảo rằng tất cả các phần của các bình được duy trì ở nhiệt độ phân huỷ.

Quan sát các bình sau khi ủ từ 24 h đến 48 h. Loại bỏ các bình nếu phần chất lỏng chứa trong bình cho thấy rõ màu hồng, nghĩa là nếu diazoresorxin (xem 6.2.1) đổi màu cho thấy có mặt oxi. Khi có mặt các lượng nhỏ oxi do hệ thống, thì các nồng độ cao hơn có thể cản trở mạnh đến quá trình phân huỷ sinh học kỵ khí.

Khuấy hoặc lắc từ hai đến ba lần trong mỗi tuần, mỗi lần vài phút để trộn kỹ các lượng chứa trong từng bình trước mỗi lần đo áp suất. Đo áp suất khí, thí dụ : bằng cách lồng kim tiêm (xem 7.3) qua màng ngăn được nối với đồng hồ đo kiểm tra áp suất. Ghi lại áp suất, tính bằng milibar (xem 9.1).

Lắc chất cấy dạng huyền phù và đảm bảo sự cân bằng khí. Duy trì khí trong khoảng trống ở nhiệt độ phân huỷ trong khi đo áp suất. Chú ý không để nước lẫn vào kim tiêm. Nếu bị lẫn nước thì làm khô phần bị ướt và lắp kim mới.

Đối với các số đọc của áp suất khí, hàng tuần đo áp suất trong các bình, giải phóng khí dư vào không khí, hoặc bằng cách khác, chỉ đo áp suất ở cuối thử nghiệm để phát hiện sự khí sinh học.

Chú thích 6 – Khuyến cáo rằng nên thực hiện các phép đo trung gian về áp suất khí, vì áp suất tăng sẽ cho biết phép thử có thể đã kết thúc và để cho quá trình động học được đảm bảo.

Kết thúc phép thử sau khi ủ 60 ngày trừ khi đường cong phân huỷ sinh học từ việc đo áp suất chạm đến pha tới hạn, đó là pha có sự phân huỷ tối đa, và cho thấy độ phân huỷ sinh học thích đáng (> 50%) đối với phép thử phải kết thúc sớm. Nếu ở cuối chu kỳ ủ bình thường mà vẫn chưa đạt được pha tới hạn rõ ràng thì nên kéo dài thời gian thử cho đến khi đạt được pha tới hạn.

8.3 Đo cacbon vô cơ

Sau khi thực hiện lần cuối phép đo áp suất khí ở cuối phép thử, để bùn (6.6) lắng, rồi mở từng bình (7.2) và xác định ngay nồng độ cacbon vô cơ (IC) trong phần nổi phía trên, tính bằng miligam trên lít. Ở giai đoạn này (xem chú thích 7) không được ly tâm hoặc lọc theo TCVN 6625 : 2000 (ISO 11923). Sau

TCVN 6825: 2001

khi đo nồng độ cacbon vô cơ, ghi lại pH. Thực hiện các số đọc tương tự đối với các bình thử trắng, chất đối chứng (6.4) và kiểm tra ức chế (6.5) tương ứng .

Chú thích 7 – Ly tâm hoặc lọc có thể làm thất thoát cacbon dioxit hoà tan mà không thể chấp nhận được. Nếu mẫu của phần nổi phía trên không được phân tích ngay sau khi lấy xong thì có thể bảo quản trong lọ đầy gắn kín thích hợp và được làm lạnh ở 4°C cho đến 2 ngày.

Trong một số trường hợp, đặc biệt nếu sử dụng các bình kiểm tra giống nhau cho vài hợp chất thử, cần lưu ý đến việc đo các nồng độ cacbon vô cơ trung gian trong phép thử và trong các bình kiểm tra. Trong trường hợp này sử dụng qui trình sau.

Sau khi đo áp suất khí khi không giải phóng khí dư, dùng xylanh (xem 7.3) hút lấy một lượng biết trước càng nhỏ càng tốt của chất nổi phía trên qua màng ngăn mà không mở bình và xác định cacbon vô cơ trong mẫu. Sau khi lấy mẫu xong, lượng khí dư có thể được giải phóng hoặc không giải phóng khỏi các tủ ấm (xem 8.2).

Cần phải tính rằng cho dù việc giảm nhẹ thể tích của chất nổi phía trên (thí dụ : 1%) cũng làm tăng đáng kể thể tích khí trong khoảng trống. Nếu cần, hiệu chỉnh lại các công thức trong 9.1 bằng cách tăng V_h trong công thức (3).

8.4 Các phép phân tích đặc biệt

Nếu cần phải xác định sự phân huỷ kỵ khí ban đầu (3.2), thì lấy từ các bình chứa hợp chất thử các mẫu cho các phép phân tích đặc biệt ngay từ khi bắt đầu (xem 8.1) và ở cuối phép thử. Nếu thực hiện điều này thì lưu ý rằng thể tích của khoảng trống (V_h) và của chất lỏng (V_l) sẽ bị thay đổi và phải tính đến điều này trong khi tính kết quả.

9 Tính toán và biểu thị kết quả

Vì những lý do thực tiễn, áp suất khí được đo bằng milibar ($1 \text{ mbar} = 1 \text{ hPa} = 10^2 \text{ Pa}$, $1 \text{ Pa} = 1 \text{ N/m}^2$), thể tích được đo bằng lít và nhiệt độ được đo bằng độ C.

9.1 Cacbon trong khoảng trống

Một mol metan và một mol cacbon dioxit chứa 12 gam cacbon. Tính khối lượng cacbon trong thể tích đã biết của khí thoát ra theo công thức (1) :

$$m = 12 \times 10^3 \times n \quad \dots (1)$$

trong đó :

m là khối lượng cacbon trong thể tích đã biết của khí thoát ra, tính bằng miligam;

12 là nguyên tử lượng của cacbon;

n là số lượng mol của khí.

Tính n từ định luật khí sử dụng công thức (2) :

$$n = \frac{pV}{RT} \quad (2)$$

trong đó :

- n là số lượng mol của khí;
- p là áp suất của khí, tính bằng pascal;
- V là thể tích khí, tính bằng mét khối;
- R là hằng số phân tử gam khí [8,314 J/(mol.K)];
- T là nhiệt độ ủ, tính bằng kelvin.

Lượng khí trong khoảng trống là khối lượng tịnh của cacbon (đã trừ giá trị mẫu trắng tương ứng) được tạo ra từ hợp chất thử, được tính theo công thức (3) :

$$m_h = \frac{12000 \times 0,1(\Delta p.V_h)}{RT} \quad (3)$$

trong đó :

- m_h là khối lượng của cacbon thực đã được tạo thành khí trong khoảng trống;
- Δp là giá trị trung bình của chênh lệch áp suất ban đầu và cuối cùng trong các bình thử trừ đi giá trị này trong bình thử trắng, tính bằng milibar;
- V_h là thể tích khoảng trống trong bình, tính bằng lít;
- 0,1 là hệ số chuyển đổi từ niuton trên mét vuông sang milibar và mét khối sang lít.

Khi ủ bình thường ở 35°C (308 K) thì sử dụng công thức (4):

$$m_h = 0,468(\Delta p.V_h) \quad (4)$$

Quá trình phân huỷ có thể được theo dõi bằng cách vẽ đồ thị của sự tăng áp suất Δp , tính bằng milibar với thời gian, nếu thích hợp. Từ đường cong này phân biệt và ghi lại pha trễ, tính bằng ngày. Pha trễ là thời gian tính từ khi bắt đầu phép thử cho đến khi bắt đầu phân huỷ đáng kể (thí dụ : xem phụ lục B).

9.2 Cacbon trong chất lỏng

Dùng công thức (5) để tính khối lượng cacbon trong chất lỏng của các bình thử :

$$m_l = \rho_{IC,net} \times V_l \quad (5)$$

trong đó :

- m_l là khối lượng cacbon có trong chất lỏng, tính bằng miligam;

TCVN 6825: 2001

$\rho_{IC,net}$ là nồng độ của cacbon vô cơ trong các bình thử trừ đi nồng độ cacbon vô cơ trong các bình kiểm tra ở cuối phép thử, tính bằng miligam trên lít;

V_l là thể tích của chất lỏng trong bình, tính bằng lít.

9.3 Cacbon tổng số đã hoá khí

Dùng công thức (6) để tính khối lượng cacbon tổng số đã hoá khí trong bình :

$$m_t = m_h + m_l \quad (6)$$

trong đó :

m_t là khối lượng cacbon tổng số đã hoá khí, tính bằng miligam;

m_h và m_l là các giá trị được xác định trong 9.1 và 9.2.

9.4 Cacbon của chất thử

Tính khối lượng cacbon trong các bình thử từ nồng độ thử của cacbon được thêm vào theo công thức (7):

$$m_v = \rho_{c,v} \times V_l \quad (7)$$

trong đó :

m_v là khối lượng cacbon của hợp chất thử, tính bằng miligam;

$\rho_{c,v}$ là nồng độ cacbon của hợp chất thử, tính bằng miligam trên lít;

V_l là thể tích của chất lỏng trong bình, tính bằng lít.

9.5 Mức phân huỷ

Tính sự phân huỷ từ khí ở khoảng trống theo công thức (8) và sự phân huỷ tổng số theo công thức (9) :

$$D_h = \frac{m_h \times 100}{m_v} \quad (8)$$

$$D_t = \frac{m_t \times 100}{m_v} \quad (9)$$

trong đó :

D_h là sự phân huỷ từ khí ở trong khoảng trống, được biểu thị bằng phần trăm;

D_t là sự phân huỷ tổng số, được biểu thị bằng phần trăm;

m_h , m_v và m_t là các giá trị đã được xác định tương ứng trong 9.1, 9.4 và 9.3.

10 Tính đúng đắn của các kết quả

10.1 Duy trì các điều kiện kỵ khí

Dùng các số đọc áp suất từ các bình không chứa oxi, tức là không còn màu hồng. Dùng kỹ thuật xử lý kỵ khí thích đáng để tối thiểu hoá sự nhiễm oxi.

10.2 Sự ức chế phân huỷ

Sự sinh khí trong các bình chứa cả chất thử lẫn chất đối chứng ít nhất phải bằng sự sinh khí trong bình chỉ chứa chất đối chứng; nếu không như thế thì có nghĩa là có sự ức chế sinh khí. Trong trường hợp thứ hai này, nên lặp lại phép thử sử dụng nồng độ hoá chất thử thấp hơn nhưng không nhỏ hơn 20 mg/l (xem 8.1)

10.3 Tính đúng đắn của phép thử

Phép thử được coi là đúng nếu chất đối chứng có pha tới hạn cho > 60% phân huỷ sinh học. Nếu pH ở điểm cuối phép thử vượt quá 7 ± 1 và sự phân huỷ sinh học xảy ra không hoàn toàn, thì nên lặp lại phép thử dùng môi trường thử (6.2) có khả năng đệm cao hơn.

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm cần ít nhất những thông tin sau:

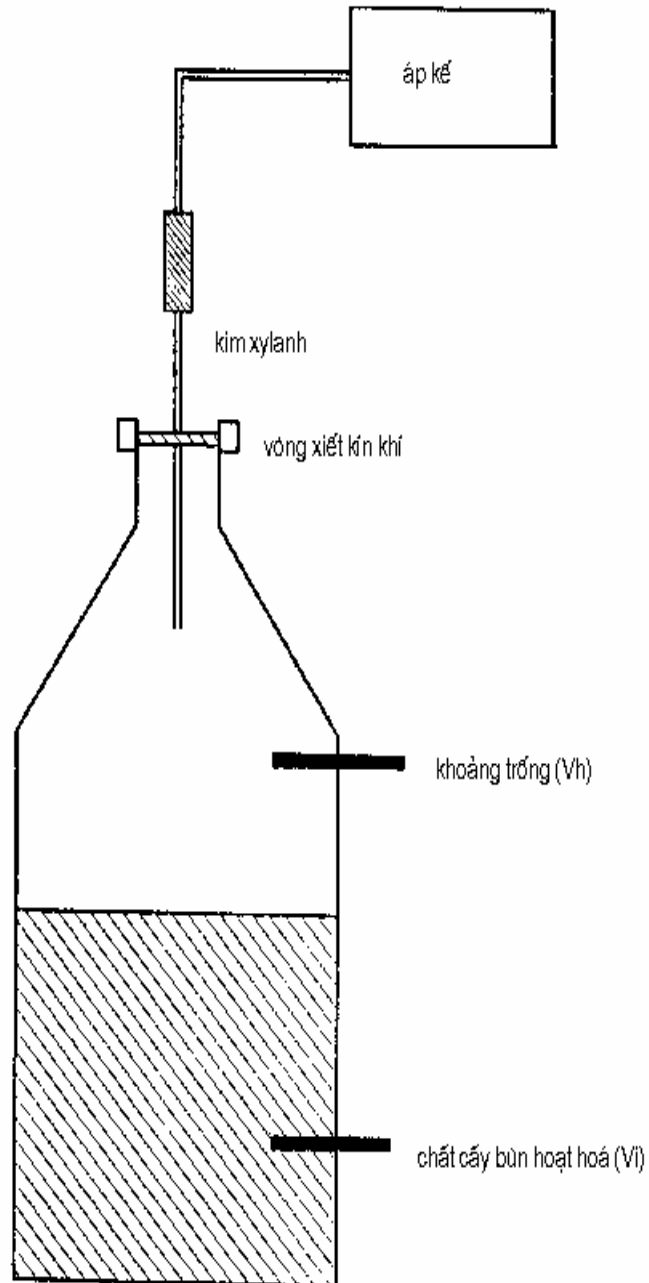
- a) trích dẫn tiêu chuẩn này;
- b) nhận dạng hợp chất thử và chất đối chứng;
- c) nồng độ hợp chất thử và phương pháp bổ sung;
- d) các đặc trưng cơ bản của việc đo khí sinh học (thí dụ : chủng loại đồng hồ đo áp suất) và máy phân tích cacbon vô cơ;
- e) tất cả các số liệu đo được trong các bình thử, bình mẫu trắng, bình kiểm tra và kết quả ức chế, nếu xác định được, (thí dụ : áp suất tính bằng milibar, nồng độ cacbon vô cơ tính bằng miligam trên lít theo dạng bảng; một thí dụ về các bảng số liệu được đưa ra trong phụ lục C), xử lý thống kê các số liệu và thời gian thử;
- f) nguồn gốc, nồng độ và mọi thông tin về xử lý trước chất cấy đã dùng (thí dụ phân huỷ trước, phơi nhiễm trước);
- g) nhiệt độ ủ;
- h) thể tích phần nước của máy phân huỷ (V_1) và thể tích của khoảng trống trong bình (V_h);
- i) các giá trị pH và cacbon vô cơ ở cuối phép thử;
- j) nồng độ của hợp chất thử ở điểm bắt đầu và điểm cuối phép thử nếu thực hiện phép đo đặc biệt

TCVN 6825: 2001

- k) đường cong phân huỷ thu được từ việc sinh khí thực trong khoảng trống như đã chỉ ra trong phụ lục B;
- l) phần trăm phân huỷ của hợp chất thử và chất đối chứng, kết quả thử cuối cùng nên nằm trong phạm vi 10% (thí dụ 20% đến 30%).

Phụ lục A

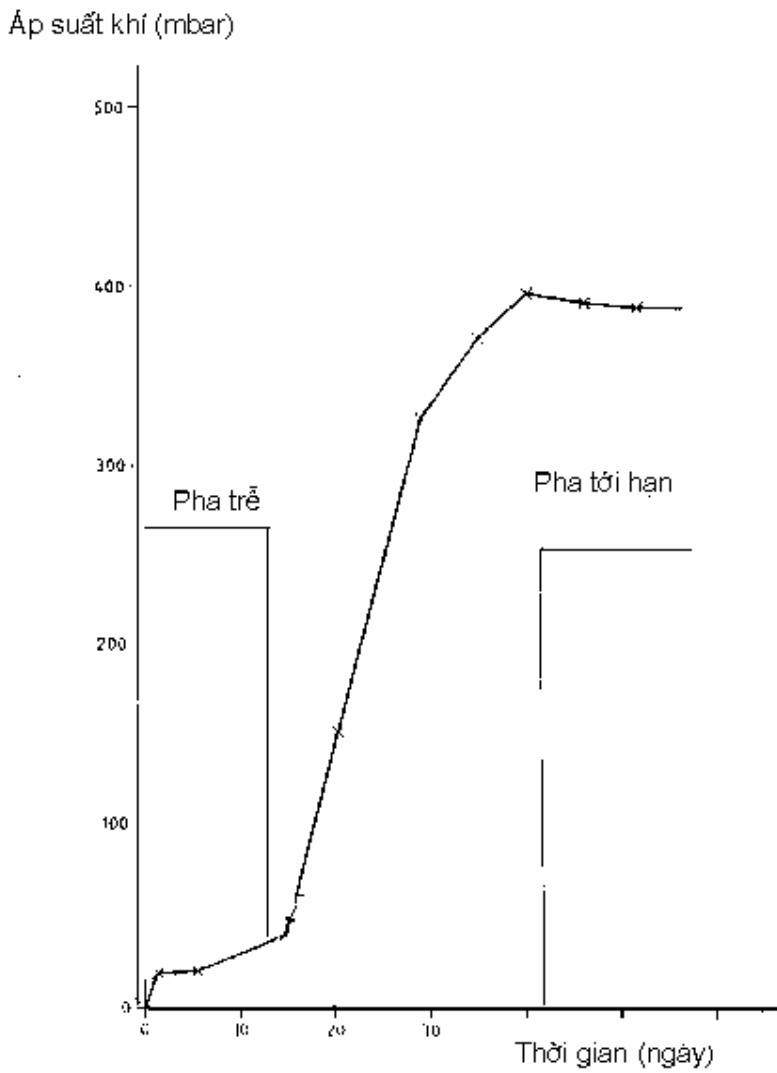
(tham khảo)

Thí dụ về một thiết bị đo sự sinh khí sinh học bằng áp suất khíBình thử ở nhiệt độ môi trường $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Phụ lục B

(Tham khảo)

Thí dụ về đường cong phân huỷ (tăng áp suất thực được tích lũy)



Phụ lục D

(tham khảo)

Tài liệu tham khảo

- [1] BIRCH, R. R. , BIVER, C., CAMPAGNA, R, GLEDHILL., W. E. PAGGA, U., STEBER, J. REUST, H. và BONTINCK, W. J. Kiểm tra các hoá chất dùng cho phân huỷ sinh học kỵ khí. Chemosphere 19 (1989) từ trang 1527 đến trang 1550. (Báo cáo kỹ thuật số 28, tháng 6 năm 1988 của ECETOC).
- [2] BUSWELL,A. M. và MULLER, H. F. Cơ chế lên men metan. Ind. Eng. Chem. 44 (1952). Từ trang 550 đến trang 552.
- [3] PAGGA, U. M. và BEIMBORN, D. B Thử phân huỷ sinh học kỵ khí đối với các hợp chất hữu cơ. Quyển nhiệt 27 (1993), từ trang 1499 đến trang 1509.
-