

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



NGUYỄN HỮU ĐỒNG

**NGHIÊN CỨU XỬ LÝ NƯỚC THẢI CHĂN NUÔI LỢN
SAU BIOGAS BẰNG CÔNG NGHỆ SBR
SỬ DỤNG MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN
NITRIT/NITRAT HÓA CHỌN LỌC**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG

Mã số: 62 52 03 20

HÀ NỘI - 2024

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ,
Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

1. Người hướng dẫn khoa học 1: TS. Phan Đỗ Hùng, Viện Khoa học công nghệ Năng lượng và Môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
2. Người hướng dẫn khoa học 2: TS. Đinh Thị Thu Hằng, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 1:.....

Phản biện 2:.....

Phản biện 3:.....

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Chăn nuôi lợn (CNL) đang tạo ra một lượng lớn các loại chất thải (nước thải, khí thải, chất thải rắn), gây ra nhiều áp lực, nguy cơ ô nhiễm môi trường, làm ảnh hưởng đến sức khỏe của cộng đồng dân cư và hệ sinh thái tự nhiên. Trong đó, nước thải (NT) là thành phần rất đáng lo lắng, theo số liệu thống kê của Bộ NN&PTNT năm 2020, NT từ CNL chiếm 75 triệu m³ (chiếm 65,7% tổng lượng NT của ngành chăn nuôi). Cùng với lượng thải lớn, thì NTCNL có hàm lượng các chất hữu cơ, chất rắn lơ lửng, các hợp chất nitơ, vi sinh vật gây bệnh rất cao và vượt nhiều lần so với quy chuẩn xả thải cho phép. Tuy vậy, trong các thành phần này thì, các hợp chất nitơ là đáng quan ngại nhất bởi đây là thành phần vừa khó xử lý và vừa gây ra nhiều tác động xấu đến môi trường.

Trong thực tế, cũng như các kết quả nghiên cứu cho rằng công nghệ SBR là công nghệ khả thi để xử lý nước thải CNL, đặc biệt trong việc xử lý các hợp chất nitơ. Xử lý sinh học nitơ trong bể SBR được thực hiện dựa trên sự kết hợp giữa quá trình nitrat hóa và quá trình khử nitrat. Quá trình nitrat hóa truyền thống thường được thực hiện bởi các nhóm vi khuẩn tự dưỡng (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*,.....), và là bước giới hạn tốc độ của quy trình xử lý sinh học nitơ trong nước thải. Do vi khuẩn tự dưỡng thường sinh trưởng yếu, khá nhạy cảm với các điều kiện với môi trường và chịu sự cạnh tranh gay gắt từ những nhóm vi sinh vật khác, nên độ ổn định về hiệu quả xử lý của nhóm vi khuẩn tự dưỡng không cao. Mặt khác, các nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng, quá trình nitrat hóa cũng có thể được thực hiện bởi một số nhóm vi khuẩn dị dưỡng. So với vi khuẩn tự dưỡng, các vi khuẩn dị dưỡng khi tham gia vào quá trình nitrat hóa tỏ ra ưu việt hơn: sinh trưởng nhanh, có thể đồng thời nitrat hóa, khử nitrat và kết hợp loại bỏ chất hữu cơ; một số loài thậm chí có thể chịu được môi trường lạnh, độ mặn cao và giàu amoni. Những lợi thế này mang lại tiềm năng lớn cho việc nghiên cứu ứng dụng các nhóm vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng để xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải. Vì vậy, việc phân lập những chủng vi khuẩn mới, đặc biệt là các nhóm vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng là một việc có ý nghĩa lớn về mặt khoa học và thực tiễn để xử lý ô nhiễm nitơ trong nước thải.

Xuất phát từ những vấn đề nêu trên, việc lựa chọn và thực hiện

đề tài: “*Nghiên cứu xử lý nước thải chăn nuôi lợn sau biogas bằng công nghệ SBR sử dụng một số chủng vi khuẩn nitrit/nitrat hóa chọn lọc*” là rất cần thiết, góp phần cung cấp một giải pháp công nghệ hiệu quả trong xử lý nước thải (XLNT) chăn nuôi lợn.

2. Mục tiêu nghiên cứu

1) Phân lập, định danh và chọn lọc được một số chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa amoni/nitrit từ nước thải lò mổ và nước thải chăn nuôi lợn sau biogas, đánh giá được một số điều kiện sinh trưởng tối ưu và khả năng chuyển hóa amoni/nitrit của chúng; Xác định được một số điều kiện phù hợp (mật độ, tỷ lệ phối trộn) để ứng dụng các chủng vi khuẩn nitrit/nitrat phân lập được vào xử lý nước thải chăn nuôi lợn sau bể biogas.

2) Đánh giá hiệu quả, xác định được một số điều kiện phù hợp (tỉ lệ thời gian thiếu khí/hiếu khí, tải trọng COD, tải trọng TN) để xử lý đồng thời chất hữu cơ và các hợp chất nitơ trong nước thải chăn nuôi lợn sau bể biogas bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn nitrit/nitrat phân lập được.

3. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Phân lập, định danh và chọn lọc một số chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa amoni, nitrit từ nước thải lò mổ và nước thải CNL sau bể biogas.

Nội dung 2: Xác định khả năng sinh trưởng, chuyển hóa amoni/nitrit thích hợp của các chủng phân lập được trong một số điều kiện môi trường nuôi cấy (nhiệt độ, pH, DO, độ muối, nồng độ amoni/nitrit ban đầu).

Nội dung 3: Xác định mật độ vi sinh phù hợp, so sánh khả năng chuyển hóa amoni/nitrit, khảo sát tỷ lệ phối trộn hiệu quả cho việc xử lý đồng thời COD và TN trong nước thải CNL sau bể biogas của các chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni, nitrit phân lập được.

Nội dung 4: Nghiên cứu xử lý nước thải CNL sau xử lý kỵ khí bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được ở quy mô phòng thí nghiệm theo các điều kiện sau: (i) Ảnh hưởng của tỉ lệ thời gian các pha thiếu khí và hiếu khí đến hiệu quả xử lý COD, $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$, TN; (ii) Ảnh hưởng của tải trọng chất hữu cơ (OLR) và tải trọng tổng nitơ (NLR) đến hiệu quả xử lý COD và TN.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về nước thải chăn nuôi lợn tại Việt Nam

Lượng nước thải trung bình một con lợn một ngày khoảng 25-30 lit/con/ngày. Nước thải CNL quy mô gia trại có nồng độ COD, TN, TP lần lượt là: 3022 ± 597 ; 608 ± 87 ; 342 ± 92 mg/L. Nước thải CNL quy mô trang trại có nồng độ COD, N-NH₄⁺, TN, TP lần lượt là: 860-4590; 130- 870; 170 - 900; 250-295 mg/L. Kết quả cho thấy hai chỉ tiêu ô nhiễm chính là COD, TN đều vượt giới hạn cho phép quy định tại Cột B - QCVN 62-MT:2016/ BTNMT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước thải chăn nuôi. Vì vậy, nếu thải ra môi trường sẽ gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng, ảnh hưởng đến sức khỏe con người và đời sống của sinh vật thủy sinh.

1.2. Tổng quan các nghiên cứu xử lý nước thải chăn nuôi lợn

Tổng hợp kết quả của 13 nghiên cứu trên thế giới và 14 nghiên cứu ở Việt Nam về xử lý nước thải CNL cho thấy:

(1) Các nghiên cứu phần lớn tập trung vào sử dụng công nghệ sinh học để xử lý nước thải chăn nuôi lợn. Một số công nghệ sinh học như: Đất ngập nước, UASB, biogas, lọc sinh học xử lý được cơ bản chất hữu cơ (CHC) (hiệu suất: 80 - 95%) nhưng xử lý các chất dinh dưỡng (N, P) còn hạn chế (khoảng 30 - 60%).

(2) Công nghệ bùn hoạt tính theo mẻ (Sequencing Batch Reactor - SBR) có thể đạt hiệu suất xử lý chất hữu cơ và nitơ cao (khoảng 90-97%). Tuy nhiên, công nghệ SBR thông thường có một số hạn chế như sau: (i) Hiệu quả xử lý TN không ổn định và phụ thuộc vào một số yếu tố như: nồng độ amoni (nồng độ NH₄⁺-N cao hơn 500 mg/L có thể ức chế vi sinh vật thực hiện quá trình nitrat hóa, độ kiềm và tỷ lệ carbon/nitơ (ii) yêu cầu nguồn carbon bổ sung cho quá trình thiếu khí.

Từ những phân tích nhận thấy SBR là công nghệ khá phù hợp cho việc XLNT CNL.

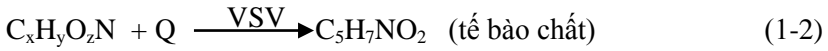
1.3. Cơ chế chuyển hóa sinh học CHC và nitơ của công nghệ SBR

1.3.1. Chuyển hóa sinh học chất hữu cơ

- Quá trình oxy hóa chất hữu cơ (cung cấp năng lượng cho tế bào):



- Quá trình tổng hợp tế bào (tổng hợp xây dựng tế bào):



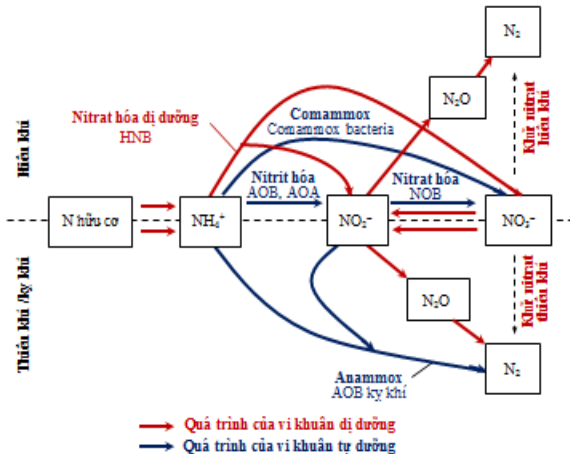
($C_5H_7NO_2$: Tỷ lệ trung bình các nguyên tố chính trong tế bào VSV).

- Quá trình oxy hóa nội bào (tự oxy hóa):



1.3.2. Chuyển hóa sinh học nitơ

Xử lý sinh học nitơ trong SBR gồm hai quá trình chính là quá trình của vi khuẩn tự dưỡng và quá trình của vi khuẩn dị dưỡng (Hình 1.1).



Hình 1.1. Các quá trình chuyển hóa nitơ có thể xảy ra trong các hệ thống sinh học xử lý nitơ

Anammox: oxy hóa amoni kỵ khí; **Comammox**: Oxi hóa amoni hoàn toàn; **HNB**: vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng; **AOA**: Vi khuẩn cổ oxy hóa amoni; **AOB**: vi khuẩn oxy hóa amoni; **NOB**: vi khuẩn oxy hóa nitrit

Quá trình nitrat hóa thường được coi là bước giới hạn tốc độ và được thực hiện bởi hai nhóm vi khuẩn chính là nhóm vi khuẩn tự dưỡng và nhóm vi khuẩn dị dưỡng. Trong đó, nhóm tự dưỡng thường sinh trưởng yếu, khá nhạy cảm với các điều kiện với môi trường và chịu sự cạnh tranh gay gắt từ những nhóm vi sinh vật khác nên độ ổn định về hiệu quả xử lý không cao còn nhóm dị dưỡng thì ưu việt hơn so với nhóm tự dưỡng như: sinh trưởng nhanh, có thể đồng thời nitrat hóa và khử nitrat kết hợp loại bỏ chất hữu cơ, một số loài thậm chí có thể chịu được môi trường lạnh, quá mặn hoặc giàu amoni. Những lợi thế này

mang lại tiềm năng lớn cho việc ứng dụng các nhóm vi khuẩn nitrat hóa di dưỡng để xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải.

1.4. Tổng quan về vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng (HBN)

- Cơ chế chuyển hóa nitơ : Phần lớn HBN có thể oxy hóa amoni thành oxit nitơ dạng khí hoặc khí nitơ bằng con đường nitrat hóa và khử nitrat hoàn toàn: $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{NO}_2^-$, $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}$, $\text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$. Ngoài ra, một số chủng như: *Alcaligenes faecalis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Thauera* sp. chủng SND5 có thể oxy hóa trực tiếp amoni thành khí nitơ thông qua hydroxylamine dưới dạng sản phẩm trung gian chứ không phải nitrit/nitrate ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$)

- Đặc điểm sinh lý - hóa sinh: Tỷ lệ C/N phù hợp cho quá trình chuyển hóa nitơ của HBN dao động từ 8 - 10; pH tối ưu: 5-10; nhiệt độ tối ưu: 20 - 40 °C. Ngoài ra, một số loài còn có thể thích nghi được với các điều kiện môi trường đặc biệt khác như: có thể chịu lạnh đến 2 °C; chịu mặn ở độ muối lên đến 15% hoặc 20%; chịu amoni cao lên đến 1.000 mg/L hoặc 2.000 mg/L.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, phạm vi và vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- *Nước thải*: NT phân lập vi sinh được lấy từ sau hệ thống xử lý bằng bể biogas của một lò mổ và 04 trang trại CNL trên địa bàn tỉnh Hà Tĩnh. NT thử nghiệm khả năng xử lý của các chủng vi sinh phân lập được, được lấy từ sau bể biogas tại một số Trang trại CNL ở Huế.

- *Các chủng vi khuẩn phân lập được*: gồm một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni, nitrit phân lập, tuyển chọn từ nước thải lò mổ và một số trang trại CNL trên địa bàn tỉnh Hà Tĩnh

- *Hệ thống SBR*: Bao gồm cả hai chu trình thiếu khí và hiếu khí.

2.1.2. Phạm vi nghiên cứu:

Các nghiên cứu và thí nghiệm được thực hiện trên các mô hình quy mô khác nhau trong phòng thí nghiệm.

2.1.3. Vật liệu nghiên cứu:

Tất cả các hóa chất được sử dụng cho nghiên cứu này được cung cấp bởi công ty Merck - CHLB Đức và công ty Hanna - Rumani; thạch có nhiệt độ nóng chảy thấp được mua từ hãng Lonza - Mỹ; nước cất hai lần. Hóa chất có độ tinh khiết từ 99,0 - 99,9%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu và bảo quản mẫu

Mẫu nước thải phân lập vi sinh: thu bằng túi nhựa vô trùng chuyên dụng, bảo quản lạnh. Mẫu nước thải chạy mô hình nghiên cứu: thu bằng can nhựa 20 lít, bọc túi nhựa đen bên ngoài can.

2.2.2. Phương pháp xác định các chỉ tiêu trong nghiên cứu

Các chỉ tiêu trong nghiên cứu được đo/phân tích theo các phương pháp tiêu chuẩn/đo bằng các thiết bị có độ chính xác cao.

2.2.3. Phương pháp nuôi cấy và phân lập các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit

Môi trường khoáng cơ sở Winogradsky được sử dụng để nuôi cấy, phân lập các chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni/nitrit, quan sát sự hình thành của khuẩn lạc đồng thời kiểm tra sự chuyển hóa của amoni (dùng thuốc thử Nessler) và nitrit (dùng thuốc thử Griess) sau thời gian nuôi cấy 05 ngày với định kỳ kiểm tra 1 ngày một lần. Chỉ có những ống nghiệm cho kết quả dương tính với thuốc thử ở bất kỳ mức độ nào sẽ được lựa chọn cho việc phân lập.

2.2.4. Phương pháp nhuộm Gram

2.2.5. Định danh và xác định các chủng vi khuẩn nitrit/nitrat hóa

Các chủng vi khuẩn được xác định là thuần khiết dựa trên hình thái về độ đồng nhất khuẩn lạc trên môi trường phân lập được định danh bằng phương pháp khuếch đại PCR và giải trình tự gene mã hóa 16S rARN và tra cứu bằng công cụ BLAST.

2.2.6. Khảo sát ảnh hưởng của điều kiện MT nuôi cấy tới khả năng sinh trưởng và chuyển hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được

Các chủng vi khuẩn nitrit/nitrat hóa phân lập được, được tiến hành nuôi cấy với mật độ vi sinh 10^6 CFU/mL trong bình tam giác dung tích 250 mL có chứa 100mL môi trường khoáng có nồng độ amoni/nitrit cho tất cả các khảo sát là 50 mg/L, tiến hành đánh giá:

- Ảnh hưởng của pH: Khảo sát ở: 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 8,5.
- Ảnh hưởng của nhiệt độ: Khảo sát ở: 5; 30; 37; 45 và 50 °C
- Ảnh hưởng của DO: Khảo sát ở: 0,1; 4,5 và 7,0 mg/L
- Ảnh hưởng độ muối (NaCl): Khảo sát ở: 1,0; 3,0 và 5,0%.
- Ảnh hưởng của nồng độ amoni/nitrit ban đầu: Khảo sát ở nồng độ: 100; 500 và 750 mg/L.

2.2.7. Khảo sát khả năng xử lý nước thải chăn nuôi lợn sau biogas của các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni, nitrit phân lập được

2.2.7.1. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh bổ sung ban đầu đến hiệu quả XLNT

Bổ sung riêng lẻ các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit phân lập được vào trong NT CNL sau xử lý biogas với mật độ vi sinh vật từ 10^3 - 10^6 CFU/mL nước thải. Nước thải thí nghiệm có amoni/nitrit dao động trong khoảng 400 mg/L \pm 20 cấp vào bình nhựa hình trụ có dung tích 3 lít, thể tích phản ứng 1,5 lít. Thiết bị sục khí được đặt ở đáy bình để cấp liên tục với tốc độ cấp khí của các bình là giống nhau (DO = 4-6 mg/L), pH: 7-7,5. Bình đối chứng làm tương tự vậy nhưng không bổ sung vi sinh. Lấy mẫu liên tục từ 0; 1; 2 và 3 ngày để đánh giá khả năng xử lý amoni/nitrit của từng chủng.

2.2.7.2. So sánh khả năng xử lý của đơn chủng và tổ hợp các chủng

Bổ sung tổ hợp các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit phân lập cùng tỷ lệ với mật độ tối ưu được xác định ở thí nghiệm trên vào trong NT CNL sau biogas, tiến hành khảo sát và đánh giá khả năng xử lý của tổ hợp chủng như thí nghiệm trên. Sử dụng kết quả của thí nghiệm này và thí nghiệm trên để so sánh so sánh khả năng chuyển hóa amoni/nitrit của đơn chủng và tổ hợp các chủng.

2.2.7.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được đến hiệu quả xử lý nước thải

Phối trộn tổ hợp các chủng vi khuẩn nitrit hóa với các chủng vi khuẩn nitrit hóa phân lập được theo các tỷ lệ tương ứng là (1:0), (1:1), (2:1), (3:1) tiến hành khảo sát đánh giá khả năng chuyển hóa/xử lý COD và TN trong NT thí nghiệm. NT thí nghiệm là NT CNL sau biogas có TN: 400 mg/L \pm 20 và COD: 1600 mg/L \pm 80 được cấp vào các bình nhựa hình trụ có dung tích 3 lít, thể tích phản ứng 1,5 lít. Kết quả của thí nghiệm sẽ cung cấp thông tin cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.7.4. Nghiên cứu XLNT CNL sau bể biogas bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được

- Các thông số/vật liệu đầu vào chạy mô hình SBR:

+ Ảnh hưởng của chế độ sục khí gián đoạn 1 chu trình:

Bảng 2.2. Các thông số vận hành hệ thống SBR để khảo sát

TT	Điều kiện vận hành	Thông số vận hành
1	Dung tích của bể SBR (V_{SBR})	10 L
2	Số mẻ xử lý	6 mẻ/ngày
3	Tải trọng tổng nitơ (NLR)	0,2 kg TN/m ³ .ngày
4	Lưu lượng xử lý theo mẻ (Q_m)	~ 0,67 L/mẻ
5	Thời gian lưu thủy lực (HRT)	2,5 ngày

Tiến hành chạy hệ thống thí nghiệm SBR để xử lý nước thải chăn nuôi lợn sau xử lý kỵ khí theo các chế độ sục khí như sau:

Bảng 2.3. Các chế độ sục khí chạy hệ thống thí nghiệm SBR

Cấp và thoát đồng thời (phút)	Thiếu khí (phút)	Hiếu khí (phút)	Lắng (phút)	Ghi chú
10	100	100	30	Chế độ 1
	70	130		Chế độ 2
	40	160		Chế độ 3

Lấy mẫu phân tích COD, $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$ và TN để đánh giá, so sánh hiệu quả xử lý.

+ Ảnh hưởng của tải trọng hữu cơ, nitơ đến hiệu suất xử lý:

Bảng 2.4. Các mức tải trọng TN, COD tương ứng được khảo sát.

Tải trọng TN, NLR (kg/m ³ .ngày)	0,15	0,2	0,25	0,3
Tải trọng COD, OLR (kg/m ³ .ngày)	0,6	0,8	1	1,2
$Q_{ngày}$ (L/ngày)	3	4	5	6
Q_m (L/mẻ)	0,5	0,67	0,83	1
HRT (ngày)	3,3	2,5	2	1,7

Phân tích COD và TN để đánh giá, so sánh hiệu quả xử lý

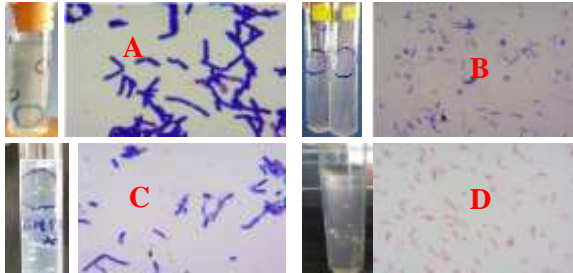
2.2.8. Phương pháp tính toán và xử lý số liệu

Các số liệu phân tích được tính toán, xử lý, biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD: Standard Deviation) trên đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập, định danh một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni/nitrit từ nước thải

- Phân lập được 04 chủng có khả năng chuyển hóa amoni và đặt tên là: *Bacillus megaterium* HT1; *Bacillus licheniformis* HT1; *Bacillus subtilis* HT1; *Pseudomonas aeruginosa* HT1



Hình 3.1. Kết quả hình thành khuẩn lạc trong ống nghiệm và nhuộm Gram của: *B. megaterium* HT1 (A); *B. licheniformis* HT1 (B); *B. subtilis* HT1 (C); *P. aeruginosa* HT1 (D)

- Phân lập được 02 chủng có khả năng chuyển hóa nitrit và đặt tên là: *Lactobacillus fermentum* HT2 và *Pseudomonas stutzeri* HT2.



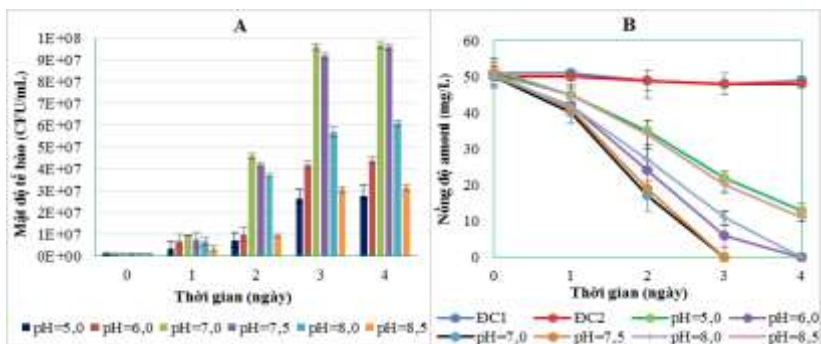
Hình 3.2. Kết quả của sự hình thành khuẩn lạc trong ống nghiệm và nhuộm Gram của: *P. stutzeri* HT2 (A); *L. fermentum* HT2 (B)

3.2. Khảo sát ảnh hưởng của một số yếu tố MT nuôi cấy đến sự sinh trưởng và chuyển hóa amoni/nitrit của các chủng VK phân lập được

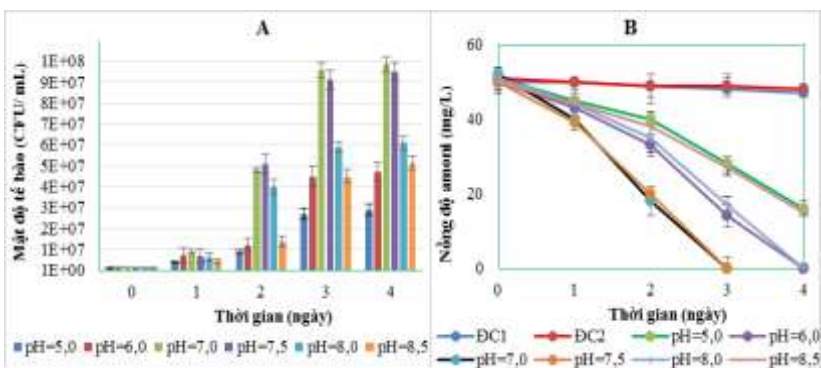
3.2.1. Khảo sát các chủng chuyển hóa amoni

3.2.1.1. Ảnh hưởng của pH

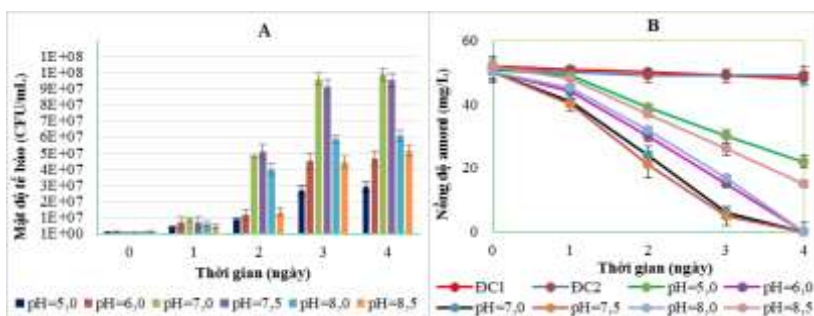
Bốn chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 và *P. aeruginosa* HT1 có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni tốt nhất trên môi trường có pH từ 7,0 đến 7,5 sau 2 đến 3 ngày nuôi cấy. Chúng chuyển hóa hoàn toàn 50 mg/L amoni trong 03 ngày nuôi cấy (Hình 3.3; Hình 3.4; Hình 3.5 và Hình 3.6).



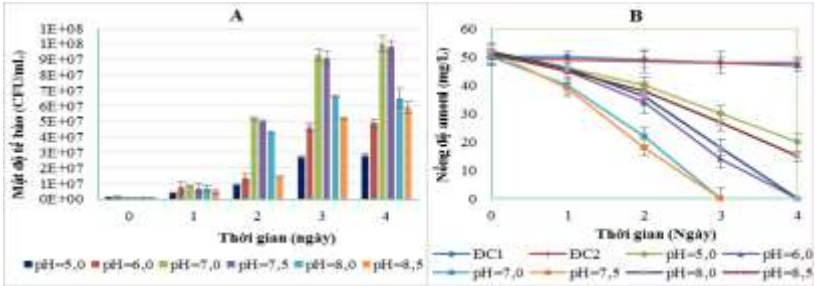
Hình 3.3. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. megaterium* HT1



Hình 3.4. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. licheniformis* HT1



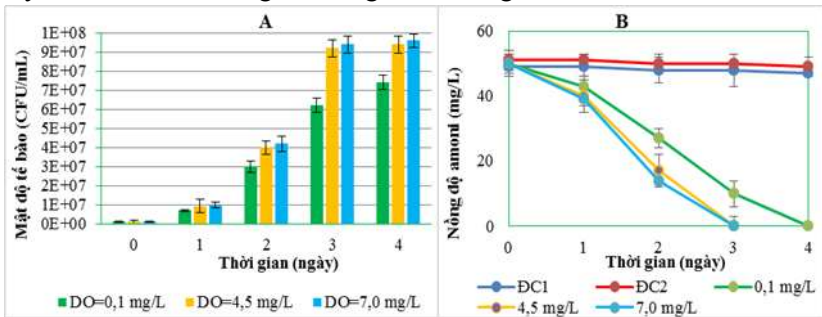
Hình 3.5. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. subtilis* HT1



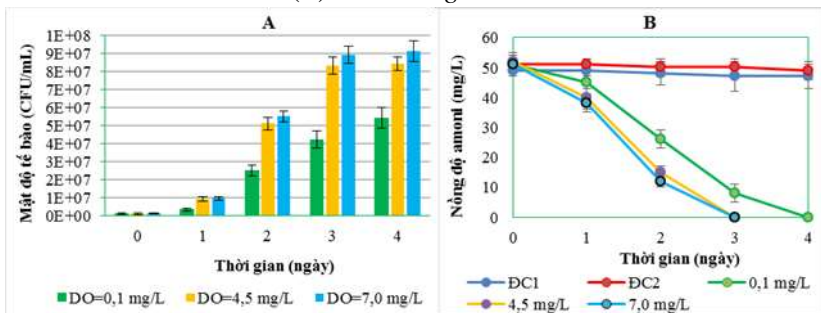
Hình 3.6. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *P. aeruginosa* HT1

3.2.1.2. Ảnh hưởng của DO và nhiệt độ

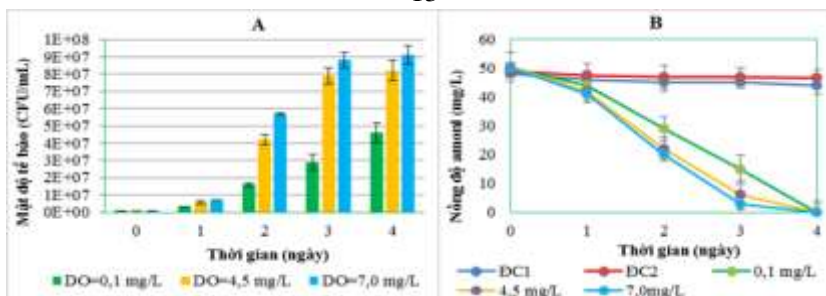
Môi trường hiếu khí phù hợp cho sự sinh trưởng và chuyển hóa amoni của *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1; *P. aeruginosa* HT1. DO thấp (0,1 mg/L) các chủng vẫn sinh trưởng và chuyển hóa amoni chứng tỏ chúng có thích nghi tốt với điều kiện bất lợi.



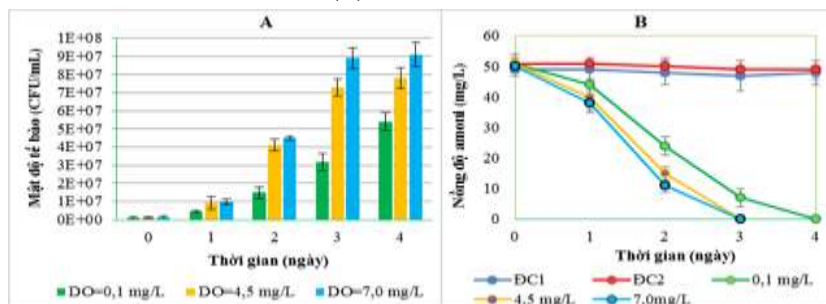
Hình 3.7. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. megaterium* HT1



Hình 3.8. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. licheniformis* HT1



Hình 3.9. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. subtilis* HT1



Hình 3.10. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng(A) và chuyển hóa amoni (B) của *P. aeruginosa* HT1

Bốn chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1; *P. aeruginosa* HT1 phân lập được đều thuộc vi khuẩn ưa ấm (mesophilic) với khoảng nhiệt độ phát triển ưa thích là 30 - 37 °C.

3.2.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ muối

Bốn chủng vi khuẩn phân lập được: *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1; *P. aeruginosa* HT1 đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni trong môi trường có độ muối lên đến 3,0%.

3.2.1.4. Ảnh hưởng của nồng độ amoni nuôi cấy ban đầu

Bốn chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1; *P. aeruginosa* HT1 đều có khả năng sinh trưởng tốt trong các môi trường khảo sát (amoni: 100; 500 và 750 mg/L), tốc độ sinh trưởng tối đa đạt được sau 2 đến 3 ngày nuôi cấy. Bên cạnh đó các chủng khảo sát cho khả năng chuyển hóa amoni rất tốt, chuyển hóa hoàn toàn 750 mg/L amoni sau 05 ngày nuôi cấy trong khi một số kết quả nghiên cứu khác cho rằng khi amoni > 150 mg/L có thể gây ức chế cho một số vi khuẩn chuyển hóa amoni. Quá trình chuyển hóa amoni không được tìm thấy trong các bình nuôi cấy đối chứng do đó có thể khẳng định rằng sự chuyển hóa amoni được thực hiện bởi các chủng khảo sát.

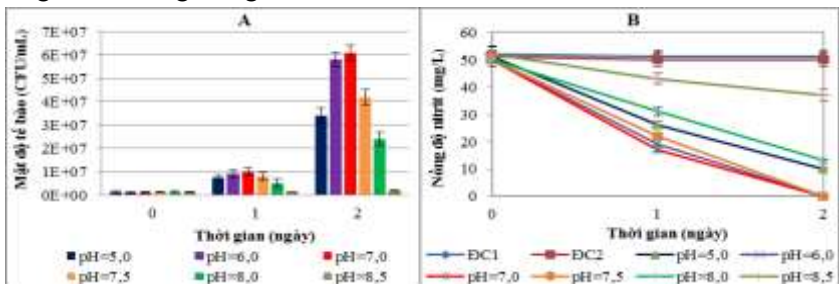
Khả năng tạo nitrit, nitrat của các chủng thí nghiệm khi chuyển hóa hoàn toàn amoni ở các nồng độ 100, 500, 750 mg/L trong môi trường nuôi cấy lần lượt dao động như sau: 15 - 20 mg/L nitrit và 35 - 45 mg/L nitrat, 50 - 60 mg/L nitrit và 150 - 160 mg/L nitrat, 70 - 80 mg/L nitrit và 270 - 280 mg/L nitrat. Kết quả này có thể lý giải rằng các chủng khảo sát ngoài khả năng chuyển hóa amoni thành nitrit thì còn chuyển hóa tiếp nitrit thành nitrat. Để củng cố thêm giả thuyết này, 04 chủng vi khuẩn này được thử nghiệm trong môi trường nuôi cấy có bổ sung 50 mg/L nitrit mà không có sự có mặt của amoni. Dịch cấy được lấy từ mẫu môi trường nuôi cấy mà các chủng này đã chuyển hóa hòa toàn amoni. Thử nghiệm cho thấy nồng độ nitrit trong môi trường nuôi cấy của cả 04 chủng đã bị chuyển hóa hoàn toàn sau 03 ngày nuôi cấy. Như vậy, có thể khẳng định các chủng nghiên cứu có khả năng chuyển hóa nitrit thành nitrat.

Đối với chủng *Pseudomonas aeruginosa* HT1 do thuộc loài vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* được biết đến là trực khuẩn mũ xanh thường gây bệnh cho người và động vật nên trong nghiên cứu này sẽ không sử dụng chủng *Pseudomonas aeruginosa* HT1 cho các thí nghiệm tiếp theo.

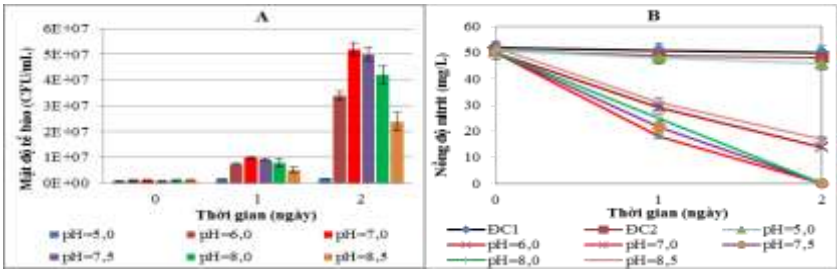
3.2.2. Khảo sát các chủng chuyển hóa nitrit

3.2.2.1. Ảnh hưởng của pH

Chủng vi khuẩn *P. stutzeri* HT2 có thể sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong khoảng pH thử nghiệm từ 6,0-8,5 và tốt nhất trong khoảng pH từ 7,0 - 8,0 (Hình 3.22), chứng tỏ chủng *P. stutzeri* HT2 thích nghi tốt hơn trong môi trường trung tính và kiềm. Còn chủng vi khuẩn *L. fermentum* HT2 (Hình 3.23) có thể sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong khoảng pH từ 5,0 - 8,0 và tốt nhất trong khoảng pH từ pH: 6,0 - 7,0 chứng tỏ chủng vi khuẩn *L. fermentum* HT2 thích nghi tốt hơn trong môi trường trung tính và axit



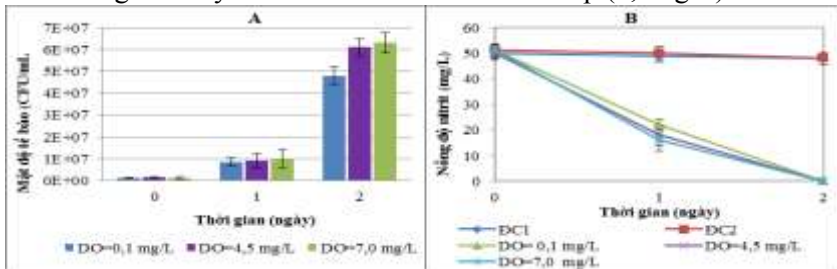
Hình 3.11. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa nitrit (B) của *P. stutzeri* HT2



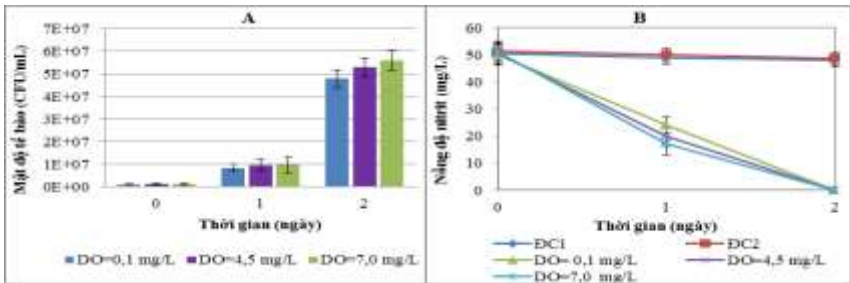
Hình 3.12. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa nitrit (B) của *L. fermentum* HT2

3.2.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ oxy hòa tan (DO) và nhiệt độ

Hai chủng *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit ở mức DO rất thấp (0,1mg/L)



Hình 3.13. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng(A) và chuyển hóa nitrit (B) của *P. stutzeri* HT2



Hình 3.14. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa nitrit (B) của *L. fermentum* HT2

Hai chủng *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 đều là chủng ưa ấm (mesophilic), có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit ở các nhiệt độ: 30; 37, 45 và 50°C, trong đó tốt nhất là ở 37 °C.

3.2.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ muối

Kết quả khảo sát cho thấy rằng quá trình sinh trưởng và chuyển hóa nitrit của *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 vẫn diễn ra trong môi trường có bổ sung muối NaCl đến 3,0%.

3.2.2.4. Ảnh hưởng của nồng độ nitrit ban đầu trong MT nuôi cấy

Hai chủng *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa hoàn toàn nitrit với nồng độ lên đến 750 mg/L sau 04 ngày nuôi cấy. Trong đó tốc độ sinh trưởng và chuyển hóa nitrit của hai chủng đạt cực đại sau hai ngày khảo sát ở hai mức nồng độ là 100 và 500 mg/L, còn ở mức 750 mg/L đạt cực đại sau 2 đến 3 ngày nuôi cấy. Quá trình chuyển hóa nitrit không tìm thấy trong các bình đối chứng nên có thể khẳng định rằng sự chuyển hóa nitrit được thực hiện bởi 02 chủng khảo sát.

Thử nghiệm định tính và định lượng sản phẩm nitrat tạo thành của quá trình chuyển hóa nitrit trong môi trường nuôi cấy của hai chủng *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 cho thấy không có sự hình thành nitrat. Khi tiến hành thử nghiệm trong môi trường nuôi cấy có bổ sung 50 mg/L nitrat mà không có mặt của nitrit với dịch cấy chuyển được lấy từ mẫu nuôi cấy của hai chủng này trong môi trường đã chuyển hóa hòa toàn nitrit thì sau 03 ngày nuôi cấy lượng nitrat được chuyển hóa hoàn toàn và có sự xuất hiện của nitrit trong quá trình nuôi cấy với lượng biến động sau đó hết ở ngày cuối cùng. Tiếp tục thử nghiệm nuôi cấy hai chủng này ở môi trường có nitrit và nitrat riêng biệt trong ống nghiệm chứa môi trường đặc của thạch có độ nóng chảy thấp thì xuất hiện nhiều bọt khí trong ống nghiệm và trên bề mặt thạch đặc (Hình 3.15). Từ đó có thể suy luận rằng quá trình chuyển hóa nitrit của *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 là quá trình khử, hai chủng này ngoài khả năng khử nitrit thì còn thực hiện được quá trình khử nitrat. Tuy nhiên, cần phân tích thêm các khí tạo thành trong ống nghiệm quan sát được để khẳng định khả năng khử nitrit/nitrat của hai chủng này.



Hình 3.15. Bọt khí trong ống nghiệm của *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2

3.3. Đánh giá khả năng xử lý nước thải CNL sau bể biogas của các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được

3.3.1. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa amoni

Ở mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL khả năng chuyển hóa amoni của cả ba chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 cao hơn hẳn so với các mật độ còn lại (10^3 - 10^4 CFU/mL và đối chứng), sau 3 ngày xử lý (đạt 100 %) ở mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL trong khi đó ở mật độ 10^4 CFU/mL và 10^3 CFU/mL đạt (85 - 87 %) và (74 - 77 %), đối chứng đạt 24 - 27 %.

Hiệu quả xử lý amoni giữa 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL của ba chủng gần như tương đương nhau do đó chọn mức bổ sung mật độ vi sinh ban đầu là 10^5 CFU/mL NT để ứng dụng 3 chủng cho việc xử lý amoni trong nước thải chăn nuôi lợn sau bể biogas

3.3.2. So sánh khả năng chuyển hóa amoni của đơn chủng và tổ hợp chủng

Không có sự chênh lệch đáng kể về hiệu suất chuyển hóa amoni trong NT CNL sau bể biogas của ba chủng, nhưng hiệu suất chuyển hóa amoni của đơn chủng thấp hơn từ 11% - 14% so với tổ hợp 3 chủng do đó sử dụng tổ hợp cả ba chủng với tỷ lệ 1:1:1 ở mật độ 10^5 CFU/mL là tối ưu nhất cho xử lý amoni trong NT CNL

3.3.3. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa nitrit

Ở mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL khả năng chuyển hóa nitrit của cả hai chủng cao hơn hẳn so với các mật độ còn lại (10^3 - 10^4 CFU/mL và đối chứng), sau 2 ngày xử lý (đạt 100 %) trong khi đó ở 10^4 CFU/mL và 10^3 CFU/mL đạt hiệu suất tương ứng: 62 - 69 % và 38 - 44 %, đối chứng đạt 15 %. Ở hai mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL hiệu suất xử lý của hai chủng gần như tương đương nhau do đó chọn mức bổ sung vi sinh ban đầu là 10^5 CFU/mL nước thải để ứng dụng 02 chủng cho việc xử lý nitrit trong NT CNL sau biogas

3.3.4. So sánh khả năng chuyển hóa nitrit của đơn chủng và tổ hợp chủng

Hiệu suất chuyển hóa nitrit trong NT CNL sau bể biogas của *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 không có sự chênh lệch đáng kể, nhưng hiệu suất chuyển hóa nitrit của đơn chủng thấp hơn từ 8% - 12% so với tổ hợp 2 chủng. Do đó sử dụng tổ hợp cả hai chủng với tỷ lệ 1:1 ở mật độ 10^5 CFU/mL là tối ưu nhất cho xử lý nitrit trong NT CNL.

3.3.5. Khảo sát tỷ lệ phối trộn các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được đến hiệu quả xử lý nước thải

- Các tỷ lệ phối trộn không tạo ra sự khác biệt về khả năng xử lý COD, sau 72 giờ xử lý, COD trong nước thải đã được xử lý hoàn toàn, đạt 100%; Đối chứng đạt 36%.

- Sau 36; 48; 60 giờ có sự khác biệt về hiệu suất xử lý TN: Tỷ lệ 2:1 xử lý tốt nhất đạt: 45%; 73%; 95%; Tỷ lệ 3:1 đạt 37%; 64%; 88%; Tỷ lệ 1:1 đạt 35%; 61%; 85%; Tỷ lệ 1:0 đạt: 28%; 48%; 73%

Tỷ lệ phối trộn (2:1) là phù hợp cho việc ứng dụng tổ hợp 3 chủng chuyển hóa amoni (*B. megaterium* HT1: *B. lichniformis* HT1: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng chuyển hóa nitrit (*L. fermentum* HT2 : *P. stutzeri* HT2: 1:1) phân lập được vào việc XLNT CNL sau biogas.

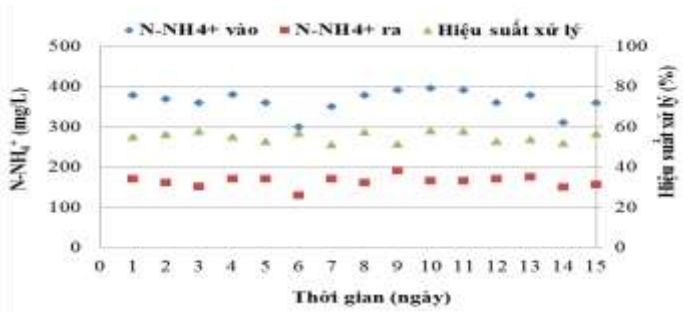
3.3.6. Khả năng XLNT CNL sau bể biogas bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung các chủng chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được

3.3.6.1. Ảnh hưởng của chế độ sục khí gián đoạn 1 chu trình

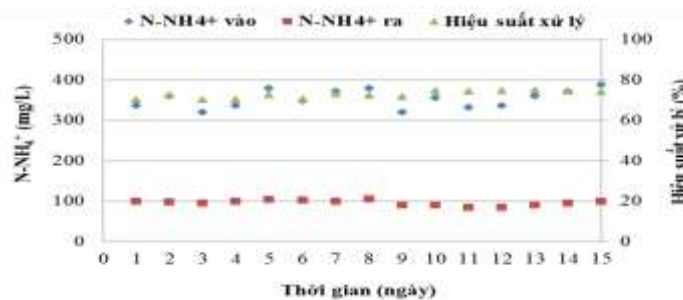
- Ảnh hưởng của chế độ sục khí đến hiệu quả xử lý COD: Kết quả nghiên cứu cho thấy chế độ sục khí ảnh hưởng nhỏ đến hiệu suất xử lý COD. Cả 3 chế độ đều cho hiệu suất xử lý đạt 68 - 85%. Trong đó, chế độ 3 hiệu suất xử lý trung bình COD cao và ổn định hơn chế độ 1 và 2; dao động trong khoảng nhỏ từ 83 - 85%, COD đầu ra đạt cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT.

- Ảnh hưởng của chế độ sục khí đến hiệu quả xử lý nitơ:

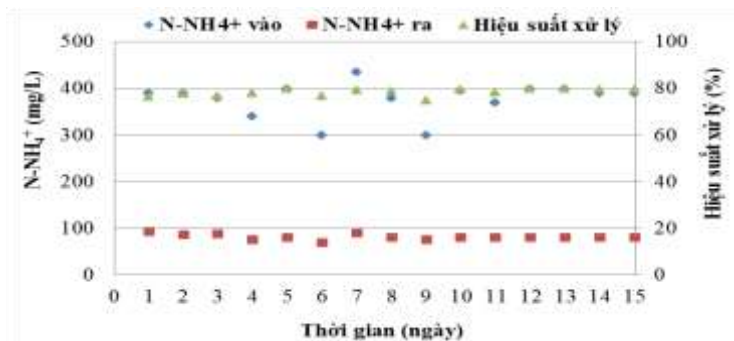
+ Hiệu quả xử lý $N-NH_4^+$: $N-NH_4^+$ chưa chuyển hóa triệt để ở cả 3 chế độ, hiệu suất xử lý dao động trong khoảng rộng 50 - 80% và tăng tương ứng với thời gian sục khí tăng: CĐ1: $N-NH_4^+$: 50 - 58 %; CĐ 2: $N-NH_4^+$: 70 - 75%; CĐ 3 $N-NH_4^+$: 75 - 80%.



Hình 3.16. Hiệu quả xử lý $N-NH_4^+$ ở chế độ 1 – TK/HK: 100/100 phút

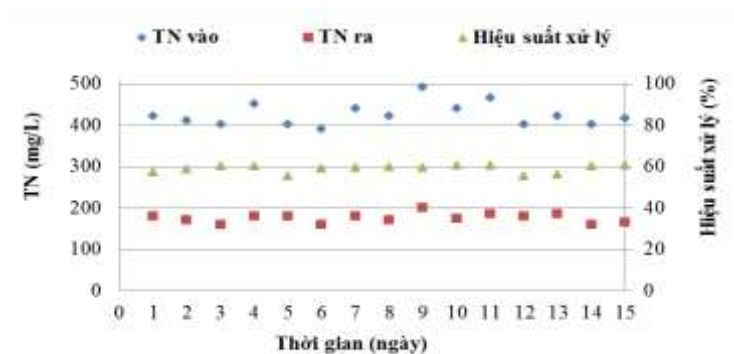


Hình 3.17. Hiệu quả xử lý $N-NH_4^+$ ở chế độ 2 – TK/HK: 70/130 phút

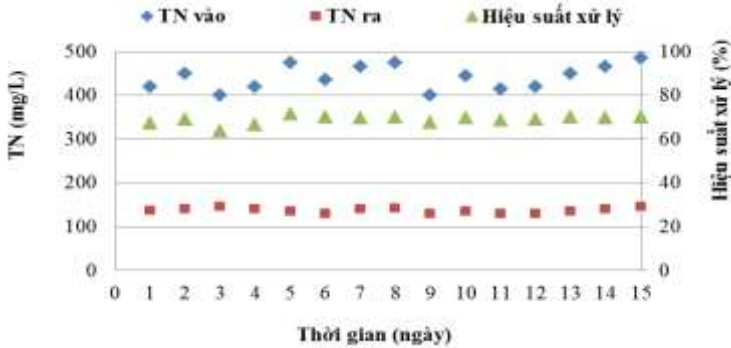


Hình 3.18. Hiệu quả xử lý $N-NH_4^+$ ở chế độ 3 - TK/HK: 40/160 phút + Hiệu quả khử nitrat/nitrit. Khi thay đổi chế độ sục khí/thiếu khí thì hiệu quả khử nitrat/nitrit giữa các chế độ sục khí có sự khác nhau
 CĐ 1: $N-NO_2^-$ và $N-NO_3^-$ sau xử lý rất thấp: 10 -15 mg/L
 CĐ 2, đặc biệt là CĐ 3 lượng NO_3^- rất cao so với chế độ 1 $N-NO_2^-$ thì trong cả 3 chế độ đều rất thấp, có thể xem NO_2^- đã được khử khá triệt để.

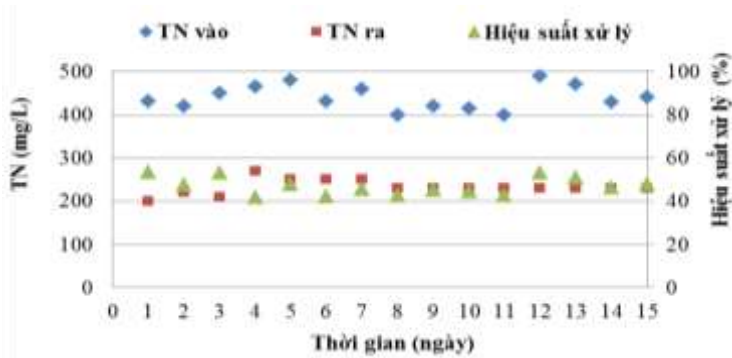
+ Hiệu quả xử lý TN: CĐ1 cho hiệu suất xử lý TN từ 55 - 60%, TN sau xử lý dao động từ 160 - 200 mg/L; CĐ 2 cho hiệu quả xử lý TN từ 64 - 72%, TN sau xử lý dao động từ 130 - 145 mg/L; CĐ 3 cho hiệu quả xử lý TN đạt từ 42 - 54%, TN đầu ra sau xử lý dao động từ 200 - 270 mg/L. Như vậy, CĐ 2 cho hiệu quả xử lý TN cao nhất, TN sau xử lý đạt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT.



Hình 3.19. Hiệu quả xử lý TN ở chế độ 1 - TK/HK: 100/100 phút



Hình 3.20. Hiệu quả xử lý TN ở chế độ 2 - TK/HK: 70/130 phút



Hình 3.21. Hiệu quả xử lý TN ở chế độ 3 - TK/HK: 40/160 phút

So sánh hiệu quả xử lý COD, N-NH₄⁺ và TN giữa các chế độ nghiên cứu được tổng hợp ở Bảng 3.1.

Bảng 3.1. So sánh hiệu quả xử lý COD, NH₄⁺ và TN giữa các chế độ

Chế độ thí nghiệm	Hiệu suất xử lý (%)			Ghi chú
	COD	NH ₄ ⁺	T-N	
Chế độ 1	68 - 75	50 - 58	55 - 60	
Chế độ 2	78 - 84	70 - 75	64 - 72	TN đạt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT
Chế độ 3	83 - 85	75 - 80	42 - 54	COD đạt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT

Qua kết quả tổng hợp ở Bảng 3.1 cho thấy, chế độ 2 là chế độ cho hiệu quả xử lý TN tốt nhất (đạt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT), do đó đề xuất chọn chế độ 2 - thiếu khí/hiếu khí: 70/130 phút cho nghiên cứu tiếp theo cũng như ứng dụng vào thực tế XLNT CNL sau xử lý kỵ khí bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được. Tuy nhiên, ở chế độ này hiệu quả xử lý COD chưa đạt được giới hạn cho phép thải quy định tại Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT, nên trong ứng dụng thực tế cần xem xét tăng thêm thời gian sục khí/tăng thêm lượng vi sinh bổ sung để nước thải đầu ra đạt quy định thải về COD.

3.3.6.2. Ảnh hưởng của OLR, NLR đến hiệu suất xử lý

- *Hiệu suất xử lý COD*: Tải trọng COD thay đổi trong khoảng 0,6 - 1,2 kg/m³/ngày với 04 bước nhảy (0,6; 0,8; 1,0; 1,2 kg/m³/ngày) thì hiệu suất xử lý COD hầu như không thay đổi, dao động từ 78 - 85 %. Việc thay đổi tải trọng COD hầu như không ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý có thể là do khoảng thay đổi tải trọng COD trong nghiên cứu không quá lớn, thời gian lưu đối với nước thải dài (từ 1,7 - 3,3 ngày), vì thế khoảng thay đổi tải trọng trong nghiên cứu vẫn trong khả năng chịu tải của thiết bị.

- *Hiệu suất xử lý TN*: Tải trọng TN tăng dần ở các mức 0,15; 0,20; 0,25 và 0,3 kg/m³/ngày thì hiệu suất xử lý TN giảm dần, tương ứng là: 71 - 75%; 68 - 70%; 65 - 68% và 63 - 65%. Điều này chứng tỏ chỉ cần thay đổi tải trọng trong một khoảng nhỏ cũng làm thay đổi hiệu suất xử lý TN của cả hệ thống xử lý.

Tổng hợp kết quả khảo sát ảnh hưởng tải trọng COD, TN đến hiệu quả xử lý COD, TN của nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Ảnh hưởng tải trọng COD, TN đến hiệu quả xử lý COD, TN

Tải trọng COD, OLR (kg COD/m ³ .ngày)	0,6	0,8	1,0	1,2
Hiệu quả xử lý COD (%)	78 - 85			
Tải trọng TN, NLR (kg TN/m ³ .ngày)	0,15	0,20	0,25	0,30
Hiệu suất xử lý TN (%)	71 - 75	68 - 70	65 - 68	63 - 65

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

1) Đã phân lập và tuyển chọn được bốn chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa amoni từ mẫu nước thải sau bể biogas của lò giết mổ gia súc và một số trang trại chăn nuôi lợn tại Hà Tĩnh. Chúng được định danh, bao gồm: *B. megaterium* HT1, *B. licheniformis* HT1, *B. subtilis* HT1 và *P. aeruginosa* HT1. Các chủng này có khả năng sinh trưởng, chuyển hóa amoni trong một số điều kiện môi trường nuôi cấy thuận lợi như: pH: 7,0-7,5; nhiệt độ: 30 - 37 °C; DO: 4,5 - 7,0 mg/L và bất lợi như: môi trường nghèo dinh dưỡng, DO thấp (0,1 mg/L), độ muối lên đến 3%. Khả năng chuyển hóa amoni của cả bốn chủng khá tốt, chuyển hóa hoàn toàn 750 mg/L amoni sau 05 ngày nuôi cấy, trong quá trình chuyển hóa thì ngoài khả năng chuyển hóa amoni thành nitrit chúng còn chuyển hóa tiếp nitrit thành nitrat.

2) Đã phân lập và tuyển chọn được hai chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa nitrit từ mẫu nước thải nước thải sau bể biogas của lò giết mổ gia súc và một số trang trại chăn nuôi lợn tại Hà Tĩnh. Chúng được định danh, bao gồm: *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2. Cả hai chủng này đều có khả năng chuyển hóa nitrit thông quá trình khử với khả năng khá tốt (khử hoàn toàn 750 mg/L nitrit sau 04 ngày nuôi cấy), đồng thời có thể sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong một số điều kiện môi trường nuôi cấy thuận lợi như: nhiệt độ 37 °C; DO: 4,5 - 7,0 mg/L; pH= 7,0 - 8,0 (*P. stutzeri* HT2); pH= 6,0 - 7,5 (*L. fermentum* HT2) và bất lợi như: độ muối lên đến 3,0 %, DO thấp đến 0,1 mg/L.

3) Phối hợp ba chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni *B. megaterium* HT1, *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT theo tỉ lệ 1 : 1 : 1 cho hiệu quả oxy hóa amoni cao hơn từ 11 - 14% so với đơn chủng. Phối hợp hai chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 theo tỉ lệ 1 : 1 cho hiệu quả chuyển hóa nitrit cao hơn từ 8 - 12% so với đơn chủng. Tỉ lệ phối trộn thích hợp của hai nhóm vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit cho quá trình loại bỏ nitơ trong nước thải chăn nuôi lợn sau bể biogas là 2 : 1.

4) Đã thử nghiệm xử lý nước thải chăn nuôi lợn sau bể biogas bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung tổ hợp hai nhóm vi khuẩn chuyển hóa amoni và chuyển hóa nitrit phân lập được bước đầu cho thấy: (i) Tỉ lệ thời gian sục khí - ngừng sục khí ít ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý chất hữu cơ, nhưng ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu suất xử lý TN (dao động từ 42 - 72%), tỉ lệ thời

gian sục khí - ngừng sục thích hợp cho xử lý TN là 130 : 70 (phút); (ii) Tải trọng COD thay đổi trong khoảng 0,6 - 1,2 kg/m³/ngày ít ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý COD, trong khi đó hiệu suất xử lý TN giảm trong khoảng 75 - 63% khi tăng tải trọng TN trong khoảng 0,15 - 0,30 kg-N/m³/ngày.

2. KIẾN NGHỊ

1) Tiếp tục khảo sát, đánh giá hiệu quả xử lý của tổ hợp các chủng vi khuẩn phân lập được từ nghiên cứu này trong các hệ xử lý nước thải chăn nuôi lợn bằng công nghệ SBR ngoài thực tế.

2) Nghiên cứu ứng dụng các chủng vi khuẩn phân lập được từ nghiên cứu này để sản xuất chế phẩm sinh học và ứng dụng vào thực tế.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Đã phân lập, chọn lọc và định danh được bốn chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa amoni (*Bacillus megaterium* HT1, *Bacillus licheniformis* HT1, *Bacillus subtilis* HT1 và *Pseudomonas aeruginosa* HT1) và hai chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa nitrit (*Lactobacillus fermentum* HT2 và *Pseudomonas stutzeri* HT2) từ nước thải sau bể biogas của lò giết mổ và trang trại chăn nuôi lợn, với khả năng chuyển hóa tương ứng hoàn toàn amoni, nitrit ở hàm lượng cao (≤ 750 mg/L) sau 04-05 ngày nuôi cấy. Các chủng vi khuẩn này có thể sinh trưởng, chuyển hóa hiệu quả trong một số điều kiện môi trường bất lợi như: nghèo dinh dưỡng, DO thấp ($\geq 0,1$ mg/L), độ muối cao ($\leq 3\%$).

2. Đã xác định được tỉ lệ phối trộn hiệu quả của hai nhóm vi khuẩn chuyển hóa amoni và chuyển hóa nitrit tuyển chọn là 2:1 để loại bỏ đồng thời nitơ và chất hữu cơ trong nước thải chăn nuôi lợn sau biogas, trong đó, nhóm chuyển hóa amoni với tỉ lệ *Bacillus megaterium* HT1:*Bacillus licheniformis* HT1:*Bacillus subtilis* HT1 là 1:1:1; và nhóm chuyển hóa nitrit với tỉ lệ *Lactobacillus fermentum* HT2:*Pseudomonas stutzeri* HT2 là 1:1. Bước đầu đánh giá được hiệu quả xử lý COD và TN trong nước thải chăn nuôi lợn sau biogas bằng hệ SBR kết hợp bổ sung các chủng tuyển chọn theo tỷ lệ phối trộn hiệu quả (2:1) ở một số chế độ vận hành gồm: Thay đổi tỉ lệ thời gian sục khí - ngừng sục (100/100 phút; 130/70 phút và 160/40 phút) cho hiệu quả xử lý COD từ 68 - 85% và hiệu quả xử lý TN tốt nhất là từ 64 - 72%, ở tỷ lệ 130/70 phút, TN sau xử lý đạt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT; Thay đổi tải trọng TN trong khoảng 0,15 - 0,30 kg-N/m³/ngày thì hiệu suất xử lý TN giảm trong khoảng 75 - 63%.

**DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. **Nguyễn Hữu Đồng**, Nguyễn Thị Việt, Đinh Thị Thu Hằng, Phan Đỗ Hùng, Nguyễn Quang Lịch, Trần Hòa Duân (2019), *Khả năng nitrit hóa amoni của chủng vi khuẩn Pseudomonas aeruginosa HT1 phân lập từ nước thải sau biogas của trang trại chăn nuôi lợn ở Hà Tĩnh*, Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn: ISSN 2588-1191, Tập 128, Số 3C, Tr. 119-132; DOI: 10.26459/hueuni-jard.v128i3C.5282;
2. **Nguyễn Hữu Đồng**, Nguyễn Thị Việt, Đinh Thị Thu Hằng, Phan Đỗ Hùng, Nguyễn Quang Lịch, Trần Hòa Duân (2022), *Nghiên cứu khả năng oxy hóa amoni của ba chủng vi khuẩn thuộc chi bacillus phân lập từ nước thải sau biogas của các trang trại chăn nuôi lợn*, Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Trái đất và Môi trường; ISSN 2588-1183, Tập 131, Số 4A, Trang 5-20; DOI: 10.26459/hueunijese.v131i4A.6759;
3. **Nguyen Huu Dong**, Nguyen Thi Viet, Dinh Thi Thu Hang, Phan Do Hung, Tran Hoa Duan (2022), *Ammonia oxidation capacity of bacillus bacteria in swine wastewater after biogas treatment*, Hue University Journal of Science: Natural Science: pISSN 1859 -1388, eISSN 2615 - 9678, ACI (Asean Citation Index), Vol. 131, No. 1D, 77-87; DOI: 10.26459/hueunijns.v131i1D.7006;
4. Dinh Thi Thu Hang, Nguyen Thi Viet, Phan Do Hung, Tran Hoa Duan, Nguyen Dang Giang Chau, **Nguyen Huu Dong** (2022), *Nitrite metabolism of several bacterial strains isolated from abattoir and swine wastewater after biogas treatment*, Hue University Journal of Science: Natural Science: pISSN 1859 -1388, eISSN 2615 - 9678, Indexing: ACI (Asean Citation Index), Vol. 131, No. 1D, 105-114; DOI: 10.26459/hueunijns.v131i1D.7006.