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

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG

HÀ NỘI - 2024

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

LUẬN ÁN TIẾN SỸ KỸ THUẬT MÔI TRƯỜNG

Mã số: 62 52 03 20

Xác nhận của Học viện Khoa học và Công nghệ	**Người hướng dẫn 1** *(Ký, ghi rõ họ tên)*	**Người hướng dẫn 2** *(Ký, ghi rõ họ tên)*
	TS. Phan Đỗ Hùng	**TS. Đinh Thị Thu Hằng**

HÀ NỘI - 2024

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Trong những năm gần đây, chăn nuôi lợn (CNL) đang dần trở thành một ngành kinh tế quan trọng của Việt Nam, hàng năm cung cấp trung bình khoảng 3.670.000 tấn thịt hơi/năm, chiếm 64% tổng sản lượng thịt các loại vật nuôi [1]. Song song với giá trị kinh tế thì ngành CNL của Việt Nam cũng đang tạo ra một lượng lớn các loại chất thải (nước thải, khí thải, chất thải rắn), gây ra nhiều áp lực, nguy cơ gây ô nhiễm môi trường, làm ảnh hưởng đến sức khỏe của con người và các hệ sinh thái tự nhiên. Trong đó, nước thải là thành phần rất đáng lo lắng, theo số liệu thống kê của Bộ NN&PTNT, năm 2020, nước thải từ CNL chiếm 75 triệu m^3 (tương đương khoảng 65,7% tổng lượng nước thải của ngành chăn nuôi) [2]. Cùng với lượng thải lớn, thì nước thải CNL có hàm lượng các chất hữu cơ (BOD, COD), chất rắn lơ lửng (SS), các hợp chất nitơ (N), vi sinh vật (VSV) gây bệnh rất cao và vượt giới hạn cho phép của quy chuẩn thải nhiều lần. Trong đó, các hợp chất nitơ là đáng quan ngại nhất bởi đây là thành phần vừa khó xử lý (do công nghệ phức tạp, cần nhiều năng lượng, chi phí xử lý và đầu tư cao, mặt bằng xây dựng lớn) và vừa gây ra nhiều ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường.

Nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng, nước thải CNL sau bể biogas chứa nhiều các hợp chất nitơ, với nồng độ tổng nitơ (TN) thường dao động từ 115 - 630 mg/L [3-7]. Các hợp chất nitơ sẽ đe dọa rất lớn đến sự an toàn của nguồn nước, với nồng độ cao khi thải vào môi trường sẽ gây hiện tượng phú dưỡng, tảo độc nở hoa [8] và gây hại đến các động vật thủy sinh [9], ví dụ ở hàm lượng lớn hơn 4,26 mg/L NH_4^+ gây độc cho tôm sú [10]. Vì vậy việc xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải CNL sau bể biogas có ý nghĩa rất lớn trong việc bảo vệ môi trường và các hệ sinh thái.

Có nhiều công nghệ xử lý các thành phần ô nhiễm chính (COD, TN) trong nước thải CNL đã được nghiên cứu, áp dụng và phần lớn tập trung vào công nghệ sinh học gồm: Sinh học kỵ khí (đệm bùn kỵ khí dòng chảy ngược (UASB), lọc kỵ khí, hầm biogas); sinh học hiếu khí (bùn hoạt tính, lọc hiếu khí, bùn hoạt tính theo mẻ (SBR)); công nghệ thiếu - hiếu khí kết hợp; công nghệ sinh học kết hợp với lọc màng (MBR); đất ngập nước (ĐNN); và công nghệ kết hợp các quá trình sinh học,.... Trong đó, các công nghệ đơn lẻ như: ĐNN, UASB, biogas, lọc sinh học,.... xử lý được cơ bản chất hữu cơ (hiệu

xuất xử lý COD: 80 - 95%) nhưng xử lý TN còn hạn chế (khoảng 30 - 60%); các công nghệ SBR, công nghệ thiếu – hiếu khí, công nghệ MBR xử lý khá hiệu quả đồng thời cả chất hữu cơ và chất dinh dưỡng (khoảng 90 - 97 %). Với đặc điểm của nước thải CNL là vừa có hàm lượng COD, TN cao thì các công nghệ SBR, thiếu – hiếu khí và MBR khá phù hợp cho xử lý loại nước thải này. Trong đó, công nghệ SBR là một trong những công nghệ có tính ứng dụng và khả thi cao trong xử lý nước thải CNL, đặc biệt trong việc xử lý các hợp chất nitơ.

Trong công nghệ SBR, xử lý sinh học nitơ được thực hiện dựa trên sự kết hợp giữa quá trình nitrat hóa ($NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$) và quá trình khử nitrat ($NO_3^- \rightarrow N_2$). 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 [11-15]. 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 [11-15]. 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 [16-18], một số loài thậm chí có thể chịu được môi trường lạnh, quá mặn hoặc giàu amoni [19-21]. Những lợi thế này mang lại tiềm năng lớn cho việc nghiên cứu ứng dụng các nhóm vi khuẩn nitrat hóa di dưỡng để xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải [22-26]. 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. Hiện nay những nỗ lực phân lập, mô tả đặc điểm sinh học của các nhóm vi khuẩn nitra hóa dị dưỡng và đánh giá sự đóng góp của chúng vào quá trình chuyển hóa nitơ trong các hệ thống xử lý sinh học nước thải đã thu hút được sự quan tâm của các nhà vi sinh vật trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Tuy vậy, các nghiên cứu trình tự từ phân lập, tuyển chọn đến thử nghiệm khả năng sinh trưởng chuyển hóa trong môi trường phân lập, từ đó nghiên cứu ứng dụng xử lý nước thải thực tế bằng các công nghệ khác nhau thì còn hạn chế.

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 chăn nuôi lợn.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Phân lập và tuyển chọn được một số chủng vi khuẩn dị dưỡng có khả năng chuyển hóa amoni/nitrit từ nước thải sau bể biogas của lò giết mổ và một số trang trại CNL, đánh giá được một số điều kiện sinh trưởng thích hợp và khả năng chuyển hóa amoni/nitrit của chúng trong môi trường nuôi cấy. Xác định được một số điều kiện phù hợp (mật độ, tỷ lệ phối trộn) của các chủng phân lập được để xử lý amoni/nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas.

- 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:

+ Ảnh hưởng của tỉ lệ thời gian các pha thiếu khí và hiếu khí đến hiệu quả xử lý COD, $N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NO_3^-$, TN.

+ Ảnh hưởng của tải trọng chất hữu cơ (OLR) và tải trọng tổng nitơ (NLR) đến hiệu quả xử lý COD và TN.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Về khoa học: Luận án cung cấp được những dẫn liệu khoa học của một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni/nitrit dị dưỡng thuộc chi *Bacillus, Pseudomonas và Lactobacillus* từ nước thải lò mổ và nước thải CNL sau bể biogas gồm: điều kiện sinh trưởng, phát triển thích hợp và khả năng chuyển hóa các hợp chất nitơ của chúng trong muôi trường nuôi cấy và môi trường nước thải CNL sau biogas. Từ đó, góp phần chứng minh được sự đa dạng của các chủng vi khuẩn tham gia vào quá trình xử lý các hợp chất chứa nitơ trong môi trường nói chung và trong nước thải nói riêng. Kết quả của luận án là nguồn tư liệu phục vụ giảng dạy và nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật để xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải.

Về thực tiễn: Luận án đã chứng minh khả năng xử lý nước thải CNL sau bể biogas trên thiết bị SBR khi kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn phân lập được ở tỷ lệ phối trộn và mật độ vi sinh phù hợp. Qua đó, xác định được ảnh hưởng của tỉ lệ thời gian các pha thiếu khí và hiếu khí; ảnh hưởng của OLR và NLR đến hiệu quả xử lý, làm tiền đề cho việc ứng dụng các chủng vi khuẩn này trong thực tiễn.

5. Kết quả mới

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 stuzeri* 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 (môi trường khoáng), DO thấp (≥0,1 mg/L), độ muối cao (≤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 stuzeri* HT2 là 1:1. Bước đầu

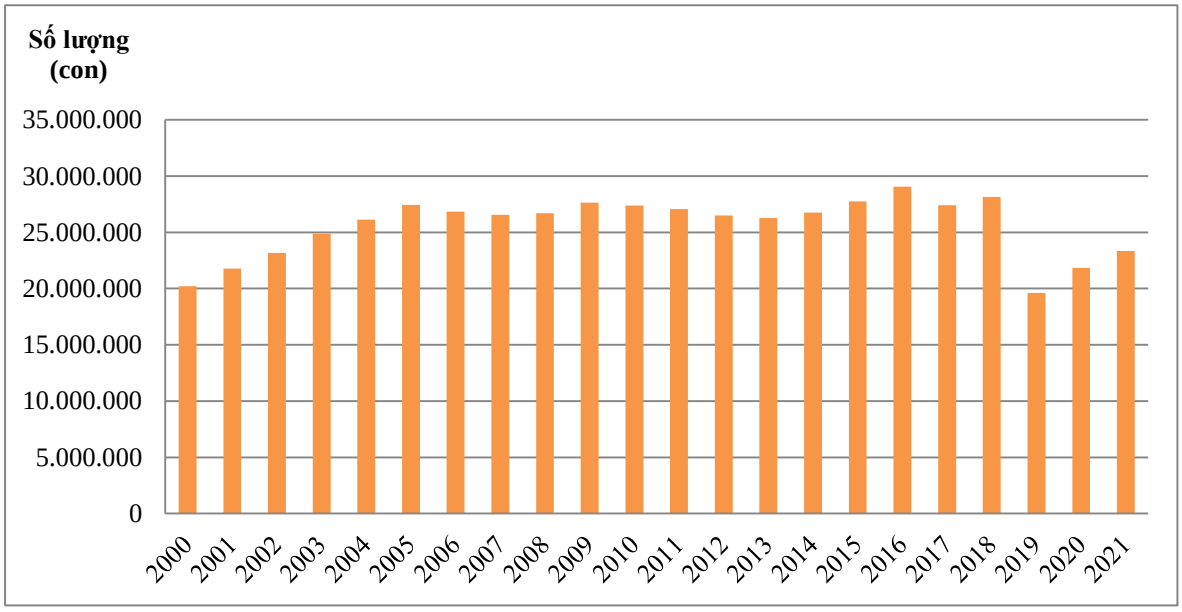
đánh giá được hiệu quả xử lý COD và TN trong nước thải chăn nuôi lợn sau biogas bằng hệ SBR kết hợp bổ sung các chủng tuyển chọn theo tỷ lệ phối trộn hiệu quả (2:1) ở một số chế độ vận hành gồm: Thay đổi tỉ lệ thời gian sục khí - ngừng sục (100/100 phút; 130/70 phút và 160/40 phút) cho hiệu quả xử lý 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/m^3/ngày thì hiệu suất xử lý TN giảm trong khoảng 75 - 63%.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về nước thải CNL tại Việt Nam

1.1.1. Tình hình phát triển chăn nuôi lợn

Trong vòng nhiều năm trở lại đây, ngành CNL của Việt Nam đã có bước phát triển rất mạnh cả về lượng và chất. Tổng đàn lợn tăng mạnh nhất là từ năm 2000 - 2005, trung bình tăng 8%/năm; từ năm 2006 - 2018 tổng đàn lợn cơ bản ổn định, dao động trong khoảng 26 - 29 triệu con/năm [1]; năm 2019 tổng đàn lợn đã suy giảm rất mạnh, khoảng 10 triệu con so với năm 2018 do dịch tả lợn châu Phi. Tuy nhiên từ năm 2019 - 2021, dịch tả lợn châu Phi đã được kiểm soát khá tốt, tạo động lực quan trọng cho người chăn nuôi tái đàn, khôi phục đàn lợn, năm 2021 tổng đàn lợn đạt khoảng 23,3 triệu con tăng 6,8% so với năm 2020 và khoảng 18,9% so với năm 2019 [2].



Hình 1.1. Hiễn biến đàn lợn giai đoạn 2000-2021 [1, 2].

Song song với tăng trưởng số lượng của đàn lợn là sự chuyển đổi về cơ cấu chăn nuôi theo hướng chuyển dịch nhanh từ chăn nuôi gia trại quy mô nhỏ sang chăn nuôi trang trại, công nghiệp quy mô lớn, hàng hóa. Theo các số liệu thống kê năm 2011 cả nước có khoảng trên 4,13 triệu hộ CNL, đến năm 2016 số lượng hộ CNL của cả nước giảm xuống còn 3,4 triệu hộ và đến tháng 01/2021 còn khoảng 2,0 triệu hộ [1, 2]. Trong khi đó, số lượng trang trại CNL tăng nhanh trong giai đoạn 2001 - 2008 tăng trên 50% và giai đoạn 2009 - 2016 tăng trên 13%. Giai đoạn từ 2017 - 2021 do khủng hoảng về giá thịt lợn năm 2017, dịch tả lợn châu Phi năm 2019 nên số lượng trang trại lợn có

xu hướng giảm (khoảng 9,6%/năm), tính đến ngày 31/3/2021, cả nước có khoảng 9.924 trang trại CNL [1, 2].

Theo Chiến lược phát triển chăn nuôi giai đoạn 2021 - 2030, tầm nhìn đến năm 2045, xác định tập trung đẩy mạnh cơ cấu lại ngành chăn nuôi; thực hiện các giải pháp thúc đẩy tái đàn lợn; phát triển các mô hình CNL theo chuỗi liên kết phù hợp với thực tế sản xuất của từng vùng, từng phân khúc thị trường. Nâng cao năng lực giết mổ tập trung, chế biến công nghiệp các sản phẩm từ thịt lợn, sử dụng hiệu quả các loại chất thải CNL, đảm bảo an toàn dịch bệnh và bảo vệ môi trường.

Tóm lại, ngành CNL của nước ta trong nhiều năm trở lại đây luôn duy trì được sự phát triển ổn định và đã có những bước chuyển dịch mạnh từ chăn nuôi nhỏ lẻ, quy mô gia trại sang chăn nuôi tập trung, quy mô trang trại, phù hợp với sự phát triển chung của thế giới.

1.1.2. Khối lượng và đặc điểm nước thải CNL

Nước thải thường chiếm khối lượng lớn nhất trong các loại chất thải phát sinh từ hoạt động CNL, nó là hỗn hợp bao gồm: nước do vệ sinh chuồng trại, nước tắm cho vật nuôi và nước nước tiểu do vật nuôi thải ra nên thường có chứa một phần hay toàn bộ lượng phân thải của vật nuôi. Theo kết quả công bố của dự án LCASP (2019) trung bình một ngày một con lợn thịt thải ra khoảng 2 lít nước tiểu, 20 lít nước làm mát, tắm cho lợn và 10 lít nước vệ sinh chuồng trại. Lượng nước thải này sẽ hòa lẫn với khoảng 2 kg phân (tỷ lệ 20% chất khô) [27]. Theo Nguyễn Thị Hà và các cộng sự (2020), tiến hành điều tra, khảo sát 9 trạng trại CNL tại 3 tỉnh Vĩnh Phúc, Hà Tĩnh và Đồng Nai cho thấy lượng nước thải trung bình (cả lợn nái và lợn thịt) trong một ngày nằm trong khoảng 30-45 lít/đầu lợn [7].

Hiện nay, ở Việt Nam có hai hình thức chăn nuôi lợn chính là chăn nuôi gia trại và chăn nuôi trang trại, nồng độ các chất ô nhiễm trong nước thải của từng hình thức chăn nuôi phụ thuộc vào cách vệ sinh chuồng trại (tách hay không tách phân trước khi vệ sinh), lượng thức ăn rơi vãi, lượng nước dùng để tắm cho lợn và vệ sinh chuồng trại, quy trình chăn nuôi (tự động hay bán tự động,..). Đặc điểm nước thải của hai loại hình này được một số nghiên cứu công bố như sau:

Theo số liệu phân tích mẫu nước thải đầu vào và đầu ra ở 9 hầm biogas quy mô gia trại tại tỉnh Thừa Thiên Huế của nhóm nghiên cứu Nguyễn Thị

Hồng, Phạm Khắc Liệu (2012) cho thấy: Trong nước thải CNL trước bể biogas có COD, TN, TP tương ứng là: 3022 ± 597, 608 ± 87 và 342 ± 92 mg/L, so sánh với cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước thải chăn nuôi thì COD vượt 10 lần, TN vượt 4 lần. Sau khi được xử lý bằng hầm biogas các thông số trên giảm lần lượt còn: 463 ± 127; 536 ± 89 và 318 ± 84 mg/L, vượt cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT tương ứng là 1,5 lần đối với COD và 3,6 lần đối với TN [6]

Theo số liệu công bố của Trần Văn Tựa (2015) về thành phần và nồng độ các chất ô nhiễm trong nước thải CNL trang trại (Bảng 1.1) [5] cho thấy: Trước bể biogas, COD, TN, TP rất cao và có nồng độ tương ứng là: 3587, 343 và 92 mg/L, so sánh với cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT thì COD vượt 12 lần, TN vượt 2 lần. Sau xử lý kỵ khí bằng bể biogas các thông số COD, TN, TP giảm lần lượt còn 800; 307 và 62 mg/L, vượt cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT lần lượt là 3 lần đối với COD và 2 lần đối với TN. Ngoài ra, một số thông số tuy không quy định trong QCVN 62-MT:2016/BTNMT nhưng mức độ ảnh hưởng của chúng đến môi trường là rất đáng quan tâm, trong đó đáng chú ý là lượng $N\text{-}NH_4^+$, theo kết quả ở Bảng 1.1, sau xử lý bằng bể biogas lượng $N\text{-}NH_4^+$ còn khá cao, dao động từ 110 - 506 mg/L. Đây là một trong những tác nhân chính gây phú dưỡng cho môi trường nước nếu không được kiểm soát tốt.

Bảng 1.1. Thành phần và nồng độ các chất ô nhiễm trong NT CNL trang trại

Thông số	**Trước bể biogas**		**Sau bể biogas**		**QCVN 62-MT:2016/ BTNMT [28]**	
	TB	**Min-Max**	**TB**	**Min-Max**	**Cột A**	**Cột B**
pH	7,56	7,3 - 7,87	7,76	7,19 - 7,9	6 - 9	5,5 - 9
T^0 (^0C)	30,35	29 - 32	30,35	28,2 - 32,6	-	-
DO (mg/L)	0,0	0 - 0	0,08	0-0,60	-	-
COD (mg/L)	3.587	860 - 4.590	800	391 - 1.792	*100*	*300*
TN (mg/L)	343	167 - 907	307	115 - 531	50	150
$N\text{-}NH^+_4$ (mg/L)	315	130 - 870	289	110 - 506	-	-
TP (mg/L)	92	250 - 295	62	19 - 127	-	-
SS (mg/L)	2247	520 - 9.520	1431	360 - 3.280	50	150
Tổng Coliform	$3{,}72.10^6$		$2{,}26.10^6$		3.000	5.000

(MPN/100ml)						
E.coli (MPN/100ml)	$1,69.10^6$		$1,35.10^6$		-	-

Ghi chú: "-": Không quy định trong QCVN 62-MT:2016/*BTNMT*

Trịnh Quang Tuyên (2010) tiến hành đánh giá hiện trạng ô nhiễm nước thải của một số trang trại CNL ở các tỉnh phía Bắc cho thấy: Trước bể biogas, hầu hết COD, BOD_5 trong nước thải của các trang trại nghiên cứu đều vượt giới hạn cho phép của Cột B - QCVN 62-MT:2016/BTNMT với mức vượt là từ 11,7 - 15,6 lần đối với COD và từ 6,9 - 12,4 lần đối với BOD_5; sau xử lý bằng bể biogas vẫn vượt từ 2,5 - 3,3 lần đối với COD và từ 2,8 - 3,5 lần đối với BOD_5; khi thải ra môi trường tiếp nhận COD còn vượt tiêu chuẩn từ 1,6 - 2,0 lần và BOD_5 còn vượt tiêu chuẩn từ 1,3 - 2,2 lần. Các chỉ tiêu $N\text{-}NO_3^-$, TP, Tổng coliform trong nước thải của các trang trại khảo sát đều vượt mức cho phép nhiều lần [4].

Nguyễn Thành Trung (2019) đã tiến hành điều tra những hộ CNL có công trình khí sinh học tại 3 miền gồm 06 tỉnh (Hà Nội, Thái Bình, Bình Định, Quảng Nam, Sóc Trăng, Tiền Giang) giai đoạn từ năm 2018 - 2019, kết quả nghiên cứu công bố cho thấy nước thải sau xử lý bằng hầm biogas có nhiều thông số ô nhiễm như COD, BOD_5, TSS, Tổng Coliform vượt quy chuẩn cho phép nhiều lần, cụ thể số lần vượt lần lượt là: 2,75; 4,57; 2,28; và 56 lần [29].

Nguyễn Thị Hà và các cộng sự (2020) qua điều tra, khảo sát 9 trạng trại chăn nuôi lợn tại 3 tỉnh (Vĩnh Phúc, Hà Tĩnh và Đồng Nai) cho thấy: Nước thải trước bể biogas có mức độ ô nhiễm các thành phần hữu cơ khá cao, COD dao động lớn từ 500 - 3.000 mg/L; TSS và TN cao, tương ứng trong khoảng 1.000 - 2.000mg/L và 200 - 700 mg/L. Sau xử lý bằng bể biogas các thông số COD, TSS, TN trong nước thải đạt lần lượt là: 200 - 1.200; 300 - 600 và 180 - 630 mg/L [7]. So sánh với cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT cho thấy các thông số COD, TSS, TN sau biogas của 9 trang trại trên vượt giới hạn cho phép 4,0 lần đối với COD và TSS; 4,2 lần đối với TN.

Tóm lại, chất lượng nước thải CNL (gia trại và trang trại) sau biogas chưa đảm bảo được quy định quy định trong QCVN 62-MT:2016/BTNMT, phần lớn các chỉ tiêu đều vượt giới hạn cho phép của quy chuẩn, Vì vậy, nếu thải ra môi trường sẽ gây ô nhiễm/ảnh hưởng xấu đến nhiều thành phần môi trường (nước, đất, không khí), các hệ sinh thái thủy sinh cũng như sức khỏe con người.

1.1.3. Ảnh hưởng của nước thải chăn nuôi lợn đến môi trường

Theo các kết quả tổng hợp, phân tích, đánh giá ở Mục 1.1.2 cho thấy nước thải CNL có hàm lượng cao COD, TSS, N, P, VSV gây bệnh,.... nên khi thải ra môi trường sẽ gây ra ảnh hưởng xấu đến chất lượng một số thành phần môi trường (nước, đất, không khí ...), hệ sinh thái và sức khỏe của con người.

Quá trình phân hủy các chất hữu cơ có trong nước thải, nhất là phân hủy yếm khí protein thường tạo ra các chất khí có mùi hôi thối như: lndol, H_2S, NH_3,... làm ảnh hưởng xấu đến chất lượng môi trường không khí. Bên cạnh đó, việc phân hủy các chất hữu cơ trong nước thải sẽ làm giảm DO của nguồn nước tiếp nhận, từ đó có thể gây ảnh hưởng xấu đến hoạt động hô hấp của hệ động vật sống trong nguồn tiếp nhận.

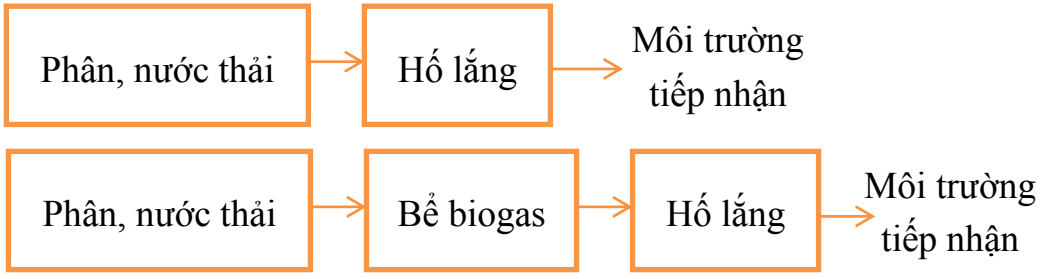
Nước thải CNL có chứa hàm lượng các chất dinh dưỡng (N, P) cao nên khi thải ra môi trường có thể gây phú dưỡng cho các thuỷ vực tiếp nhận dẫn đến hiện tượng "nở hoa nước", làm mất cân bằng sinh thái và suy giảm chất lượng nước từ đó có thể làm ảnh hưởng xấu đến môi trường sống của động thực vật và sức khỏe cộng đồng [30].

Ngoài ra, trong nước thải CNL còn chứa lượng lớn vi khuẩn, virut gây bệnh được thải qua phân, nước tiểu và dễ dàng đi vào nguồn nước từ đó làm tăng nguy cơ truyền dịch bệnh cho vật nuôi cũng như con người.

1.1.4. Hiện trạng công nghệ xử lý nước thải CNL ở Việt Nam

Qua kết quả điều tra thực tế tại Hà Tĩnh trong quá trình thực hiện luận án kết hợp với một số nghiên cứu [5-7, 29, 31] cho thấy nước thải CNL ở Việt Nam chủ yếu được xử lý theo các công nghệ/quy trình như sau:

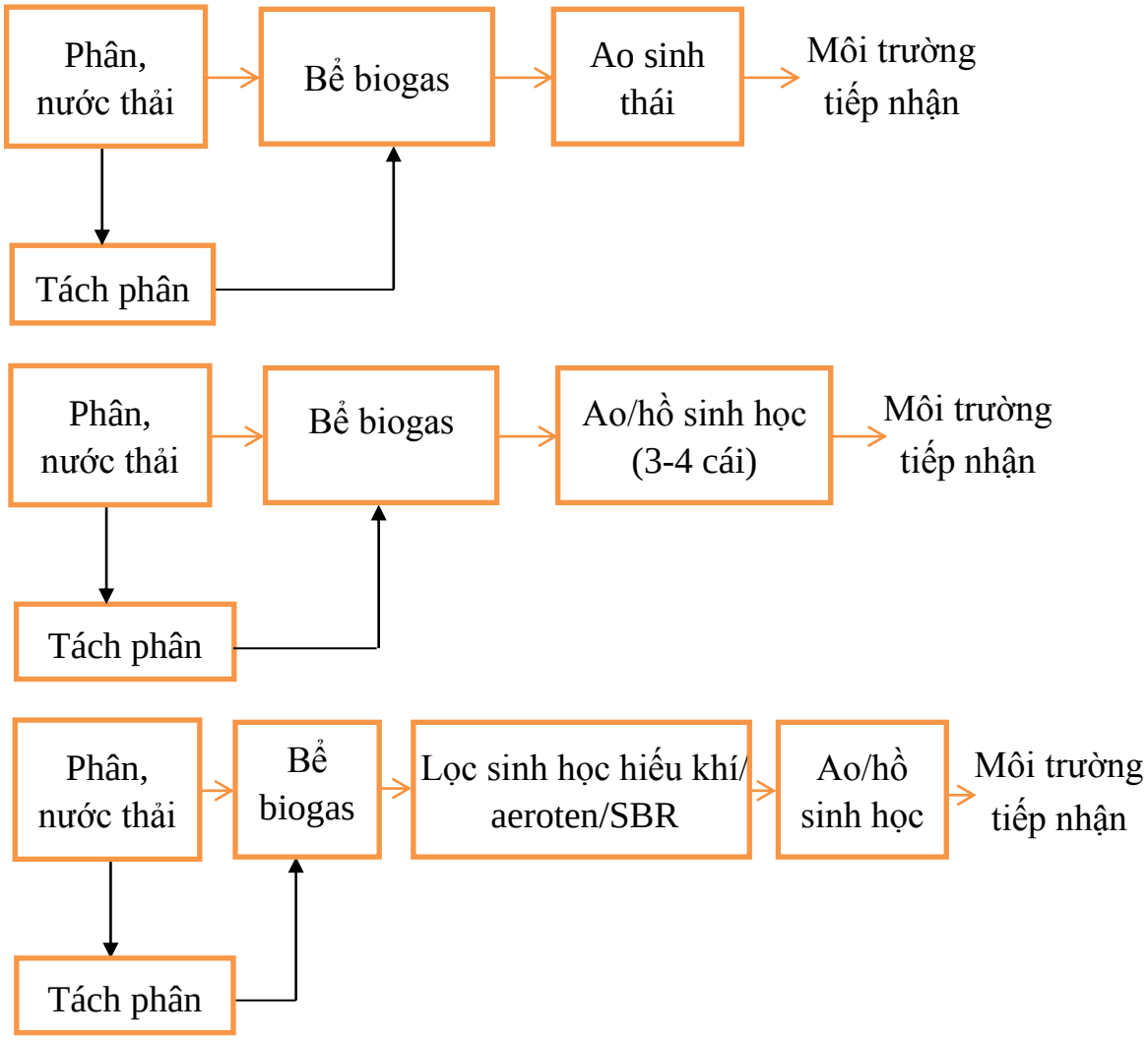
- Đối với hình thức CNL gia trai (quy mô chăn nuôi từ vài con đến hàng chục con, chuồng trại đơn giản, lưu lượng nước thải ≤ 10 m^3/ngày) có hai quy trình công nghệ được áp dụng khá phổ biến để xử lý phân và nước thải như sau:



Hình 1.2. Sơ đồ các quy trình XLNT đang áp dụng tại các gia trại CNL [5-7, 29, 31]

Hình 1.3. Mô hình thu gom, xử lý nước thải và sử dụng khí biogas phổ biến của các gia trại CNL tại Hà Tĩnh (ảnh khảo sát thực tế năm 2018)

- Theo [5] thì nước thải tại các trang trại CNL (quy mô hàng trăm đến hàng nghìn con, chuồng trại khép kín, lưu lượng nước thải > 10 m^3/ngày) của Việt Nam chủ yếu được xử lí bằng bể biogas và/hoặc hồ sinh học với ba quy trình áp dụng phổ biến như sau:



Hình 1.4. Sơ đồ các quy trình XLNT đang áp dụng tại các trang trại CNL [5]

Hình 1.5. Một số hệ thống xử lý nước thải của các trang trại CNL ở Hà Tĩnh (ảnh khảo sát thực tế năm 2018)

Kết quả đánh giá hiệu quả xử lý của các quy trình trên cho thấy, phần lớn chúng chỉ mới chỉ xử lý được một phần chất hữu cơ, còn các thành phần như N, P gần như chưa xử lý được. Do đó, việc nghiên cứu để nâng cao hiệu quả cũng như hoàn thiện, phát triển các công nghệ để xử lý nitơ trong nước thải CNL là rất cần thiết, góp phần giảm thiểu tác động của nước thải CNL đến môi trường.

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

Các nghiên cứu về XLNT CNL đã được thực hiện rất nhiều trên thế giới cũng như ở Việt Nam, phần lớn các nghiên cứu tập trung vào công nghệ sinh học bởi nó có tính bền vững, phù hợp với đặc điểm của nước thải CNL, thích nghi với nhiều điều kiện tự nhiên [32]. Tổng hợp một số nghiên cứu về các nhóm công nghệ xử lý nước thải CNL phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam được trình bày ở Bảng 1.2. Sau đây là chi tiết của một số nghiên cứu.

1.2.1. Công nghệ đất ngập nước (ĐNN)

Công nghệ ĐNN là phương pháp thông qua các quá trình lý, hóa và sinh học tự nhiên của hệ đất-nước-sinh vật, các chất thải lơ lửng trong nước được thấm và giữ lại trong đất, sau đó được các vi sinh vật phân hủy và chuyển thành chất dinh dưỡng cung cấp cho cây trồng. Công nghệ ĐNN có từ rất sớm và đã được sử dụng rộng rãi với kết quả đã được ghi nhận, trong đó có nhiều nghiên cứu ứng dụng cho xử lý nước thải CNL. Sau đây là một số nghiên cứu điển hình:

- *Trên thế giới*:

Poacha và cộng sự (2004), sử dụng hệ thống đất ngập nước (ĐNN) trồng cỏ Nến theo kiểu đầm lầy kết hợp với ao để xử lý nước thải CNL trang trại trong suốt 2 giai đoạn thí nghiệm mùa đông và mùa hè. Phân tích cho thấy

hệ thống đã loại trung bình 35 - 51% SS, 30 - 50% COD, 37 - 51% TN và 13 - 26% TP; đặc biệt hiệu quả loại bỏ với COD, TN thay đổi đáng kể giữa mùa hè và mùa đông. Hiệu quả loại bỏ có xu hướng giảm khi giảm nhiệt độ và tăng lượng mưa. Nghiên cứu này cho thấy ngoài việc thiết kế, vận hành… thì các yếu tố môi trường cũng có những ảnh hưởng nhất định tới hiệu quả xử lý của hệ thống này [33].

Sarmento và cộng sự (2012), thử nghiệm *Cyperus* sp. (Thủy trúc) để xử lý nước thải CNL. Nghiên cứu được tiến hành với mô hình ĐNN dòng chảy đứng có và không trồng cây, hoạt động với HRT trong 72 giờ. Kết quả thu được, hàm lượng các chất ô nhiễm trong nước thải sau xử lý là TKN, TP, độ kiềm và độ dẫn điện, đều giảm với hiệu suất 37,5; 28,5; 55,9; 44,4% (trồng cây) và 30,2; 25,6; 26,1; 22.9% (không trồng cây). Như vậy, thực vật trồng trong đất ngập nước có thể loại bỏ khá tốt chất dinh dưỡng [34].

Zhang và cộng sự (2017), sử dụng hệ thống ĐNN dòng chảy ngầm để xử lý nước thải CNL trong khí hậu lạnh ở Nhật Bản. Hệ thống đã loại bỏ COD khoảng 90%, TN khoảng 62%. Nghiên cứu đã chứng minh rằng hiệu quả loại bỏ chất ô nhiễm của hệ thống được duy trì lâu dài, hiệu quả đạt được ngay cả trong điều kiện khí hậu cực kỳ lạnh và nhiều năm sau khi xây dựng [35].

- *Ở Việt Nam*:

Trương Thị Nga và cộng sự (2010), đánh giá hiệu quả xử lý nước thải chăn nuôi bằng cây Rau ngổ và cây Bèo tây. Kết quả cho thấy hiệu suất loại bỏ độ đục, COD, TN, TP của Rau ngổ lần lượt là 96,94; 44,97; 53,60; 33,56% và của Bèo tây lần lượt là: 97,79; 66,10; 64,36; 42,54% [36]

Bùi Thị Kim Anh và cộng sự (2019), ứng dụng mô hình nhân tạo bãi lọc kết hợp trồng cây sậy (Phragmites australis Cav.) trên các lớp vật liệu lọc (gồm sỏi, đá vôi và vỏ trấu) để xử lý nước thải CNL sau bể biogas. Kết quả sau 168 giờ thí nghiệm, nước thải sau xử lý đạt quy chuẩn cho phép, hiệu suất loại bỏ TP, TSS, COD, TN và N-NH_4^+ lần lượt là: 86; 78; 75; 67 và 74% [37].

Từ một số nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam nhận thấy, công nghệ ĐNN khá đơn giản, chi phí vận hành thấp nhưng cần nhiều diện tích và chỉ xử lý được một phần chất hữu cơ (COD), chất dinh dưỡng (TN, TP) trong nước thải CNL nên vẫn còn tiềm ẩn nguy cơ ô nhiễm.

1.2.2. Công nghệ kỵ khí

Xử lý kỵ khí là quá trình phân hủy các hợp chất hữu cơ trong điều kiện

không có oxy nhờ vi sinh vật kỵ khí (chủ yếu là vi khuẩn). Trong điều kiện không có oxy, hệ vi sinh vật dị dưỡng kỵ khí sẽ chuyển H^+ và electron cho một chất hữu cơ trung gian, làm cho quá trình này luôn đi kèm với việc tích tụ các chất hữu cơ trung gian. Sản phẩm chuyển hóa sinh học kỵ khí cuối cùng là một hỗn hợp khí (được gọi là khí sinh học hay biogas) bao gồm CH_4 (chiếm tỉ lệ lớn nhất), C_2H_6, CO_2… ngoài ra còn có H_2S. Khí CH_4 chiếm tới 65% nên quá trình này còn gọi là lên men metan và quần thể vi sinh vật được gọi tên chung là các vi sinh vật sinh metan.

Đây là một quá trình phức tạp và cơ chế của nó chưa được biết một cách đầy đủ và rõ ràng. Có thể coi quá trình xử lý kỵ khí gồm 3 pha: pha ban đầu là phân hủy, pha thứ hai là pha chuyển hóa axit, pha thứ ba là pha kiềm. Trong pha axit, các vi sinh vật tạo thành axit gồm cả vi sinh vật kỵ khí và vi sinh vật tùy tiện. Chúng chuyển hóa các sản phẩm phân hủy trung gian thành các axit hữu cơ bậc thấp, cùng các chất hữu cơ khác như axit hữu cơ, axit béo, rượu, các axit amin, glyxerin, axeton, H_2S, CO_2, H_2. Trong pha kiềm, các vi sinh vật sinh metan mới hoạt động. Chúng là các vi sinh vật kỵ khí cực đoan, chuyển hóa các sản phẩm của pha axit thành CH_4 và CO_2. Các phản ứng ở pha này chuyển pH của môi trường sang kiềm.

Công nghệ này thường được nghiên cứu ứng dụng rất phổ biến cho các loại nước thải có hàm lượng chất hữu cơ sinh học cao, trong đó có nước thải CNL. Sau đây là một số nghiên cứu XLNT CNL bằng phương pháp kỵ khí ở trên thế giới và Việt Nam:

- *Trên thế giới*:

Li và cộng sự (2010), thiết lập hệ bùn kỵ khí dòng chảy ngược (UASB) để xử lý nước thải CNL. Bể UASB được chạy thích nghi trong thời gian 36 ngày, cho kết quả xử lý COD hàng ngày tăng lên đến 90% và sản xuất khí Metan lên đến 9,5 L/ngày đối với COD đầu vào là 3.500 mg/L. Sau đó cho bể UASB vận hành liên tục với COD đầu vào là 3.000 - 6.000 mg/L trong hai tháng sau đó hoạt động ổn định, đạt tỷ lệ xử lý COD là 90 - 95% và sản xuất mêtan tương ứng là 9,5 - 13,2 L/ngày. Kết quả phân tích quần xã vi sinh vật cho thấy cấu trúc vi khuẩn và đa dạng sinh học đa dạng, phong phú trong giai đoạn khởi động, sau đó thay đổi không đáng kể trong giai đoạn hoạt động ổn định [38].

Yan và cộng sự (2011), nghiên cứu xử lý nước thải chăn nuôi lợn bằng

công nghệ dòng chảy ngược qua tầng bùn yếm khí UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). Kết quả cho thấy, UASB loại bỏ khá hiệu quả COD, SS với hiệu suất tương ứng là 82,36 và 70%. UASB kém hiệu quả trong việc xử lý $N\text{-}NH_4^+$ và tổng số photphat (TP) [39].

- *Ở Việt Nam*:

Vũ Đình Tôn và cộng sự (2008), tiến hành đánh giá khả năng loại bỏ các chất ô nhiễm của chất thải CNL bằng hệ thống biogas, kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ chất ô nhiễm trong chất thải giảm đáng kể sau khi qua hệ thống biogas, đặc biệt là các chất hữu cơ, cụ thể: BOD_5 trong nước thải của chuồng lợn nái giảm từ 75,0 - 80,8% còn ở chuồng lợn thịt giảm từ 75,89 - 80,36%; COD trong nước thải của chuồng lợn nái giảm 66,85% còn chuồng lợn thịt giảm từ 64,94 - 69,73%. Tuy nhiên, COD sau khi xử lý bằng hầm biogas vẫn còn cao hơn nhiều lần so với giới hạn cho phép của quy chuẩn thải [40].

Qua kết quả của một số nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam cho thấy, công nghệ kỵ khí xử lý khá hiệu quả chất hữu cơ trong nước thải CNL, còn thành phần các chất dinh dưỡng (TN, TP) chưa xử lý được triệt để, cần bước xử lý tiếp theo.

1.2.3. Công nghệ hiếu khí

Xử lý hiếu khí là các quá trình công nghệ trong đó xác lập ra điều kiện hiếu khí để hệ vi sinh vật hiếu khí oxy hoá các hợp chất hữu cơ ô nhiễm, bằng cách cấp khí vào bể xử lý. Một số giống vi sinh vật ứng dụng nhiều trong các công trình xử lý hiếu khí là: *Bacillus, Pseudomonas, Micrococcus*,…Trong điều kiện môi trường có oxy, các vi sinh vật sử dụng oxy làm chất nhận H^+ và electron, có thể oxy hoá hoàn toàn các cơ chất dinh dưỡng đến sản phẩm cuối cùng là CO_2; H_2O, NO_3^-,.... Hiện có nhiều nghiên cứu ứng dụng công nghệ xử lý hiếu khí để xử lý nước CNL trên thế giới cũng như ở Việt Nam, sau đây là một số nghiên cứu điển hình:

- *Trên thế giới*:

Saucedo Terán và cộng sự (2017), sử dụng một bộ lọc nhỏ giọt với vật liệu lọc là đá núi lửa đỏ để xử lý chất hữu cơ, chất dinh dưỡng trong từ nước thải CNL sau xử lý kỵ khí. Bộ lọc nhỏ giọt bao gồm một hình trụ bằng nhôm, dày 2 mm, cao 3 m và đường kính 1 m. Tiến hành ba đợt chạy thử nghiệm, mỗi đợt kéo dài 20 ngày, nồng độ COD ban đầu, nằm trong khoảng từ 2002 đến 3074 mg/L, HRT là 9 giờ. Lưu lượng đầu vào là 2,2 L/phút, tương đương

với tải trọng thủy lực là 4033 m^3/m^2.ngày và OLR từ 0,006342 đến 0,009738 kg-COD/m^3.ngày. Nồng độ COD ban đầu không ảnh hưởng đến hiệu quả loại bỏ COD đồng thời cho hiệu quả loại bỏ COD rất cao từ 90 - 96% [41].

Waki và cộng sự (2018), nghiên cứu xử lý nước thải CNL trong hai hệ thống bùn hoạt tính có sục khí liên tục ở mức DO cao (DO_1: 1,7 - 2,6 mg/L) và thấp (DO_2: 0,04 - 0,08 mg/L) ở ba nhiệt độ (10 , 20 và 30° C). Kết quả xử lý được > 94,8% nhu cầu oxy sinh hóa (BOD). Trong khi đó, tổng nitơ (TN) được loại bỏ ở DO_2 cao hơn đáng kể ở mức 64, 89 và 88%, so với DO_1, ở 12, 24 và 46%, tương ứng ở 10, 20 và 30° C. Nghiên cứu này chứng minh rằng xử lý ở mức DO thấp là một phương pháp hiệu quả để loại bỏ N [42].

- *Ở Việt Nam*:

Nguyễn Hoài Châu và cộng sự (2010), thử nghiệm khả năng xử lý nước thải CNL sau bể biogas bằng công nghệ lọc sinh học nhỏ giọt với các thông số đầu vào của TSS, COD, BOD, N-NH_4^+, TN, TP lần lượt là: 1.228; 1.195; 534; 405; 518 và 67 mg/L, sau xử lý các các thông số này đạt tương ứng là: 108; 252; 116; 118; 185 và 22 mg/L. Hiệu suất loại bỏ các thông số trên lần lượt là: 90; 80; 78; 71; 64 và 66% [43].

Qua một số nghiên cứu trên cho thấy, ưu thế nổi bật của quá trình phân huỷ hiếu khí là khả năng xử lý chất hữu cơ (có thể đạt tới 96%), ngoài ra nó còn thực hiện được quá trình nitrat hóa và loại bỏ được một phần chất dinh dưỡng (TN, TP). Tuy nhiên, việc cung cấp đủ oxy cho các vi sinh vật hiếu khí trong các công trình hiếu khí nhân tạo là vấn đề công nghệ then chốt và có ảnh hưởng rất lớn đến giá thành xử lý.

1.2.4. Công nghệ thiếu - hiếu khí

Công nghệ thiếu - hiếu khí là phương pháp xử lý dựa vào các vi khuẩn hiếu khí hoặc vi khuẩn tùy tiện để loại bỏ các hợp chất hữu cơ sinh học và nitơ. Trong môi trường có đủ oxy tự do, vi khuẩn sẽ thực hiện quá trình oxy hóa các hợp chất hữu cơ và nitrat hóa. Khi môi trường không đủ oxy tự do (thiếu khí - anoxic) hoặc không có oxy tự do (yếm khí - anaerobic), vi khuẩn sẽ tách oxy trong liên kết nitrat, nitrit hoặc sunfat để oxy hóa chất hữu cơ/khử nitrat hóa. Sản phẩm tạo ra của quá trình là H_2S, NO_2^-, …. hoặc nitơ phân tử. Đây là công nghệ cho hiệu quả xử lý đồng thời chất hữu cơ và nitơ khá cáo, phù hợp với đặc trưng của nước thải CNL nên có nhiều nghiên cứu ứng dụng, cụ thể một số nghiên cứu điển hình như sau:

- *Trên thế giới*:

Obaja và các cộng sự (2003) đã nghiên cứu xử lý nước thải CNL bằng hệ SBR với chế độ vận hành: HRT là 8 giờ mỗi chu kỳ và SRT là 11 ngày, nồng độ BHT dao động từ 3000 - 4000 mg/L. Trong 2 giờ đầu (giai đoạn yếm khí), hầu như nồng độ N không thay đổi còn nồng độ P tăng do lượng phôtphat được giải phóng ra bởi loài vi khuẩn Acinetobacter. Những vi khuẩn này sử dụng các chất trung gian có khối lượng phân tử thấp như nguồn năng lượng cacbon. Sau đó, quá trình nitrat hóa xảy ra trong 4 giờ, hầu như $N\text{-}NH_4^+$ chuyển sang $N\text{-}NO_3^-$ dẫn đến nồng độ nitrat tăng. Trong giai đoạn này, P hòa tan đã bị giữ lại và tích trữ dưới dạng polyphotphat nên phôtphat giảm. Tiếp đến giai đoạn thiếu khí, nitrat giảm, chuyển sang N_2. Giai đoạn này hệ cần bổ sung nguồn cacbon bên ngoài vào như axit acetic, etanol. Hiệu suất loại bỏ N, P rất cao, tương ứng 99,7 và 97,3 %, với $N\text{-}NH_4^+$ và $P\text{-}PO_4^{3-}$ đầu vào là 300 và 49,4 mg/L [44]. Nhưng, khi $N\text{-}NH_4^+ > 500$ mg/L, quá trình nitrat hóa xảy ra không hoàn toàn. Cụ thể, khi $N\text{-}NH_4^+$: 550 mg/L, hiệu suất quá trình nitrat hóa chỉ đạt 90,9 %, $N\text{-}NH_4^+$ đầu ra vẫn còn lớn khoảng 50 mg/L [44]. Nhược điểm của phương pháp này là phải bổ sung nguồn cacbon bên ngoài vào, do đó làm tăng chi phí xử lý.

Obaja và cộng sự (2005), khắc phục hạn chế phải bổ sung nguồn cacbon bên ngoài vào khi thực hiện quá trình khử nitrat, bằng cách tận dụng nguồn cacbon trong nước thải chăn nuôi đã được thử nghiệm. Hệ thống SBR trong nghiên cứu này hoạt động như sau: Nước thải chăn nuôi đã qua phân hủy yếm khí được đưa vào bể. Đầu tiên là giai đoạn yếm khí 1 giờ, tiếp đến là giai đoạn hiếu khí 2 giờ và giai đoạn thiếu khí 1 giờ. Nguồn cacbon dễ phân hủy sinh học được bổ sung vào giai đoạn thiếu khí. Việc bổ sung nguồn cacbon đồng nghĩa với sự làm tăng hàm lượng NH_4^+ trong bể phản ứng nên làm tăng thời gian sục khí và thiếu khí thêm 30 phút, HRT mỗi chu kỳ là gần 7 giờ. SRT trong bể 11 ngày. Kết quả thu được cho thấy quá trình nitrat hóa đạt trên 99,6 %, quá trình khử nitrat hóa đạt 100 %, tương đương với quá trình sử dụng nguồn cacbon bổ sung là metanol hoặc axit axetic. Tuy nhiên, khi so sánh về thời gian và năng suất xử lý NH_4^+ cho thấy, nếu sử dụng nguồn cacbon bổ sung từ nước thải chăn nuôi, chỉ xử lý được NH_4^+ nồng độ 1300 mg/L.ngày, do chỉ thực hiện được 3,43 chu kỳ/ngày (mỗi chu kỳ 7 giờ). Trong khi đó, nếu sử dụng nguồn cacbon bổ sung từ hóa chất, xử lý được

NH_4^+ nồng độ 1800 mg/L.ngày, do có thể thực hiện được 6 chu kỳ/ngày (mỗi chu kỳ 4 giờ). Điều đó có nghĩa là, nếu sử dụng nguồn cacbon từ nước thải chăn nuôi thì thời gian phần lớn là để xử lý N-NH_4^+ (hơn 75 %) [45]. Do đó, cần cân nhắc khi lựa chọn nguồn cacbon bổ sung để cân bằng tiết kiệm chi phí hóa chất và năng suất xử lý.

- *Ở Việt Nam*:

Đặng Thị Hồng Phương và cộng sự (2012) đánh giá ảnh hưởng của chế độ sục khí đến khả năng xử lý nước thải CNL sau xử lý kỵ khí bằng công nghệ SBR. Kết quả nghiên cứu cho rằng chế độ sục khí không ảnh hưởng nhiều đến hiệu quả loại bỏ chất hữu cơ. Các chế độ nghiên cứu của chu kỳ 12 giờ/mẻ cho hiệu quả loại bỏ COD khá cao (~ 90%). Tại chu kỳ sục khí 6 giờ/mẻ có hiệu quả loại bỏ N-NH_4^+ từ 90 - 99%. Chế độ sục khí 6 giờ/mẻ, gồm hai chu trình thiếu khí - hiếu khí cho hiệu quả loại bỏ COD, TN cao và ổn định nhất [46].

Phan Đỗ Hùng và cộng sự (2013), sử dụng công nghệ SBR hai chu trình thiếu - hiếu khí cấp nước hai lần để đánh giá khả năng xử lý đồng thời chất hữu cơ và nitơ trong nước thải CNL đã qua xử lý sơ bộ bằng bể biogas. Nước thải được cấp hai lần riêng lẻ vào các giai đoạn thiếu khí với ba tỉ lệ cấp nước lần đầu là 1/2, 2/3 và 3/4. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng, với quá trình SBR hai chu trình thiếu – hiếu khí, cấp nước hai lần là một giải pháp để nâng cao hiệu quả loại bỏ TN. Khi tăng tỉ lệ cấp nước, đầu tiên khả năng loại bỏ TN sẽ tăng đến một giới hạn nhất định sau đó giảm trở lại. Khả năng loại bỏ TN ở cả ba tỉ lệ cấp nước khảo sát đều khá cao, trong đó ở tỉ lệ 2/3 đạt cao nhất, đạt từ 85 - 90 % còn ở các tỉ lệ cấp nước thấp 1/2 và 3/4 khả năng loại bỏ TN khá phù hợp với hiệu suất lý thuyết. Khả năng loại bỏ COD ở chế độ cấp nước hai lần cũng khá cao, đạt từ 85 - 90% ở tỉ lệ cấp nước 2/3, xấp xỉ với trường hợp cấp nước một lần [47].

Đặng Thị Hồng Phương (2016), sử dụng phương pháp lọc sinh học ngập nước để đánh giá ảnh hưởng của chế độ sục khí đến khả năng xử lý COD, TN trong nước thải CNL sau xử lý kỵ khí. Kết quả nghiên cứu cho thấy, chế độ sục khí không ảnh hưởng nhiều đến hiệu quả loại bỏ COD. Khả năng loại bỏ COD ở cả 3 chế độ sục khí đạt từ 80 - 85% và khá ổn định. Khả năng xử lý TN ở chế độ 1 (sục khí/ngừng sục khí = 60 phút/90 phút) đạt 60 - 65%; chế độ 2 (sục khí/ngừng sục khí = 90 phút/90 phút) đạt 65 - 70% và chế

độ 3 (sục khí/ngừng sục khí = 110 phút/70 phút) đạt cao nhất: 75 - 80%. Tải lượng TN ảnh hưởng nhiều đến khả năng loại bỏ TN, tải lượng TN trong khoảng 0,14 - 0,21 kg/m^3/ngày cho hiệu suất cao nhất, đạt từ 70 - 80% [48].

Lê Sỹ Chính và cộng sựu (2018), sử dụng quá trình lọc sinh học sục khí luân phiên để đánh giá ảnh hưởng tỷ lệ hồi lưu đến hiệu quả xử lý nước thải CNL đã được xử lý sơ bộ qua bể biogas. Kết quả nghiên cứu cho thấy khi tỷ lệ hồi lưu thay đổi (n=1; 2 và 3) không làm ảnh hưởng đến khả năng loại bỏ COD, N-NH_4^+, SS, TP với hiệu suất lần lượt là 81 - 87, 95 - 99, 80 - 95 và 49 - 55%; nhưng lại ảnh hưởng đến hiệu quả loại bỏ TN, tỷ tỉ lệ hồi lưu thay đổi từ n=1; 2 và 3 thì hiệu suất loại bỏ TN lần lượt là 66 - 71, 75 - 79 và 79 - 85% [49].

Qua kết quả của một số nghiên cứu trên thế giới và ở Việt Nam cho thấy, Công nghệ thiếu - hiếu khí loại bỏ khá tốt COD, TN trong nước thải CNL nhưng phải thường xuyên bổ sung nguồn cacbon bên ngoài vào dẫn đến làm tăng chi phí cho việc XLNT.

1.2.5. Công nghệ sinh học kết hợp

- *Trên thế giới*:

Kết quả nghiên cứu của Zhang và cộng sự (2007) cho thấy hệ thống MBR (Membrance Bioreactor) yếm khí đạt được hiệu suất cao trong việc xử lý đồng thời cả COD, N và P trong nước thải CNL, tương ứng 93; 67,4 và 94,1 %. Tuy nhiên, thách thức lớn nhất đối với MBR yếm khí đó chính là hiện tượng tắc màng lọc [50].

Trong một hệ thống xử lý khác, màng lọc vi lọc sợi rỗng được đặt ngập trong bể sục khí thể tích 227 lít, diện tích màng sử dụng 0,93 m^2. Nồng độ BHT trong bể duy trì 2830 - 4070 mg/L. Do COD đầu vào cao nên hệ phải làm việc với thời gian lưu dài 6 ngày với tải lượng COD trung bình 0,18 kgO_2/kgMLSS.ngày. Khi pH được kiểm soát trong khoảng 7,3 - 7,6, hiệu suất xử lý amoni đạt 99,9 %, tương ứng đầu ra dưới 5 mg/L. Khi pH giảm xuống 6,2, hiệu suất xử lý amoni chỉ đạt 52,9 %. Nghiên cứu này cho thấy, yếu tố pH ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý amoni, do đó, cần kiểm soát pH > 7 để quá trình nitrat hóa có thể diễn ra hoàn toàn [51].

Cũng sử dụng công nghệ MBR nhưng nhóm nghiên cứu của Kim và cộng sự (2008) đã kết hợp với bể nitrat hóa. Màng lọc sử dụng trong nghiên cứu là loại màng lọc sợi rỗng vật liệu PVDF, có kích thước lỗ 0,4 µm. Thời gian lưu nước bên trong hệ thống AO và AO2 (Anoxic - Oxic - Oxic

(Nitrification)) là 5 ngày. Hệ thống AO2 gồm bể thiếu khí, bể hiếu khí và bể nitrat hóa, có dung tích lần lượt 6, 12 và 9 L. Hệ thống được nghiên cứu với 4 trường hợp: thay đổi tỷ lệ tuần hoàn, thời gian lưu nước, và trường hợp có hoặc không có bể nitrat hóa. Đặc điểm nước thải đầu vào như sau: COD: 6.419 mg/L, TN: 4.212 mg/L, $N\text{-}NH_4^+$: 2.560 mg/L và $N\text{-}NO_3^-$: 1.050 mg/L. Như vậy, tỷ lệ C/N là rất thấp (C/N = 1,5). Trong hệ AO, tỷ lệ dòng tuần hoàn thay đổi từ 100 - 500 % cho thấy ở tỷ lệ 300%, hiệu quả đạt được tốt nhất. Hiệu suất loại bỏ TN của hệ AO2 là 94 %, còn hệ AO chỉ đạt 56 %. Đặc biệt, hiệu suất loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ tăng 68% và $N\text{-}NO_3^-$ tăng 37 % so với hệ AO. Nghiên cứu đã cho thấy việc kết hợp với bể nitrat hóa cho hiệu quả tốt hơn trong việc loại bỏ N mà không cần bổ sung thêm nguồn cacbon (tỉ lệ C/N thấp) [52].

Kornboonraksa và Lee (2009) sử dụng màng vi lọc polyethylene sợi rỗng, kích thước lỗ 0,4 μm, đặt ngập trong bể SBR. Quá trình nitrat hóa và khử nitrat hóa xảy ra luân phiên thông qua sục khí và không sục khí trong 60 phút. Nước thải đầu vào được tiền xử lý bằng hóa chất keo tụ $FeCl_3$ để làm giảm các chất rắn lơ lửng. COD, BOD_5 và $N\text{-}NH_3$ đầu vào lần lượt là 1.150, 683 và 154 mg/L, hiệu quả loại bỏ COD, BOD_5 và $N\text{-}NH_3$ của hệ đạt được lần lượt là 96,0; 97,0 và 93,2%. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ đầu vào COD, BOD_5 và $N\text{-}NH_3$ lên tương ứng 2.050, 1.198 và 248 mg/L đã dẫn đến giảm hiệu quả loại bỏ COD, BOD_5 và $N\text{-}NH_3$ tương ứng từ 96,0 xuống 92,0%; 97,0 xuống 92,7% và 93,2 xuống 69,5% [53].

- *Ở Việt Nam*:

Văn Thoại Mỹ và cộng sự (2017), sử dụng hệ thống USBF kết hợp sử dụng giá thể vi sinh để xử lý chất hữu cơ trong nước thải chăn nuôi. Các thực nghiệm xử lý chất hữu cơ trong nước thải CNL đã được đánh giá ở HRT là từ 6-15 giờ và SRT là 20 ngày chỉ ra rằng hiệu quả loại bỏ tối ưu BOD_5, COD ở HRT là 12 giờ với hiệu suất tương ứng là 94,2 và 93,3% [54].

Phan Nguyễn Tường và cộng sự (2020), sử dụng công nghệ lọc sinh học kết hợp bãi lọc thực vật để đánh giá khả năng xử lý nước thải CNL sau bể biogas. Nghiên cứu cho thấy hiệu quả xử lý TSS, BOD, $N\text{-}NH_4^+$ tốt nhất tại bể lọc sinh học lần lượt là: 36,96; 34,69; 36,07%. Hiệu quả xử lý TSS, BOD, $N\text{-}NH_4^+$ tốt nhất tại bể lọc thực vật lần lượt là: 80; 45; 70%. Như vậy, công nghệ lọc sinh học kết hợp bể lọc thực vật, làm giảm nồng độ chất ô nhiễm

BOD, TSS, N-NH_4^+ ... một cách hiệu quả. Tuy nhiên, chất lượng nước thải sau khi qua hai công đoạn xử lý trên vẫn chưa đạt giá trị cho phép xả thải quy định ở QCVN 62-MT: 2016/BTNMT [55].

Bùi Thị Kim Anh và cộng sự (2021), sử dụng phương án ủ yếm khí kết hợp với bãi lọc nhân tạo trồng cây xử lý nước thải CNL sau máy ép phân. Quá trình xử lý yếm khí cho khả năng loại bỏ TSS, BOD_5 và COD cao, lần lượt là 61,5; 71,5 và 76,4%, nhưng hiệu quả loại bỏ các chất dinh dưỡng không cao: TN đạt 17,6% và TP đạt 23,1%. Sau khi đã qua bãi lọc nhân tạo trồng cây, hiệu quả loại bỏ TSS, COD, TN và TP lần lượt là 81; 74,6; 67,7 và 79,7%. Chất lượng nước đầu ra đạt cột B của QCVN 62-MT: 2016/BTNMT [56].

Nguyễn Quang Lịch và cộng sự (2021), kết hợp than sinh học (biochar) và hồ sinh học bèo tây (*Eichhornia crassipes*) để việc xử lý nước thải CNL sau hầm biogas. Nghiên cứu cho thấy sau 7 giờ xử lý nước thải đầu ra đạt quy chuẩn cho phép (QCVN 62-MT: 2016/BTNMT), hiệu suất loại bỏ BOD_5, TSS, COD, TN, N-NH_4^+, Tổng coliform khá cao, lần lượt là 83,6; 88,9; 69,3; 88,3; 98,1 và 100%; còn hiệu suất loại bỏ TP không cao, đạt 58,8% [57].

Nhìn chung các công nghệ sinh học kết hợp cho hiệu quả loại bỏ COD, TN trong nước thải CNL khá cao, đặc biệt là công nghệ MBR kết hợp nhưng phần lớn các công nghệ này thường vận hành khá phức tạp, chi phí đầu tư/vận hành khá cao.

Bảng 1.2. Tổng hợp một số nghiên cứu về xử lý nước thải CNL trên thế giới và ở Việt Nam

TT	Nhóm CN	Loại hình công ghệ	Hiệu suất xử lý	Nhận xét	TLTK
1	**ĐNN**	***- Trên thế giới:***			
		ĐNN trồng cỏ Nến theo kiểu đầm lầy kết hợp với ao	SS: 35 - 51%; COD: 30 - 50%; TN: 37 - 51%; TP: 13 - 26%	Xử lý một phần COD, TN, TP; Cần mặt bằng lớn	[33]
		ĐNN dòng chảy đứng có và không trồng cây Thủy trúc	TKN, TP trồng: 37,5; 28,5% và không trồng: 25,6; 26,1%		[34]
		ĐNN dòng chảy ngầm ở khí hậu lạnh của Nhật Bản	COD: 90%, TN: 62%		[35]

TT	Nhóm CN	Loại hình công ghệ	Hiệu suất xử lý	Nhận xét	TLTK
		- Ở Việt Nam:			
		Dùng cây rau Ngổ và cây Bèo tây xử lý nước thải CNL	Hiệu suất loại bỏ COD, TN, TP của rau Ngổ: 44,97; 53,60; 33,56% và Bèo tây: 66,10; 64,36; 42,54%	Xử lý một phần COD, TN, TP; Cần mặt bằng lớn	[36]
		Bãi lọc trồng cây Sậy trên các lớp vật liệu lọc	Hiệu suất loại bỏ TP, TSS; COD; TN và N-NH_4^+ tương ứng: 86; 78; 74,6; 67,1 và 74,2%		[37]
2	**Kỵ khí**	***- Trên thế giới:***			
		Bể UASB, COD vào 3.000 - 6.000 mg/L	COD: 90 - 95%	Chủ yếu xử lý COD	[38]
		Bể UASB	COD: 82,36%; SS: 70%		[39]
		- Ở Việt Nam:			
		Bể biogas	COD trong nước thải nuôi lợn nái và lợn thịt giảm lần lượt là: 66,85 và 64,94 - 69,73%	Chủ yếu xử lý COD	[40]
3	**Hiếu khí**	***- Trên thế giới:***			
		Lọc nhỏ giọt với VLL là đá núi lửa đỏ	COD: 90 - 96%	Xử lý được COD, nitrat hóa và loại bỏ được môt phần TN	[41]
		BHT sục khí liên tục ở DO_1: 1,7 - 2,6 mg/L và DO_2: 0,04 - 0,08 mg/L oxy hòa tan và ở ba nhiệt độ: 10; 20; 30° C	BOD > 94,8% TN (DO_2): 64, 89 và 88% TN (DO_1): 12, 24 và 46%		[42]
		- Ở Việt Nam:			
		Lọc sinh học nhỏ giọt	Hiệu suất loại bỏ TSS, COD, BOD, N-NH_4^+, TN, TP lần lượt là 90; 80; 78; 71; 64 và 66%.	Xử lý được COD, nitrat hóa và loại bỏ được môt	[43]

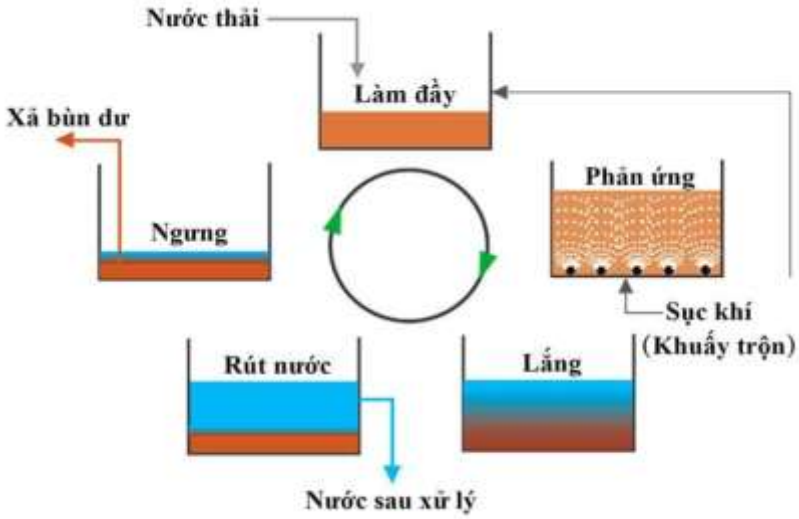
TT	Nhóm CN	Loại hình công ghệ	Hiệu suất xử lý	Nhận xét	TLTK
				phần TN	
4	**Thiếu - hiếu khí**	***- Trên thế giới:***			
		SBR bổ sung nguồn cacbon (metanol hoặc axit axetic) vào giai đoạn thiếu khí	$N\text{-}NH_4^+$: 99,7 % $P\text{-}PO_4^{3-}$: 97,3 %. $N\text{-}NH_4^+$ (> 500 mg/L): 90,9 %	Xử lý được COD, TN nhưng cần nguồn cacbon bên ngoài	[44]
		SBR bổ sung nguồn cacbon bằng cách tận dụng nguồn cacbon trong nước thải	Quá trình nitrat hóa đạt trên 99,6 %, quá trình khử nitrat hóa đạt 100 %		[45]
		- Ở Việt Nam:			
		SBR - Ảnh hưởng của chế độ sục khí	$N\text{-}NH_4^+$: 90 - 99%; COD: 90%	Xử lý được COD, TN nhưng cần nguồn cacbonbên ngoài	[46]
		SBR hai chu trình thiếu - hiếu khí	COD: 85 - 90% TN ở tỉ lệ cấp nước 2/3 đạt cao nhất: 85 – 90 %		[47]
		Lọc sinh học ngập nước	Chế độ sục khí/ngừng sục khí: 110/70 phút cho hiệu suất loại bỏ TN tốt nhất: 75 - 80%		[48]
		Lọc sinh học sục khí luân phiên	COD, $N\text{-}NH_4^+$, SS, TP lần lượt: 81 - 87; 95 - 99; 80 - 95 và 49 - 55%. Tỉ lệ hồi lưu n=1; 2 và 3 hiệu suất TN: 66 -71; 75 - 79; 79 - 85%		[49]
5	**Công nghệ sinh học kết hợp**	***- Trên thế giới:***			
		MBR + hệ yếm khí	COD: 93 %; TN: 67,4 %; TP: 94,1 %	Xử lý được COD, TN nhưng thường hay bị tắc	[50]
		MBR + hiếu khí	$N\text{-}NH_4^+$: 99,9 % ở pH: 7,3 - 7,6 và 52,9 % ở pH = 6,2		[51]
		MBR + bể nitrat hóa	TN (AO2): 94 %, TN (AO): 56 %,		[52]

TT	Nhóm CN	Loại hình công ghệ	Hiệu suất xử lý	Nhận xét	TLTK
		MBR + SBR	- COD; NH_3-N vào 1150; 154 mg/L hiệu quả: 96; 93,2 % - COD; NH_3-N vào: 2050; 248 mg/L hiệu quả: 92,0; 69,5%		[53]
		- Ở Việt Nam:			
		USBF kết hợp giá thể vi sinh	Hiệu quả loại bỏ trung bình BOD_5, COD là 94,2% và 93,3%	Xử lý được COD, SS và một phần TN, TP	[54]
		Lọc sinh học kết hợp bãi lọc thực vật	Hiệu quả loại TSS BOD, $N\text{-}NH_4^+$ ở bể lọc sinh học là: 36,96; 34,69; 36,07% và ở bể lọc thực vật là: 80; 45; 70%		[55]
		Yếm khí kết hợp với bãi lọc trồng cây nhân tạo	Hiệu quả xử lý yếm khí TSS; BOD_5; COD; TN; TP lần lượt: 61,5; 71,5; 76,4; 17,6; 23,1% và bãi lọc trồng cây lần lượt: 81; 74,6; 67,7; 79,7%.		[56]
		Than sinh học (biochar) kết hợp hồ sinh học bèo tây	Hiệu suất loại bỏ TP, BOD_5, TSS, COD, TN và $N\text{-}NH_4^+$ tương ứng là: 58,8; 83,6; 88,9; 69,3; 88,3 và 98,1 %		[57]

1.3. Tổng quan về công nghệ SBR (sequencing batch reactor)

1.3.1. Giới thiệu về công nghệ SBR

SBR là công nghệ xử lý nước thải dựa trên quá trình bùn hoạt tính với 2 giai đoạn sục khí và lắng diễn ra gián đoạn trong cùng một bể, thường dùng để xử lý các loại nước thải có hàm lượng chất hữu cơ và nitơ sinh học cao. SBR hoạt động theo một chu trình với 5 pha khép kín, gồm: Làm đầy, sục khí, lắng, rút nước và pha nghỉ (Hình 1.6). Pha nghỉ chỉ là một khoảng thời gian chờ đợi để nạp thêm một mẻ mới, thời gian này sẽ phụ thuộc vào thời gian vận hành.



Hình 1.6. Sơ đồ hoạt động của bể SBR

Cơ chế hoạt động của 05 pha như sau:

1. Pha làm đầy (Fill): là quá trình cấp nước thải vào bể, quá trình này phải đảm bảo cho dòng chảy điều hòa, không quá mạnh để tạo tiếp xúc tốt giữa nước thải và vi sinh vật và cũng không quá lâu để đảm bảo tính kinh tế. Pha này có thể vận hành ở 3 chế độ như sau:

- Làm đầy tĩnh: cấp nước thải tĩnh tạo nồng độ chất nền cao khi bắt đầu khuấy trộn. Tỷ lệ F:M cao, tạo thuận lợi cho vi sinh vật phát triển, cung cấp các đặc tính tốt cho bùn hoạt tính. Ngoài ra, điều kiện làm đầy tĩnh có lợi cho sản sinh lưu trữ bên trong điều kiện chất nền cao, đó là yêu cầu để loại bỏ photpho sinh hóa, giảm sự phát triển của vi khuẩn sợi.

- Làm đầy khuấy trộn: nước thải đầu vào được trộn đều với các sinh khối vi sinh, khởi đầu cho các phản ứng sinh hóa. Trong thời gian cấp nước thải vào hỗn hợp, vi sinh vật phân hủy sinh học các chất hữu và sử dụng oxy dư hoặc nhận electron thay thế như nitrat. Lúc này, khử nitrat xảy ra trong điều kiện thiếu oxy tạo thành N_2. $N\text{-}NO_3^-$ được vi sinh vật sử dụng như là nhận electron.

- Làm đầy sục khí: có thể giảm thời gian sục khí cần thiết trong bước phản ứng, quá trình nitrat hóa có thể đạt được.

2. Pha sục/thổi khí (React): cung cấp một lượng lớn oxy cho quá trình nitrit hóa, nitrat hóa và chuyển hóa chất hữu cơ. Trong pha này cần nghiên cứu kiểm soát chất lượng nước thải đầu vào (COD, TN,...), cường độ sục khí, nhiệt độ, pH… để tạo bông bùn hoạt tính hiệu quả cho quá trình lắng.

3. Pha lắng (Settle): các chất rắn được lắng và tách ra ở điều kiện môi

trường hoàn toàn tĩnh trong khoảng thời gian nhỏ hơn 2 giờ. Một số trường hợp, trong thời điểm ban đầu có thể khuấy trộn nhẹ để cho nước thải, bùn lắng tách biệt từ đó bùn được lắng tập trung hơn. Tại pha lắng không cấp nước vào như trong hệ thống bùn hoạt tính thông thường.

4. Pha rút/xả nước ra (Draw): nước thải sau khi lắng, phần nước trong phía trên sẽ được hệ thống thu nước tháo ra; đồng thời trong quá trình này bùn lắng cũng được tháo ra mà không bị xáo trộn.

5. Pha nghỉ/chờ (Idle): thực hiện giữa pha xả và pha bơm, trong đó nước thải xử lý đã được tháo ra và nước thải vào đã được cấp đủ. Giai đoạn này có thể được sử dụng để xả bùn thải hoặc vệ sinh lại thiết bị sục khí, cánh khuấy…

Thời gian vận hành của các pha có thể phân bổ như sau: nước chảy vào bể (25%); sục khí (35%); lắng (20%); tháo nước (15%); tháo bùn (5%).

Bể SBR có hai loại gồm: Bể xử lý mẻ thực (true batch reactor) và loại lưu lượng dòng liên tục của bể:

- Đối với "bể xử lý mẻ thực" (dòng gián đoạn), một khi nước thải được nạp vào bể ở một mức làm đầy bình thường, sau đó nước thải được xử lý. Chỉ nạp thêm nước thải vào bể khi tất cả các pha đã thực hiện xong và loại bỏ các chất rắn lắng hiệu quả để cho phép xả thải vào mẻ nước thải khác của bể.

- Đối với bể xử lý mẻ có dòng liên tục, nước thải đầu vào luôn chảy vào bể. Trong bể có hai buồng (chambers) tách biệt bởi một vách ngăn (baffle). Buồng nhỏ hơn nhận nước thải đầu vào và từ đây nước thải chảy chậm vào buồng lớn hơn. Buồng lớn hơn hoạt động như là một bể xử lý nước thải theo mẻ. Tuy nhiên bể xử lý theo mẻ này chỉ có các pha: pha phản ứng (React), pha lắng (Settle) và pha gạn lỏng (Decant).

Công nghệ SBR được nghiên cứu từ năm 1920 và cho đến nay công nghệ này đã được sử dụng rất phổ biến trên toàn thế giới. SBR được ứng dụng nhiều trong xử lý sinh học các loại nước thải công nghiệp, nước thải sinh hoạt, nước thải chăn nuôi... và cho khả năng xử lý các chất ô nhiễm khá cao với chi phí phù hợp.

Ưu điểm của công nghệ SBR:

- Thiết kế đơn giản, không phải xây dựng bể lắng bậc hai
- Loại bỏ đồng thời chất hữu cơ và chất dinh dưỡng (N, P)
- Công nghệ hoạt động ổn định và phù hợp với nhiều hệ thống xử lý có

công suất khác nhau.

- Chi phí xây dựng và vận hành thấp hơn các công nghệ khác vì không sử dụng bể lắng.

- Dễ dàng kiểm soát được các sự cố.

Nhược điểm của công nghệ SBR:

- Vận hành khá phức tạp nên yêu cầu đối với người vận hành khá cao
- Hệ thống sục khí chìm dưới đáy bể dễ bị tắc do bùn
- Áp dụng tự động hóa để vận hành hệ thống khá khó khăn

1.3.2. Cơ chế chuyển hóa sinh học chất hữu cơ và nitơ của công nghệ SBR

Trong hệ thống SBR, các chất ô nhiễm như: COD, BOD, N, P,.... sẽ được vi khuẩn chuyển hóa thông qua ba giai đoạn như sau:

- Khuếch tán, di chuyển và hấp thụ các chất ô nhiễm từ nước thải lên bề mặt tế bào vi khuẩn;
- Oxy hóa ngoại bào và vận chuyển các chất ô nhiễm hấp thụ được qua màng tế bào vi khuẩn;
- Chuyển hóa các chất hữu cơ thành năng lượng, tổng hợp sinh khối và các nguyên tố dinh dưỡng khác bên trong tế bào vi khuẩn.

1.3.2.1. Chuyển hóa sinh học chất hữu cơ

Chất hữu cơ là chất đầu tiên bị oxy hóa để tạo thành năng lượng. Quá trình này được thực hiện trên bề mặt tế bào vi khuẩn nhờ xúc tác của men ngoại bào. Một phần chất hữu cơ được chuyển qua màng tế bào vi khuẩn (màng bán thấm) vào bên trong và tiếp tục oxy hóa để giải phóng năng lượng (phản ứng 1-1), tổng hợp thành tế bào chất (phản ứng 1-2). Sinh khối vi sinh vật tăng lên. Trong điều kiện thiếu nguồn dinh dưỡng, tế bào chất lại bị oxy hóa nội bào để tạo ra năng lượng cần thiết cho hoạt động sống (phản ứng 1-3). Cụ thể các phản ứng hóa sinh của hai quá trình như sau:

- Qúa trình oxy hóa chất hữu cơ (tạo năng lượng):

$$C_xH_yO_zN + O_2 \xrightarrow{VSV} CO_2 + NH_3 + H_2O + Q \text{ (năng lượng)} \quad (1\text{-}1)$$

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

$$C_xH_yO_zN + Q \xrightarrow{VSV} C_5H_7NO_2 \quad \text{(tế bào chất)} \quad (1\text{-}2)$$

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

Lượng ôxy tiêu tốn cho phản ứng (1-1) và (1-2) là tổng BOD của nước thải

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

$$C_xH_yO_zN + O_2 \xrightarrow{VSV} CO_2 + NH_3 + H_2O + Q \quad (1\text{-}3)$$

Vi khuẩn chuyển hóa các chất hữu cơ bằng cách hô hấp. Đây là quá trình hô hấp hiếu khí diễn ra trong môi trường đủ oxy tự do. Vi khuẩn thực hiện quá trình này là các loại vi khuẩn hiếu khí hoặc vi khuẩn tùy tiện.

Khi môi trường không đủ oxy tự do (thiếu khí - anoxic) hoặc không có oxy tự do (yếm khí - anaerobic), các loại vi khuẩn hiếu khí hoặc vi khuẩn tùy tiện sẽ tách oxy trong liên kết nitrat, nitrit hoặc sunfat để oxy hóa chất hữu cơ. Sản phẩm tạo ra của quá trình là H_2S, NO_2^-, …. hoặc nitơ phân tử.

1.3.2.2. Chuyển hóa sinh học nitơ

Trong công nghệ SBR, xử lý sinh học nitơ truyền thống được thực hiện dựa trên sự kết hợp của hai quá trình là quá trình nitrat hóa ($NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$) và khử nitrat ($NO_3^- \rightarrow N_2$). Cụ thể từng quá trình như sau:

- Quá trình Nitrat hoá là quá trình oxy hóa các hợp chất của nitơ có hóa trị -3 (NH_3, NH_4^+) lên +3, +5 (NO_2^-, NO_3^-) bởi vi sinh vật, được thể hiện bằng các phản ứng sau:

$$NH_4^+ + 1{,}5O_2 \xrightarrow{VSV} NO_2^- + 2H^+ + H_2O \quad (1\text{-}4)$$

$$NO_2^- + 0{,}5O_2 \xrightarrow{VSV} NO_3^- \quad (1\text{-}5)$$

Phương trình tổng:

$$NH_4^+ + 2O_2 \xrightarrow{VSV} NO_3^- + 2H^+ + H_2O \quad (1\text{-}6)$$

Như vậy, 1 mol NH_4^+ tiêu thụ 2 mol O_2 hay 1 g N-NH_4^+ tiêu thụ 4,57 g O_2, 1 mol NH_4^+ tạo thành 1 mol NO_3^-, 1 mol NH_4^+ tạo thành 2 mol H^+. Lượng H^+ tạo ra phản ứng với độ kiềm HCO_3^-, như vậy 1g N-NH_4^+ tiêu thụ 7,14 g độ kiềm (quy về $CaCO_3$). Các phương trình (1-4 và 1-5) không tính đến quá trình sinh tổng hợp.

Nếu tính cả các quá trình tổng hợp sinh khối (vi khuẩn) ta có:

$$1{,}02NH_4^+ + 1{,}89O_2 + 2{,}02HCO_3^- \xrightarrow{VSV} 0{,}021C_5H_7O_2N + 1{,}00NO_3^- + \\ + 1{,}92H_2CO_3 + 1{,}06H_2O \quad (1\text{-}7)$$

Như vậy, 1 gam N-NH_4^+ tiêu thụ 4,3 g O_2, 1 gam N-NH_4^+ tiêu thụ 7,2 g độ kiềm (quy về $CaCO_3$).

Từ phương trình (1-7) ta có thể thấy điều kiện cơ bản cho quá trình nitrat

hoá là phải đảm bảo độ kiềm cho vi sinh vật thực hiện quá trình oxy hoá.

- Quá trình khử nitrat là quá trình khử hợp chất nitơ có hóa trị từ +5 về +3, +2, +1 bởi vi sinh vật. Các phương trình tỉ lượng của quá trình khử nitrat hoá phụ thuộc vào bản chất nguồn cacbon sử dụng như sau:

$$6NO_3^- + 5CH_3OH \xrightarrow{VSV} 3N_2 + 5\,CO_2 + 7\,H_2O + 6\,OH^- \quad (1\text{-}8)$$

$$8NO_3^- + 5CH_3COOH \xrightarrow{VSV} 4N_2 + 10\,CO_2 + 6\,H_2O + 8\,OH^- \quad (1\text{-}9)$$

$$8NO_3^- + 5CH_4 \xrightarrow{VSV} 4N_2 + 5\,CO_2 + 6\,H_2O + 8\,OH^- \quad (1\text{-}10)$$

$$10NO_3^- + C_{10}\,H_{19}O_3\,N \xrightarrow{VSV} 5N_2 + 10\,CO_2 + 3\,H_2O + NH_3 + 10\,OH^- \quad (1\text{-}11)$$

(*Ghi chú: $C_{10}\,H_{19}O_3N$ - công thức trung bình của nước thải sinh hoạt)*

Nhóm OH^- sẽ phản ứng với CO_2 tạo độ kiềm bicacbonat:

$$OH^- + CO_2 \rightarrow HCO_3^-$$

Cũng như trường hợp nitrat hoá, nếu tính cả quá trình sinh tổng hợp ta có:

$$NO_3^- + 1{,}08CH_3OH + 0{,}24H_2CO_3 \xrightarrow{VSV} 0{,}056C_5H_7NO_2 + 0{,}47N_2 + 1{,}68H_2O + HCO_3^- \quad (1\text{-}12)$$

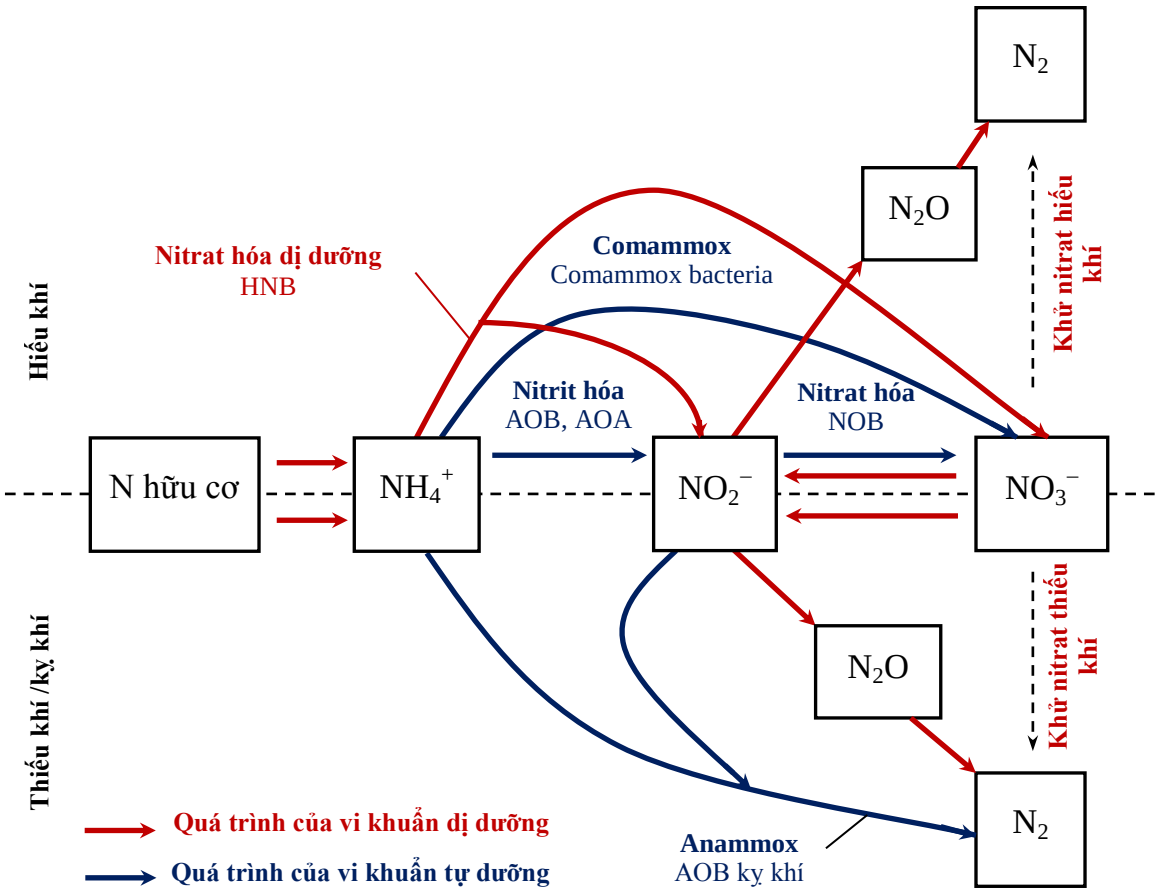
Cứ 1 mg/l NO_3^- bị khử thì sinh ra 3,57 mg/l độ kiềm. Nếu trong hệ có NH_3 thì lượng kiềm sinh ra sẽ ít hơn.

Trong cả hai quá trình trên đều có sự tham gia của nhiều nhóm vi sinh khác nhau, trong đó quá trình nitrat hóa có sự tham gia của hai nhóm vi sinh vật phổ biến là: *Nitrosomonas* và *Nitrobacter*. Đây là vi sinh vật tự dưỡng hoá năng vì chúng nhận được năng lượng cho sự sinh trưởng và tổng hợp tế bào phần lớn là từ quá trình oxy hoá các hợp chất cacbon vô cơ (HCO_3^- là chính) và nitơ vô cơ. Ngoài ra chúng tiêu thụ mạnh oxy (Vi khuẩn hiếu khí). Khác với quá trình nitrat hoá, quá trình khử nitrat sử dụng ôxy từ nitrat nên gọi là *anoxic* (thiếu khí). Các vi khuẩn ở đây là vi khuẩn dị dưỡng nghĩa là cần nguồn cacbon hữu cơ để tạo nên sinh khối mới.

Như vậy, để xử lý nitơ bằng phương pháp sinh học truyền thống cần trải qua hai quá trình gồm: nitrat hóa được thực hiện bởi các nhóm vi sinh tự dưỡng và khử nitrat hóa được thực hiện bởi các nhóm vi sinh dị dưỡng. Trong đó, quá trình nitrat hóa được coi là bước giới hạn tốc độ của quy trình xử lý sinh học nitơ trong nước thải [58, 59], và quá trình nitrat hóa ngoài sự tham gia của các nhóm vi khuẩn tự dưỡng (AOA, AOB, NOB, Comammox) thì còn

có nhóm vi khẩn dị dưỡng (HBN - Heterotrophic Nitrifying Bacteria) đầy tiềm năng, lợi thế [12, 58, 59] (Hình 1.7).

Các vi khuẩn tự dưỡng tham gia vào quá trình nitrat hóa 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, trong khi đó các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng có nhiều ưu biệt 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 [16-18], một số loài thậm chí có thể chịu được môi trường lạnh, quá mặn hoặc giàu amoni [19-21]. 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 [22-26].



Hình 1.7. Các quá trình chuyển hóa nitơ có thể xảy ra trong các hệ thống xử lý sinh học [59]

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

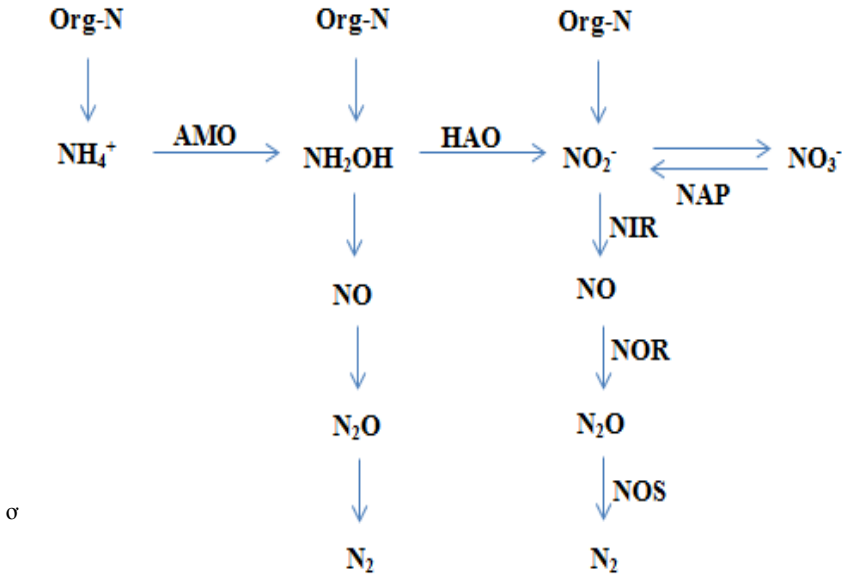
Từ cơ sở trên cho thấy việc phân lập những chủng vi khuẩn mới, đặc biệt là các nhóm vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng (HNB, AOB, NOB) là một việc

có ý nghĩa lớn về mặt khoa học và thực tiễn để xử lý ô nhiễm nitơ trong nước thải. Hiện nay những nỗ lực phân lập, mô tả đặc điểm sinh học của các nhóm vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng, sau đó đánh giá sự đóng góp của chúng vào quá trình chuyển hóa nitơ trong các hệ thống xử lý sinh học nước thải đã thu hút được sự quan tâm của các nhà vi sinh vật trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Trong luận án này, một số chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit dị dưỡng là đối tượng được phân lập, tuyển chọn, đánh giá và ứng dụng vào hệ SBR để nâng cao hiệu quả xử lý nitơ trong nước thải CNL.

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

1.4.1. Cơ chế chuyển hóa nitơ

Quá trình chuyển hóa nitơ của các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng thường được đề xuất dựa trên việc sử dụng các nguồn nitơ khác nhau và phát hiện các chất chuyển hóa nitơ, enzyme chức năng hoặc gen. Quá trình chuyển hóa nitơ chung của vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng được tóm tắt trong Hình 1.8 [59]. Trong hầu hết các trường hợp, vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng có thể oxy hóa amoni thành oxit nitơ dạng khí hoặc khí nitơ bằng con đường nitrat hóa và khử nitrat hoàn toàn: $NH_4^+ \rightarrow NH_2OH \rightarrow NO_2^-$, $NO_3^- \rightarrow NO$, $N_2O \rightarrow N_2$ [60-62]. Ngoài ra, một số chủng như: *Alcaligenes faecalis* [63, 64], *Acinetobacter calcoaceticus* [65], *Thauera* sp. chủng SND5 [66] có thể oxy hóa trực tiếp amoni thành khí nitơ thông qua hydroxylamine dưới dạng sản phẩm trung gian chứ không phải nitrit/nitrate ($NH_4^+ \rightarrow NH_2OH \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$).



σ

Hình 1.8. Các con đường chuyển hóa các hợp chất nitơ có thể của vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng [59]

Các enzyme, gen chức năng đã được phát hiện ở nhiều dòng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng, ví dụ như hoạt tính amoniac monooxygenase lên tới 0,07 - 0,08U/mL [67, 68] hoặc 0,127 - 0,652U/mg [69-71], Trong khi hoạt tính của hydroxylamine oxidoreductase lên tới 0,043U/mL [68] hoặc 0,0014 - 0,221U/mg [65, 69, 72].

Các gen *amoniac monooxygenase* (*amoA*) đã được phát hiện trong nhiều chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng, ví dụ: *Acinetobacter* sp. JQ1004 [73], *Acinetobacter* sp. YY1 [74], *Arthrobacter* sp. HHEP5 [75], *Bacillus krulwichiae* [76], *Bacillus* sp. LY [77], *Janthinobacterium* sp. M-11 [21, 78], *Pseudomonas* sp. YY3 [74], *Pseudomonas* sp. JQ-H3 [68], *Stenotrophomonas maltophilia* DQ01 [60], *Stenotrophomonas* sp. MSNA-1 [79] và *Sphingomonas* sp. YY2 [74].

Các gen *hydroxylamine oxidoreductase* (*hao*) đã được phát hiện trong *Acinetobacter* sp. ND7 [80], *Acinetobacter* sp. YY1 [74], *Arthrobacter* sp. HHEP5 [75], *Janthinobacterium svalbardensis* F19 [81], *Pseudomonas sp*. YY3 [74] và *Sphingomonas* sp. YY2 [74].

Các enzyme khử nitrat điển hình và các gen cấu trúc của chúng cũng thường được phát hiện ở nhiều chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng, bao gồm khử nitrite [82, 83], khử nitrat [68, 83] và vị trí các gen mã hóa trên polypeptit của hoạt động khử nitrat như: *napA* [84, 85] và *narG* [60, 78]; khử nitrite như: *nirS* [84, 86] và *nirK* [60, 87]; khử oxit nitric như: *qnorB* [84, 88] và khử oxit nitơ như: *nosZ* [68, 84, 89]. Trong điều kiện thiếu khí các enzyme khử nitrat thường có khả năng hoạt hóa tốt hơn so với điều kiện hiếu khí [90].

Một số chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng không có khả năng khử nitrat hiếu khí như: *Alcaligenes* sp [91], *Pseudomonas sp*. BW003 [92] thì NO_2^-, NO_3^- là sản phẩm cuối cùng của quá trình oxy hóa amoni. Ngoài ra, một số chủng: *Microbacterium* sp. SFA13 [93], *Bacillus subtilis* A1 [94] lại có thêm khả năng oxy hóa amoni tự dưỡng bất thường; một số chủng như: *Paracoccus* sp. BW001, *Shinella zoogloeoides* và *Pseudomonas* sp. BC001 [89, 95, 96] thậm chí còn oxy hóa trực tiếp các hợp chất hữu cơ chứa nitơ thành khí nitơ thông qua quá trình thủy phân ban đầu thành amoni hoặc oxy hóa trực tiếp thành NH_2OH hoặc nitrit như: *Alcaligenes* sp. [97, 98].

1.4.2. Đặc điểm sinh lý - hóa sinh

Không giống như các vi sinh vật oxy hóa amoni tự dưỡng thu được năng

lượng để tăng trưởng từ quá trình oxy hóa amoni, HNB sử dụng các nguồn carbon hữu cơ và hô hấp hiếu khí để tạo ra năng lượng cho sự tăng trưởng vì không có năng lượng được tạo ra bởi quá trình oxy hóa amoni, hydroxylamine hoặc các hợp chất hữu cơ chứa nitơ [99].

Quá trình nitrat hóa tự dưỡng hiếu khí điển hình chuyển đổi hầu hết amoni thành nitrit/nitrat [100], dẫn đến hiệu quả loại bỏ TN thấp. Ngược lại, hầu hết HNB đạt được hiệu suất loại bỏ nitơ tổng cộng 50 -99% nhờ quá trình khử nitơ hiếu khí, trong đó 19 - 80% lượng amoni ban đầu được chuyển thành khí nitơ [58, 59]. Tốc độ tăng trưởng cụ thể tối đa của HNB lên tới 0,18 - 0,45/giờ [87, 101], cao hơn nhiều so với AOB, ví dụ: 0,03 - 0,05/giờ đối với *Nitrosomonas europaea* [102].

Các nguồn carbon tối ưu cho hầu hết HNB bao gồm succinate, citrate, axetat, glucose và pyruvate. Tỷ lệ carbon/nitơ (C/N) phù hợp cho quá trình chuyển hóa nitơ của các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng dao động trong khoảng từ 8 - 10 [103] còn khoảng pH và nhiệt độ tối ưu là: pH: 5-10; nhiệt độ: 20 - 40 ^{o}C [59]. 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 ^{o}C [21, 78]; chịu mặn ở độ muối lên đến 15% [79] hoặc 20% [104]; chịu amoni cao lên đến 1000 mg N-NH_4^+/L [105] hoặc 2000 mg N-NH_4^+/L [106]. Qua đó, cho thấy, các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng có khả năng thích nghi với nhiều điều kiện môi trường, đặc biệt là trong các điều kiện khắc nghiệt, điều này sẽ mang lại tiềm năng lớn cho việc ứng dụng các nhóm vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng để xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải.

1.4.3. Các nghiên cứu về khả năng xử lý nitơ của vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng

Các nghiên cứu về khả năng xử lý nitơ của vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng đã được công bố khá nhiều ở trên thế giới trong đó tập trung vào một số nội dung sau:

- Khảo sát, đánh giá khả năng loại bỏ nitơ của các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng bằng cách thêm trực tiếp vào nước thải chứa nitơ:

Joo và cộng sự (2006), sử dụng chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 có khả năng nitrat hóa và khử nitrat hiếu khí để xử lý nước thải chăn nuôi lợn trong điều kiện hiếu khí. Kết quả thử nghiệm cho thấy gần như toàn bộ N-NH_4^+: 2.000 mg/L và COD: 12.000 mg/L trong nước thải đã được loại bỏ và tốc độ loại bỏ N-NH_4^+ khoảng 30 mg/L/h, cao

gấp 5 = 10 lần so với tốc độ đạt được của các vi khuẩn khác có cùng khả năng. Tỷ lệ khử nitrat là hơn 65% lượng $N\text{-}NH_4^+$ bị loại bỏ [106].

Yao và cộng sự (2013), bổ sung một chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng - khử nitrat hiếu khí, *Bacillus methylotrophicus* L7 vào bể phản ứng sinh học màng chìm (MBR) để xử lý liên tục nước thải nhân tạo. Kết quả chỉ ra rằng việc cấy chủng đơn lẻ này vào một lò phản ứng trong điều kiện hiếu khí liên tục dẫn đến việc loại bỏ đồng thời chất hữu cơ và nitơ, trái ngược hoàn toàn với hệ thống xử lý khử nitrat hiếu khí truyền thống và hệ thống lò phản ứng theo mẻ (SBR). Các điều kiện vận hành tối ưu cho MBR là: DO: 4,5 mg/L; pH: 7,5; $N\text{-}NH_4^+$ <100 mg/L và tỷ lệ C/N 3,5. Trong những điều kiện này, hiệu suất loại bỏ COD, $N\text{-}NH_4^+$ và TN tương ứng là 96; 77,5; 53% và không tích tụ nitrit [107].

Năm 2014, Shoda và cộng sự sử dụng chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 để loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ nồng độ cao từ bùn thải đô thị dư thừa đã phân hủy kỵ khí, sử dụng thiết bị lên men dạng bình. Hiệu suất loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ đạt 90-100% trong vòng 24 giờ và tốc độ loại bỏ amoni trung bình là 2,9 kg-N/m^3/ngày, cao hơn 200 lần so với quá trình nitrat hóa và khử nitơ thông thường. Mật độ tế bào được duy trì ở mức 10^8 -10^9 tế bào của chủng *Alcaligenes faecalis* strain No. 4/ml. Ở nồng độ 3% NaCl trong bùn phân hủy, chủng *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 có tốc độ loại bỏ amoni là 3 kg-N/m^3/ngày [105].

Mishra và cộng sự (2015), phân lập được ba chủng vi khuẩn *Lysinibacillus* sp. HT13, *Alcaligenes* sp. HT15 và *Proteus* sp. HT37 từ nước thải chế biến cá, có tỷ lệ C/N là 2. Chúng có khả năng loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ lần lượt 218, 169 và 400 μg/tế bào/ngày mà không tích tụ nitrit hoặc nitrat sau đó. Bổ sung vào nước thải chế biến cá chứa 234 mg/L TKN, *Lysinibacillus* sp. HT13, *Alcaligenes* sp. HT15 và *Proteus* sp. HT37 có thể xử lý 95,74, 86,17 và 76,6% nitơ tương ứng trong 48 giờ [108].

Ye và cộng sự (2016), nghiên cứu xử lý nitơ bằng bể phản ứng sinh học hiếu khí liên tục kết hợp bổ sung chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng – khử nitrat hiếu khí *Providencia rettgeri* YL. Với nồng độ $N\text{-}NH_4^+$ đầu vào là 90 - 200 mg/L, hiệu suất loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ dao động từ 80 - 97% và TN dao động từ 72 - 95%. Các điều kiện xử lý tối ưu để loại bỏ nitơ là pH: 8, tỷ lệ C/N là 12, nhiệt độ 25°C và tốc độ lắc 105 vòng/phút [109].

Yang và cộng sự (2017), phân lập được hai chủng vi khuẩn *Acinetobacter* spp. và *Pseudomonas* spp. có khả năng nitrat hóa dị dưỡng và khử nitrat hiếu khí với tốc độ loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$; $N\text{-}NO_2^-$ và $N\text{-}NO_3^-$ tối đa lần lượt là 7,33; 6,53 và 4,53 mg/L/h. Chúng có thể phát triển trong khoảng tỷ lệ C/N rộng và hiệu quả loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ ở tỷ lệ C/N 4 và 32 lần lượt là 90,40% và 93,84%. Hơn nữa, quá trình phân hủy sinh học đồng thời $N\text{-}NH_4^+$ và COD đã đạt được bằng cách bổ sung chúng sau khi làm giàu vào nước thải phenolic tổng hợp và các mẫu nước thải luyện cốc [110].

Yang và cộng sự (2018), nghiên cứu xử lý nước thải CNL bằng *Acinetobacter* sp. TX5 cố định với chất nền nấm đã qua sử dụng trong bể phản ứng sục khí. Trong các thí nghiệm theo mẻ 8 giờ, $N\text{-}NH_4^+$ trong nước thải pha loãng giảm từ 34,95 mg/L ban đầu xuống 3,83 mg/L cho hiệu suất xử lý 89%. Trong các thí nghiệm liên tục, hiệu suất xử lý nằm trong khoảng từ 74 - 95% đối với $N\text{-}NH_4^+$, từ 73 - 93% đối với TN và từ 54 - 82% đối với COD. Phân tích đồng vị và tinh chế enzyme cho thấy quá trình nitrat hóa và khử nitrat đồng thời tồn tại trong chủng vi khuẩn *Acinetobacter* sp. TX5 [111].

Jin và cộng sự (2019), sử dụng chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng *Klebsiella* sp. KSND có khả năng nitrat hóa và khử nitrat hiếu khí để loại bỏ nitơ trong nước thải sinh hoạt trong bể lọc sinh học. Kết quả cho thấy hiệu suất loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ và TN trong điều kiện hiếu khí lần lượt là 97,12% và 52,64%. Trong các giai đoạn nối tiếp hiếu khí (DO > 4,0 mg/L) và kỵ khí (DO < 0,5 mg/L), hiệu suất loại bỏ TN trung bình: 95,45%, không tích tụ nitrat và nitrit. Thử nghiệm kiểm soát DO đã chứng minh rằng điều kiện kỵ khí ảnh hưởng xấu đến quá trình nitrat hóa (46,13%), nhưng có lợi cho quá trình khử nitrat (93,52%). Dưới sự kiểm soát DO hai giai đoạn, *Klebsiella* sp. KSND duy trì hiệu quả loại bỏ 87,88% TN từ nước thải sinh hoạt có hàm lượng carbon thấp trong 180 ngày [112].

- Đánh giá, so sánh hiệu quả loại bỏ nitơ của các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng bằng cách tăng cường sinh học vào một số hệ thống xử lý nước thải sinh học. Các hệ thống được nghiên cứu bao gồm hệ thống kỵ khí-thiếu khí-hiếu khí cho nước thải trang trại CNL [113], bộ lọc sinh học sục khí cho nước thải nhiễm mặn [114], hệ thống thấm nước thải dưới bề mặt cho nước thải nông thôn [115], màng sinh học theo mẻ cho nước thải giàu amoni [116], bể sinh học cho nước hồ phú dưỡng [117], đĩa quay sinh học cho nước thải sinh hoạt

[102] và SBR cho nước thải có hàm lượng nitơ cao [118], nước thải đô thị [94]. Trong hầu hết các nghiên cứu cho thấy, việc tăng cường sinh học với các chủng vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng giúp cải thiện đáng kể hiệu quả loại bỏ chất ô nhiễm so với đối chứng (không bổ sung vi khuẩn), ví dụ như: TN và COD được loại bỏ cao hơn (81% và 97%) so với đối chứng trong quá trình xử lý nước thải đô thị [94]; gia tăng đáng kể khả năng loại bỏ N-NH_4^+, TN và COD lần lượt là 66%, 47% và 30% so với đối chứng trong quá trình xử lý nước mặn có độ muối 3% [114].

Từ các kết quả ở trên cho thấy hầu hết các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng đều có thể loại bỏ được 85 -100% amoni, 85 - 95% tổng nitơ và 84 - 100% COD từ các loại nước thải khác nhau ngay cả ở tỷ lệ C/N thấp là 3,5 - 4, với 36 - 52% amoni trong nước thải đã được chuyển hóa thành khí N_2. Những kết quả này chứng minh khả năng loại bỏ nitơ vượt trội của các vi khuẩn nitrat hóa dị dưỡng.

1.5. Khái quát các nội dung tổng quan

Từ các nội dung tổng quan được trình bày từ Mục 1.1 đến Mục 1.4 có thể khái quát lại các ý chính như sau:

1. CNL là ngành quan trọng ở Việt Nam, cung cấp khoảng 3,67 triệu tấn thịt hơi/năm, chiếm 64% tổng sản lượng thịt các loại vật nuôi trên toàn quốc. Song song với đóng góp cho kinh tế thì chăn nuôi lợn cũng tạo ra nhiều áp lực cho môi trường, trong đó đáng lo lắng nhất là nước thải bởi lượng thải khá lớn, khoảng 75 triệu m^3/năm (~ 66% tổng lượng NT của ngành chăn nuôi); mức độ ô nhiễm SS, COD cao, đặc biệt N rất cao (TN: 115 - 630 mg/L) có thể gây ra hiện tượng phú dưỡng, tảo độc nở hoa, gây hại đến các loài động vật thủy sinh,.... Các công nghệ xử lý nước thải chăn nuôi hiện nay đang áp dụng ở Việt Nam chỉ mới xử lý được SS, COD còn N đang là vấn đề gặp rất nhiều khó khăn, do công nghệ phức tạp, tiêu hao nhiều năng lượng, chi phí xây dựng, vận hành cao,.....

2. 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 phương pháp sinh học là phương pháp khả thi, trong đó công nghệ SBR là công nghệ cho hiệu quả xử lý đồng thời chất hữu cơ và các hợp chất nitơ trong nước thải CNL khá cao (90 - 97 %). Tuy vậy, hiệu quả loại bỏ TN của SBR không ổn định, phụ thuộc vào một số yếu tố như: khi NH_4^+ cao hơn 500 mg/L gây ức chế các vi sinh vật thực

hiện quá trình nitrat hóa [44]; phải bổ sung nguồn cacbon cho quá trình thiếu khí [44, 45] nên việc tiếp tục nghiên cứu nâng cao hiệu quả xử lý nitơ trong nước thải CNL một cách ổn định, đạt quy chuẩn xả thải bằng công nghệ SBR là rất cần thiết.

3. Xử lý các hợp chất của nitơ bằng SBR dự trên sự kết hợp của hai quá trình nitrat hóa và khử nitrat. Trong đó, quá trình nitrat hóa là bước giới hạn tốc độ, được thực hiện bởi nhóm vi khuẩn tự dưỡng và dị dưỡng. Nhóm 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 không cao còn các vi khuẩn dị dưỡng ưu biệt 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 [16-18], một số loài thậm chí có thể chịu được môi trường lạnh, quá mặn hoặc giàu amoni [19-21]. Tổng hợp một số nghiên cứu về khả năng xử lý của HBN cho thấy chúng có thể loại bỏ được N-NH_4^+, TN, COD khá cao từ các loại nước thải khác nhau. 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 CNL bằng công nghệ SBR.

4. Việc phân lập những chủng vi khuẩn mới thuộc nhóm vi khuẩn nitra hóa dị dưỡng có ý nghĩa lớn về mặt khoa học và thực tiễn để xử lý ô nhiễm các hợp chất nitơ trong nước thải. Vì vậy, trong luận án này, một số chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit dị dưỡng là đối tượng được phân lập, tuyển chọn để tăng cường sinh học vào hệ SBR nhằm nâng cao hiệu quả xử lý nitơ trong nước thải CNL.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

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

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- *Nước thải*:

Nước thải phân lập vi sinh được lấy từ sau bể biogas của một lò mổ và 04 trang trại CNL trên địa bàn tỉnh Hà Tĩnh.

Nước thải thử nghiệm khả năng xử lý của các chủng vi sinh phân lập được, được lấy từ sau hệ thống bể biogas tại 02 trang trại CNL trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế.

Cụ thể một số thông tin của các cơ sở lấy mẫu nghiên cứu được tổng hợp ở Bảng 2.1.

Bảng 2.1. Một số thông tin của các cơ sở lấy mẫu nghiên cứu

STT	Tên cơ sở lấy mẫu	Một số thông tin về cơ sở lấy mẫu
A	**Các cơ sở lấy mẫu phân lập vi sinh**	
1	Cơ sở giết mổ gia súc tập trung tại khối 10, Tân Giang, thành phố Hà Tĩnh, Hà Tĩnh **(Cơ sở A1)**	- Giết mỗ lợn tập trung, quy mô 100 con/ngày - Hình thức giết mổ: Thu công - Hệ thống XLNT: Biogas (01 bể bê tông) + hồ sinh hoc (02 hồ)
2	Trang trại chăn nuôi lợn của ông Hoàng Hải Trọng tại thôn Khe Chanh, Kỳ Đồng, Kỳ Anh, Hà Tĩnh **(Cơ sở A2)**	- Chăn nuôi lợn thịt thương phẩm, quy mô 1.200 con/lứa, mỗi năm 2 lứa - Hình thức: Chăn nuôi công nghiệp - Hệ thống XLNT: Máy tách phân + Biogas (01 bể bạt HDPE) + hồ sinh hoc (03 hồ)
3	Trang trại chăn nuôi lợn của ông Phạm Đình Lương tại thôn Khe Trù, Sơn Kim 1, Hương Sơn, Hà Tĩnh **(Cơ sở A3)**	- Chăn nuôi lợn thịt thương phẩm, quy mô 900 con/lứa, mỗi năm 2 lứa - Hình thức: Chăn nuôi công nghiệp - Hệ thống XLNT: Biogas (01 bể bạt HDPE) + hồ sinh hoc (03 hồ)
4	Trang trại chăn nuôi lợn của ông Trần Văn Sơn tại	- Chăn nuôi lợn thịt thương phẩm, quy mô 1.000 con/lứa, mỗi năm 2 lứa

STT	Tên cơ sở lấy mẫu	Một số thông tin về cơ sở lấy mẫu
	thôn Khe Năm, Sơn Kim 1, Hương Sơn, tỉnh Hà Tĩnh **(Cơ sở A4)**	- Hình thức: Chăn nuôi công nghiệp - Hệ thống XLNT: Biogas (01 bể bạt HDPE) + hồ sinh hoc (03 hồ)
5	Trang trại chăn nuôi lợn của ông Hoàng Văn Thư tại thôn Kim Cương 2, Sơn Kim 1, Hương Sơn, Hà Tĩnh **(Cơ sở A5)**	- Chăn nuôi lợn giống (lợn nái), quy mô 500 con/lứa - Hình thức: Chăn nuôi công nghiệp - Hệ thống XLNT: Tách phân tại chuồng + Biogas (01 bể bạt HDPE) + hồ sinh hoc (03 hồ)
B	**Các cơ sở lấy mẫu nước thải thử nghiệm khả năng xử lý của các chủng vi sinh phân lập được**	
1	Trang trại CNL của ông Văn Dũng tại thôn Lai Hà, Quảng Thái, Quảng Điền, Thừa Thiên Huế **(Cơ sở B1)**	- Chăn nuôi lợn thịt thương phẩm, quy mô 1000 con/lứa, mỗi năm 2 lứa - Hình thức: Chăn nuôi công nghiệp - Hệ thống XLNT: Biogas (01 bể bạt HDPE) + hồ sinh hoc (03 hồ)
2	Trang trại CNL của ông Nguyễn Thanh Hải tại thôn Lai Hà, Quảng Thái, Quảng Điền, Thừa Thiên Huế **(Cơ sở B2)**	- Chăn nuôi lợn thịt thương phẩm, quy mô 500 con/lứa, mỗi năm 2 lứa - Hình thức: Chăn nuôi công nghiệp - Hệ thống XLNT: Biogas (01 bể bạt HDPE) + hồ sinh hoc (02 hồ)

- *Các chủng vi khuẩn*: Gồm một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni, nitrit được phân lập, chọn lọc từ các mẫu nước thải sau bể biogas của lò giết mổ gia súc tập trung và một số trang trại CNL trên địa bàn tỉnh Hà Tĩnh. Đặc điểm của các nguồn nước thải dùng để phân lập vi sinh được thể hiện ở Bảng 2.2.

Bảng 2.2. Đặc điểm nước thải sau biogas của các cơ sở lấy mẫu phân lập vi sinh

STT	Cơ sở	Hàm lượng	pH	COD_{Cr} (*mg/L*)	$N\text{-}NH_4^+$ (*mg/L*)	T-N (*mg/L*)
1	Cơ sở A1	Min-Max	6,7 - 7,5	1.300 - 1.600	300 - 500	450 - 600
		TB (n=3)	7,1	1.440	410	545

STT	Cơ sở	Hàm lượng	pH	COD_{Cr} (*mg/L*)	$N\text{-}NH_4^+$ (*mg/L*)	T-N (*mg/L*)
2	Cơ sở A2	Min-Max	6,8 – 7,5	1.400 - 1.650	300 - 400	360 - 430
		TB (n=3)	7,2	1.580	370	400
3	Cơ sở A3	Min-Max	6,7 – 7,5	1.600 - 2.000	350 - 400	395 - 500
		TB (n=3)	6,6	1.750	390	405
4	Cơ sở A4	Min-Max	6,9 – 7,5	1.700 – 2.000	330 - 400	400 - 500
		TB (n=3)	7,2	1.850	390	420
5	Cơ sở A5	Min-Max	7,0 – 7,5	1.370 - 1.600	300 - 400	350 - 430
		TB (n=3)	7,3	1.540	370	390

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

2.1.2. Phạm vi nghiên cứu

Tất cả các nội dung nghiên cứu đều được thực hiện tại Phòng thí nhiệm công nghệ vi sinh của trường Cao đẳng Công nghiệp Huế và Công ty Cổ phần Nghiên cứu khoa học và Chuyển giao công nghệ Hard Bee Huế.

2.1.3. Vật liệu nghiên cứu

- *Hóa chất:* Các hóa chất sử dụng cho các thí nghiệm trong luận án gồm: $CaCO_3$, $MgCl_2$, $(NH_4)_2SO4$, $NaNO_2$, NaCl, $MgSO_4.7H_2O$, Na_2COONa, $FeSO_4.7H_2O$, Na_2CO_3, NaOH 0.5M, $FeCl_3$, HCl 0.5M, K_2PO_4, thuốc thử Nessler, thuốc thử Griess, $NaHCO_3$ được cung cấp bởi Công ty Merck (Đức) và Công ty Hanna (Rumani); thạch có nhiệt độ nóng chảy thấp được mua từ hãng Lonza (Mỹ); nước cất sử dụng nước cất hai lần. Tất cả hóa chất sử dụng đều có độ tinh khiết từ 99,0 - 99,9% .

- *Thiết bị:* Thiết bị và dụng cụ được sử dụng trong quá trình nghiên cứu là của Phòng công nghệ vi sinh thuộc trường Cao đẳng Công nghiệp Huế và Công ty Cổ phần Nghiên cứu khoa học và Chuyển giao công nghệ Hard Bee Huế. Các thiết bị dùng trong quá trình nghiên cứu được tổng hợp ở Phụ lục luận án.

2.1.4. Các bước nghiên cứu

Trình tự các bước thực hiện nghiên cứu được thể hiện như trên Hình 2.1.

Phân lập, định danh và chọn lọc một số chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit dị dưỡng (sinh trưởng và chuyển hóa tốt trong một số điều kiện bất lợi của môi trường) từ nước thải lò mổ và nước thải CNL sau bể

Xác định khả năng sinh trưởng, chuyển hóa amoni/nitrit tối ưu của các chủng vi khuẩn phân lập được trong một số điều kiện môi trường nuôi cấy, gồm:

- pH: 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 và 8,5.
- Nồng độ oxy hòa tan (DO): 0,1; 3,0; 4,5 và 7,0 mg/L.
- Nhiệt độ: 5; 30; 37; 45 và 50 ^{0}C
- Độ muối: 1,0; 3,0 và 5,0 %
- Nồng độ amoni/nitrit ban đầu: 100; 500 và 750 mg/L

Xác định mật độ vi sinh phù hợp trong khoảng từ 10^3 - 10^6 CFU/mL để xử lý hiệu quả amoni/nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas của các chủng vi khuẩn phân lập được

So sánh khả năng chuyển hóa amoni/nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas giữa các đơn chủng và tổ hợp các chủng vi khuẩn phân lập được ở mật độ phù hợp

Xác định tỷ lệ phối trộn phù hợp để xử lý hiệu quả đồng thời COD và TN trong nước thải CNL sau bể biogas của hai nhóm vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được ở các tỷ lệ tương ứng là: (1:0), (1:1), (2:1),

Nghiên cứu xử lý nước thải CNL sau xử lý kỵ khí trên thiết bị SBR kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn phân lập được ở tỷ lệ phối trộn và mật độ vi sinh phù hợp: Ảnh hưởng của tỉ lệ thời gian các pha thiếu khí và hiếu khí; ảnh hưởng của OLR và NLR đến hiệu quả xử lý

Hình 2.1. Sơ đồ trình tự các bước thực hiện nghiên cứu

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu và bảo quản mẫu

Các mẫu nước thải sử dụng cho các nội dung trong nghiên cứu được lấy và bảo quản theo quy định trong hướng dẫn lấy mẫu nước thải của Bộ tài

nguyên và Môi trường, gồm: TCVN 6663-1:2011 (ISO 5667-1:2006) - Chất lượng nước - Phần 1: Hướng dẫn lập chương trình lấy mẫu và kỹ thuật lấy mẫu; TCVN 6663-3:2008 (ISO 5667-3: 2003) - Chất lượng nước - Lấy mẫu: Hướng dẫn bảo quản và xử lý mẫu; TCVN 5999:1995 (ISO 5667-10: 1992) - Chất lượng nước - Lấy mẫu: Hướng dẫn lấy mẫu nước thải) [28].

Mẫu nước thải dùng để phân lập các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit được lấy trực tiếp từ ống xả/mương thoát sau hệ thống bể biogas của một lò giết mổ và 04 trang trại CNL ở Hà Tĩnh bằng chai nhựa 1,5 lít, sau đó cho vào trong túi nhựa vô trùng chuyên dụng, vận chuyển về phòng thí nghiệm. Quá trình vận chuyển mẫu được bảo quản trong hộp xốp cách nhiệt chứa đá khô sau đó tiếp tục bảo quản ở ngăn lạnh 4 ^{o}C tại phòng thí nghiệm cho đến khi tiến hành phân lập.

Mẫu nước thải chạy mô hình nghiên cứu được lấy trực tiếp từ ống xả sau hệ thống bể biogas của hai trang trại CNL ở tỉnh Thừa Thiên Huế bằng các can nhựa 20 lít, sau đó bọc túi nhựa đen bên ngoài các can để tránh ánh sáng chiếu trực tiếp vào khi vận chuyển về phòng thí nghiệm, nước thải này được lấy hàng ngày. Trước khi cho vào chạy mô hình nước thải được lắng gạn tách cặn.

Thông tin về chương trình lấy mẫu thực địa phục vụ cho nghiên cứu được tổng hợp ở Bảng 2.3.

Bảng 2.3. Chương trình lấy mẫu thực địa phục vụ cho nghiên cứu

STT	Cơ sở lấy mẫu	Tọa độ vị trí lấy mẫu	Số lượng mẫu	Thể tích mẫu	Thời gian lấy mẫu
A	**Nước thải phân lập vi sinh**				
1	**Cơ sở A1**	18°20'15.5"N 105°54'41.2"E	03 mẫu	1,5 lít/mẫu	Tháng 4/2018
2	**Cơ sở A2**	18°09'29.4"N 106°13'45.3"E	03 mẫu	1,5 lít/mẫu	
3	**Cơ sở A3**	18°28’28.67”N 105°16’13.18”E	03 mẫu	1,5 lít/mẫu	
4	**Cơ sở A4**	18°27’36.30”N 105°15’39.56”E	03 mẫu	1,5 lít/mẫu	
5	**Cơ sở A5**	18°27’41.80”N 105°13’59.33”E	03 mẫu	1,5 lít/mẫu	

STT	Cơ sở lấy mẫu	Tọa độ vị trí lấy mẫu	Số lượng mẫu	Thể tích mẫu	Thời gian lấy mẫu
B	**Nước thải thử nghiệm khả năng xử lý của các chủng vi sinh phân lập**				
1	**Cơ sở B1**	16°38'58.1"N 107°25'17.6"E	150 - 180	20 lít/mẫu	Từ tháng 2/2022 đến 7/2022
2	**Cơ sở B2**	16°38'59.0"N 107°25'18.7"E			

Hình 2.2. Một số hình ảnh lấy mẫu ở hiện trường

2.2.2. Các phương pháp phân tích

Các chỉ tiêu trong nghiên cứu được đo/phân tích theo các phương pháp sau:

Bảng 2.4. Các phương pháp đo/phân tích các chỉ tiêu trong nghiên cứu

TT	Thông số đo/phân tích	Đơn vị	Mô tả phương pháp
1	pH		Đo bằng máy đo pH cầm tay Toledo của Thụy Sỹ có tháng đo từ 0 - 14 với sai số ± 0,01
2	Nhiệt độ	^oC	Đo bằng máy EXTECH của Trung Quốc có tháng đo từ 0 đến 50°C với sai số ± 0,5 ^oC
3	DO	mg/L	Đo bằng máy đo oxy hòa tan HI9146 có thang đo 0.00 - 45.00 ppm với sai số ± 1,5%
4	Độ muối NaCl	‰	Đo bằng máy EXTECH của Trung Quốc có tháng đo từ 0 đến 70 ‰ với sai số ± 2%
5	Amoni ($N\text{-}NH_4^+$)	mg/L	Đo bằng máy MARTINI của Hungari có thang đo 0,00 - 9,99 mg/L với sai số ± 0,01 mg/L
6	Nitrit ($N\text{-}NO_2^-$)	mg/L	Đo tbằng máy Hanna của Rumani có thang đo 0,000-0,600 mg/L với sai số ± 0,001 mg/L

TT	Thông số đo/phân tích	Đơn vị	Mô tả phương pháp
7	Nitrat ($N\text{-}NO_3^-$)	mg/L	Đo trên máy Hanna của Rumani có thang đo 0,0-30.0 mg/L với sai số ± 0,1 mg/L
8	Tổng nitơ (TN)	mg/L	SMEWW 4500-N.C - Phương pháp chuẩn phân tích nước và nước thải – Xác định nitơ
9	COD	mg/L	SMEWW 5220 - Phương pháp chuẩn phân tích nước và nước thải - Xác định COD
10	Mật độ vi sinh	CFU /mL	Pha loãng mẫu rồi cấy trang trên đĩa petri có chứa môi trường tương ứng. Ủ ở nhiệt độ 28 - 30^{o}C, trong 24 giờ. Đếm số lượng khuẩn lạc tạo thành trên đĩa thạch và tính toán số lượng vi sinh vật có trong 1ml mẫu theo công thức: CFU/ml = A x 1/K x 1/V, *Trong đó:* *A: Số khuẩn lạc trung bình xuất hiện trên đĩa petri có cùng độ pha loãng* *V: Thể tích dịch pha loãng trên mỗi đĩa (ml)* *K: Độ pha loãng của dịch được cấy*
11	Chỉ số bùn		- SV30 và SV15: Thể tích bùn lắng được của nước thải đang xử lý trong ống đong 1 lít sau 30 phút và sau 15 phút (ml/l) - MLSS: Lượng chất rắn sau sấy ở 105^o C đến khối lượng không đổi của bùn sau lắng (mg/l) - SVI = SV.1000/MLSS (ml/g)

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

Mẫu nước thải dùng để phân lập các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit được pha loãng đến mức 10^{-5} bằng cách dùng dụng cụ vô trùng lấy 5 mL mẫu nước thải và pha loãng trong 45 mL nước cất vô trùng, lắc đều và thu được dung dịch có độ pha loãng 10^{-1}. Tiếp tục lấy 5 mL từ dung dịch có nồng độ pha loãng 10^{-1} pha loãng trong 45 mL nước cất vô trùng, lắc đều và thu được dung dịch có độ pha loãng 10^{-2}. Tiến hành tương tự, cho đến khi

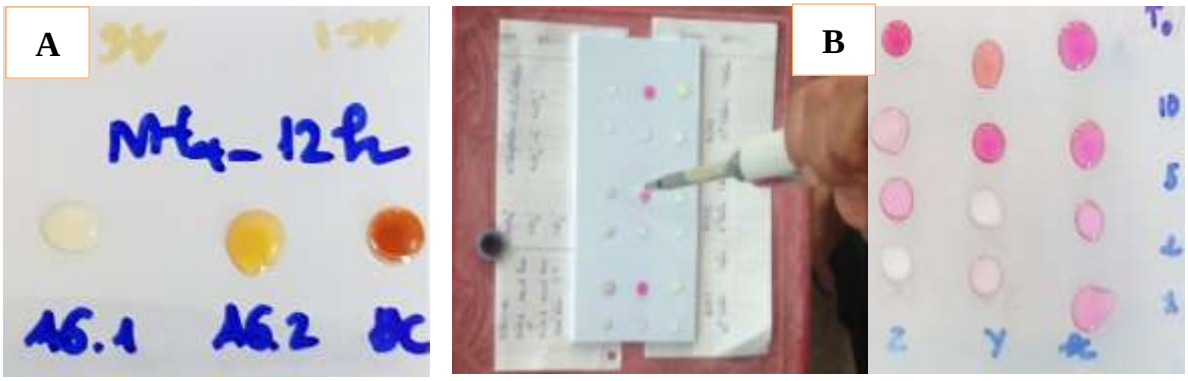
có được nồng độ pha loãng 10^{-5}. Tất cả các bước pha loãng đều được tiến hành trong tủ cấy vô trùng. Tiến hành phân lập vi sinh trong các ông nghiệm chứa 01 mL mẫu sau pha loãng trộn đều với 9 mL môi trường khoáng [119] có bổ sung thạch đông đặc ở nhiệt độ thấp (Bảng 2.5)

Bảng 2.5. Thành phần môi trường phân lập vi khuẩn chuyển hóa amoni, nitrit

STT	Môi trường phân lập vi khuẩn chuyển hóa amoni			Môi trường phân lập vi khuẩn chuyển hóa nitrit		
	Thành phần	Đơn vị	Khối lượng	Thành phần	Đơn vị	Khối lượng
1	$MgCl_2$	g/L	0,5	$NaNO_2$	g/L	1,0
2	K_2HPO_4	g/L	1,0	Na_2CO_3	g/L	1,0
3	$(NH_4)_2SO_4$	g/L	2,0	NaCl	g/L	0,5
4	NaCl	g/L	1,0	K_2HPO_4	g/L	0,5
5	$FeCl_3$	g/L	0,02	$MgSO_4.7H_2O$	g/L	0,3
6	$CaCO_3$	g/L	1,0	$FeSO_4.7H_2O$	g/L	0,4
7	$NaHCO_3$	g/L	1,0	pH	-	8,3 - 8,8
8	pH	-	7,2 - 7,4	Nhiệt độ	^0C	37
9	Nhiệt độ	^0C	37	Thạch	g/L	2
10	Thạch	g/L	2			

Các ống nghiệm được nuôi ở 37 ^oC và quan sát sự hình thành khuẩn lạc của vi khuẩn đồng thời kiểm tra định tính sự chuyển hóa amoni bằng thuốc thử Nessler và nitrit bằng thuốc thử Griess sau 05 ngày nuôi cấy (01 lần/ngày). Sự chuyển màu của thuốc thử từ màu vàng (đối với amoni) và hồng (đối với nitrit) sang màu nhạt dần và sự chuyển hóa hết amoni/nitrit khi thuốc thử chuyển thành không màu. Chỉ có những ống nghiệm cho kết quả dương tính với thuốc thử ở bất kỳ mức độ nào sẽ được lựa chọn tiếp tục cho việc phân lập vi khuẩn.

Các khuẩn lạc khác nhau trong ống nghiệm sẽ được cấy chuyển riêng biệt sang các ống nghiệm mới cho đến khi đạt được sự thuần khiết (đồng nhất về hình dạng và màu sắc). Kiểm tra sự chuyển hóa amoni/nitrit của các khuẩn lạc trong suốt quá trình phân lập để loại bỏ bớt các khuẩn lạc không phải là các vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit.



Hình 2.3. Kiểm tra định tính sự chuyển hóa amoni bằng thuốc thử Nessler (**A**) và chuyển hóa nitrit bằng thuốc thử Griess (**B**) của các chủng vi khuẩn nuôi cấy

2.2.4. Phương pháp nhuộm Gram

Sử dụng phương pháp nhuộm Gram để nhận biết ban đầu về hình thái và phân loại các chủng vi khuẩn. Vi khuẩn Gram dương có peptidoglican hoạt động như một hàng rào thẩm thấu ngăn cản sự thất thoát của tím kết tinh. Ban đầu vi khuẩn được nhuộm bằng tím kết tinh sau đó được xử lý bằng iôt để tăng độ giữ màu; tiếp theo được tẩy màu bằng cồn làm co các lỗ của lớp peptidoglican dày lại nên phức chất tím kết tinh và iot được giữ lại, vi khuẩn có màu tím. Vi khuẩn Gram âm có peptidoglican rất mỏng, ít liên kết chéo và có lỗ lớn. Việc xử lý bằng cồn có thể loại lipit khỏi thành Gram âm làm tăng hơn kích thước của lỗ. Do vậy, ở bước rửa bằng cồn đã loại bỏ phức chất màu tím của tím kết tinh-iôt. Khi nhuộm lại bằng safain thì vi khuẩn có màu hồng [120].

2.2.5. Định danh các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit

Các khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập khi đạt được sự thuần khiết trên môi trường nuôi cấy được định danh bằng phương pháp khuếch đại PCR và giải trình tự mã hóa gene 16S rRNA và tra cứu bằng công cụ BLAST. DNA của các chủng vi khuẩn phân lập có khả năng oxy hóa amoni, nitrit được tách chiết bằng sử dụng bộ kit Macherey-Nagel (Hãng Fisher Sicentific). Mẫu DNA sau đó được tinh sạch bằng bộ kit của hãng Promega trước khi được khuếch đại bằng máy luân hồi nhiệt Bio-Rad T100 PCR Thermal Cycler sử dụng cặp mồi xuôi là 27 F và mồi ngược là 1492R. Mẫu DNA sau khi khuếch đại được kiểm tra độ thuần khiết bằng bộ điện đi ngang Mini Sub Cell GT của hãng Bio-Rad và sau đó mẫu điện di được chụp ảnh và phân tích trên hệ thống Gel OmniDOC Cleaver Scientitific-Anh. Cuối cùng, DNA được giải trình tự gene trên máy giải trình tự DNA tự động Sanger Sequencing DNA Analyzer của hãng Applied Biosystems - Mỹ.

Sử dụng kết quả giải trình tự gen mã hóa 16S rRNA của các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni, nitrit phân lập được cùng với trình tự gene mã hóa 16S rRNA của các loài có độ tương đồng cao (99 - 100%) trên GenBank tiến hành xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm MEGA6 (So sánh sự khác nhau về vị trí các nucleotide giữa các cặp loài dùng ClustalW; cây phát sinh loài được xây dựng theo phương pháp Neighbor Joining) [121].

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

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

- *Ảnh hưởng của pH:*

Khảo sát khả năng sinh trưởngvà chuyển hóa amoni/nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập được trong các môi trường nuôi cấy có các mức pH lần lượt là 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 và 8,5. Khoảng pH khảo sát dựa trên đặc điểm sinh trưởng phát triển phổ biến của các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit, ngoài ra nó còn là các giá trị pH thường gặp trong môi trường nước thải ở nhiều công đoạn khác nhau của hệ thống xử lý nước thải CNL bằng phương pháp sinh học như: biogas, các hồ sinh học,...

Việc điều chỉnh pH của môi trường nuôi cấy được thực hiện trên máy đo pH của hãng Toledo - Thụy Sỹ sử dụng NaOH 0,5 M và HCl 0,5 M.

- *Ảnh hưởng của nhiệt độ:*

Khảo sát khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni/nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập được trong các môi trường nuôi cấy có các mức nhiệt độ: 5; 30; 37; 45 và 50 ^{0}C. Trong đó, các bình nuôi cấy của các thí nghiệm ở: 30; 37; 45 và 50 ^{o}C được ủ trong tủ ấm có điều chỉnh được nhiệt độ, các bình nuôi cấy của thí nghiệm ở 5 ^{o}C được nuôi trong ngăn lạnh của tủ lạnh có bổ sung nhiệt kế để điều chỉnh nhiệt độ trong suốt quá trình nuôi. Môi trường nuôi cấy sử dụng pH tối ưu của thí nghiệm trên.

Các giá trị nhiệt độ khảo sát trong nghiên cứu dựa trên đặc điểm sinh trưởng phát triển phổ biến của các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit và cũng là các giá trị nhiệt độ thường gặp trong môi trường nước thải ở nhiều công đoạn khác nhau của hệ thống xử lý nước thải chăn nuôi lợn bằng phương pháp sinh học như: biogas, các hồ sinh học,...

- *Ảnh hưởng của DO:*

Ba mức DO khác nhau của môi trường nuôi cấy là: 0,1; 4,5 và 7,0 mg/L được thử nghiệm cho việc đánh giá khả năng sinh trưởngvà chuyển hóa amoni/nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập được. Việc giảm DO được thực hiện bằng cách sục khí Carbon dioxide (CO_2) vào môi trường nuôi cấy 10 phút trước khi hấp tiệt trùng môi trường và thêm TiCi 1,5% cho đến khi đạt được DO mong muốn. Ngược lại, sử dụng máy thổi khí mini có điều chỉnh để tăng DO cho hệ nuôi. Các bình nuôi cấy của thí nghiệm này được nuôi trong các bình Schott Duran có thể tích 1 lít chứa 700 mL môi trường nuôi cấy. Miệng bình được đậy bằng nút cao su (septa) đê ngăn không khí. Nút cao su có thiết kế vị trí cho kim tiêm để bổ sung khí oxy, CO_2, hóa chất và chiết mẫu đo. Nút cao su và miệng bình được vặn kín bắng nắp nhựa. DO của mẫu nuôi cấy được đo và điều chỉnh hàng ngày. DO của mẫu thường sụt giảm theo thời gian nuôi và oxy được bổ sung vào bình nuôi cấy bằng kim tiêm vào khoảng trống phía trên bình nuôi cấy (headspace). Sau đó bình được lắc trộn 50 lần trong vòng 1 phút để đảm bảo oxy hòa tan hoàn toàn trong mẫu nuôi cấy và tiếp tục đo DO cho đến khi đạt mức theo thí nghiệm. Môi trường nuôi cấy sử dụng pH và nhiệt độ tối ưu của hai thí nghiệm trên.

Các giá trị DO khảo sát trong nghiên cứu dựa trên đặc điểm sinh trưởng phát triển phổ biến của các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit là môi trường hiếu khí (DO: 4,5 và 7,0 mg/L) và môi trường thiếu khí (DO: 0,1 mg/L) cũng là các giá trị DO thường gặp trong môi trường nước thải ở nhiều công đoạn khác nhau của hệ thống xử lý nước thải chăn nuôi lợn bằng phương pháp sinh học như trong các hệ sục khí (DO cao), đáy các hồ sinh học (DO rất thấp),.....

- *Ảnh hưởng của nồng độ muối:*

Khảo sát khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni/nitrit của các chủng vi khuẩn phân lập trong điều kiện môi trường khoáng có bổ sung muối NaCl với các nồng độ 1,0; 3,0 và 5,0%. Môi trường nuôi cấy có DO (4 - 6mg/L), pH và nhiệt độ tối ưu của hai thí nghiệm trên.

Các giá trị độ muối khảo sát trong nghiên cứu dựa trên đặc điểm của nước thải chăn nuôi lợn tại một số vùng ven biển, tại đây các trang trại thường sử dụng nước ngầm có nhiễm mặn để chăn nuôi nên trong nước thải thường có độ muối khá cao.

- *Ảnh hưởng của nồng độ amoni/nitrit ban đầu:* Ảnh hưởng của nồng độ amoni/nitrit đến khả năng chuyển hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được, được thiết lập với các môi trường nuôi cấy có nồng độ amoni/nitrit ban đầu khác nhau là 100; 500 và 750 mg/L. Môi trường nuôi cấy có DO (4 - 6mg/L), pH và nhiệt độ tối ưu của hai thí nghiệm trên.

Trong các khảo sát trên, mỗi mức ở mỗi yếu tố khảo sát được thực hiện 03 thí nghiệm song song, sau đó tính kết quả trung bình và độ lệch chuẩn. Ngoài ra, khi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của từng yếu tố thì các thí nghiệm đối chứng được tiến hành trong các bình môi trường chứa amoni/nitrit nhưng không chứa chủng vi khuẩn (ĐC1) hoặc chứa chủng vi khuẩn phân lập đã được khử trùng ở 121 °C, 1 atm trong 15 phút trước khi bổ sung vào môi trường (ĐC2). Khả năng chuyển hóa amoni/nitrit của các chủng được phân lập được đánh giá dựa trên sự sụt giảm về nồng độ của các chất thử nghiệm mà không dựa vào sự có mặt và nồng độ của sản phẩm chuyển hóa vì một số chủng có khả năng chuyển hóa tiếp sản phẩm tạo ra.

2.2.7. Khảo sát khả năng xử lý nước thải CNL sau xử lý kỵ khí 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 xử lý nước thải

Tiến hành bổ sung riêng lẻ các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit phân lập được vào nước thải CNL sau xử lý kỵ khí bằng bể biogas với mật độ từ 10^3 - 10^6 CFU/mL nước thải. Nước thải thí nghiệm có hàm lượng amoni/nitrit khoảng 400 mg/L ± 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 trong các bình dao động từ 7,0 - 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. Các thông số phân tích được làm mẫu đôi và kết quả là giá trị trung bình của 2 lần phân tích. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả đầu ra của thí nghiệm này sẽ cung cấp thông tin cho các thí nghiệm tiếp theo.

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 được cùng tỷ lệ với mật độ tối ưu được xác định ở thí nghiệm trên vào nước

thải CNL sau xử lý kỵ khí bằng bể biogas, tiến hành 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 chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni/nitrit phân lập được. Sử dụng kết quả của thí nghiệm này cho các thí nghiệm tiếp theo.

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 các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni với các chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit phân lập được theo các tỷ lệ tương ứng là (1:0), (1:1), (2:1), (3:1), tiến hành khảo sát khả năng xử lý COD và TN trong nước thải thí nghiệm.

Nước thải thí nghiệm là nước thải CNL sau xử lý kỵ khí bằng bể biogas có TN khoảng 420 mg/L ± 20 và COD khoảng 1600 mg/L ± 80 được cấp vào các bình nhựa hình trụ có dung tích 3 lít, thể tích phản ứng 1,5 lít.

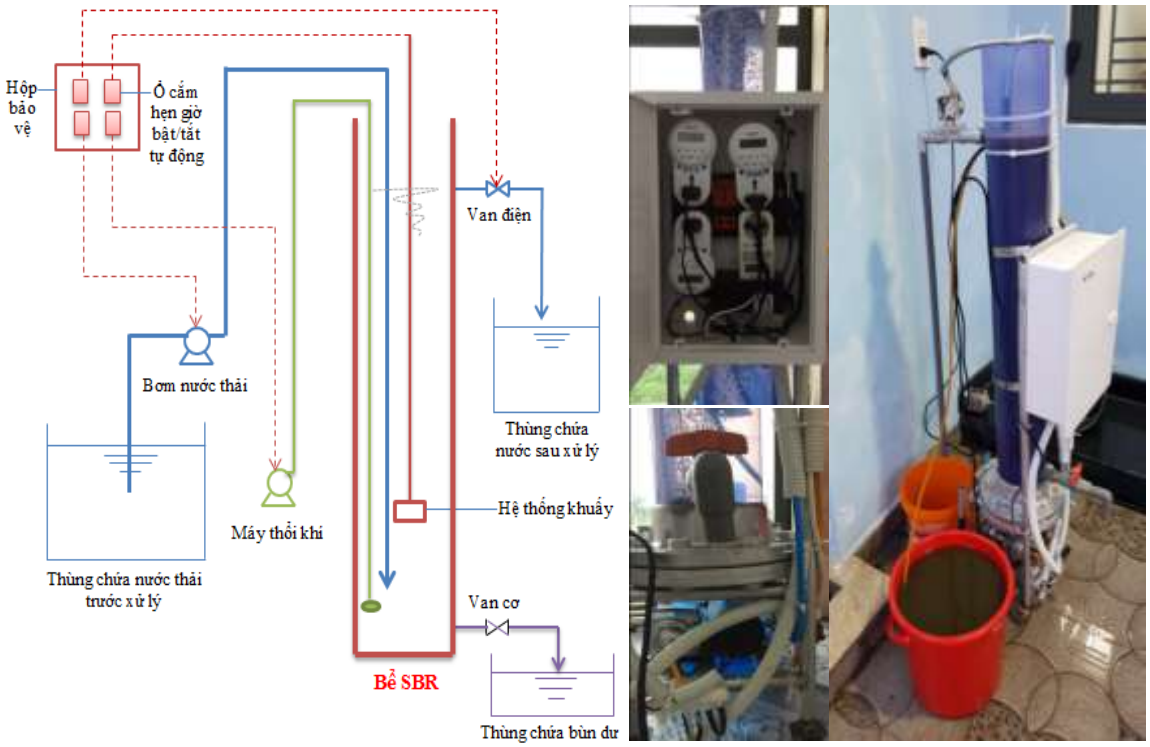
Thiết bị sục khí được đặt ở đáy bình để cấp khí, tốc độ cấp khí của các bình là giống nhau (DO = 4-6 mg/L), trong một chu kỳ lấy mẫu 12 giờ, tiến hành sục khí 8 giờ đầu, 4 giờ sau không sục khí, pH trong các bình dao động trong khoảng 7-7,5. Bình đối chứng làm tương tự vậy nhưng không bổ sung vi sinh. Lấy mẫu liên tục từ 0; 12; 24; 36, 48, 60 và 72 giờ để đánh giá khả năng xử lý COD và TN của từng tỷ lệ (thời gian lấy mẫu này gần với thời gian lưu/xử lý của công nghệ SBR, các vi khuẩn phải chuyển hóa tốt COD và TN trong thời gian này mới có tiềm năng ứng dụng cho công nghệ SBR). Các trỉ số phân tích được làm mẫu đôi và kết quả là giá trị trung bình của 2 lần phân tích. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả đầu ra của thí nghiệm này 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

- Hệ thống SBR được thiết lập để nghiên cứu như sau: Bể SBR được làm bằng nhựa PVC trong suốt có thể tích hữu ích 10 lít. Máy thổi khí cấp khí cho hệ thống từ đáy với tốc độ 2 lít/phút. Nước thải được cấp vào hệ thống bằng bơm định lượng. Thời gian hoạt động/dừng của bơm định lượng, máy thổi khí, máy khuấy, van mô tơ điện xả nước sau xử lý được điều khiển tự động bằng ổ cắm hẹn giờ. pH, DO được đo định kỳ bằng thiết bị riêng.

Bảng 2.6. Các thiết bị của hệ thống thí nghiệm SBR

STT	Thiết bị	Thông số/chức năng
1	Bể SBR	- Vật liệu: nhựa PVC trong suốt; Dung tích ($\mathbf{V_{SBR}}$): 10 lít - Đường kính: 125mm; Chiều cao tổng: 1000mm; Chiều cao phần xử lý: 815mm
2	Máy thổi khí	- Tốc độ cấp khí: ~ 2 lít/phút, tự động cấp khí theo thời gian được thiết lập qua ổ cắm hẹn giờ ở các chế độ thí nghiệm
3	Bơm cấp nước thải	- Bơm định lượng, tự động bơm theo thời gian được thiết lập qua ổ cắm hẹn giờ ở các chế độ thí nghiệm
4	Hệ thống khuấy	- Máy hút đẩy nước tạo dòng xoáy để khuấy, máy khuấy tự động theo thời gian được thiết lập qua ổ cắm hẹn giờ ở các chế độ thí nghiệm
5	Van mô tơ điện	- ϕ 21, xả nước thải tự động sau xử lý theo thời gian được thiết lập qua ổ cắm hẹn giờ ở các chế độ thí nghiệm
6	Van cơ	- Bằng nhựa PVC, ϕ 21, xả cơ học bùn dư
7	Ổ cắm hẹn giờ	- Điều khiển tự động (tắt/bật) các thiết bị của hệ thống
8	pH, DO	- Đo định kỳ bằng thiết bị riêng



Hình 2.4. Sơ đồ hệ thiết bị và một số hình ảnh của mô hình thí nghiệm SBR

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

+ Nước thải nghiên cứu là nước thải CNL đã qua xử lý kỵ khí bằng bể biogas của một số trang trại CNL ở xã Quảng Thái, huyện Quảng Điền, tỉnh Thừa Thiên Huế, có đặc trưng như sau:

Bảng 2.7. Thành phần của nước thải CNL sử dụng trong nghiên cứu

STT	Thống số	Khoảng dao động
1	pH	7,0 - 7,5
2	COD_{Cr} (mg/L)	1.500 - 2.000
3	$N\text{-}NH_4^+$ (mg/L)	300 - 400
4	T-N (mg/L)	400 - 500

+ Bổ sung vi sinh theo các kết quả tối ưu đã được khảo sát ở các thí nghiệm trên và một yếu tố/điều kiện khảo sát bổ sung vi sinh một lần từ đầu. DO duy trì trong khoảng 4 - 6 mg/L (khi sục khí), không điều chỉnh pH của nước thải.

- Các chế độ chạy thí nghiệm:

+ Chạy khởi động: Nước thải ban đầu được pha loảng khoảng 2 lần bằng nước cất (~TN trong khoảng 250 mg/L ± 25) được cấp vào hệ SBR; bổ sung các chủng chuyển hóa amoni/nitrit phân lập được theo mật độ và tỷ lệ tối ưu vào hệ thí nghiệm. Khí được cấp liên tục với lưu lượng khoảng 2 lít/phút. Bơm cấp nước luôn duy trì 4 lít/ngày (chia làm 6 đợt mỗi đợt cấp 0,67 lít cấp trong 10 phút, lắng 60 phút, xả nước sau xử lý cùng lúc vơi cấp nước, trong thời gian cấp, lắng, xả không sục khí), duy trì liên tục theo thời gian chạy hệ thống và tiến hành lấy mẫu nước đầu ra phân tích TN. Khi nào kết quả phân tích chỉ số TN ổn định và xấp xỉ đạt cột B của QCVN 62-MT:2016/ BTNMT thì bắt đầu tính thời gian xử lý (hay có thể gọi đây là thơi gian thích nghi của vi sinh vật). Kết thúc giai đoạn này thì nước thải được cấp vào trực tiếp và bắt đầu lấy mẫu đánh giá hiệu quả xử lý theo các chế độ nghiên cứu.

+ Chạy các chế độ nghiên cứu: gồm các chế độ như sau:

(1) Ảnh hưởng của chế độ sục khí gián đoán 1 chu trình đền hiệu quả xử lý:

Thông số vận hành để khảo sát ảnh hưởng của chế độ sục khí gián đoán 1 chu trình đến hiệu quả xử lý được tổng hợp ở Bảng 2.8 và Bảng 2.9

Bảng 2.8. Các thông số vận hành hệ thống SBR để khảo sát ảnh hưởng

STT	Nội dung	Thông số	Ghi chú
1	Dung tích của bể SBR (V_{SBR})	10 L	
2	Số mẻ xử lý	6 mẻ/ngày	
3	Thời gian mỗi mẻ	4 giờ/mẻ	24 (giờ/ngày) / 6 (mẻ/ngày)
4	Tải trọng tổng nitơ (NLR)	0,2 kg TN/m^3.ngày	
5	Nồng độ TN (C)	400 - 500 (C = 500 mg/L)	
6	Lưu lượng xử lý theo ngày ($Q_{ngày}$)	4 L/ngày	$Q_{ngày}$ (L/ngày) = V_{SBR} (L) × NLR (kgN/m^3.ngày) × 10^3 (mg/g)/C (mg/L) = (10 x 0,2 x 10^3)/500 = 4 (L/ngày)
7	Lưu lượng xử lý theo mẻ ($Q_{mẻ}$)	~ 0,67 L/mẻ	$Q_{mẻ}$ = $Q_{ngày}$ (L/ngày)/6 (mẻ/ngày) = 4/6 ≈ 0,67 (L/mẻ)
8	Thời gian lưu thủy lực (HRT)	2,5 ngày	HRT (ngày) = V_{SBR} (L)/$Q_{ngày}$ (L/ngày) = 10/4 = 2,5 ngày

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

Bảng 2.9. 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 suất xử lý, lựa chọn được chế độ hiệu quả cho khảo sát tiếp theo.

(2) Ảnh hưởng của OLR, NLR đến hiệu suất xử lý: Tiến hành chạy hệ thống thí nghiệm SBR để khảo sát ảnh hưởng của OLR, NLR đến hiệu suất xử lý nước thải CNL sau xử lý kỵ khí theo chế độ sục khí cho hiệu quả loại bỏ TN tốt nhất trong 3 chế độ được khảo sát ở thí nghiệm trên. Thay đổi tải trọng OLR, NLR theo các mức như sau:

Bảng 2.10. Các mức tải trọng TN, COD tương ứng được khảo sát

NLR (kg/m^3.ngày)	**0,15**	**0,2**	**0,25**	**0,3**	- Thay đổi tải trọng bằng cách thay đổi lưu lượng dòng vào theo ngày $Q_{ngày}$ - Tính $Q_{ngày}$ theo NLR; C= 500 mg/L - OLR thay đổi tương ứng với NLR.
OLR (kg/m^3.ngày)	0,6	0,8	1	1,2	
$Q_{ngày}$ (L/ngày)	**3**	**4**	**5**	**6**	$Q_{ngày}$ = V_{SBR} (L) × NLR (kgN/m^3.ngày) × 10^3 (mg/g)/C (mg/L)
$Q_{mẻ}$ (L/mẻ)	0,5	0,67	0,83	1	$Q_{mẻ}$ = $Q_{ngày}$ (L/ngày)/6 (mẻ/ngày)
HRT (ngày)	**3,3**	**2,5**	**2**	**1,7**	HRT = V_{SBR} / Q (L/ngày)

Lấy mẫu 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 tính toán trong luận án gồm:

- Hiệu suất xử lý: COD, $N\text{-}NH_4^+$, TN:

Hiệu suất (%) = ($C_{vào}$ – C_{ra})*100/$C_{vào}$ [46]

Trong đó:

$C_{vào}$: Hàm lượng COD, $N\text{-}NH_4^+$, TN đầu vào (mg/L).

C_{ra}: Hàm lượng COD, $N\text{-}NH_4^+$, TN đầu ra (mg/L);

- Tải trọng đầu vào: COD, TN:

$$\mathbf{OLR_{vào}}\ (kg/m^3.ngày) = \frac{\mathbf{COD_{vào}}\ (kg/m^3) * \mathbf{Q_{vào}}\ (m^3/ngày)}{\mathbf{V}\ (m^3)} \quad [46]$$

$$\mathbf{NLR_{vào}}\ (kg/m^3.ngày) = \frac{\mathbf{TN_{vào}}\ (kg/m^3) * \mathbf{Q_{vào}}\ (m^3/ngày)}{\mathbf{V}\ (m^3)} \quad [46]$$

Trong đó:

$OLR_{vào}$: Tải trọng đầu vào của COD, (kg/m^3.ngày)

$NLR_{vào}$: Tải trọng đầu vào của TN, (kg/m^3.ngày)

$COD_{vào}$, $TN_{vào}$: Nồng độ COD, TN đầu vào, (kg/m^3)

$Q_{vào}$: Lưu lượng nước thải cấp vào, (m^3/ngày)

V: Thể tích của thiết bị xử lý (m^3)

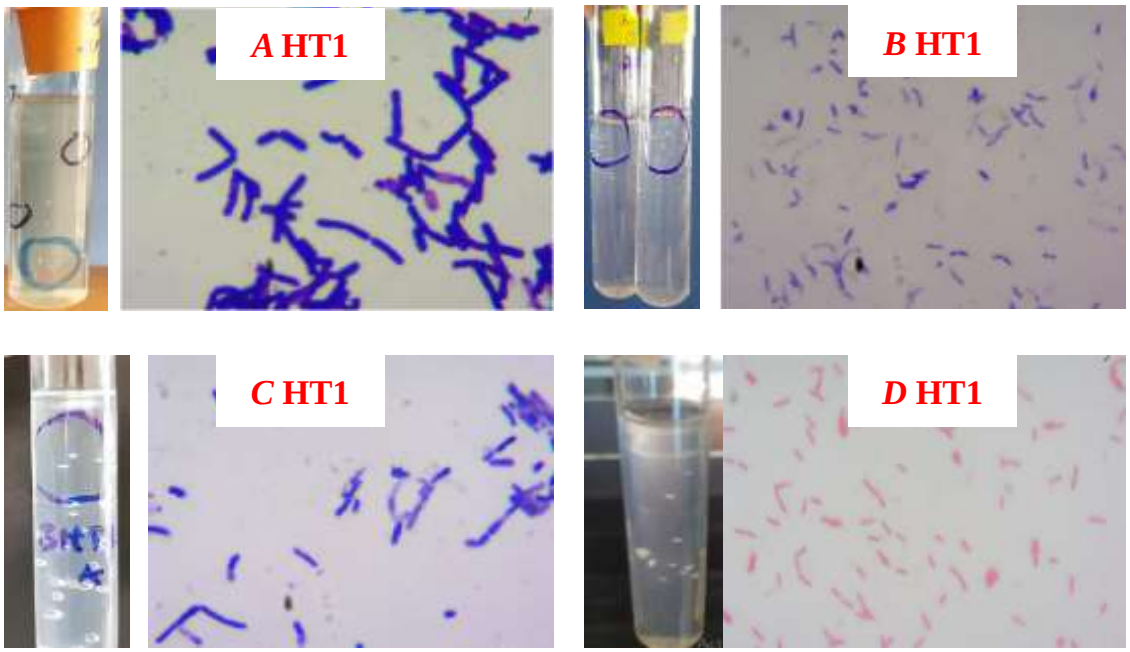
Xử lý số liệu: Các số liệu phân tích được xử lý, biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD: Standard Deviation**)** trên đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel.

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

3.1.1. Phân lập, định danh một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa amoni

Từ 15 mẫu nước thải sau bể biogas của một lò giết mổ gia súc và 04 trang trại CNL tập trung tại Hà Tĩnh, đã phân lập và xác định được 4 chủng vi khuẩn thuần khiết (ký hiệu: *A* HT1, *B* HT1, *C* HT1 và *D* HT1) phản ứng dương tính với với thuốc thử Nessler từ màu vàng sang nhạt dần/không màu sau 05 ngày nuôi cấy và có khả năng chuyển hóa amoni. Kết quả nhuộm Gram thể hiện ở Hình 3.1 cho thấy: trong 04 chủng phân lập được có 03 chủng (*A* HT1, *B* HT1, *C* HT1) là vi khuẩn Gram dương (vi khuẩn bắt màu tím) và 01 chủng (*D* HT1) là vi khuẩn Gram âm (vi khuẩn bắt màu hồng).



Hình 3.1. Hình ảnh khuẩn lạc trong ống nghiệm và nhuộm Gram của 04 chủng phân lập được: A HT1, B HT1, C HT1 và D HT1

Kết quả giải trình tự gene 16S rRNA của 04 chủng *A* HT1, *B* HT1, *C* HT1 và *D* HT1 được trình bày ở Phụ luc 2 của Luận án, so sánh trình tự gen mã hóa 16S rRNA của 04 chủng *A* HT1, *B* HT1, C HT1 và D HT1 với ngân hàng dữ liệu NCBI bằng chương trình BLAST kết hợp phân tích bằng phần

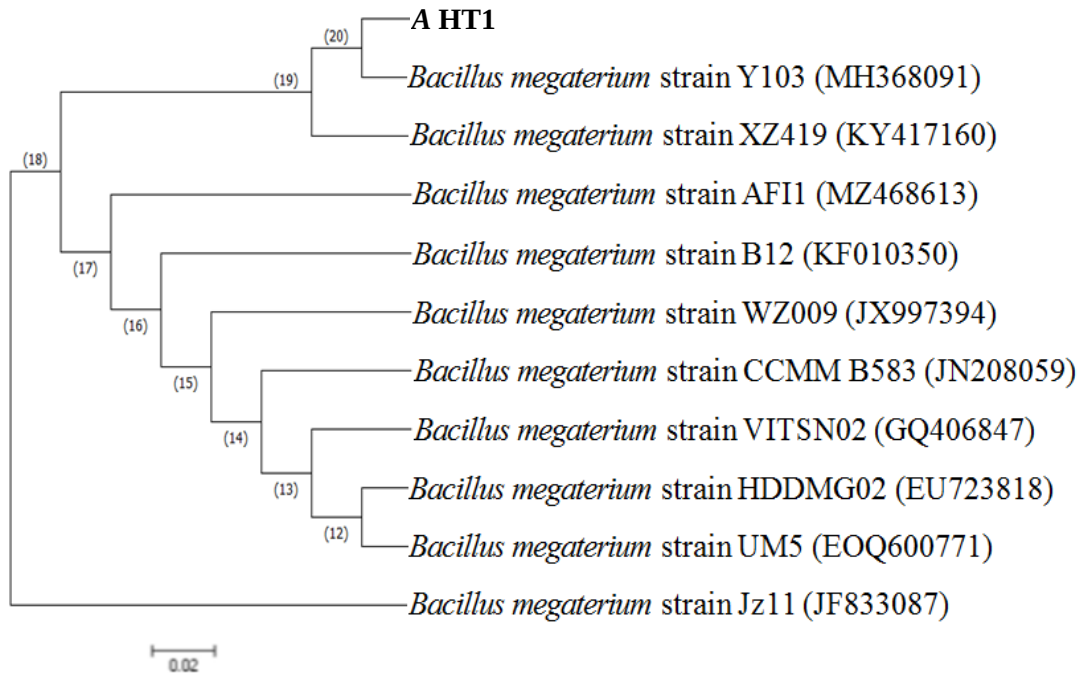
mềm MEGA6 (So sánh sự khác nhau về vị trí các nucleotide giữa các cặp loài dùng ClustalW; cây phát sinh chủng loại được xây dựng theo phương pháp Neighbor Joining) [121] cho thấy trình tự nucleotide gene mã hóa 16S rRNA của 04 chủng phân lập được có:

- Chủng *A* HT1 (Hình 3.2) tương đồng 100% với *Bacillus megaterium* strain Y103 (MH368091) và được định tên là *Bacillus megaterium* HT1.

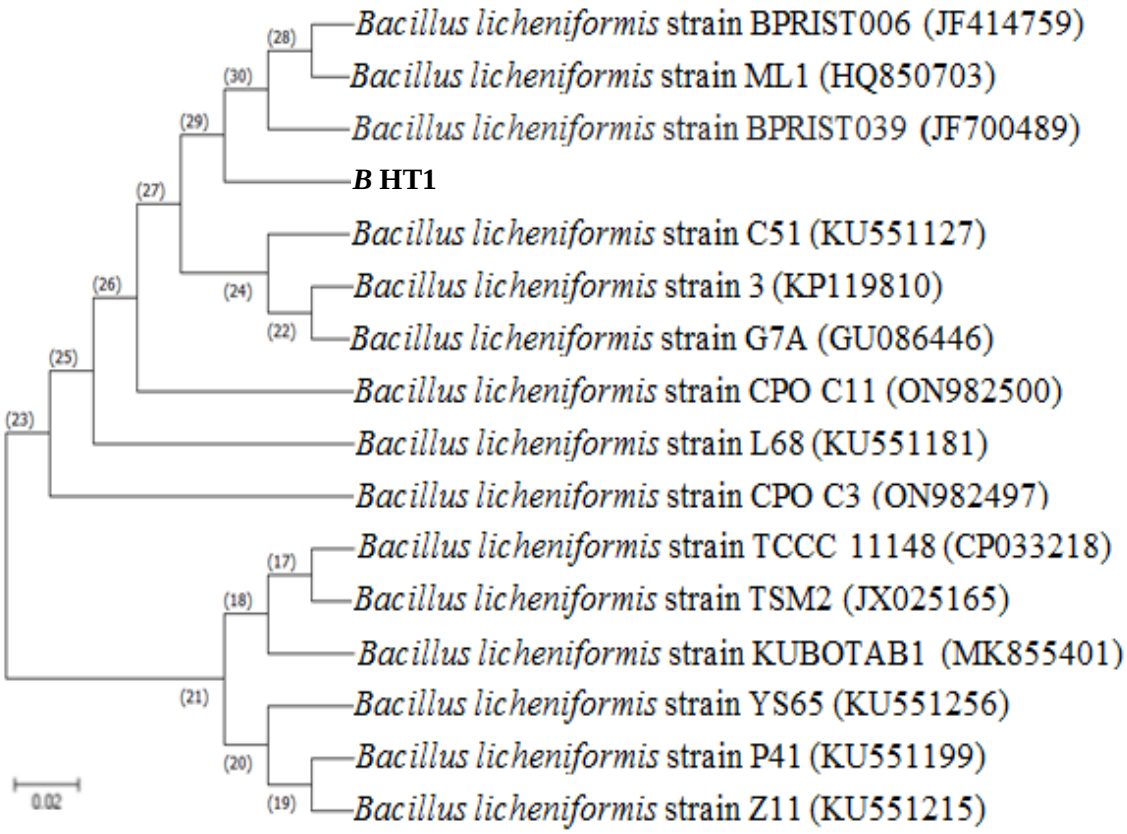
- Chủng *B* HT1 (Hình 3.3) tương đồng 99,8% với *Bacillus licheniformis* strain BPRIST006 (JF414759), *Bacillus licheniformis* strain ML1 (HQ850703), *Bacillus licheniformis* strain BPRIST039 (JF700489) và được định tên là *Bacillus licheniformis* HT1.

- Chủng *C* HT1 (Hình 3.4) tương đồng 99,9% với *Bacillus subtilis* strain ZIM3 (MT539995), *Bacillus subtilis* strain 2014-3557 (CP045672), *Bacillus subtilis* strain IAM 12118 (NR_112116) và được định tên là *Bacillus subtilis* HT1.

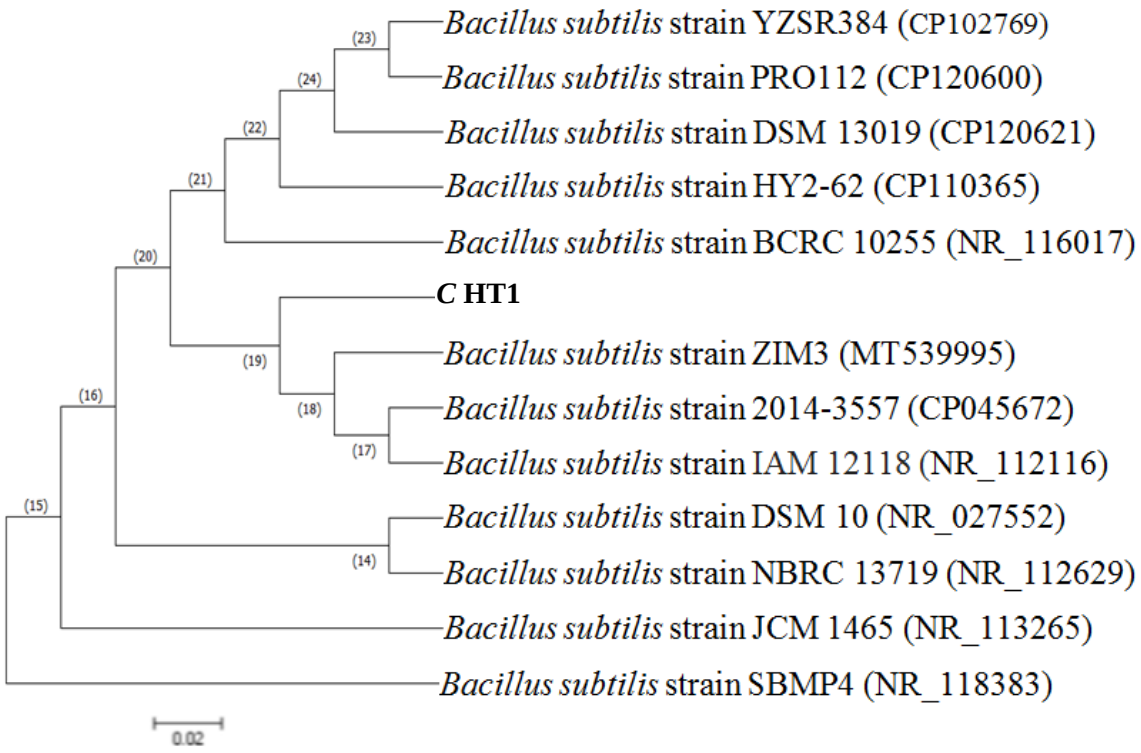
- Chủng *D* HT1 (Hình 3.5) tương đồng 99,9% với *Pseudomonas aeruginosa* strain P.N. and O.A.G (MK875783) và được định tên là *Pseudomonas aeruginosa* HT1.



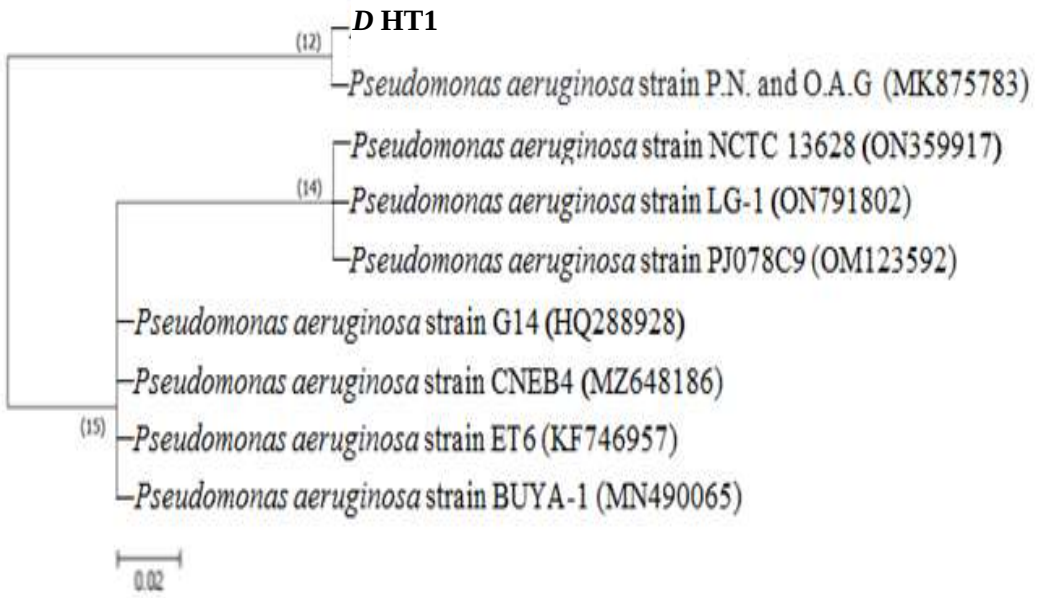
Hình 3.2. Cây phát sinh chủng loại của A HT1 dựa theo trình tự gen mã hóa 16S rRNA



Hình 3.3. Cây phát sinh chủng loại của B HT1 dựa theo trình tự gen mã hóa 16S rRNA



Hình 3.4. Cây phát sinh chủng loại của *C* HT1 dựa theo trình tự gen mã hóa 16S rRNA



Hình 3.5. Cây phát sinh chủng loại của D HT1 dựa theo trình tự gen mã hóa 16S rRNA

Tổng hợp một số thông tin về bốn chủng vi khuẩn: *B. megaterium* HT1, *B. licheniformis* HT1, *B. subtilis* HT1 và *P. aeruginosa* HT1 được thể hiên ở Bảng 3.1

Bảng 3.1. Một số thông tin về các vi khuẩn chuyển hóa amoni phân lập được

Ký hiệu	**Phản ứng với thuốc thử Nessler**	**Kết quả nhuộm Gram**	**Kết quả định danh và đặt tên**	**Nguồn gốc phân lập**
A HT1	Dương tính, chuyển từ màu vàng sang không màu	Gram dương (vi khuẩn bắt màu tím)	*B. megaterium* HT1	Nước thải sau bể biogas của trại lợn ông Trần Văn Sơn xã Sơn Kim 1, Hương Sơn, Hà Tĩnh
B HT1	Dương tính, chuyển từ màu vàng sang không	Gram dương (vi khuẩn bắt màu	*B. licheniformis* HT1	Nước thải sau bể biogas của trại lợn ông Phạm Đình Lương xã Sơn

	màu	tím)		Kim 1, Hương Sơn, Hà Tĩnh
C HT1	Dương tính, chuyển từ màu vàng sang không màu	Gram dương (vi khuẩn bắt màu tím)	*B. subtilis* HT1	Nước thải sau bể biogas của trại lợn ông Hoàng Văn Thư xã Sơn Kim 1, Hương Sơn, Hà Tĩnh
D HT1	Dương tính, chuyển từ màu vàng sang nhạt dần	Gram âm (vi khuẩn bắt màu hồng)	*P. aeruginosa*	Nước thải sau bể biogas của trại lợn ông Hoàng Hải Trọng xã Kỳ Đồng, Kỳ Anh, Hà Tĩnh

Ba chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1 là các vi khuẩn hiếu khí, hình que, Gram dương thuộc chi *Bacillus*. Chúng phân bố rất rộng trong môi trường và đã được chứng minh là có khả năng chuyển hóa amoni [94, 122]. Nhóm vi khuẩn này nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà nghiên cứu vi sinh vật môi trường do chúng có một số đặc tính ưu việt như sinh trưởng và phát triển mạnh, có khả năng tồn tại cao trong các môi trường có điều kiện sống khắc nghiệt do chúng có khả năng sinh bào tử, tốc độ nhân đôi tế bào nhanh, tính cạnh tranh cao so với các nhóm vi khuẩn khác trong nước thải, sinh trưởng và phát triển trong nhiều loại môi trường khác nhau. Đặc biệt nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng một số chủng vi khuẩn thuộc nhóm *Bacillus* có thể chuyển hóa trong môi trường có nồng độ amoni rất cao trên 1.000 mg/L, có khả năng trực tiếp loại bỏ amoni thông qua sự hình thành N_2 [94, 122].

Chủng *P. aeruginosa* HT1 là vi khuẩn Gram âm, hiếu khí, hình que. Loài *P. aeruginosa* tồn tại trong nhiều thành phần môi trường/đối tượng khác nhau như: đất, nước, trên cơ thể động vật và con người. Ngoài ra, loài vi khuẩn *P. aeruginosa* có thể tồn tại trong các điều kiện sống khác nhau về pH, nhiệt độ,

dinh dưỡng và mức độ hiếu khí. Khả năng chuyển hóa amoni của *P. aeruginosa* đã được nhiều công trình nghiên cứu công bố [123, 124]. Hơn thế nữa, *P. aeruginosa* trước đây đã chứng minh có khả năng chuyển hóa cả nitrit và nitrat [125]. Điều này một lần nữa khẳng định vai trò của *P. aeruginosa* đối với môi trường tự nhiên mặc dù chúng có thể gây bệnh ở động vật và con người.

3.1.2. Phân lập, định danh một số chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrit

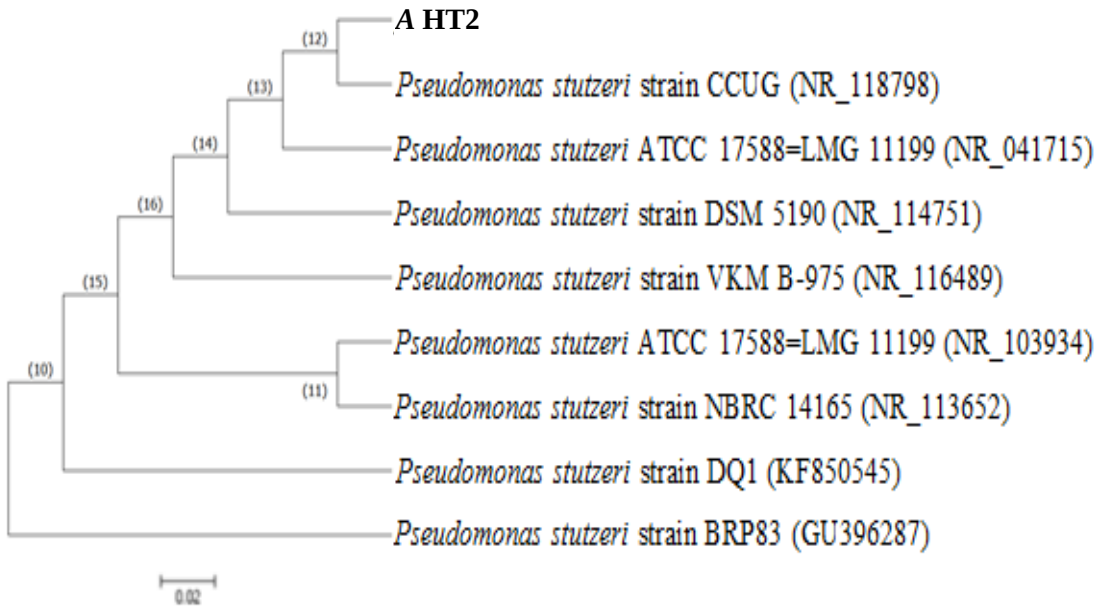
Từ 15 mẫu nước thải sau bể biogas của một lò giết mổ gia súc và 04 trang trại CNL tập trung tại Hà Tĩnh, đã phân lập và xác định được 2 chủng vi khuẩn thuần khiết (ký hiệu: *A* HT2, *B* HT2) phản ứng dương tính với với thuốc thử Griess từ màu hồng sang nhạt dần/không màu sau 05 ngày nuôi cấy và có khả năng chuyển hóa nitrit. Kết quả nhuộm Gram thể hiện ở Hình 3.6 cho thấy: chủng *A* HT2 là vi khuẩn Gram âm (vi khuẩn bắt màu hồng) và chủng *B* HT2 là vi khuẩn Gram âm (vi khuẩn bắt màu tím).

Hình 3.6. Hình ảnh khuẩn lạc trong ống nghiệm và nhuộm Gram của hai chủng phân lập được: *A* HT2 và *B* HT2

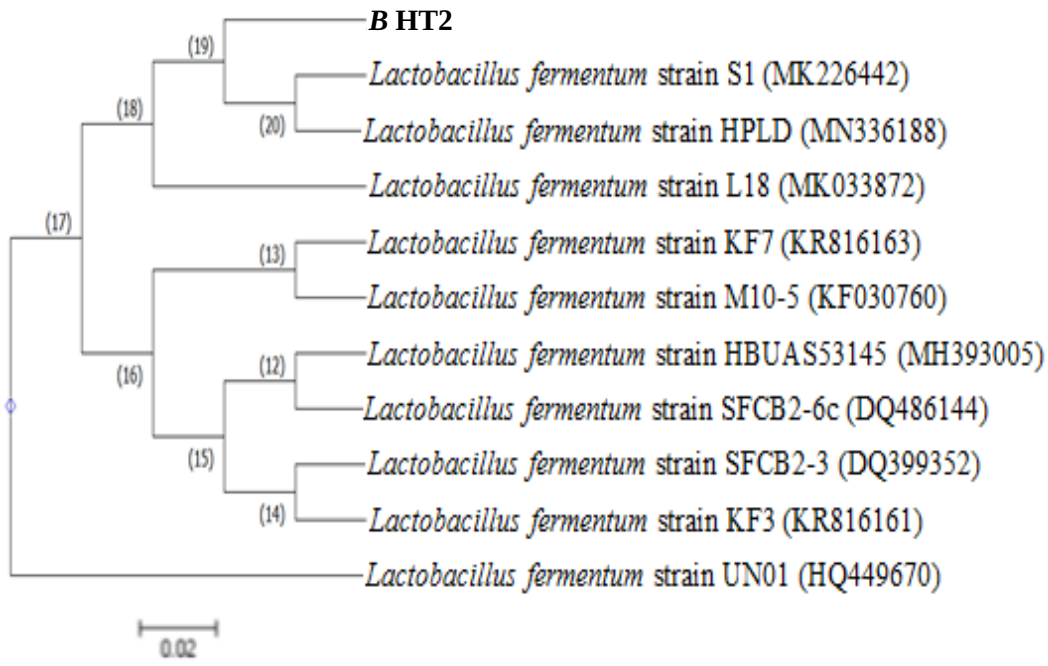
Kết quả giải trình tự gene 16S rRNA của 02 chủng *A* HT2 và *B* HT2 được trình này ở Phụ luc 2 của Luận án, so sánh trình tự gene mã hóa 16S rRNA của 02 chủng này với ngân hàng dữ liệu NCBI bằng chương trình BLAST kết hợp phân tích bằng phần mềm MEGA6 (So sánh sự khác nhau về vị trí các nucleotide giữa các cặp loài dùng ClustalW; cây phát sinh loài được xây dựng theo phương pháp Neighbor Joining) [121] cho thấy trình tự nucleotide gene mã hóa 16S rARN của 02 chủng phân lập được có:

- Chủng *A* HT2 (Hình 3.7) tương đồng 99,9% với *Pseudomonas stutzeri* strain CCUG (NR_118798) và được định tên là *Pseudomonas stutzeri* HT2.

- Chủng *B* HT2 (Hình 3.8) tương đồng 99,9% với *Lactobacillus fermentum* strain S1 (MK226442), *Lactobacillus fermentum* strain HPLD (MN336188) và được định tên là *Lactobacillus fermentum* HT2.



Hình 3.7. Cây phát sinh chủng loại của *A* HT2 dựa theo trình tự gen mã hóa 16S rRNA



Hình 3.8. Cây phát sinh chủng loại của B HT2 dựa theo trình tự gen mã hóa 16S rRNA

Tổng hợp một số thông tin về hai chủng vi khuẩn: *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 được thể hiên ở Bảng 3.2

Bảng 3.2. Một số thông tin về các vi khuẩn chuyển hóa nitrit phân lập được

Ký hiệu	Phản ứng với thuốc thử Nessler	Kết quả nhuộm Gram	Kết quả định danh và đặt tên	Nguồn gốc phân lập
A HT2	Dương tính, chuyển từ màu hồng sang không màu	Gram âm (vi khuẩn bắt màu hồng)	*P. stutzeri* HT2	Nước thải sau bể biogas của cơ sở giết mổ gia súc tập trung tại khối 10, Tân Giang, thành phố Hà Tĩnh, Hà Tĩnh
B HT2	Dương tính, chuyển từ màu hồng sang không màu	Gram dương (vi khuẩn bắt màu tím)	*L. fermentum* HT2	Nước thải sau bể biogas của trại lợn ông Hoàng Hải Trọng xã Kỳ Đồng, Kỳ Anh, Hà Tĩnh

P. stutzeri HT2 là vi khuẩn Gram âm, hình que, không có bào tử, linh hoạt về dinh dưỡng. Các chủng thuộc loài *P. stutzeri* phân bố hầu hết trong tất cả các thành phần môi trường kể cả trong đất (tìm thấy trong vùng rễ của các loại cây như: lúa mì, lúa mạch,...) và trầm tích biển. *P. stutzeri* đóng một vai trò thú vị trong chu trình nitơ với nhiều khả năng chuyển hóa khác nhau trong đó có khả năng chuyển hóa nitrit [126, 127].

L. fermentum HT2 là vi khuẩn Gram dương thuộc chi *Lactobacillus*, thường được tìm thấy trong quá trình lên men động thực vật. Các chủng thuộc loài *L. fermentum* phân bố khá rộng trong môi trường và mang lại nhiều lợi ích cho sức khỏe con người cũng như khả năng xử lý nitơ trong các thành phần môi trường [128, 129].

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

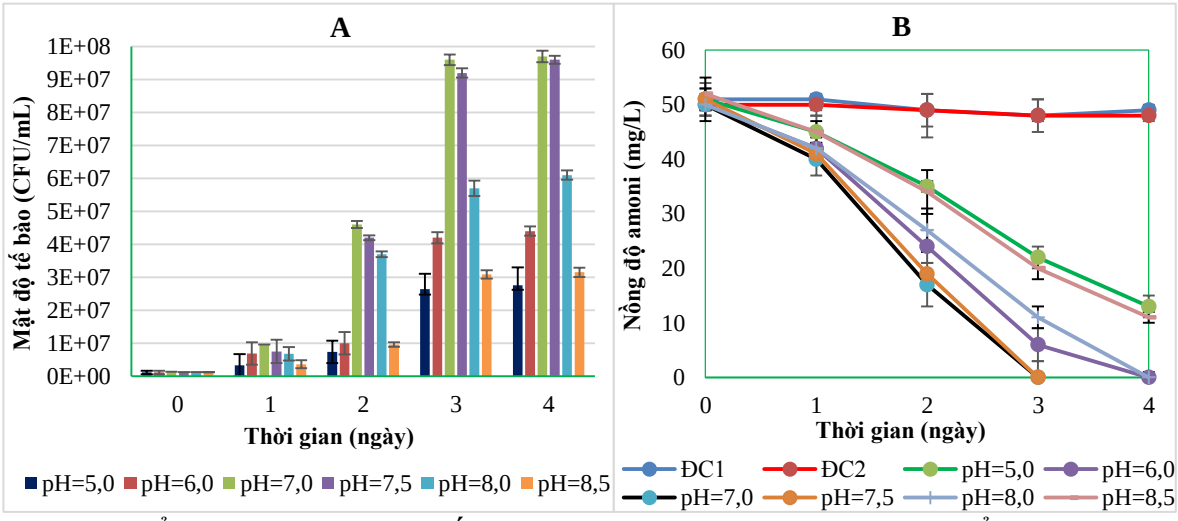
3.2.1. Khảo sát các chủng chuyển hóa amoni

3.2.1.1. Ảnh hưởng của pH

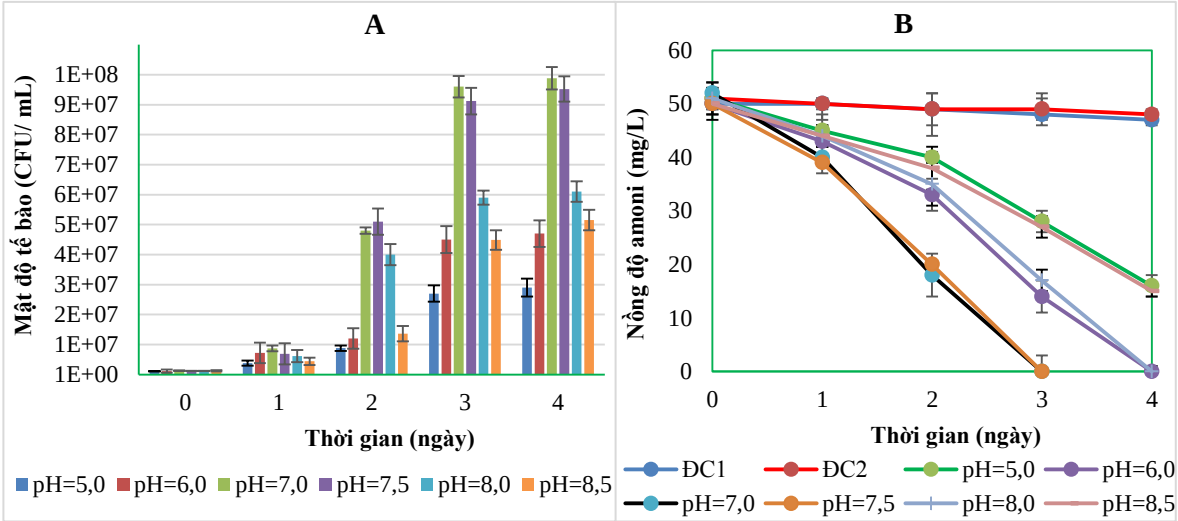
pH có ảnh hưởng rõ rệt đối với sự sinh trưởng của vi sinh vật. Mỗi vi sinh vật đều có một phạm vi pH sinh trưởng nhất định và pH sinh trưởng tốt

nhất. Mặc dù vi sinh vật có thể sinh trưởng trong một phạm vi pH khá rộng. Khi pH có sự biến đổi đột ngột sẽ làm ảnh hưởng đến vi sinh vật, vì ion H^+ nằm trong thành phần môi trường làm thay đổi trạng thái điện tích của thành tế bào, phá vỡ màng sinh chất. Tùy theo nồng độ của chúng mà làm tăng hoặc giảm khả năng thẩm thấu của tế bào đối với những ion nhất định. Mặt khác chúng cũng làm ức chế phần nào các enzyme hay các protein xuyên màng có mặt trên thành tế bào. Sự biến đổi pH của môi trường cũng sẽ làm thay đổi trạng thái điện ly của phân tử các chất dinh dưỡng, làm giảm khả năng hấp thụ chúng vào tế bào vi sinh vật.

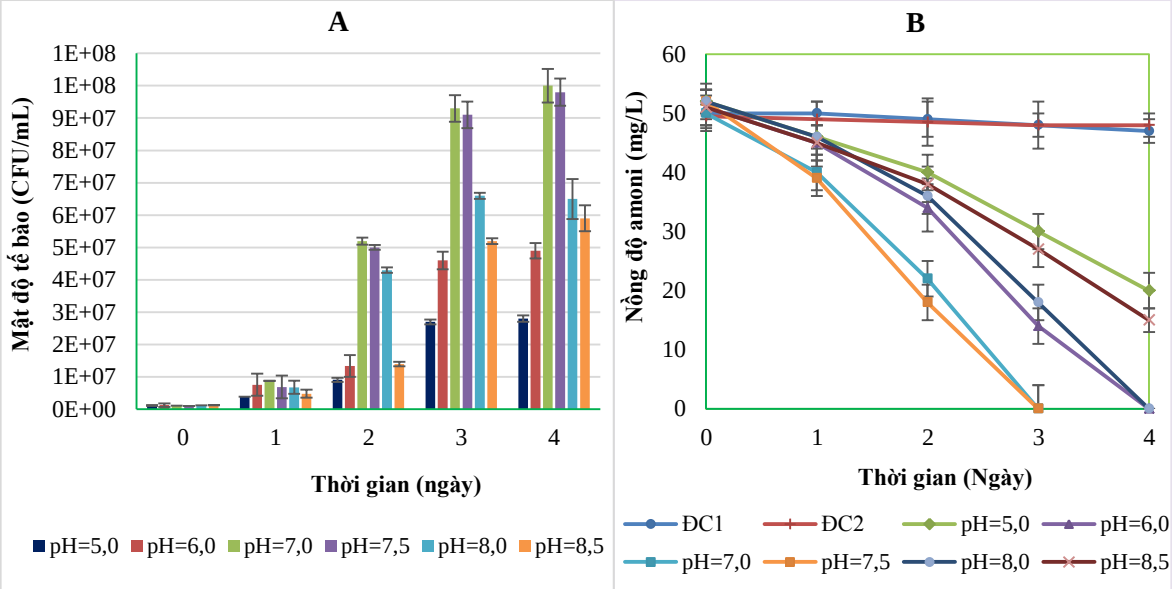
Để khảo sát ảnh hưởng của pH môi trường đến sự sinh trưởng và chuyển hóa amoni của *B. megaterium* HT1*; B. licheniformis* HT1*; B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1, tiến hành nuôi cấy các chủng này trong môi trường có các mức pH là 5,0; 6,0; 7,0; 7,5; 8,0 và 8,5. Kết quả khảo sát được trình bày trong các Hình 3.9; Hình 3.10; Hình 3.11 và Hình 3.12.



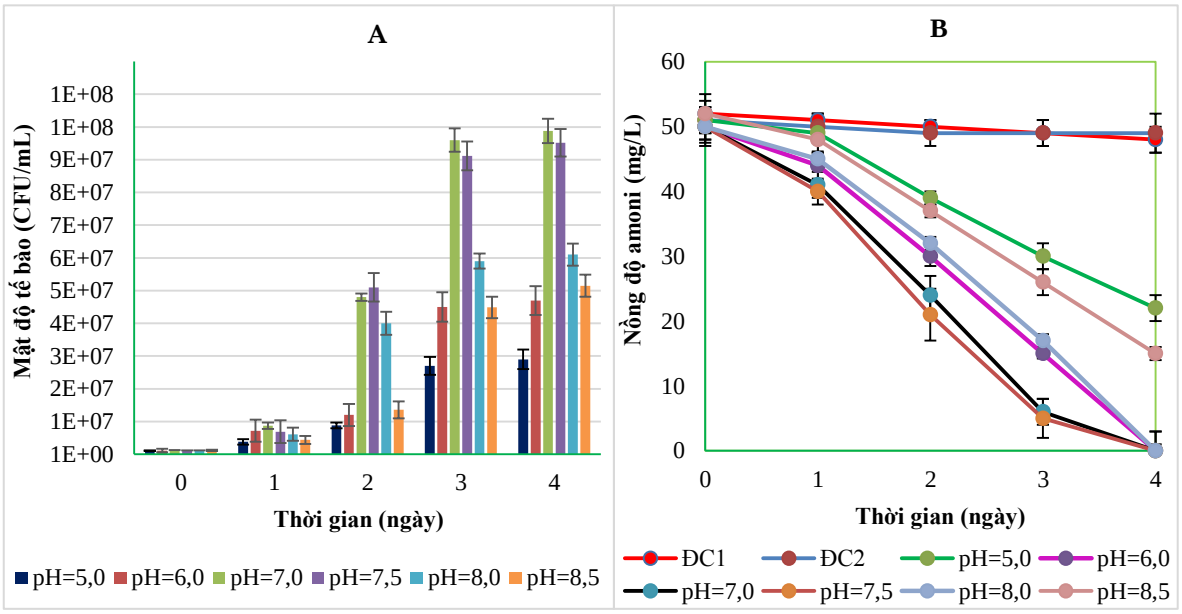
Hình 3.9. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của B. megaterium HT1



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



Hình 3.11. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của *B. subtilis* HT1



Hình 3.12. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của P. aeruginosa HT1

Kết quả cho thấy cả 04 chủng *B. megaterium* HT1*; B. licheniformis* HT1*; B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1 đều có khả năng sinh trưởng ở pH môi trường từ 5,0 đến 8,5 với xu thế chung là ngày thứ nhất sinh trưởng chậm vì đây là khoảng thời gian chúng thích nghi, tăng nhanh sau 2 đến 3 ngày, đến ngày thứ 4 ổn định bởi có thể ở thời điểm này lượng cơ chất trong môi trường

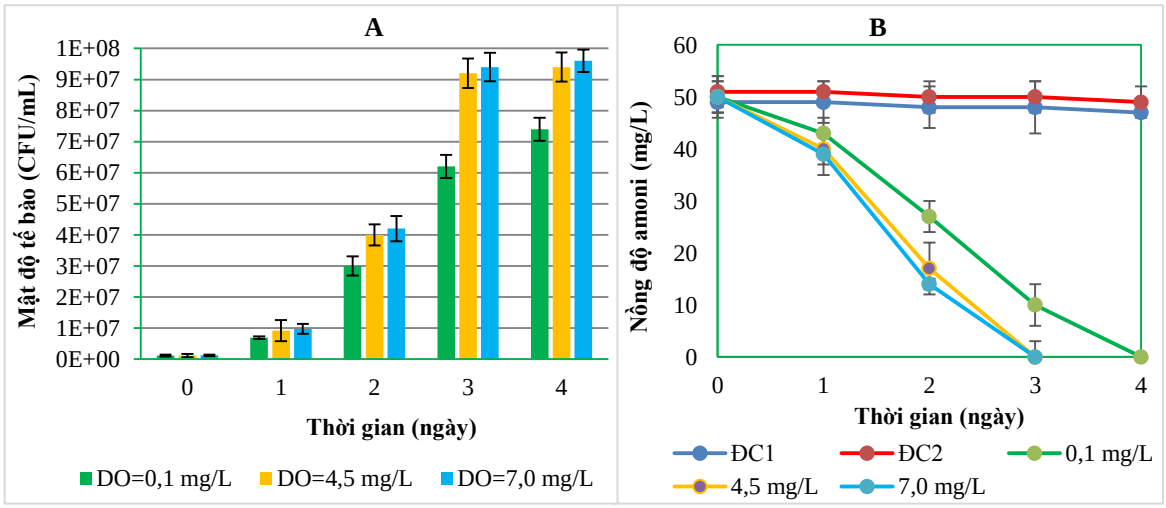
nuôi cấy giảm mạnh/hết nên không thuận lợi cho sinh trưởng. Ở môi trường có pH từ 7,0 đến 7,5 sau 2 đến 3 ngày nuôi cấy các chủng khảo sát có tốc độ sinh trưởng tốt nhất (Hình 3.9-A; Hình 3.10-A; Hình 3.11-A và Hình 3.12-A). Kết quả này phù hợp với một số kết quả nghiên cứu khác đã công bố về các chủng thuộc chi *Bacillus* [83, 130] và loài vi khuẩn *P. aeruginosa* [123]. Hơn nữa, cả 04 chủng này đều phát triển khá tốt ở hai mức pH = 6,0 và 8,0. Điều này tạo ra lợi thế cho việc ứng dụng chúng vào xử lý các loại nước nước thải có khoảng pH biến động rộng. Song song với khả năng sinh trưởng thì 04 chủng thí nghiệm cũng có khả năng chuyển hóa amoni trong các môi trường có pH từ 5,0 đến 8,5 nhưng khả năng chuyển hóa mạnh nhất là ở hai môi trường có pH = 7,0 và 7,5; chuyển hóa hoàn toàn 50 mg/L amoni trong 03 ngày nuôi cấy (Hình 3.9-B; Hình 3.10-B; Hình 3.11-B và Hình 3.12-B).

3.2.1.2. Ảnh hưởng của DO và nhiệt độ

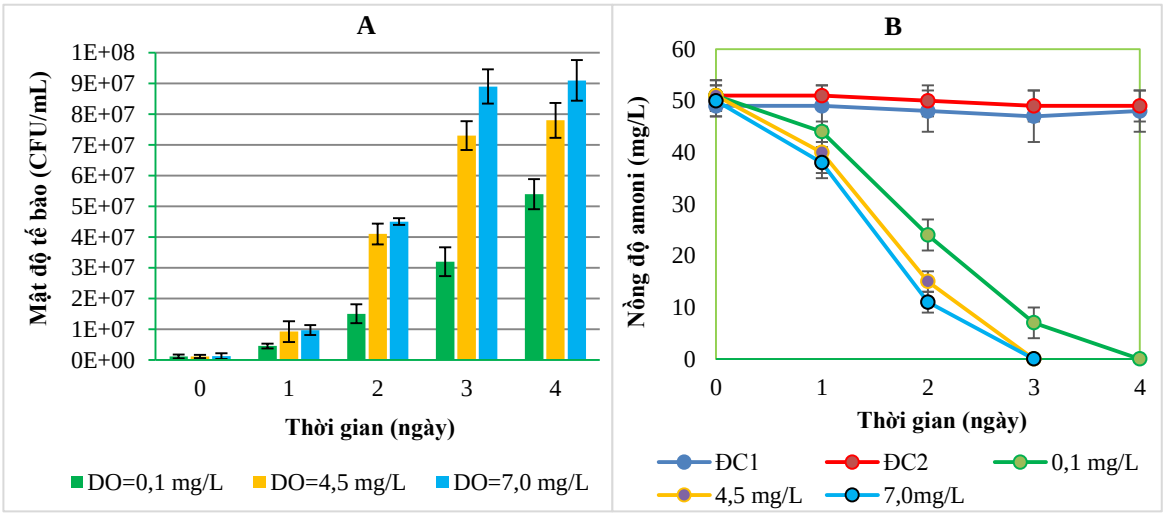
Cả 04 chủng *B. megaterium* HT1*; B. licheniformis* HT1*; B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1 là các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni bằng cách hô hấp. Đây là quá trình hô hấp hiếu khí diễn ra trong môi trường đủ oxy tự do. Lượng oxy hòa tan trong môi trường vừa cung cấp cho quá trình hô hấp của vi sinh vật và vừa có tác dụng tăng sự tiếp xúc của tế bào với nguồn dinh dưỡng, giúp tăng mức độ tiếp xúc cơ chất với các tế bào vi sinh vật và nhờ đó tăng tốc độ hấp thu, chuyển hóa cơ chất.

Tiến hành đánh giá khả năng tăng sinh khối và chuyển hóa amoni của *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1 ở 03 mức DO là 0,1; 4,5 và 7,0 mg/L trong môi trường nuôi cấy có pH=7,5. Kết quả thí nghiệm cho thấy cả 04 chủng này đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa tốt amoni trên môi trường nuôi cấy có các mức DO đã thử nghiệm (Hình 3.13; Hình 3.14; Hình 3.15; Hình 3.16). Trong đó, sau khoảng thời gian 2 đến 3 ngày nuôi cấy, ở môi trường DO cao (DO: 4,5 và 7,0 mg/L) các chủng khảo sát sinh trưởng và chuyển hóa amoni (hết 50 mg/L amoni sau 3 ngày nuôi cấy) tốt hơn so với môi trường DO thấp (0,1 mg/L) (mất 04 ngày nuôi cấy mới chuyển hóa hết 50 mg/L amoni). Như vậy, môi trường hiếu khí phù hợp cho sự sinh trưởng và chuyển hóa amoni của 04 chủng này, ngoài ra ở môi trường DO thấp (0,1 mg/L) các chủng vẫn sinh trưởng và chuyển hóa amoni chứng tỏ chúng có thể thích nghi tốt với điều kiện bất lợi (thiếu oxy). Điều này được khẳng định bởi nhiều chủng vi khuẩn thuộc nhóm *Bacillus* [131] và *P. aeruginosa* [132] được phân lập từ nhiều địa điểm có điều kiện môi trường khắc nghiệt như: môi trường trầm tích đại

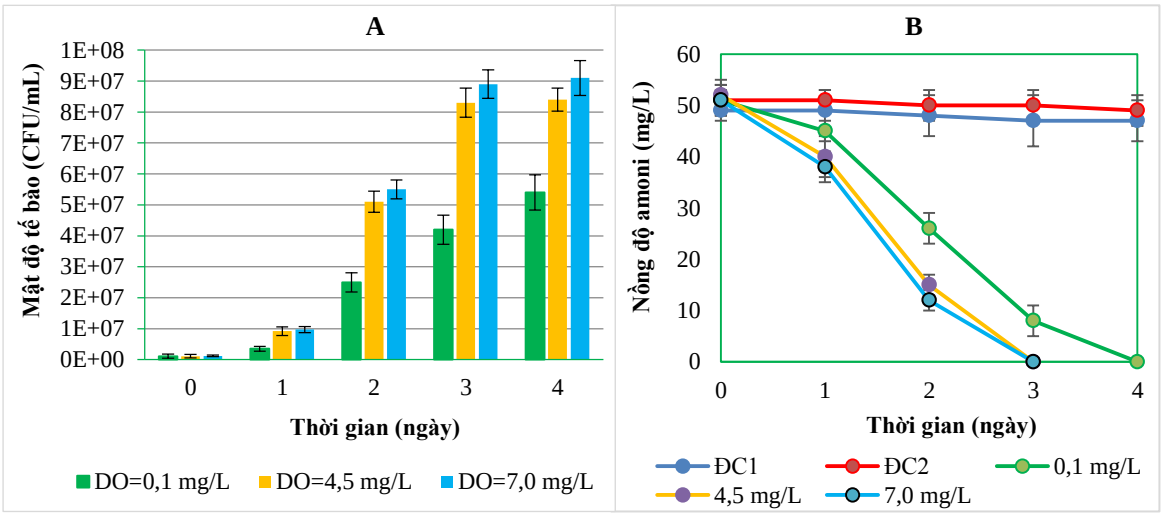
dương, môi trường đất thiếu oxy. Khả năng tăng sinh khối và chuyển hóa amoni trong môi trường có DO thấp một lần nữa khẳng định thêm tiềm năng ứng dụng to lớn của các chủng vi khuẩn phân lập được để xử lý amoni của nước thải, đặc biệt là trong các hồ sinh học là nơi thường có DO thấp.



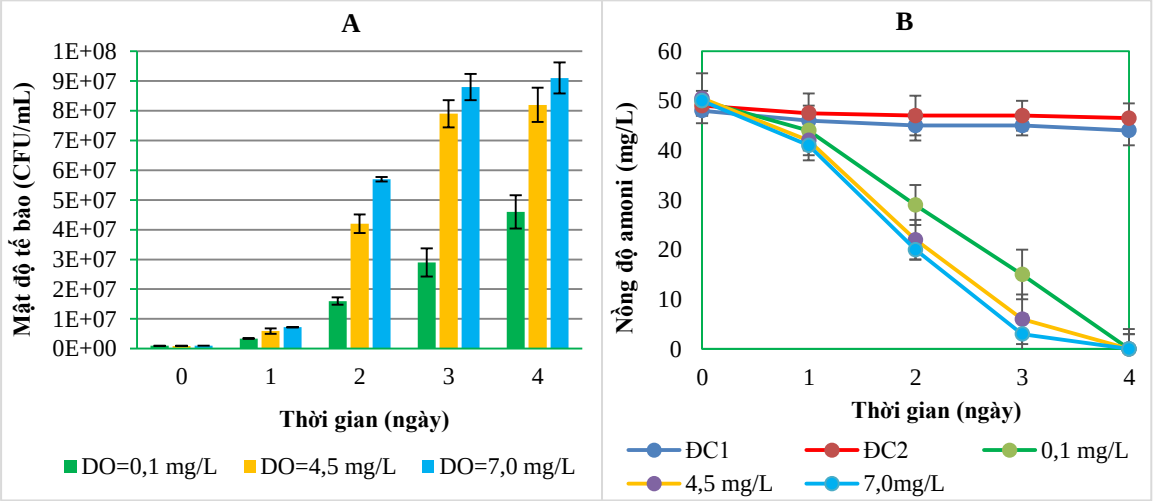
Hình 3.13. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. megaterium* HT1



Hình 3.14. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. .licheniformis* HT1

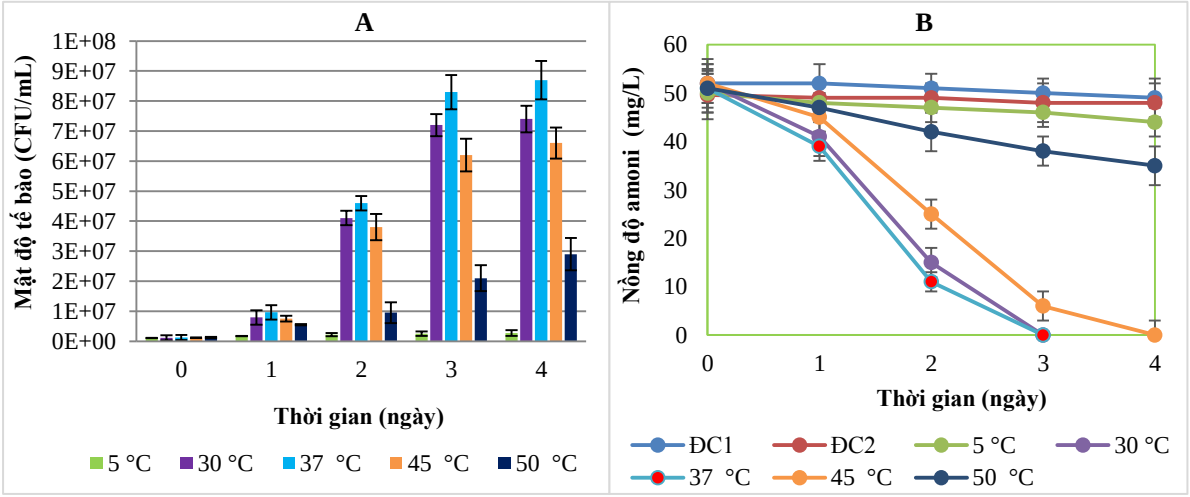


Hình 3.15. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. subtilis* HT1

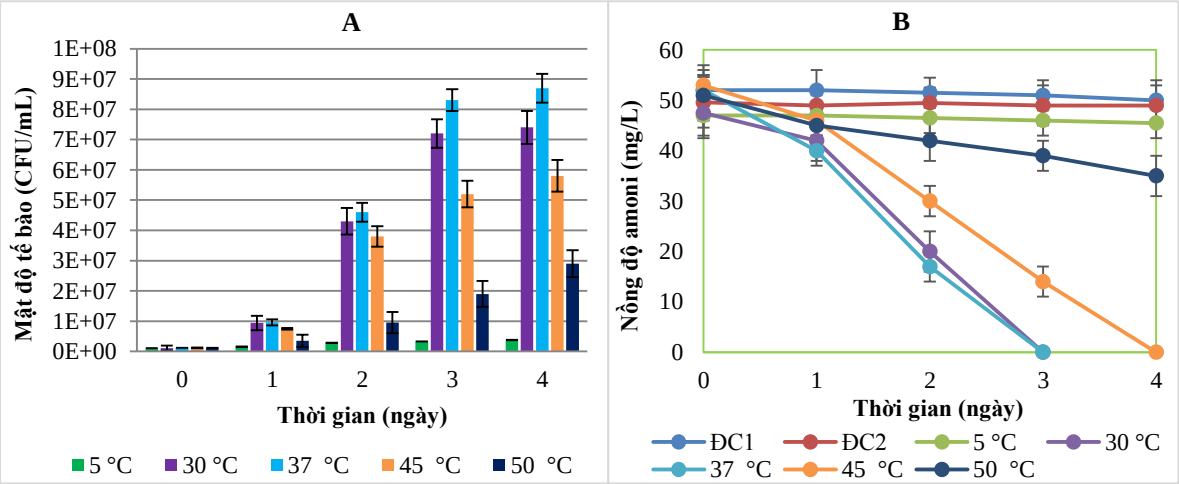


Hình 3.16. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) củaP. aeruginosa HT1

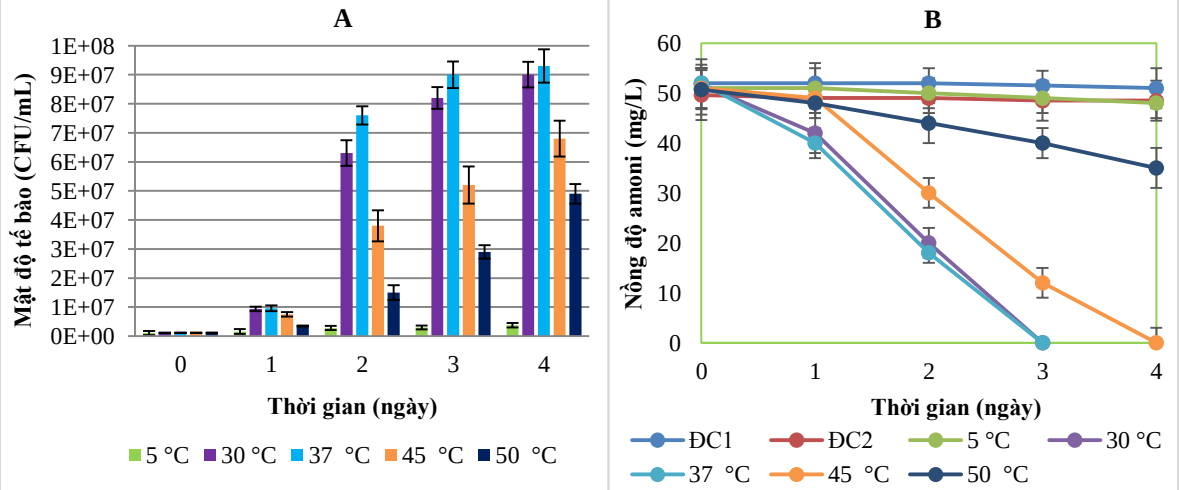
Bên cạnh đánh giá ảnh hưởng của DO thì các thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của 06 mức nhiệt độ là 5, 30, 37, 40, 45 và 50 ^{0}C đến khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni của 04 chủng phân lập cũng được tiến hành. Kết quả chỉ ra rằng các chủng phân lập được đều thuộc vi khuẩn ưa ấm (mesophilic) với khoảng nhiệt độ phát triển phù hợp là từ 30 - 37 ^{0}C (Hình 3.17; Hình 3.18; Hình 3.19; Hình 3.20). Ngoài ra, ở mức nhiệt cao 45 ^{0}C vẫn phát hiện được sự sinh trưởng và loại bỏ amoni của cả 04 chủng, nhưng ở mức nhiệt 50 ^{0}C chỉ có *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 sinh trưởng và loại bỏ amoni ở tốc độ chậm điều này phù hợp với một số kết quả nghiên cứu đã công bố về các chủng thuộc chi *Bacillus* [131], hơn nữa nghiên cứu [131] cho rằng mức nhiệt từ 55 - 60°C chủng *Bacillus* MS30 phân lập được từ dưới biển sâu vẫn có tốc độ sinh trưởng khá cao (0,42 thế hệ trong một giờ).



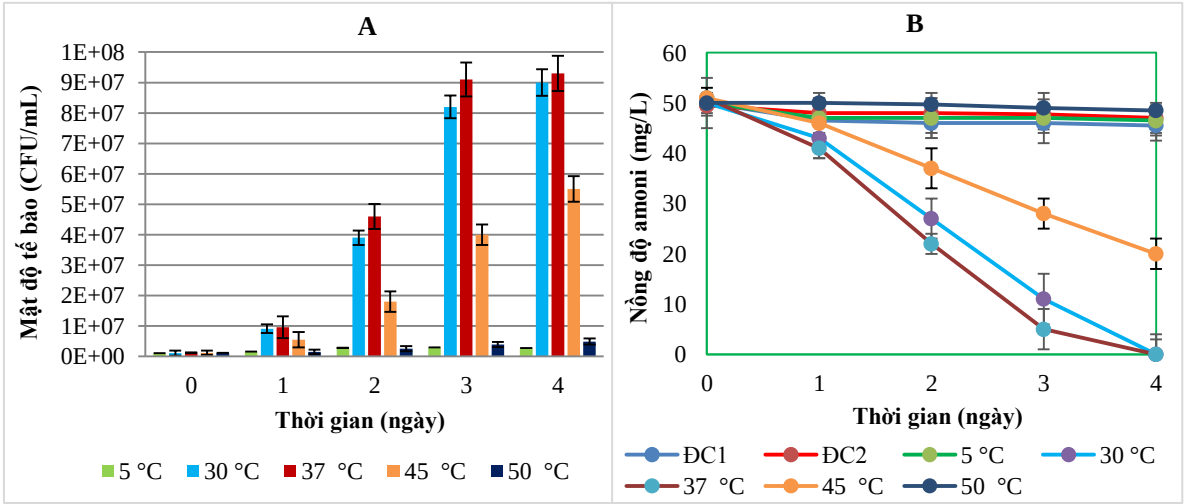
Hình 3.17. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. megaterium* HT1



Hình 3.18. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của B. *licheniformis* HT1



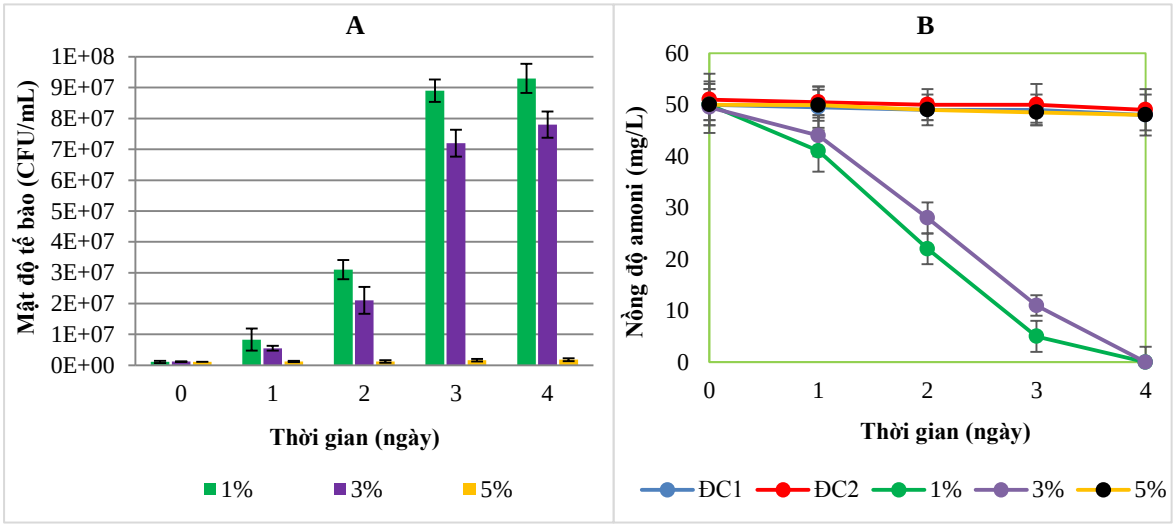
Hình 3.19. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. subtilis* HT1



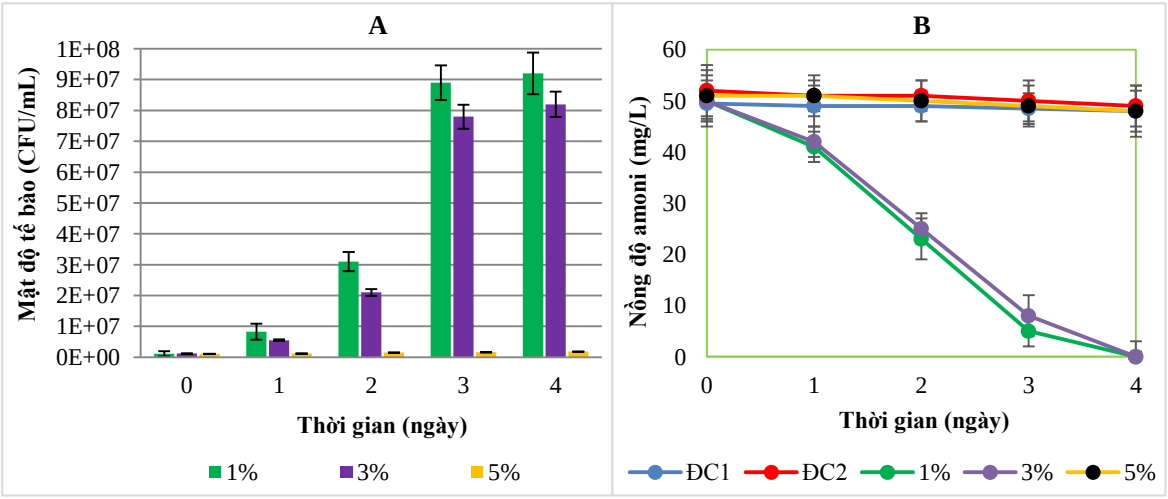
Hình 3.20. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến *khả* năng sinh trưởng (A) và *chuyển hóa* amoni *(B)* của *P. aeruginosa* HT1

3.2.1.3. Ảnh hưởng của độ muối

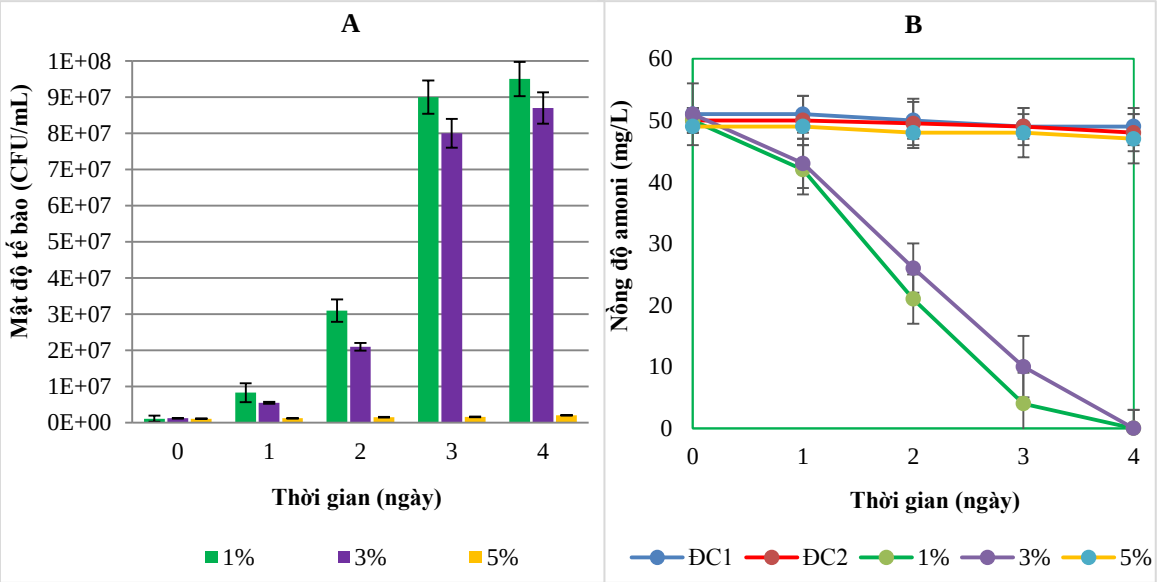
Nhiều nghiên cứu đã công bố về khả năng chịu được độ muối cao của các chủng thuộc chi *Bacillus* và *Pseudomonas*, điều này mở ra nhiều tiềm năng ứng dụng chúng cho nhiều loại nước thải khác nhau đặc biệt là nước thải có độ muối cao như: nước thải nuôi trồng thủy sản mặn, lợ, nước thải chăn nuôi tại các vùng ven biển,..... Từ cơ sở này, tiến hành thử nghiệm ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni của *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1 trên môi trường khoáng có pH=7,5 và bổ sung thêm muối NaCl ở các nồng độ 1,0; 3,0 và 5,0%. Kết quả thử nghiệm được trình bày trong các Hình 3.21; Hình 3.22; Hình 3.23 và Hình 3.24.



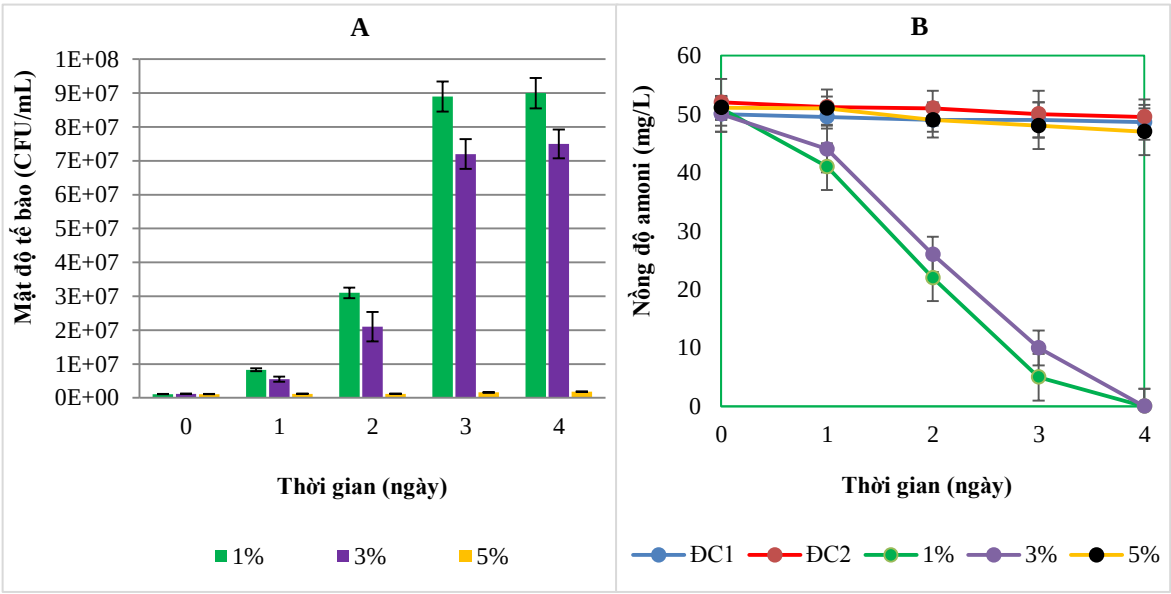
Hình 3.21**.** Ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của B. megaterium HT1



Hình 3.22. Ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. licheniformis* HT1



Hình 3.23. Ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của *B. subtilis* HT1



Hình 3.24. Ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa amoni (**B**) của P. aeruginosa HT1

Kết quả cho thấy cả 04 chủng thử nghiệm đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni trong môi trường có bổ sung muối NaCl lên đến 3,0%, phù hợp với một số kết quả nghiên cứu khác đã công bố [133, 134], Tuy nhiên, có một số điểm sai khác, nghiên cứu [133] chỉ ra rằng hai chủng *Bacillus velezensis* MT50, *Bacillus amyloliquefaciens* MT51 phân lập được từ rễ của cỏ Mần trầu có khả năng chịu mặn lên đến 4%. Thú vị hơn, nghiên cứu

[134] công bố chủng *Pseudomonas aeruginosa* NF011 phân lập được từ đất vùng rễ lúa mì ở vùng đất nông nghiệp khô hạn có khả năng chịu mặn lên đến 8,0%. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tiềm năng ứng dụng các chủng phân lập được để xử lý nước thải CNL ở các vùng ven biển (nước thải có thể có độ muối cao) hoặc ứng dụng cho xử lý nước thải nuôi trồng thủy sản mặn lợ.

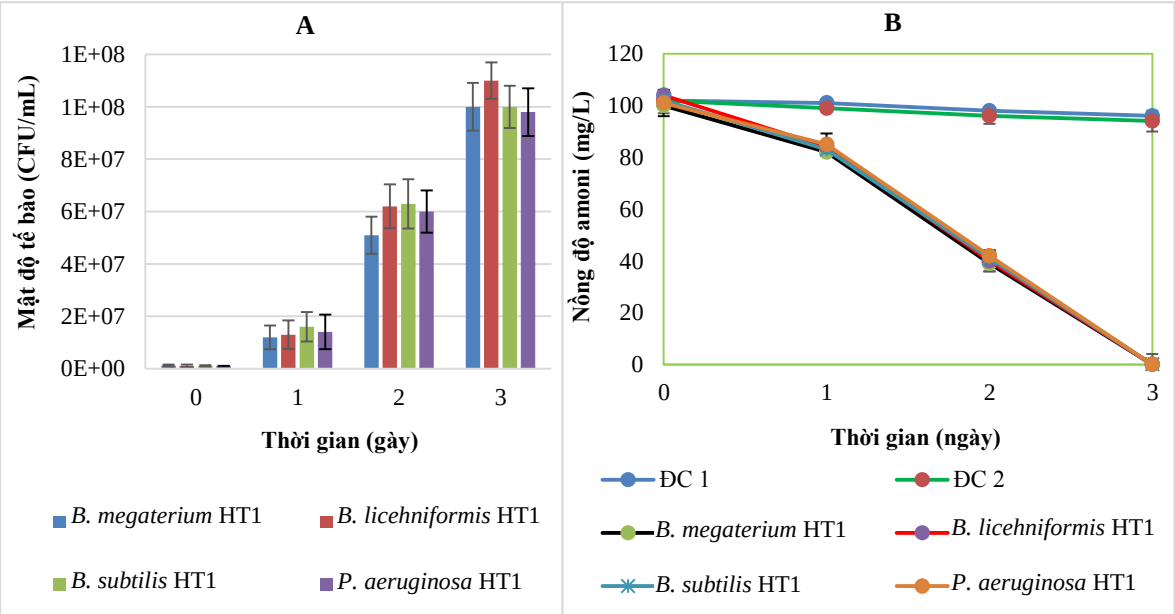
3.2.1.4. Ảnh hưởng của hàm lượng amoni ban đầu trong môi trường nuôi cấy

Cả 04 chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1 được nuôi cây trong môi trường khoáng có pH=7,5; nhiệt độ 37 ^{o}C; DO: 4,5 mg/L để đánh giá khả năng sinh trưởng và chuyển hóa amoni ở các mức 100; 500 và 750 mg/L. Mật độ vi khuẩn nuôi cấy ban đầu khoảng 10^6 CFU/mL. Kết quả cho thấy cả 04 chủng thí nghiệm đều có khả năng phát triển tốt trong các môi trường khảo sát, đạt tối đa sau 2 đến 3 ngày nuôi cấy. So sánh mật độ vi sinh của 04 chủng trong suốt quá trình thí nghiệm nhận thấy, các mức amoni bổ sung ban đầu vào môi trường nuôi cấy (100; 500; 750 mg/L) không làm ảnh hưởng nhiều đến khả năng phát triển của chúng. 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 [135]. Tốc độ chuyển hóa amoni diễn ra nhanh nhất vào ngày nuôi cấy thứ hai và thứ ba đối với cả ba nồng độ amoni thử nghiệm và có xu hướng giảm kể từ ngày nuôi cấy thứ tư trở đi. Một điều thú vị là khi nồng độ amoni thử nghiệm tăng lên thì tốc độ chuyển hóa amoni của các chủng vi khuẩn cũng tăng lên. Điều này được giải thích có thể là do trong khoảng nồng độ amoni thử nghiệm đã kích thích khả năng chuyển hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được [136]. Ngoài ra, quá trình chuyển hóa amoni không được tìm thấy trong các bình đối chứng hoặc không bổ sung các chủng vi khuẩn (ĐC1) hoặc có bổ sung các chủng vi khuẩn đã được hấp khử trùng trước khi cho vào môi trường (ĐC2) do đó có thể khẳng định rằng sự chuyển hóa amoni được thực hiện bởi các chủng khảo sát (Hình 3.25; Hình 3.26; Hình 3.27).

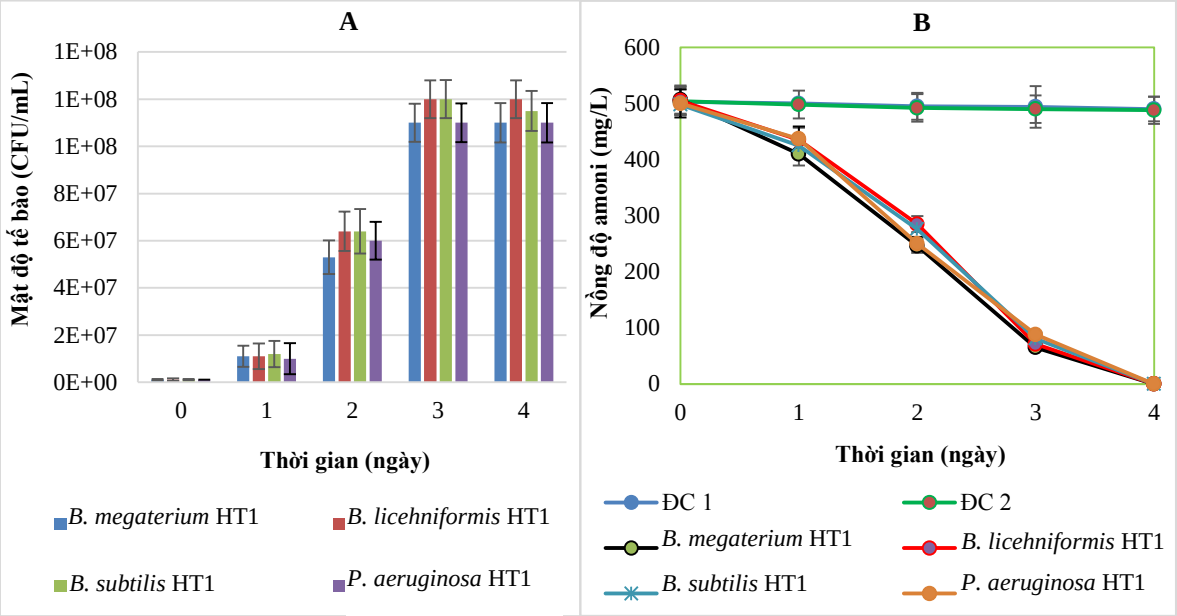
Trong nghiên cứu này sự chuyển hóa của amoni được quan tâm hơn là hàm lượng của nitrit được tạo ra, tuy nhiên thử nghiệm định tính và định

lượng các sản phẩm tạo thành trong quá trình nuôi cấy cũng được tiến hành và xác định rằng nitrit, nitrat là hai sản phẩm của quá trình chuyển hóa amoni. Khả năng tạo nitrit và nitrat của các chủng thí nghiệm khi chuyển hóa hoàn toàn amoni ở các mức 100, 500, 750 mg/L trong muôi 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 và phù hợp với các nghiên cứu đã công bố [94, 133].

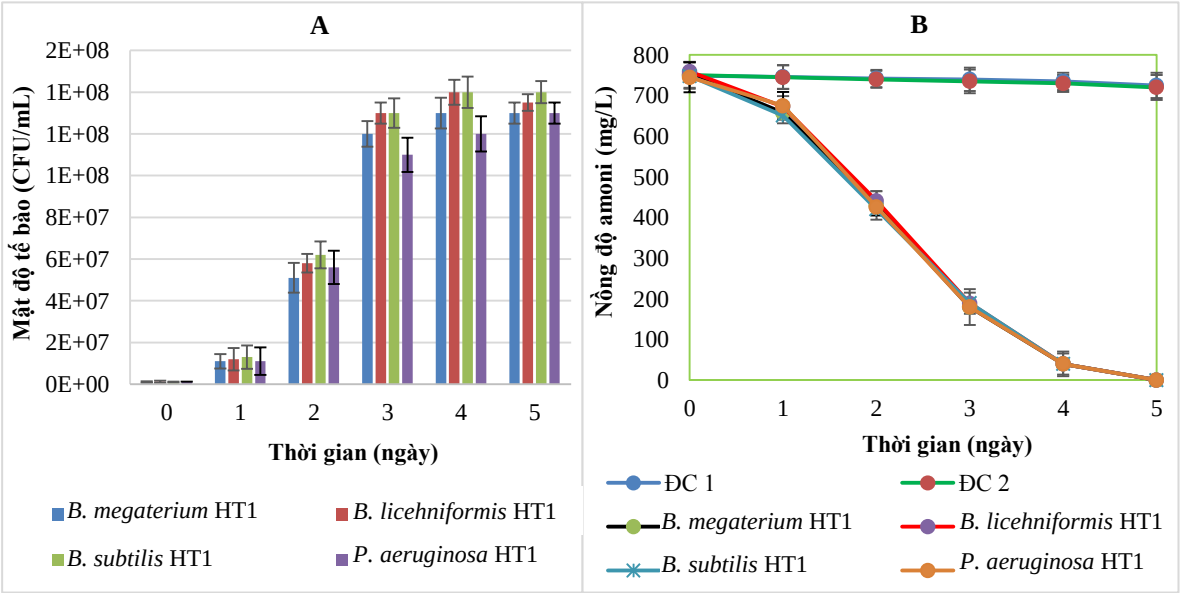
Để củng cố thêm giả thuyết này, 04 chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1; *B. subtilis* HT1 *và P. aeruginosa* HT1 được thử nghiệm trong môi trường nuôi cấy có bổ sung 50 mg/L nitrit mà không có sự có mặt của amoni. Dịch cấy được lấy từ mẫu môi trường nuôi cấy mà các chủng này đã chuyển hóa hòa toàn amoni. Kết quả thử nghiệm cho thấy nồng độ nitrit trong môi trường nuôi cấy của cả 04 chủng đã bị chuyển hóa hết sau 03 ngày. Như vậy, có thể khẳng định rằng các chủng nghiên cứu có khả năng chuyển hóa nitrit thành nitrat. Ngoài ra, theo các nghiên cứu [94, 125, 133] chúng có thể thực quá trình khử nitrat. Tuy nhiên, cần phân tích thêm các khí tạo thành (NO, N_2O, N_2) trong thí nghiệm để củng cố thêm kết luận này.



Hình 3.25. Khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của 04 chủng phân lập được trong môi trường nuôi cấy có amoni = 100 mg/L



Hình 3.26. Khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của 04 chủng phân lập được trong môi trường nuôi cấy có amoni = 500mg/L



Hình 3.27. Khả năng sinh trưởng (A) và chuyển hóa amoni (B) của 04 chủng phân lập được trong môi trường nuôi cấy có amoni = 750mg/L

3.2.1.5. Tổng hợp kết quả khảo sát các chủng chuyển hóa amoni

Qua kết quả của các thí nghiệm ở trên cho thấy:

- Bốn chủng chuyển hóa amoni *B. megaterium* HT1, *B. licheniformis HT1*, *B. subtilis* HT1, *P. aeruginosa* HT1 phân lập được đều có thể sinh trưởng trong một số yếu tố bất lợi của môi trường như: DO thấp (0,1 mg/L), độ muối lên đến 3% và nồng độ amoni lên đến 750 mg/L, đây là điểm nổi

bật/ưu thế hơn so với các nhóm vi khuẩn chuyển hóa nitơ tự dưỡng (*Nitrosomonas, Nitrobacter,*.....). Ngoài ra, trong các thí nghiệm của nghiên cứu, môi trường khoáng được sử dụng (môi trường khoáng được xem là môi trường nghèo dinh dưỡng thường hợp với nuôi cấy nhóm vi khuẩn tự dưỡng) nhưng kết quả cho thấy rằng mật độ vi khuẩn của cả 04 chủng đều tăng lên với cấp số nhân chỉ sau 02 đến 03 ngày nuôi cấy. Điều đó chứng tỏ rằng 04 chủng vi khuẩn phân lập được có khả năng thích nghi tốt với nhiều môi trường sống khác nhau mặc dù chúng được biết đến là các vi khuẩn dị dưỡng.

- Mặt khác, các kết quả nghiên cứu cho thấy bốn chủng vi khuẩn phân lập được đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa tốt amoni trong các môi trường có sự đa dạng về nồng độ DO từ thiếu khí đến hiếu khí để phù hợp với các điều kiện của các công nghệ xử lý nước thải khác nhau như SBR (vừa thiếu và hiếu khí cùng một hệ thống).

- Khả năng chuyển hóa amoni của cả bốn chủng phân lập được là khá tốt, chuyển hóa hoàn toàn 750 mg/L amoni sau 05 ngày nuôi cấy, tốc độ chuyển hóa tăng khi nồng độ amoni thử nghiệm tăng từ: 100, 500, 750 mg/L. Trong quá trình chuyển hóa amoni của 04 chủng này thì ngoài khả năng chuyển hóa amoni thành nitrit chúng còn chuyển hóa tiếp nitrit thành nitrat.

- Kết quả đánh giá điều kiện sinh trưởng của các chủng chuyển hóa amoni phân lập được khá phù hợp với kết quả của một số chủng khác đã công bố (Bảng 3.3).

Bảng 3.3. Điều kiện sinh trưởng của các chủng phân lập và chủng đã công bố

Chều kiện sin	**Điều kiện tiều k**		**Điều kiện sinh tr**		
	Nhiu kiệ (^{0}C)	**pH**	**DO** (mg/L)	**Đmg/L)iệ**(%)	**Amoni** (mg/L)
B. cereus GS-5 [83]	35	7,0 - 7,5			
B. MS30 [131]			Phân lLINđáy biLIN		
B. velezensis MT50 [133] *B. amyloliquefaciens* MT51 [133]	37	7,0	Phân lLINK \l "_ENREF_133" \	4,0	
P. aeruginosa NF011 [134]				8,0	

Chều kiện sin	Điều kiện tiều k		Điều kiện sinh tr		
	Nhiu kiệ (^{0}C)	**pH**	**DO** (mg/L)	**Đmg/L)iệ**(%)	**Amoni** (mg/L)
P. aeruginosa YL [137]	30	7,0	Phân lLINK \l "_ENR		
B. megaterium HT1 *B. licheniformis* HT1 *B. subtilis* HT1 *P. aeruginosa* HT1	30 - 37	7,0-7,5	0,1	3,0	750

Tóm lại, việc phân lập được 04 chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1, *B. licheniformis* HT1, *B. subtilis* HT1, *P. aeruginosa* HT1 có khả năng chuyển hóa amoni trong nghiên cứu này đã khẳng định sự đa dạng của các nhóm vi khuẩn chuyển hóa amoni trong tự nhiên. Năng lực chuyển hóa, khả năng sinh trưởng khá tốt trong một số điều kiện môi trường bất lợi của bốn chủng phân lập được đã được chứng minh qua các kết quả thí nghiệm và nhiều kết quả nghiên cứu có liên quan khác ở trong nước và trên thế giới. Điều này đã khẳng định tiềm năng ứng dụng rất lớn của chúng để xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải. Tuy nhiên đối với chủng *P. aeruginosa* HT1 do thuộc loài vi khuẩn *P. aeruginosa* được biết đến là trực khuẩn mủ xanh, gây bệnh cho người và động vật nên khuyến cáo rằng không ứng dụng chủng này cho việc xử lý nước thải. Trong nghiên cứu này sẽ không sử dụng chủng *P. aeruginosa* HT1 cho các khảo sát tiếp theo.

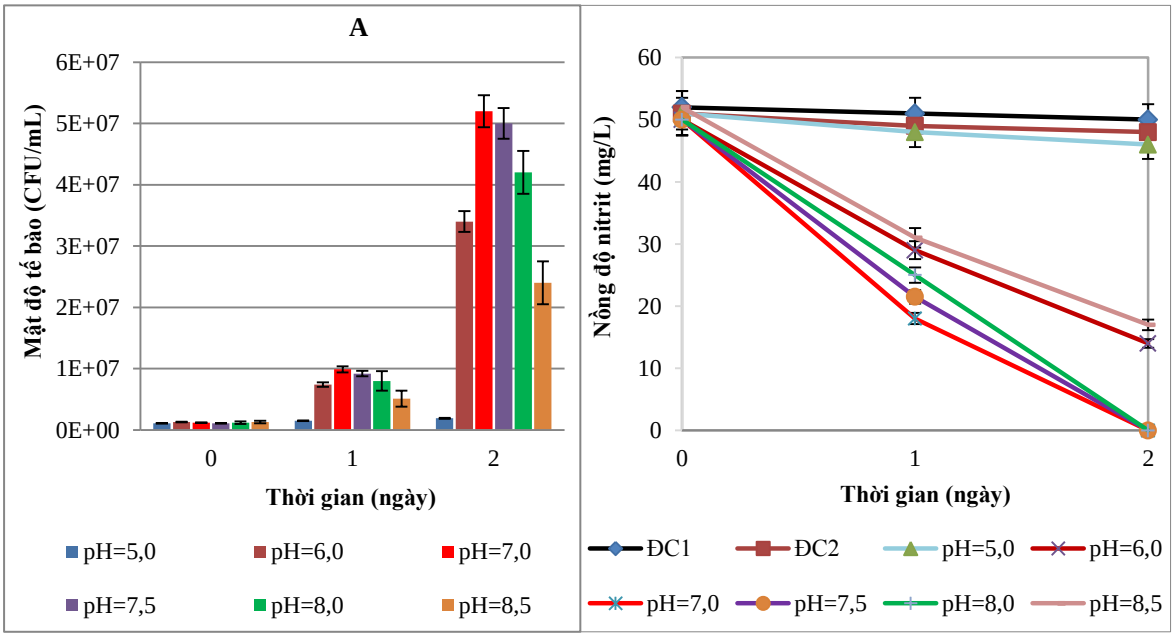
3.2.2. Khảo sát các chủng chuyển hóa nitrit

3.2.2.1. Ảnh hưởng của pH

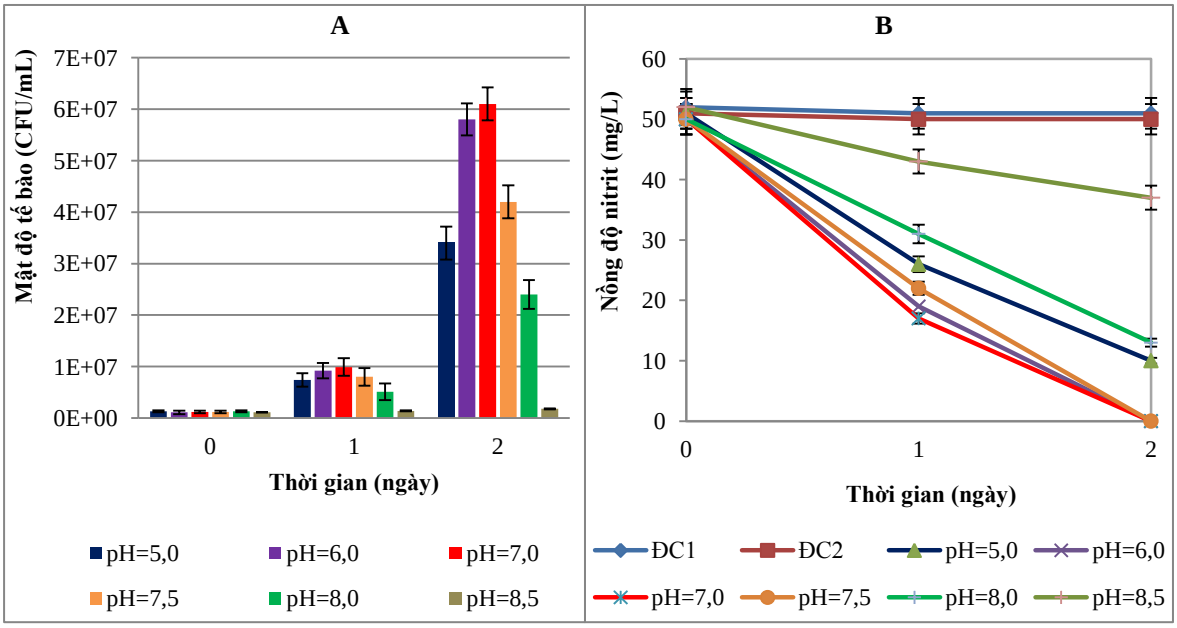
Kết quả nuôi cấy chủng *P. stutzeri* HT2 trong môi trường khoáng có các mức pH khác nhau là: 5,0; 6,0; 7,0; 7,5; 8,0 và 8,5 cho thấy, chủng *P. stutzeri* HT2 có thể sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong khoảng pH thử nghiệm từ 6,0-8,5 và tối ưu trong khoảng pH từ 7,0 - 8,0 (Hình 3.28), kết quả chứng tỏ rằng chủng *P. stutzeri* HT2 thích nghi tốt hơn trong môi trường trung tính và kiềm. Điều này khá phù hợp với kết quả của một số nghiên cứu

khác đã công bố [138].

Sự khác biệt về ảnh hưởng của pH đối với khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit được tìm thấy ở chủng vi khuẩn *L. fermentum* HT2. Kết quả thể hiện trên Hình 3.29 cho thấy, chủng vi khuẩn này có thể sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong khoảng pH từ 5,0 - 8,0 và tối ưu trong khoảng pH từ: 6,0 - 7,0 chứng tỏ chủng vi khuẩn *L. fermentum* HT2 thích nghi tốt hơn trong môi trường trung tính và axit. Điều này khá phù hợp với kết quả của một số nghiên cứu khác đã công bố [139].



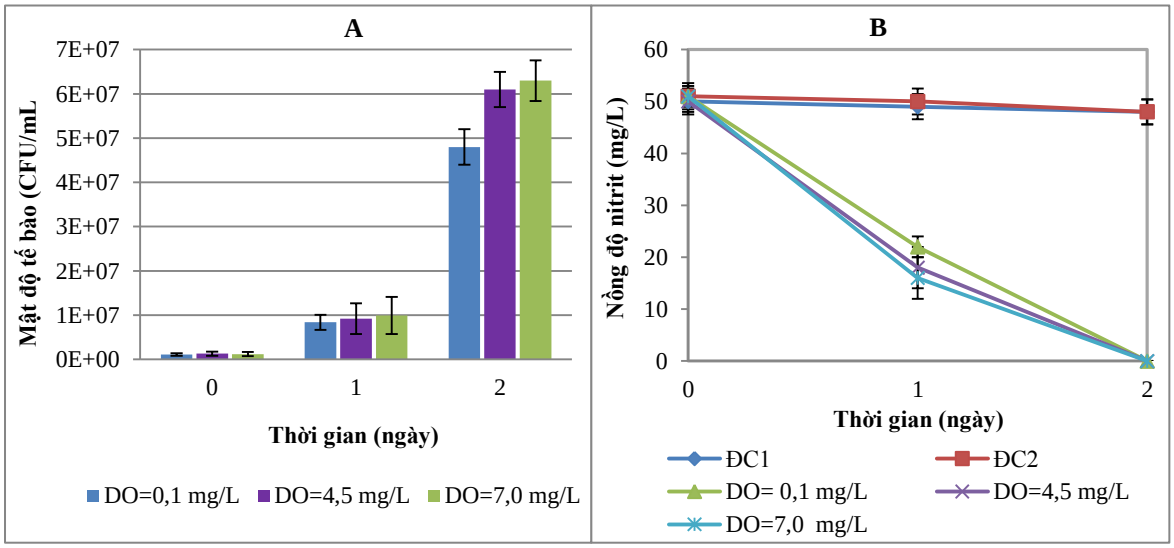
Hình 3.28. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng **(A)** và chuyển hóa nitrit **(B)** của *P. stutzeri* HT2



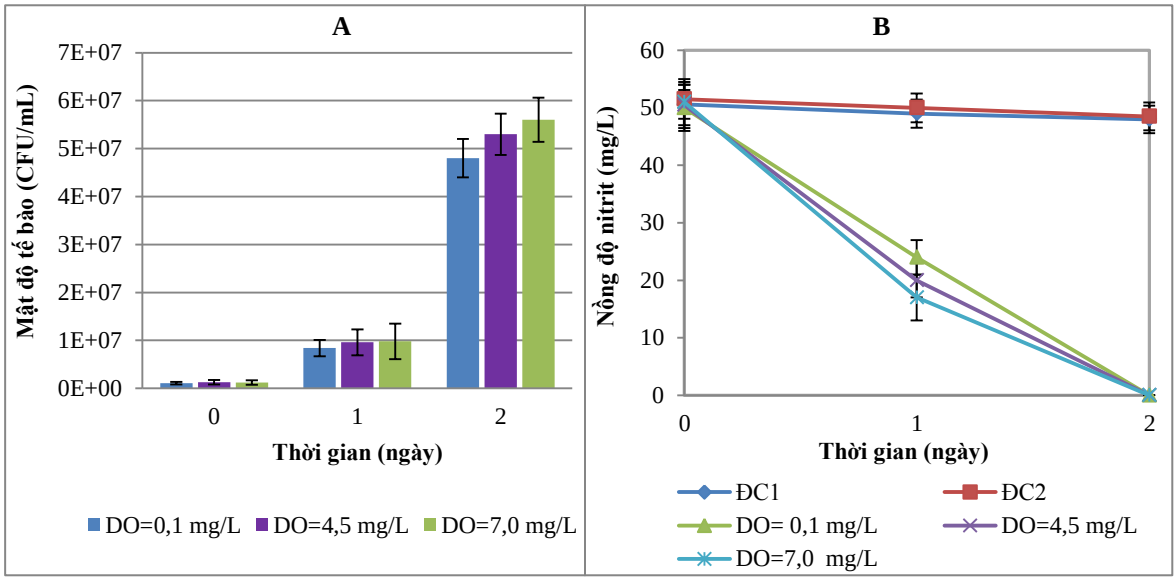
Hình 3.29. Ảnh hưởng của pH đến khả năng sinh trưởng **(A)** và chuyển hóa nitrit **(B)** của *L. fermentum* HT2

3.2.2.2. Ảnh hưởng của DO và nhiệt độ

Ba mức DO là 0,1; 4,5 và 7,0 mg/L được khảo sát cho khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit của hai chủng *P. stuzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 trong môi trường có pH=7,0, mức pH đã được chứng minh là có sự sinh trưởng và chuyển hóa nitrit tối ưu của hai chủng này. Kết quả đã chứng tỏ rằng hai chủng *P. stuzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit ở mức DO rất thấp (0,1 mg/L) và không có sự khác biệt lớn về tốc độ chuyển hóa nitrit giữa các môi trường nuôi cấy có các mức oxy hòa tan (0,1; 4,5 và 7,0 mg/L) thử nghiệm (Hình 3.30 và Hình 3.31). Điều này được khẳng định bởi nhiều chủng vi khuẩn thuộc loài *L. fermentum* [140] và *P. stutzeri* [141] có thể phát triển ở điều kiện thiếu khí.

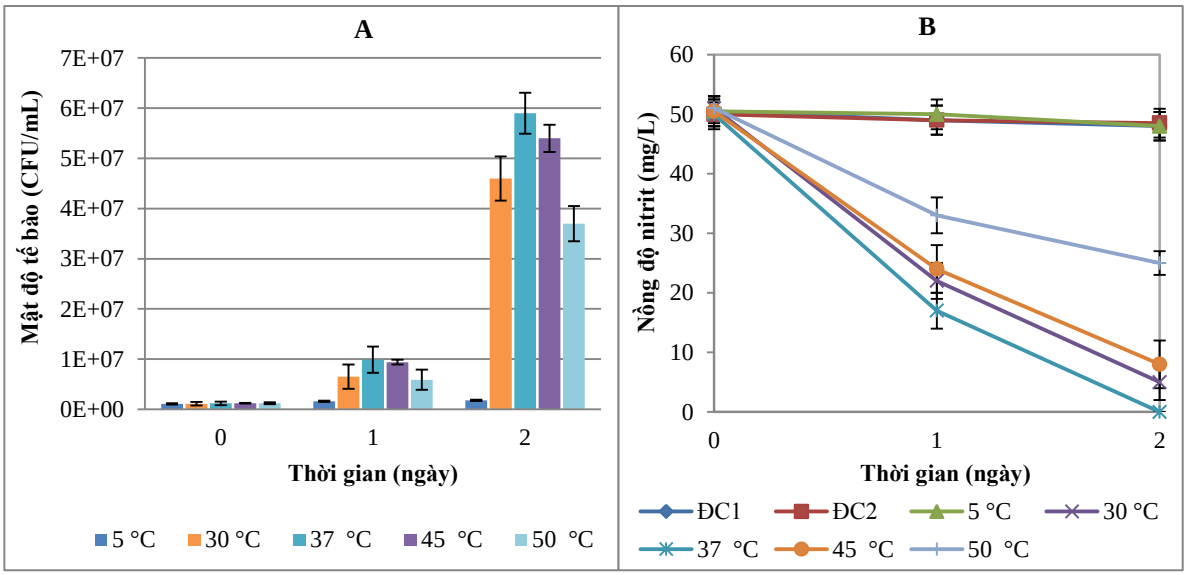


Hình 3.30. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng**(A)** và chuyển hóa nitrit **(B)** của *P. stuzeri* HT2

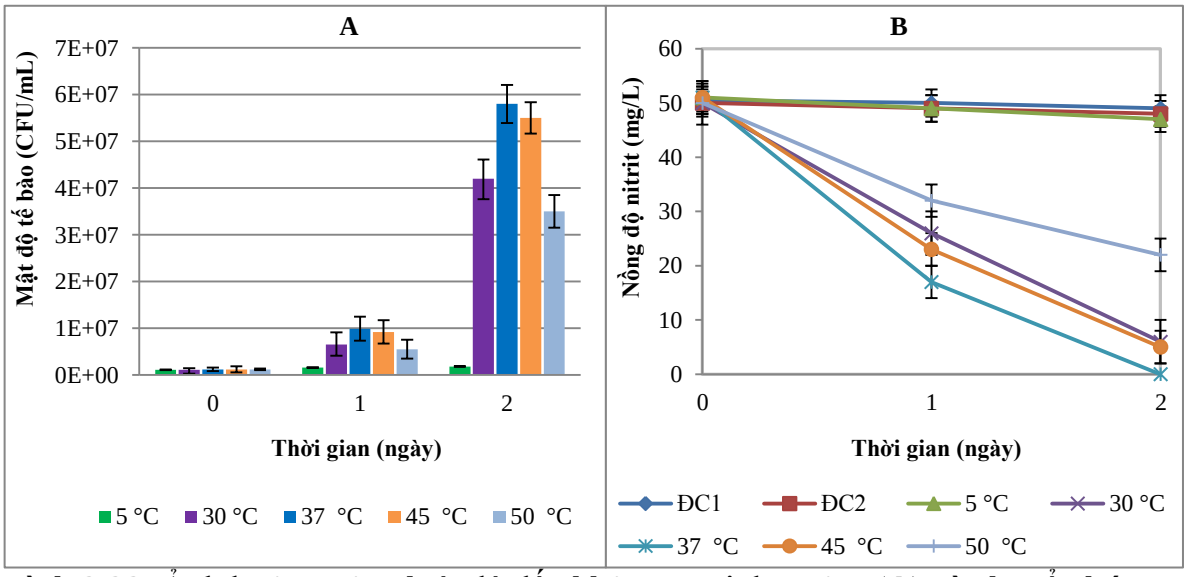


Hình 3.31. Ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng**(A)** và chuyển hóa nitrit **(B)** của L. fermentum HT2

Bên cạnh thử nghiệm ảnh hưởng của DO thì sự ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởngvà chuyển hóa nitrit của *P. stuzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 cũng đươc khảo sát ở 05 mức nhiệt độ là 5; 30; 37; 40; 45 và 50 ^{0}C. Kết quả thử nghiệm (Hình 3.32 và Hình 3.33) cho thấy *P. stuzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 đều là chủng vi khuẩn ưa ấm (mesophilic) và có khả năng phát triển sinh khối, chuyển hóa nitrit ở: 30; 37, 45 và 50^{o}C, trong đó tốt nhất là ở 37 ^{o}C, điều này phù hợp với một số nghiên cứu về loài vi khuẩn *P. stuzeri* [142] và *L. fermentum* [143]. Ngoài ra, khả năng sinh trưởng và chuyển hóa của tất cả các chủng không diễn ra ở mức nhiệt độ thử nghiệm là 5 ^{o}C, trong khi đó một số tài liệu khác chỉ ra rằng ở 15 ^{o}C một số chủng vi khuân *L. fermentum* không phát triển [144] và ở nhiệt độ thấp hơn 20 ^{o}C một số chủng vi khuẩn *P. stuzeri* bị kìm hãm phát triển [142].



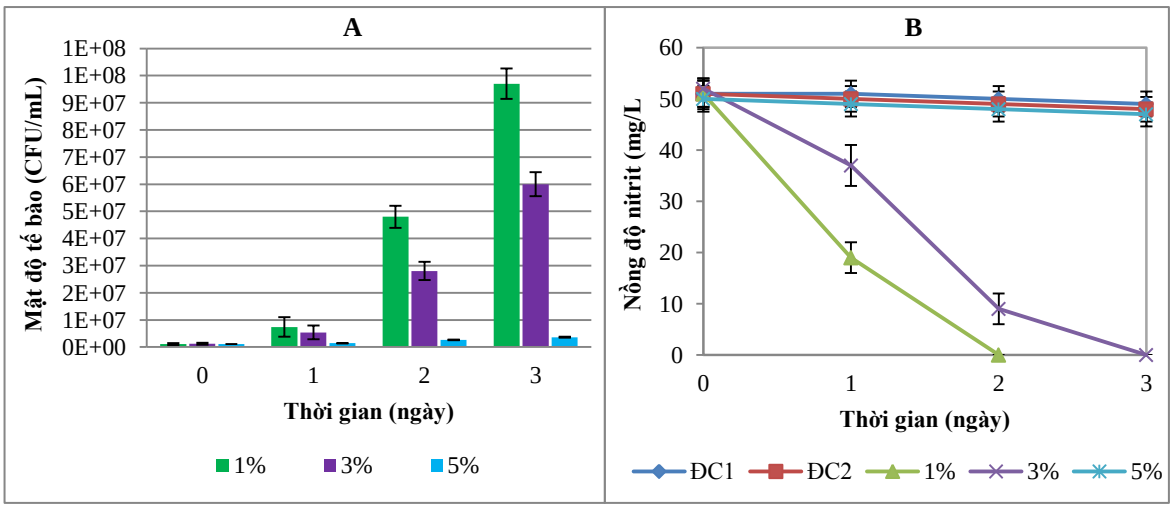
Hình 3.32. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng**(A)** và chuyển hóa nitrit **(B)** của *P. stutzeri* HT2



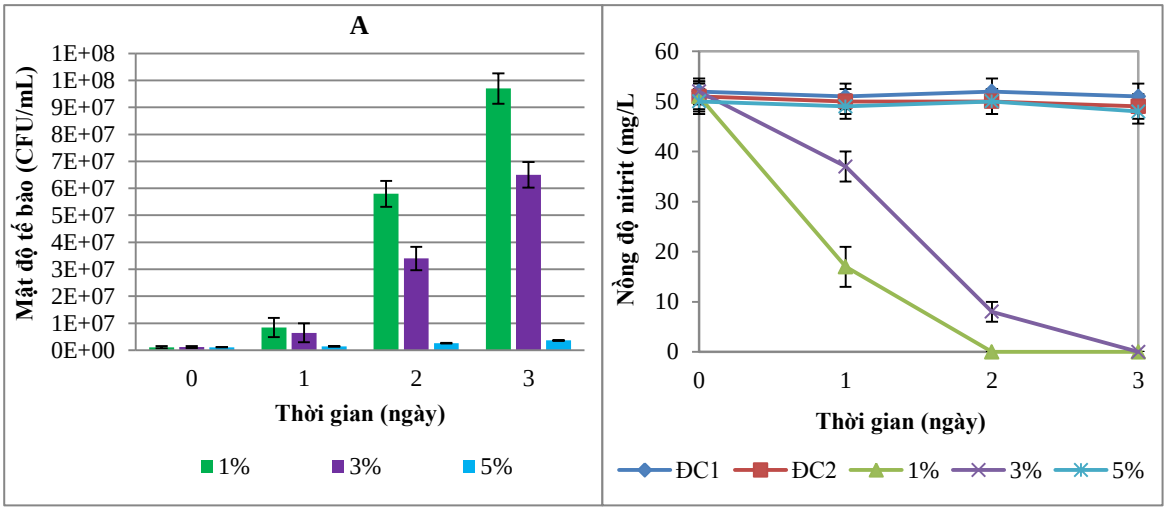
Hình 3.33. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng(**A**) và chuyển hóa nitrit (**B**) của *L. fermentum* HT2

3.2.2.3. Ảnh hưởng của độ muối

Tiến hành đánh giá ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit của *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 trên môi trường khoáng có pH=7,0; nhiệt độ 37 ^{o}C và bổ sung thêm muối NaCl ở các nồng độ 1,0; 3,0 và 5,0%. Kết quả cho thấy 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% trong khi đó khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit của chúng bị mất đi ở môi trường NaCl 5,0% (Hình 3.34 và Hình 3.35). Tuy nhiên, theo kết quả của một số nghiên cứu khác công bố thì một số chủng vi khuẩn *L. fermentum* [145], *P. stutzeri* [142] có thể chịu được độ muối lên đến 5%. Với khả năng chịu được độ muôi cao mở ra tiềm năng ứng dụng rộng rải các chủng này để xử lý các hợp chất của nitơ trong nhiều loại nước thải có độ muối khác nhau từ ngọt, lợ đến mặn.



Hình 3.34. Ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng(**A**) và chuyển hóa nitrit (**B**) của *P. stutzeri* HT2

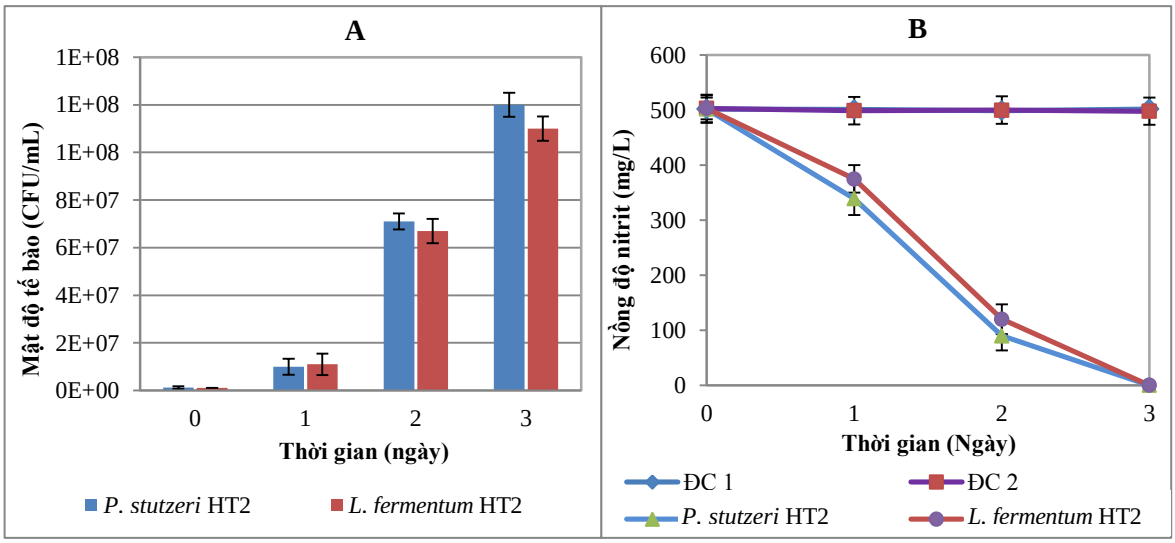


Hình 3.35. Ảnh hưởng của độ muối đến khả năng sinh trưởng(**A**) và chuyển hóa nitrit (**B**) của *L. fermentum* HT2

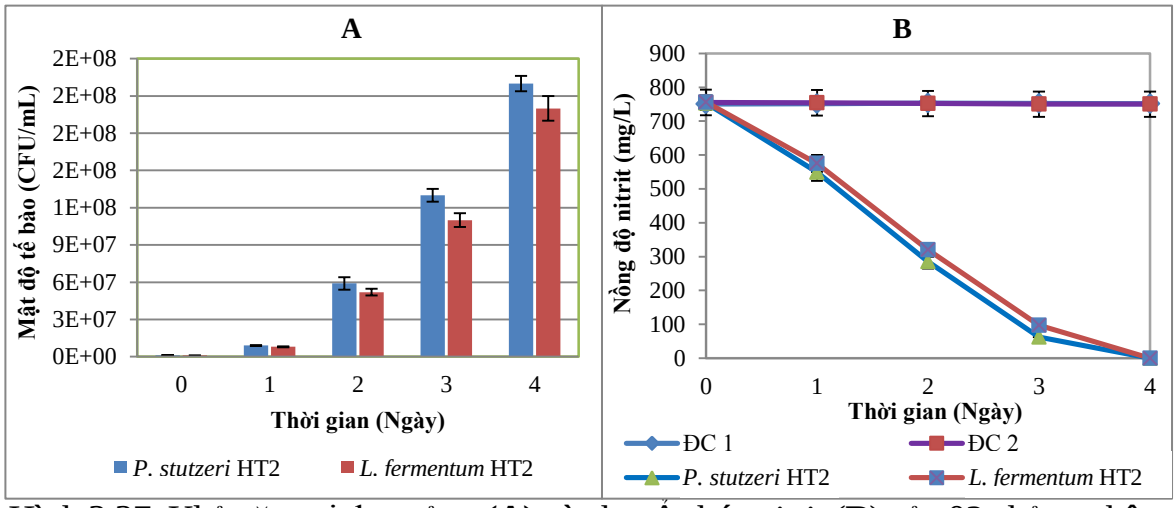
3.2.2.4. Ảnh hưởng của hàm lượng nitrit ban đầu trong muôi trường nuôi cấy

Từ các khảo sát đánh giá ở trên cho thấy cả 02 chủng *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 đều sinh trưởng tốt nhất trên môi trường có pH=7,0; nhiệt độ 37 ^{o}C; DO: 4,5 mg/L nên môi trường nuôi cấy có mức pH=7,0; nhiệt độ 37 ^{o}C và DO: 4,5 mg/L được chọn để khảo sát khả năng chuyển hóa nitrit của 02 này với các hàm lượng nitrit ban đầu trong muôi trường nuôi cấy lần lượt là 100; 500 và 750 mg/L. Mật độ vi khuẩn nuôi cấy ban đầu khoảng 10^6 CFU/mL. Kết quả khảo sát cho thấy cả 02 chủng *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 đều có khả năng 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 trưởngvà 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. Kết quả cũng cho thấy rằng tốc độ chuyển hóa nitrit tỷ lệ thuận với nồng độ nitrit thử nghiệm, tức là tốc độ chuyển hóa nitrit tăng lên trong các bình nuôi cấy có nồng độ nitrit tăng lên. Ngoài ra, khi so sánh mật độ vi khuẩn của cả 02 chủng thử nghiệm trong các bình nuôi cấy có chứa các hàm lượng nitrit ban đầu tăng dần lên cho thấy, hàm lượng nitrit ban đầu không ảnh hưởng nhiều đến khả năng sinh trưởngcủa cả 02 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Quá trình chuyển hóa nitrit không tìm thấy trong các bình đối chứng hoặc không bổ sung các chủng vi khuẩn (ĐC1) hoặc có bổ sung các chủng vi khuẩn đã được hấp khử trùng trước khi cho vào môi trường

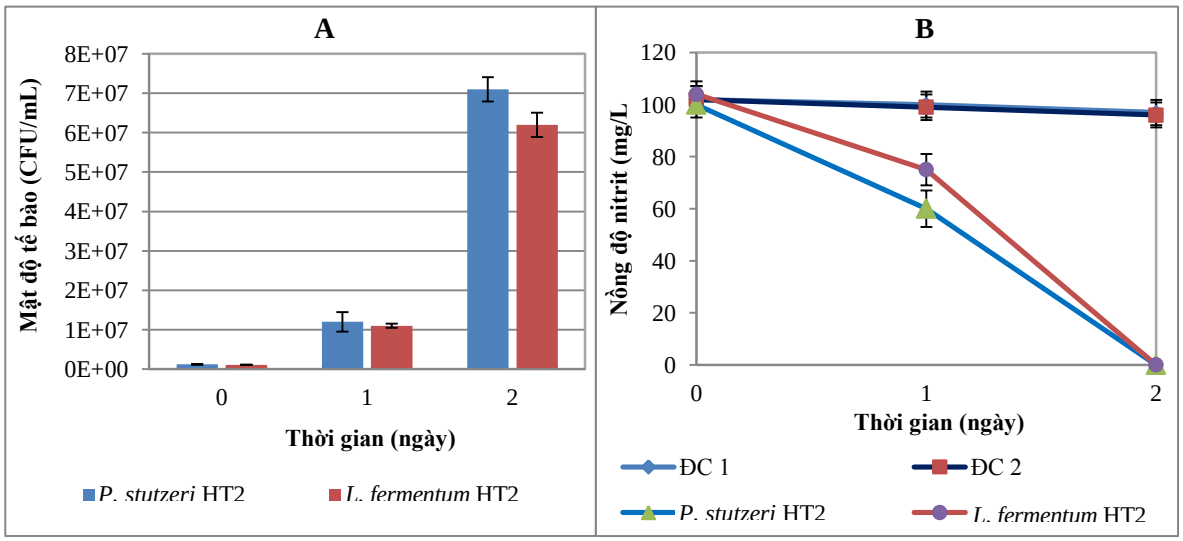
(ĐC2) do đó có thể khẳng định rằng sự chuyển hóa nitrit được thực hiện bởi các chủng khảo sát (Hình 3.36; Hình 3.37; Hình 3.38).



Hình 3.36. Khả năng sinh trưởng **(A)** và chuyển hóa nitrit (**B**) của 02 chủng phân lập được trong môi trường nuôi cấy có nitrit = 100 mg/L

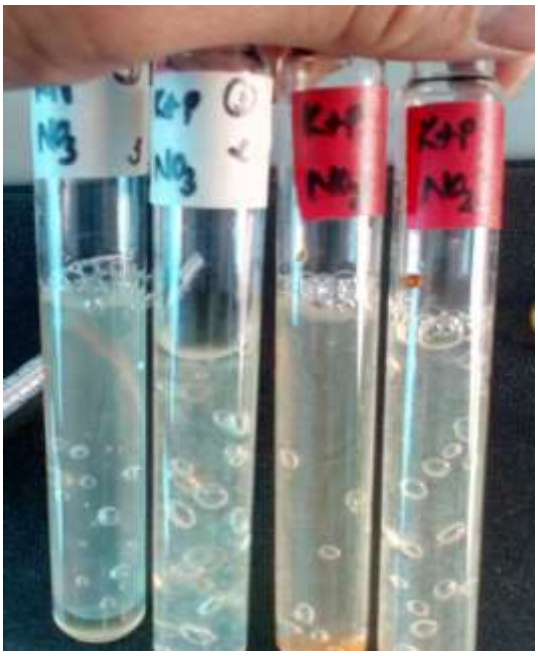


Hình 3.37. Khả năng sinh trưởng **(A)** và chuyển hóa nitrit (**B**) của 02 chủng phân lập được trong môi trường nuôi cấy có nitrit = 500 mg/L



Hình 3.38. Khả năng sinh trưởng (**A**) và chuyển hóa nitrit (**B**) của 02 chủng phân lập được trong môi trường nuôi cấy có nitrit = 750 mg/L

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 thầy không có sự hình thành nitrat. Ngoài ra, 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 nitit 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 (low temperature melting agar) thì xuất hiện nhiều bọt khí trong ống nghiệm và trên bề mặt thạch đặc (Hình 3.39). 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. Suy luận này phù hợp với một số nghiên cứu đã công bố [138, 146] về con đường chuyển hóa nitơ của hai loài vi khẩn này. Tuy nhiên, cần phân tích thêm các khí tạo thành trong ống nghiệm quan sát sát được để khẳng định khả năng khử nitrit/nitrat của hai chủng này.



Hình 3.39. Bọt khí trong ống nghiệm của *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2

3.2.2.5. Tổng hợp kết quả khảo sát các chủng chuyển hóa nitrit

Việc phân lập được hai chủng *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 có

khả năng chuyển hóa nitrit từ mẫu nước thải sau bể biogas của lò mổ và một số trang trại CNL của nghiên cứu này cùng với nhiều nghiên cứu khác đã công bố (Bảng 3.2) một lần nữa khẳng định khả năng chuyển hóa nitrit của *L. fermentum, P. stutzeri* và chứng minh vai trò quan trọng của chúng trong chu trình nitơ tự nhiên cũng như ứng dụng vào xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải. Kết quả thí nghiệm cho thấy hai chủng *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 có thể sinh trưởng, phát triển tốt trong môi trường khoáng, mật độ vi khuẩn của cả 02 chủng đều tăng lên với cấp số nhân chỉ sau 02 ngày nuôi cấy. Điều đó chứng tỏ rằng 02 chủng vi khuẩn phân lập được có khả năng thích nghi cao với nhiều môi trường sống khác nhau mặc dù chúng được biết đến là những vi khuẩn dị dưỡng. Nghiên cứu chỉ ra rằng quá trình chuyển hóa nitrit/nitrat của *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 là quá trình khử, chúng có thể thực hiện quá trình khử nitrit lên đến khoảng 750 mg/L điều này mở ra tiềm năng lớn của việc ứng dụng các chủng này vào xử lý các hợp chất nitơ trong nước thải. Kết quả thử nghiệm về ảnh hưởng của DO đến khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit cho thấy cả 02 chủng *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 đều có khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong môi trường có oxy rất thấp (đến 0,1 mg/L). Điều này được khẳng định bởi nhiều chủng thuộc loài *L. fermentum* [140] và *P. stuzeri* [141] có thể phát triển ở điều kiện thiếu khí. Khả năng sinh trưởng và chuyển hóa nitrit trong môi trường có DO thấp một lần nữa khẳng định thêm tiềm năng ứng dụng to lớn của các chủng vi khuẩn phân lập được trong xử lý nitrit của nước thải, đặc biệt là trong các quá trình xử lý thiếu khí. Tương tự, kết quả thử nghiệm khả năng chịu muối của các chủng vi khuẩn này cho thấy rằng cả 02 chủng *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 có khả năng sinh trưởngvà chuyển hóa nitrit trong môi trường có độ muối cao (lên đến 3,0% tương đương với độ muối của nước biển). Điều này một lần nữa khẳng định vai trò quan trọng của các chủng vi khuẩn này trong chu trình nitơ tự nhiên vì chúng có thể chuyển hóa nitrit trong cả môi trường nước ngọt, nước lợ và môi trường nước biển. Kết quả thử nghiệm đối chứng âm gồm các bình môi trường có chứa nitrit nhưng không có bổ sung vi khuẩn

hay đối chứng chứa môi trường có bổ sung vi khuẩn đã được hấp khử trùng hoàn toàn cho thấy không có bất kỳ dấu hiệu nào của sự chuyển hóa nitrit. Điều đó chứng tỏ rằng sự chuyển hóa nitrit trong các bình thử nghiệm là do 02 chủng *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 thực hiện.

Cho đến nay ngày càng nhiều nhóm vi khuẩn khác nhau được công bố tham gia vào quá trình chuyển hóa nitrit. Tuy nhiên, sự đa dạng và năng lực chuyển hóa nitrit của các loại vi khuẩn này vẫn còn hạn chế đã khiến cho vi khuẩn *Nitrobacter* vẫn được biết đến như là một vi khuẩn có vai trò quan trọng và phổ biến trong quá trình chuyển hóa nitrit trong tự nhiên cũng như trong các công trình xử lý nước thải. Do đó, việc phân lập được 02 chủng *P. stutzeri* HT2, *L. fermentum* HT2 có khả năng chuyển hóa nitrit đã khẳng định sự đa dạng của các nhóm vi khuẩn chuyển hóa nitrit trong tự nhiên. Ngoài ra, với năng lực chuyển hóa và những đặc tính nổi trội hơn rất nhiều của chúng so với vi khuẩn *Nitrobacter*, một nhóm vi khuẩn đã biết đến và áp dụng rất rộng rãi trong xử lý nitrit hiện nay, đã khẳng định tiềm năng ứng dụng rất lớn của chúng để xử lý các hợp chất nitơ trong các loại nước thải.

Bảng 3.4. Điều kiện sinh trưởng của hai chủng phân lập được và một số chủng đã công bố

Chủng vi sinh	**Điều kiện tối ưu**		**Điều kiện bất lợi**		
	Nhiệt độ (^{0}C)	**pH** `	**DO** (mg/L)	**Độ muối** (%)	**Nitrit** (mg/L)
L. fermentum NDRI 141 [140]	37	5 - 6	Hiếu/thiếu/ yếm khí		
L. fermentum SHY10 [143]	37				
L. fermentum LC5/a [145]				5	
L. fermentum RC4 [146]					500
P. stutzeri F2 [138]	28	7,2 - 8,0			300
P. stutzeri SGM-1[142]	30 - 40			5	
P. stutzeri T13 [147]	30	7,2	Hiếu/		

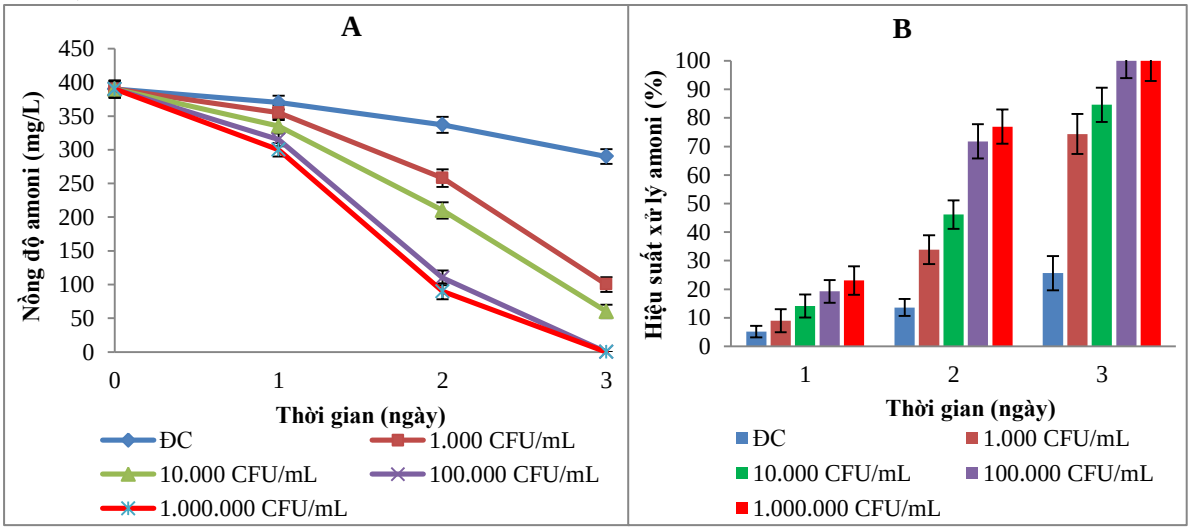
Chủng vi sinh	Điều kiện tối ưu		Điều kiện bất lợi		
	Nhiệt độ (^{0}C)	pH `	DO (mg/L)	Độ muối (%)	Nitrit (mg/L)
			thiếu khí		
P. stuzeri HT2	37	7,0 - 8,0	0,1	3	750
L. fermentum HT2	37	6,0 - 7,0	0,1	3	750

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

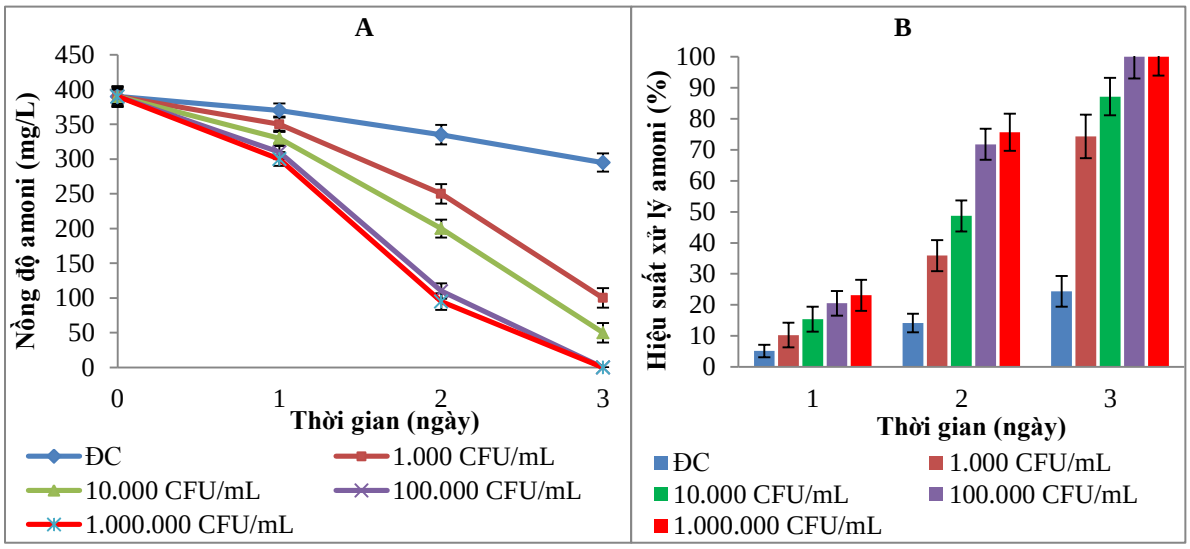
3.3.1. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa amoni

Khảo sát ảnh hưởng của việc bổ sung mật độ vi sinh ban đầu đến khả năng chuyển hóa amoni nhằm lựa chọn được mật độ tối ưu cho việc xử lý amoni trong nước thải chăn nuôi lợn sau biogas đồng thời tối ưu hóa được chi phí xử lý.

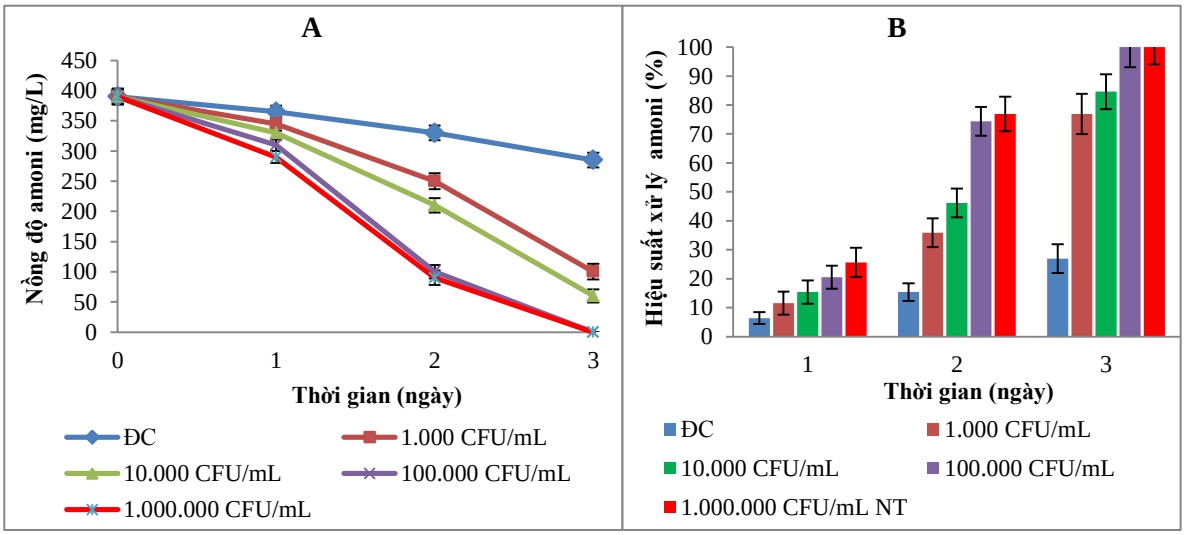
Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của mật độ vi sinh bổ sung ban đầu với các mức từ 10^3, 10^4, 10^5 và 10^6 CFU/mL đến khả năng loại bỏ amoni trong nước thải CNL sau bể biogas của ba chủng: *B. megaterium* HT1, *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1, kết quả được thể hiện trên các Hình 3.40, Hình 3.41 và Hình 3.42.



Hình 3.40. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa (**A**) và xử lý (**B**) amoni trong nước thải CNL sau bể biogas của *B. megaterium* HT1



Hình 3.41. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa (**A**) và xử lý (**B**) amoni trong nước thải CNL sau bể biogas của *B. licheniformis* HT1



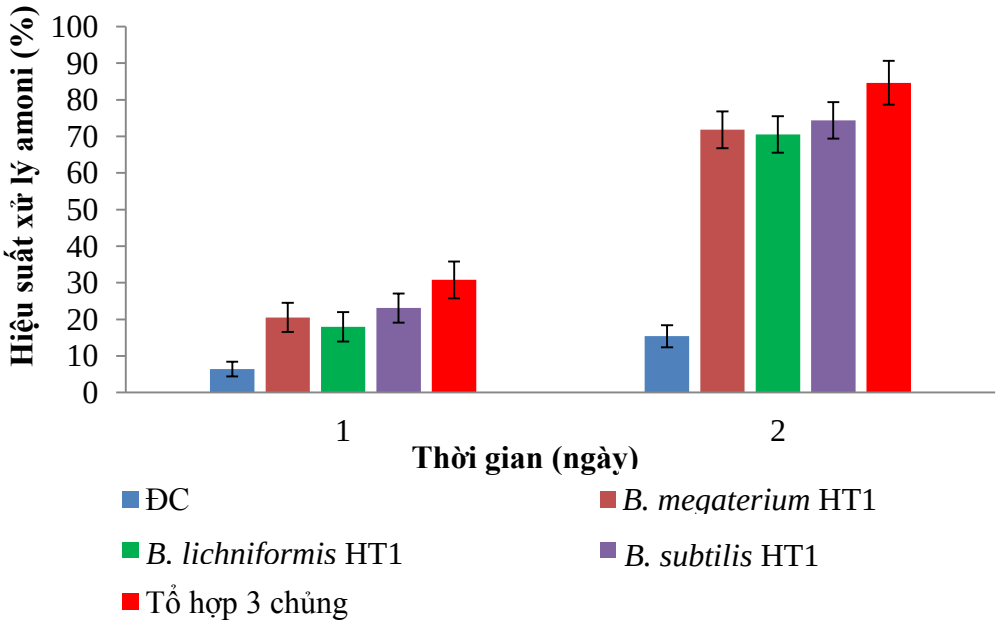
Hình 3.42. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa (**A**) và xử lý (**B**) amoni trong nước thải CNL sau bể biogas của *B. subtilis* HT1

Qua các kết quả khảo sát cho thấy, với hàm lượng amoni ban đầu trong nước thải nghiên cứu khoảng 400 mg/L ± 20, khả năng xử lý amoni của cả 3 chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1 đều tăng theo mức tăng mật độ vi sinh (từ 10^3 - 10^6 CFU/mL) bổ sung ban đầu vào nước thải. Trong đó, ở hai mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL khả năng xử lý/chuyển hóa amoni của cả ba chủng cao hơn hẳn so với các mật độ còn lại (10^3 - 10^4 CFU/mL và đối chứng). Chúng đã chuyển hóa hoàn toàn lượng amoni ban đầu sau 3 ngày xử lý (đạt 100 %) trong khi đó ở mật độ 10^4

CFU/mL và 10^3 CFU/mL sau 3 ngày xử lý, cả ba chủng chuyển hóa được lượng amoni ban đầu lần lượt về khoảng 50 - 60 mg/L (đạt 85 - 87 %) và 90 - 100 mg/L (đạt 74 - 77 %). Ở bình đối chứng (không bổ sung vi khuẩn), sau 3 ngày xử lý, lượng amoni ban đầu được chuyển hóa về khoảng 285 - 295 mg/L (đạt 24 - 27 %). So sánh hiệu quả xử lý amoni giữa hai mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL của ba chủng cho thấy gần như tương đương nhau. Như vậy, kết quả của nghiên đã chỉ ra rằng, mật độ bổ sung vi sinh ban đầu ở mức 10^5 CFU/mL hoặc 10^6 CFU/mL là khá phù hợp cho việc nâng cao hiệu quả loại bỏ amoni trong nước thải CNL sau bể biogas ở cả ba chủng nghiên cứu nhưng nếu phân tích thêm về khía cạnh chi phí xử lý, ở mật độ 10^5 CFU/mL (1 lit chế phẩm có mật độ 10^9 CFU/mL xử lý được 10 m^3 nước thải) có chi phí xử lý thấp hơn 10^6 CFU/mL (1 lit chế phẩm có mật độ 10^9 CFU/mL xử lý được 1 m^3 nước thải). Do đó, đề xuất chọn mức bổ sung mật độ vi sinh ban đầu là 10^5 CFU/mL nước thải để ứng dụng 3 chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1 cho việc xử lý amoni trong nước thải CNL sau bể biogas.

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

Bổ sung tổ hợp cả ba chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1 với tỷ lệ 1:1:1 ở mật độ vi sinh là 10^5 CFU/mL vào nước thải CNL sau bể biogas, tiến hành phân tích, đánh giá khả năng loại bỏ amoni của tổ hợp chủng, sau đó so sánh hiệu suất chuyển hóa amoni với ba chủng riêng lẻ (sử dụng kết quả ở mục 3.3.1) cùng ở mật độ tối ưu ban đầu là 10^5 CFU/mL được kết quả thể hiện trên Hình 3.43.



Hình 3.43.So sánh khả năng loại bỏ amoni trong nước thải CNL sau bể biogas giữa các chủng riêng lẻ và tổ hợp các chủng phân lập được

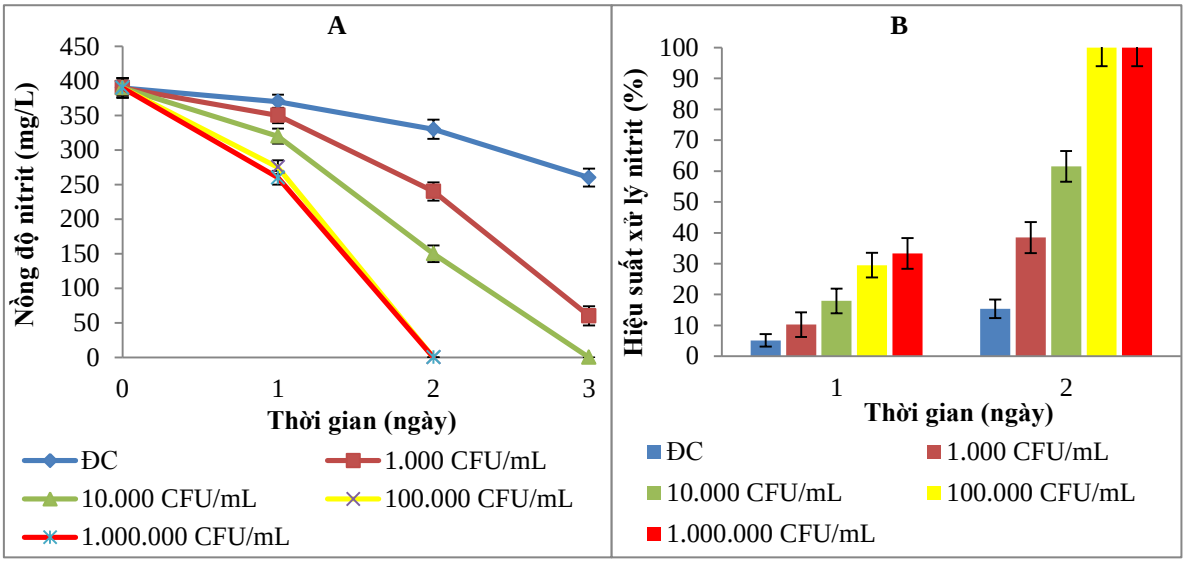
Kết quả thể hiện trên Hình 3.43 cho thấy, khả năng loại bỏ amoni trong nước thải CNL sau bể biogas của ba chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1 gần như tương đương nhau, sau 2 ngày khảo sát hiệu suất chuyển hóa/xử lý amoni đạt khoảng 71% - 74%. Tuy nhiên, so sánh với kết quả khảo sát của tổ hợp 3 chủng thì hiện quả loại bỏ amoni của từng chủng riêng lẽ thấp hơn từ 11% - 14%. Điều này có thể là do tổ hợp 3 chủng tạo ra ưu thế cho việc có thể sử dụng được nhiều nguồn cơ chất phù hợp cho việc sinh trưởng và chuyển hóa cũng như giảm bớt rủi ro do sự cạnh tranh của các vi khuẩn khác có trong nước thải. Ngoài ra, hiệu suất loại bỏ amoni trong nước thải CNL sau biogas của ba chủng riêng lẽ và tổ hợp ba chủng cao hơn rất nhiều so với bình không bổ sung vi sinh (đối chứng), chỉ đạt khoảng 16% sau 2 ngày khảo sát. Điều này chứng minh rằng trong nước thải vẫn có hệ vi sinh vật có khả năng chuyển hóa amoni nhưng hiệu quả xử lý thấp hơn nhiều so với có bổ sung các chủng vi sinh phân lập được vào trong hệ xử lý. Từ các kết quả thí nghiệm cho thấy, việc ứng dụng 3 chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 *và B. subtilis* HT1 sẽ nâng cao được hiệu quả loại bỏ amoni trong nước thải CNL sau biogas một cách rõ nét, trong đó sử dụng tổ hợp đồng thời cả ba chủng với tỷ lệ 1:1:1 ở mật độ 10^5 CFU/mL là tối ưu nhất.

Các nghiên cứu ứng đơn chủng, tổ hợp chủng vi khuẩn trong XLNT CNL đã có một số kết quả công bố như: Liu và cộng sự [148], ứng dụng hỗn hợp vi khuẩn *Pseudomonas geniculata* ATCC 19374 và *Bacillus cereus* EC3 xử lý nước thải chăn nuôi, hiệu quả xử lý của hỗn hợp vi khuẩn trên với amoni trong vòng 72 giờ là 70 % cao hơn so với đơn chủng vi khuẩn; Guo và cộng sự [149], cố định *Bacillus subtilis* trong chất mang composite chitosan-natri alginate để loại bỏ amoniac khỏi nước thải CNL sau xử lý kỵ khí, cho kết quả cả hoạt động hấp phụ và hoạt động của vi sinh vật đều góp phần loại bỏ nitơ amoniac và đóng góp của chúng lần lượt là 54,3% và 42,2%; Huỳnh Văn Tiến và cộng sự [150], ứng dụng chủng vi khuẩn có khả năng tổng hợp chất kết tụ sinh học *Bacillus aryabhattai* KG12S để xử lý nước thải CNL sau biogas, cho

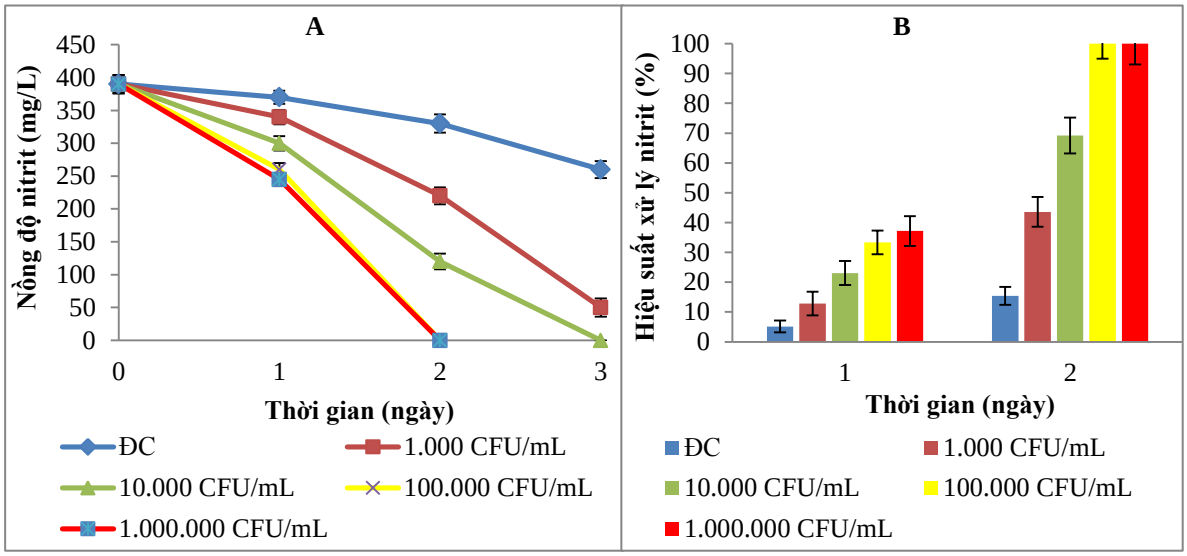
hiệu quả xử lý amoni đạt 77,78%. Các công bố này một lần nữa cũng cố thêm cơ sở khoa học và thực tiễn cho các kết quả nghiên cứu về khả năng loại bỏ amoni trong nước thải CNL của ba chủng vi khuẩn *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và B. *subtilis* HT1, đồng thời nếu so sánh về hiệu quả loại bỏ amoni thì ba chủng này cho hiệu quả cao hơn nhiều so với các công bố trên, đạt 85% sau 48 giờ xử lý của tổ hợp ba chủng. Đây có thể được xem là một điểm ưu thế về khả năng loại bỏ amoni trong nước thải CNL của tổ hợp ba chủng *B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 và *B. subtilis* HT1.

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

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của mật độ vi sinh bổ sung ban đầu với các mức từ 10^3, 10^4, 10^5 và 10^6 CFU/mL đến khả năng loại bỏ nitrit trong nước thải CNL sau biogas của: *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 được thể hiện trên Hình 3.44, Hình 3.45.



Hình 3.44. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa (**A**) và hiệu suất xử lý (**B**) nitrit trong nước thải CNL của *P. stutzeri* HT2

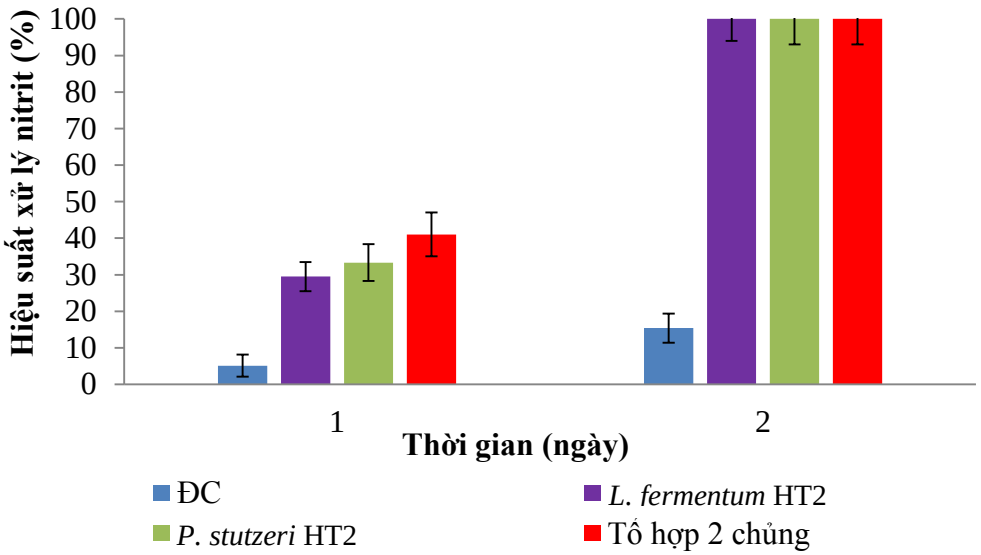


Hình 3.45. Ảnh hưởng của mật độ vi sinh đến khả năng chuyển hóa (**A**) và hiệu suất xử lý (**B**) nitrit trong nướutrit CNL của *L. fermentum* HT2

Kết quả cho thấy, với hàm lượng nitrit ban đầu trong nước thải nghiên cứu khoảng 400 mg/L ± 20, khả năng chuyển hóa nitrit của 2 chủng *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 đều tăng theo mức tăng mật độ vi sinh bổ sung ban đầu vào nước thải (10^3 - 10^6 CFU/mL). Trong đó, ở hai mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL khả năng xử lý/chuyển hóa nitrit của cả hai chủng cao hơn hẳn so với các mật độ còn lại (10^3 CFU/mL; 10^4 CFU/mL và đối chứng). Chúng đã chuyển hóa hoàn toàn lượng nitrit ban đầu sau 2 ngày xử lý (đạt 100 %) trong khi đó ở mật độ 10^4 CFU/mL và 10^3 CFU/mL sau 2 ngày xử lý: chủng *P. stutzeri* HT2 chuyển hóa được lượng nitrit ban đầu lần lượt về khoảng 120 mg/L (đạt 69%) và 220 mg/L (đạt 44%); chủng *L. fermentum* HT2 chuyển hóa được lượng nitrit ban đầu lần lượt về khoảng 150 mg/L (đạt 62%) và 240 mg/L (đạt 39%) . Ở bình không bổ sung vi khuẩn (đối chứng), sau 2 ngày xử lý, lượng nitrit ban đầu được chuyển hóa về khoảng 330 mg/L (đạt 15 %). So sánh hiệu quả xử lý amoni giữa hai mật độ 10^5 CFU/mL và 10^6 CFU/mL của hai chủng cho thấy gần như tương đương nhau. Như vậy, kết quả của nghiên đã chỉ ra rằng, mật độ bổ sung vi sinh ban đầu ở mức 10^5 CFU/mL hoặc 10^6 CFU/mL là khá phù hợp cho việc nâng cao hiệu quả xử lý nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas ở cả hai chủng nghiên cứu nhưng nếu phân tích thêm về khía cạnh chi phí xử lý, ở mật độ 10^5 CFU/mL có chi phí xử lý thấp hơn 10^6 CFU/mL. Do đó, nghiên cứu đề xuất chọn mức bổ sung mật độ vi sinh ban đầu là 10^5 CFU/mL nước thải để ứng dụng hai chủng *P. stutzeri* HT2 và *L. fermentum* HT2 cho việc xử lý nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas.

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

Tổ hợp hai chủng *L. fermentum* HT2 *và P. stutzeri* HT2 với tỷ lệ 1:1 ở mật độ vi sinh 10^5 CFU/mL vào nước thải CNL sau biogas. Tiến hành phân tích, đánh giá khả năng xử lý nitrit của tổ hợp chủng, sau đó so sánh hiệu suất chuyển hóa/xử lý nitrit với hai chủng riêng lẻ (sử dụng kết quả ở mục 3.3.3) cùng ở mật độ tối ưu ban đầu là 10^5 CFU/mL được kết quả thể hiện trên Hình 3.46



Hình 3.46. So sánh khả năng chuyển hóa nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas giữa các chủng riêng lẻ và tổ hợp các chủng phân lập được

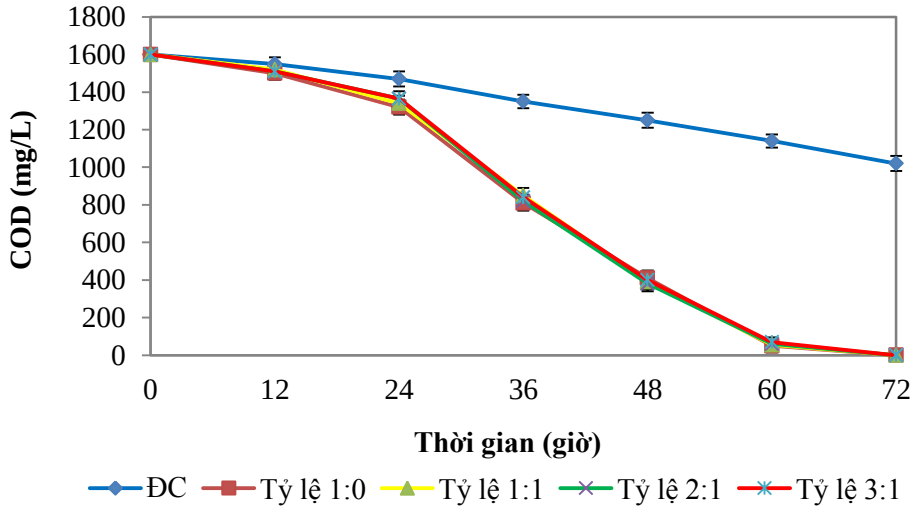
Kết quả thể hiện trên Hình 3.46 cho thấy, hiệu suất chuyển hóa nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas của hai chủng *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 gần như tương đương nhau, sau 1 ngày khảo sát hiệu suất chuyển hóa nitrit đạt khoảng 29% - 33% và sau 2 ngày đạt 100%. Tuy nhiên, so sánh với kết quả khảo sát của tổ hợp 2 chủng thì hiện quả xử lý nitrit của từng chủng riêng lẽ thấp hơn từ 8% - 12% sau ngày thứ nhất. Tuy nhiên sau ngày thứ 2 thì hiệu suất chuyển hóa của đơn chủng và tổ hợp hai chủng tương đương nhau, đều đạt 100%, điều này thể là do lượng cơ chất xử lý ở ngày thứ hai không đủ lớn để tạo điều kiện thuận lợi cho khả năng chuyển hóa nitrit của tổ hợp hai chủng. So sánh hiệu suất xử lý nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas của hai chủng riêng lẽ và tổ hợp hai chủng cao hơn rất nhiều so với bình không bổ sung vi sinh (đối chứng), chỉ đạt khoảng 15% sau 2 ngày khảo sát. Điều này chứng minh rằng trong nước thải có hệ vi sinh vật đa dạng và có khả năng xử lý nước thải nhưng hiệu quả xử lý thấp hơn nhiều so với có bổ sung các chủng vi sinh phân lập được vào trong hệ xử lý. Từ các kết quả

nghiên cứu cho thấy, việc ứng dụng 2 chủng *L. fermentum* HT2 và *P. stutzeri* HT2 sẽ nâng cao được hiệu quả loại bỏ nitrit trong nước thải CNL sau bể biogas một cách rõ nét ở các điều kiện đã thí nghiệm, trong đó sử dụng tổ hợp hai chủng với tỷ lệ 1:1 ở mật độ 10^5 CFU/mL là phù hợp nhất.

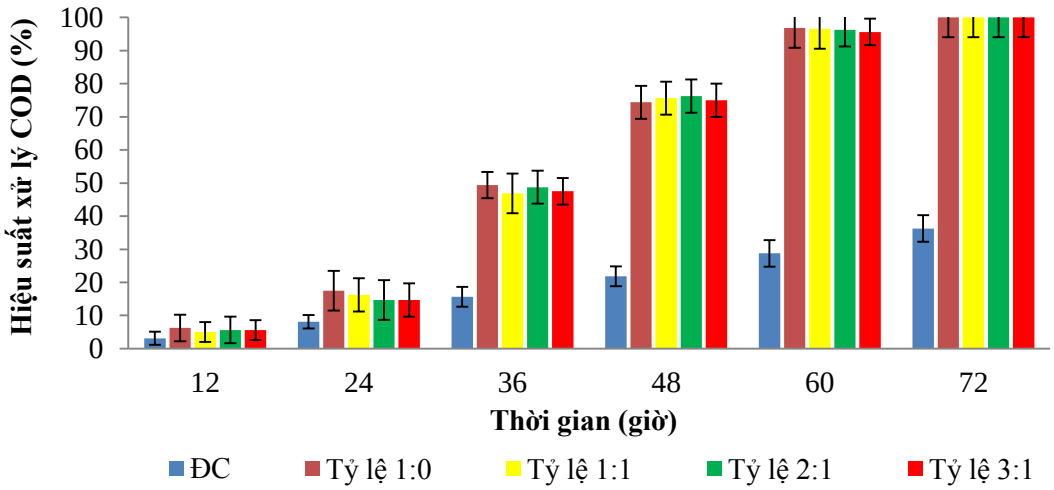
Nhiều nghiên cứu khác đã công bố về khả năng xử lý nitrit của hai loài vi khuẩn *L. fermentum* và *P. stutzeri*. Một số chủng vi khuẩn như: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum* và *Lactobacillus plantrum* có thể làm giảm hiệu quả nồng độ nitrit tạo ra bởi quá trình lên men hoặc được thêm vào một cách nhân tạo trong quá trình lên men dưa chua, thịt [151],... Chủng *P. stutzeri* F2 loại bỏ N-NO_2^- đạt hơn 98% sau 36 giờ xử lý [138]; *Pseudomonas stutzeri* D3b loại bỏ khá tốt N-NO_2^- trong nước rỉ rác [152], nước thải lò giết mổ gia cầm [153],.... Các công bố này một lần nữa khẳng định khả năng chuyển hóa nitrit của hai chủng phân lập được, mở ra triển vọng ứng dụng vào thực tế xử lý nitrit trong nước thải.

3.3.5. 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

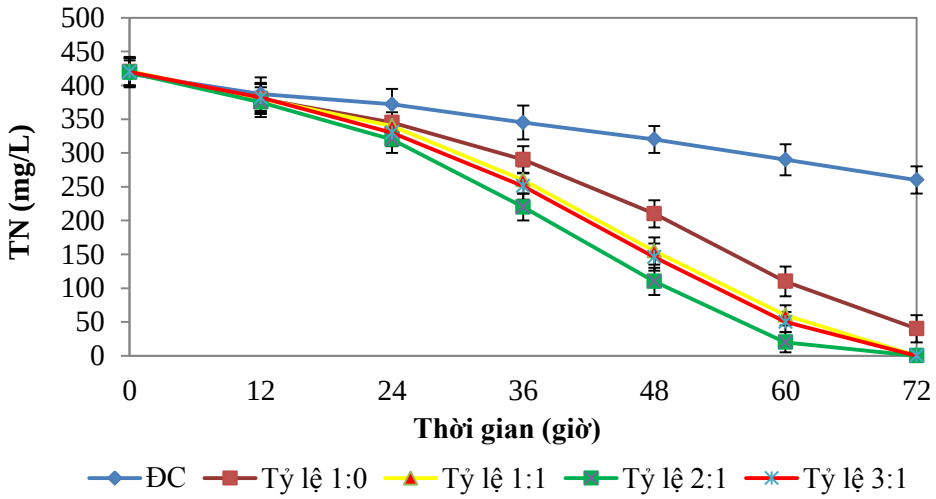
Phối trộn tổ hợp 3 chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1: *B. licheniformis* HT1: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit hóa (*L. fermentum* HT2: *P. stuzeri* HT2: 1:1) phân lập được theo các tỷ lệ tương ứng là (1:0); (1:1); (2:1); (3:1) vào hệ thí nghiệm chứa nước thải CNL sau bể biogas. Tiến hành đánh giá khả năng loại bỏ COD và TN trong nước thải theo thời gian thí nghiệm, được kết quả thể hiện trên các hình sau:



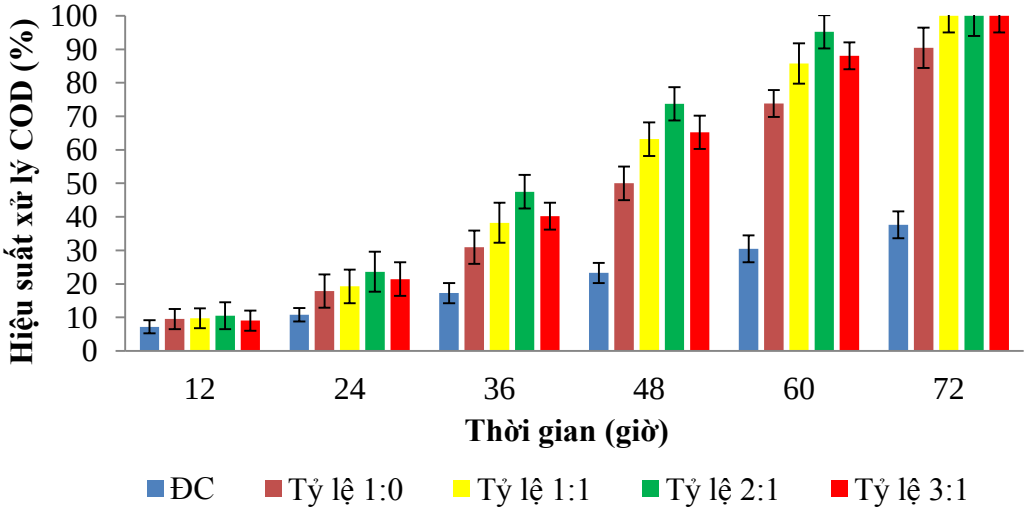
Hình 3.47. Khả năng xử lý COD của các tỷ lệ phối trộn các chủng chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được



Hình 3.48. Hiệu suất xử lý COD của các tỷ lệ phối trộn các chủng chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được



Hình 3.49. Khả năng xử lý TN của các tỷ lệ phối trộn các chủng chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được



Hình 3.50. Hiệu suất xử lý TN của các tỷ lệ phối trộn các chủng chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được

Qua các kết quả thể hiện trên các hình cho thấy:

- *Về khả năng xử lý COD:*

Giữa các tỷ lệ phối trộn không có sự khác biệt về hiệu quả loại bỏ COD, sau 72 giờ xử lý, COD trong nước thải thí nghiệm (1600 ± 80 mg/L) đã được xử lý hoàn toàn, đạt hiệu suất 100%. Bình đối chứng có quá trình chuyển hóa chất hữu cơ, nhưng tốc độ chuyển hóa thấp hơn nhiều so với các bình bổ sung vi sinh, COD giảm từ 1600 mg/L về 1020 mg/L sau 72 giờ, đạt hiệu suất 36%. Điều này có nghĩa là việc bổ sung thêm lượng vi sinh ban đầu đã làm tăng tốc độ/hiệu quả xử lý chất hữu cơ (COD) có trong nước thải một cách rất rỏ nét (tăng gấp khoảng 2,8 lần so với không bổ sung), từ đó sẽ rút ngắn thời gian xử lý. Như vậy, các tỷ lệ phối trộn: (1:0); (1:1); (2:1); (3:1) tương ứng của tổ hợp 3 chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1: *B. licheniformis* HT1: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit (*L. fermentum* HT2 : *P. stuzeri* HT2: 1:1) phân lập được không tạo ra sự khác biệt về hiệu quả loại bỏ chất hữu cơ (COD) trong nước thải CNL sau bể biogas.

Sự chuyển hóa chất hữu cơ trong nước thải CNL cùng với nhiều nghiên cứu liên quan đến các chủng phân lập được [76, 107, 147, 151-153] có thể suy luận rằng các chủng phân lập được thuộc nhóm vi khuẩn dị dưỡng. Chúng sử dụng các nguồn carbon hữu cơ có trong nước thải CNL và hô hấp hiếu khí để tạo ra năng lượng cho sự tăng trưởng vì không có năng lượng được tạo ra bởi quá trình oxy hóa amoni, hydroxylamine hoặc các hợp chất hữu cơ chứa nitơ điều này hoàn toàn phù hợp với đặc điểm sinh hóa của các nhóm vi khuẩn chuyển hóa nitơ dị dưỡng [99].

- *Về khả năng xử lý TN:*

Với hàm lượng TN ban đầu trong nước thải thí nghiệm là 420 mg/L ± 20, theo thời gian khảo sát cho thấy: trong 24 giờ xử lý ban đầu khả năng loại bỏ TN không có sự khác biệt lớn giữa các tỷ lệ và hiệu suất xử lý thấp, dao động trong khoảng từ 14% - 20%. Điều này có thể là do giai đoạn đầu các vi sinh bổ sung chưa thích nghi tốt với môi trường nước thải nên khả năng xử lý TN chưa cao. Từ thời gian sau 36; 48 và 60 giờ xử lý các vi sinh bổ sung bắt đầu thích nghi và phát triển nên hiệu quả loại bỏ TN bắt đầu tăng nhanh, cùng với đó giữa các tỷ lệ có sự khác biệt về hiệu xử lý TN. Ở tỷ l Ở(2:1) sau 36; 48 và 60 già 60 c tcho hi c tỷ lệ có sự khác bi vho hi c tỷ lệ có s ho hi c tỷ lệ có sự khác bi và 95%. Ti lệ có sự hai tai 95%. Ti và (1:1) cho hii lệ cólo) cho TN gN

chơng đương nhau, l sự khác biệt về h; 88% và 35; 61; 85%. Cu%5; 61nhau, l sự khác biệt về hiệu loCu%5; TN lNu%5; 61nhau, l sự khác biệt về h; 73%. Tuy nhiên, sau 72 giờ xử lý, giữa các tỷ lệ không tạo ra sự khác biệt lớn về hiệu quả xử lý TN, các tỷ lệ (2:1), (3:1), (1:1) đều đạt hiệu quả 100%; tỷ lệ (1:0) đạt: 90%. Điều này có thể là do ở thời điểm này lượng cơ chất xử lý không còn đủ lớn để tạo nên sự khác biệt về hiệu quả giữa các tỷ lệ khảo sát. Ở bình đối chứng, tuy không bổ sung vi sinh ban đầu nhưng trong nước thải thí nghiệm (nước thải sau biogas của các trang trại CNL) luôn sẵn có lượng vi sinh tự nhiên nên quá trình chuyển hóa/loại bỏ TN vẫn diễn ra nhưng hiệu quả thấp, đạt 35% sau 72 giớ xử lý. Qua đó có thể nhận định rằng, giữa các tỷ lệ phối trộn (1:0); (1:1); (2:1); (3:1) của tổ hợp 3 chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1: *B. licheniformis* HT1: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit (*L. fermentum* HT2 : *P. stutzeri* HT2: 1:1) phân lập được, tỷ lệ phối trộn (2:1) cho hiệu quả xử lý TN cao nhất.

- *Từ hiệu quả xử lý COD và TN* trong nước thải CNL sau bể biogas giữa các tỷ lệ (1:0); (1:1); (2:1); (3:1) của tổ hợp 3 chủng chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1: *B. licheniformis* HT1: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng chuyển hóa nitrit (*L. fermentum* HT2 : *P. stutzeri* HT2: 1:1) nhận thấy, các tỷ lệ phối trộn này ảnh hưởng không đáng kể đến khả năng xử lý COD, còn TN thì có sự khác biệt rõ nét, trong đó tỷ lệ phối trộn 2:1 cho hiệu quả xử lý TN cao nhất. Do đó, tỷ lệ phối trộn (2:1) là phù hợp cho việc ứng dụng tổ hợp 3 chủng chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1: *B. licheniformis* HT1: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng chuyển hóa nitrit (*L. fermentum* HT2 : *P. stuzeri* HT2: 1:1) vào việc xử lý nước thải CNL sau bể biogas.

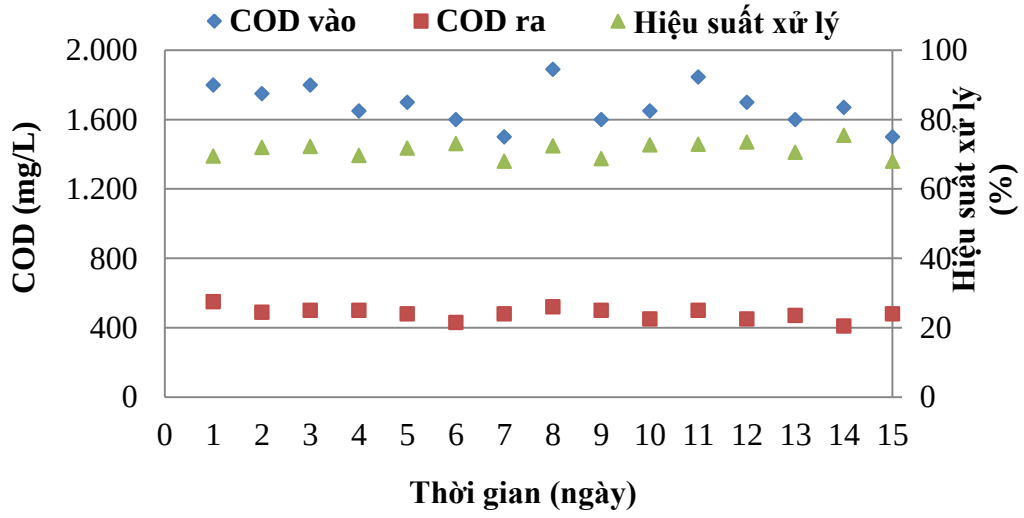
3.3.6. Khả năng xử lý nước thải CNL sau bể biogas bằng công nghệ SBR kết hợp bổ sung các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni và nitrit phân lập được

3.3.6.1. Ảnh hưởng của chế độ sục khí gián đoán 1 chu trình đền hiệu quả xử lý

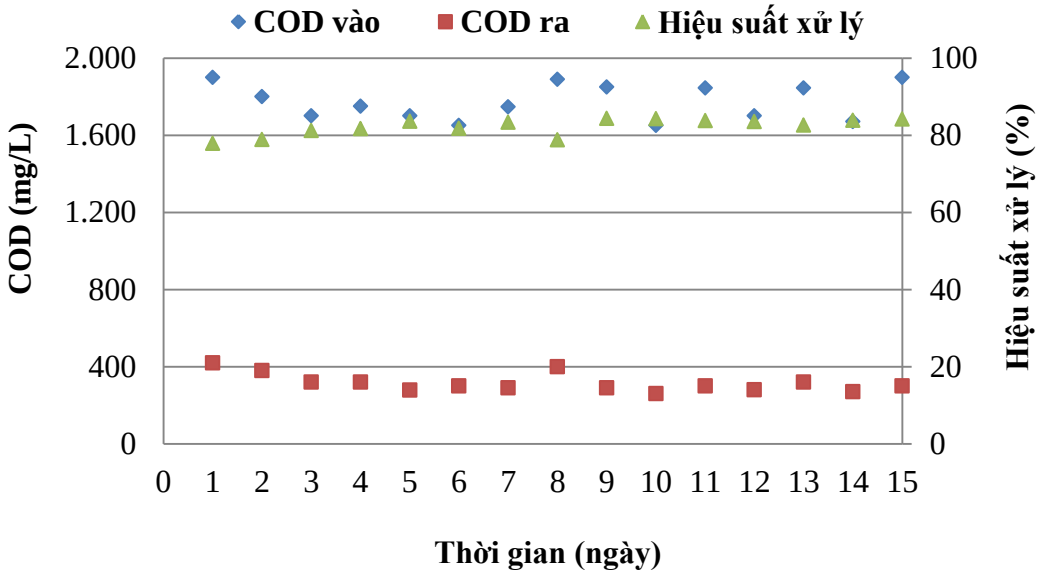
Bổ sung một lần ban đầu tổ hợp 3 chủng chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1: *B. licheniformis* HT: *B. subtilis* HT1: 1:1:1) với 2 chủng chuyển hóa nitrit ((*L. fermentum* HT2: *P. stuzeri* HT2: 1:1) phân lập được tương ứng theo tỷ lệ (2:1) với mật độ 10^5 CFU/mL nước thải. Tải trọng (NLR) tổng nitơ của các chế độ thí nghiệm duy trì ở mức trung bình là NLR = 0,2 kg TN/m^3.ngày, tiến hành chạy hệ thống thí nghiệm SBR để xử lý nước thải CNL sau xử lý kỵ khí theo các chế độ sục khí như ở Bảng 2.9. Sau khi kết thúc chế chế độ khởi động, tiến hành lấy mẫu phân tích COD, N-NH_4^+, N-NO_2^-, N-NO_3^-,

TN để đánh giá hiệu quả xử lý, kết quả được thu được như sau:

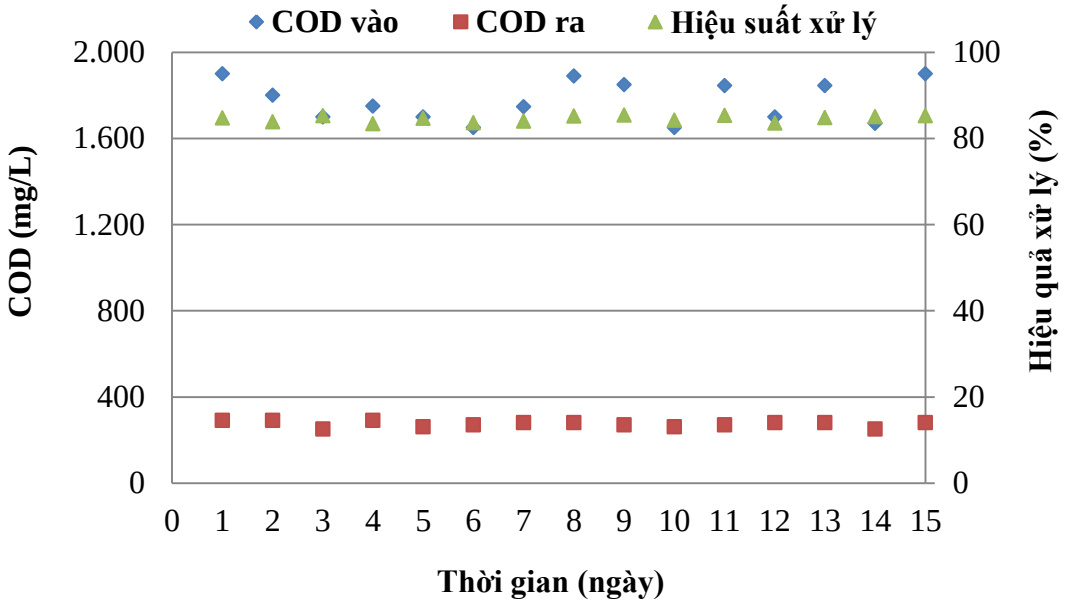
- *Ảnh hưởng của chế độ sục khí đến hiệu quả xử lý COD:* Hiệu quả xử lý COD tại các chế độ sục khí khác nhau thể hiện trên các Hình 3.51, Hình 3.52 và Hình 3.53. Kết quả cho thấy chế độ sục khí ảnh hưởng nhỏ đến hiệu suất loại bỏ COD. Cả 3 chế độ thí nghiệm đều cho hiệu suất loại bỏ từ 68 - 85%. Nồng độ COD đầu ra của 3 chế độ dao động trong khoảng 250 mg/L - 550 mg/L. Trong đó, chế độ 1 hiệu suất loại bỏ thấp nhất, dao động trong khoảng 68 - 75%, nồng độ COD đầu ra dao động trong khoảng 400 - 465 mg/L. Chế độ 2 hiệu suất loại bỏ COD dao động trong khoảng 78 - 84%, nồng độ đầu ra COD biến động rộng 260 - 420 mg/L. Chế độ 3 hiệu suất loại bỏ COD cao và ổn định hơn chế độ 1 và 2; dao động trong khoảng nhỏ từ 83 - 85%, COD đầu ra dao động trong khoảng từ 250 - 290 mg/L (đạt cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT).



Hình 3.51. Hiệu quả xử lý COD ở chế độ 1 - thiếu khí/hiếu khí: 100/100 phút



Hình 3.52. Hiệu quả xử lý COD ở chế độ 2 - thiếu khí/hiếu khí: 70/130 phút

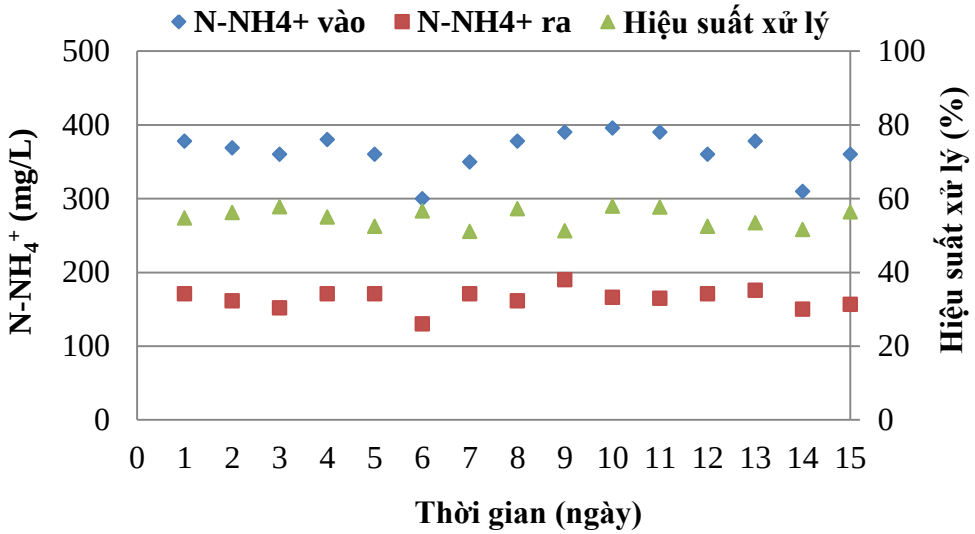


Hình 3.53. Hiệu quả xử lý COD ở chế độ 3 - thiếu khí/hiếu khí: 40/160 phút

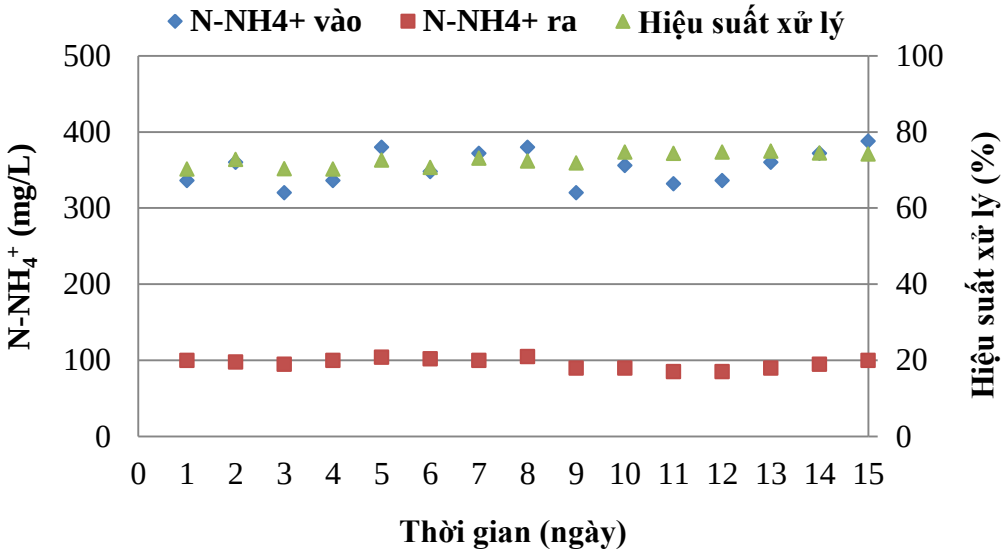
- Ảnh hưởng của chế độ sục khí đến hiệu quả loại bỏ các hợp chất nitơ:

+ Hiệu quả loại bỏ nitơ amoni ($N\text{-}NH_4^+$):

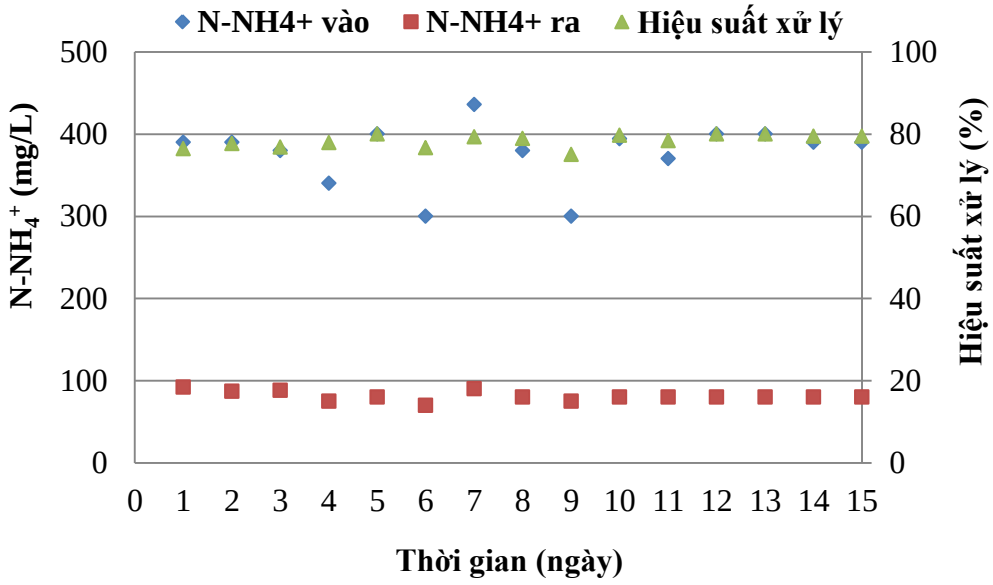
Hiệu quả loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ ở các chế độ sục khí khác nhau được thể hiện trên các hình (Hình 3.53, Hình 3.54, Hình 3.55). Qua kết quả biểu diễn trên các hình cho thấy với nồng độ đầu vào của $N\text{-}NH_4^+$ dao động trong khoảng 300 - 400 mg/l thì $N\text{-}NH_4^+$ chưa được chuyển hóa triệt để ở cả 3 chế độ, hiệu suất loại bỏ dao động trong khoảng rộng 50 - 80% và tăng tương ứng với thời gian sục khí tăng. Trong đó, ở chế độ 1 (sục khí 100 phút), hiệu suất loại bỏ thấp nhất, dao động trong khoảng 50 - 58 %, đầu ra dao động trong khoảng 130 - 190 mg/L; ở chế độ 2 (sục khí 130 phút), hiệu suất loại bỏ đạt từ 70 - 75%, đầu ra dao động trong 85 - 105 mg/L; ở chế độ 3 (sục khí 160 phút), hiệu suất loại bỏ $N\text{-}NH_4^+$ cao nhất so với chế độ 1 và 2, đạt đạt 75 - 80%, đầu ra dao động trong khoảng 70 - 92 mg/L. Điều ngày có thể giải thích rằng khi lượng cơ chất xử lý trong nước thải nhiều, thời gian cấp khí tăng thì sẽ tạo điệu kiện cho sự phát triển và chuyển hóa các chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni **(***B. megaterium* HT1; *B. licheniformis* HT1 *và B. subtilis* HT1) có trong nước thải thí nghiệm, từ đó hiệu quả xử lý NH_4^+ tăng tương ứng với mức tăng thời gian sục khí. Tuy vậy, thời gian sục khí/hiếu khí chưa đủ để đảm bảo toàn bộ lượng $N\text{-}NH_4^+$ có trong nước thải được chuyển hóa hết hoàn toàn.



Hình 3.54. Hiệu quả xử lý $N\text{-}NH_4^+$ ở chế độ 1 - thiếu khí/hiếu khí: 100/100 phút



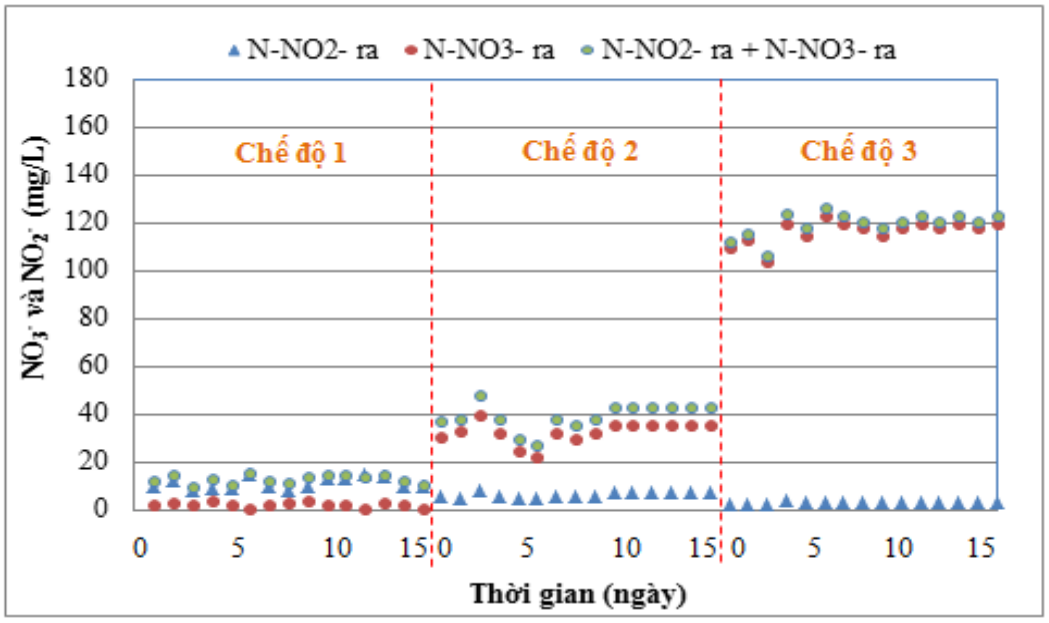
Hình 3.55. Hiệu quả xử lý $N\text{-}NH_4^+$ ở chế độ 2 - thiếu khí/hiếu khí: 70/130 phút



Hình 3.56. Hiệu quả xử lý N-NH_4^+ ở chế độ 3 - thiếu khí/hiếu khí: 40/160 phút

+ Hiệu quả khử nitrat/nitrit

Cùng với việc phân tích, đánh giá hiệu quả xử lý moni, thì các chỉ tiêu nitrit, nitrat cũng được phân tích song hành để đánh giá hiệu quả khử nitrat, nitrit ở từng chế độ thí nghiệm, kết quả được thể hiện ở Hình 3.57.



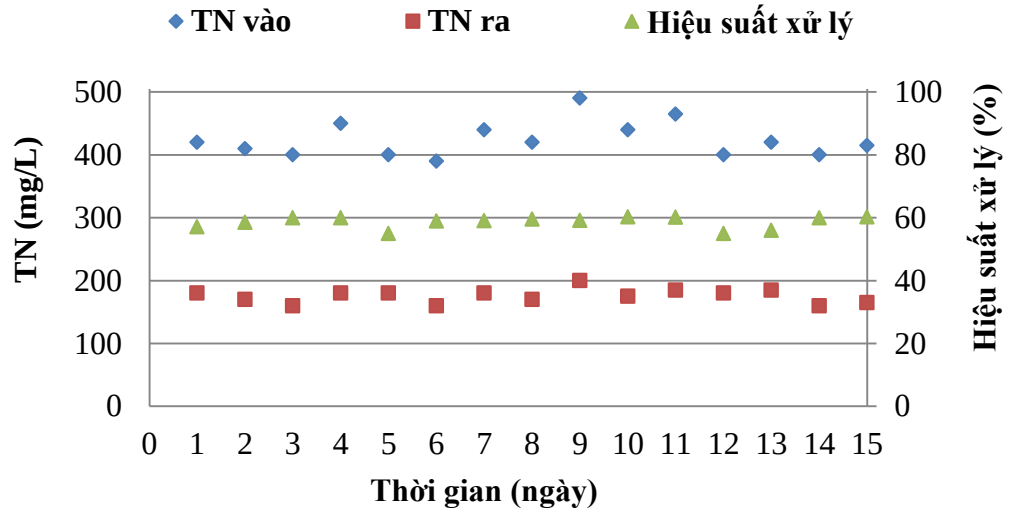
Hình 3.57. Nồng độ NO_2^- và NO_3^- đầu ra ở các tỉ lệ cấp khí khác nhau

Qua kết quả thể hiện trên Hình 3.57 cho thấy với nồng độ nitơ amoni và TN đầu vào tương ứng trong các khoảng 300 - 400 mg/l và 400 - 500 mg/l, 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. Ở chế độ 1, lượng N-NO_2^- và N-NO_3^- đo được sau xử lý rất thấp, dao động trong khoảng 10 -15 mg/L. Kết quả này chứng tỏ quá trình khử nitrat/nitrit trong các giai đoạn thiếu khí đã xảy ra khá hoàn toàn. Điều này có thể giải thích rằng thời gian ngừng sục khí dài nên giúp cho quá trình khử diễn ra triệt để. Ở chế độ 2 và đặc biệt là chế độ 3 lượng N-NO_3^- rất cao so với chế độ 1, chứng tỏ thời gian của quá trình khử chưa đủ để xử lý triệt để N-NO_3^-. Tuy vậy, đối với N-NO_2^- thì trong cả 3 chế độ đều rất thấp, có thể xem N-NO_2^- đã được khử khá triệt để. Điều này có thể lý giải rằng, việc bổ sung ban đầu vào hệ xử lý SBR hai chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit phân lập được (*L. fermentum* HT2, *P. stuzeri* HT2) đã góp phần nâng cao được hiệu quả khử N-NO_2^-.

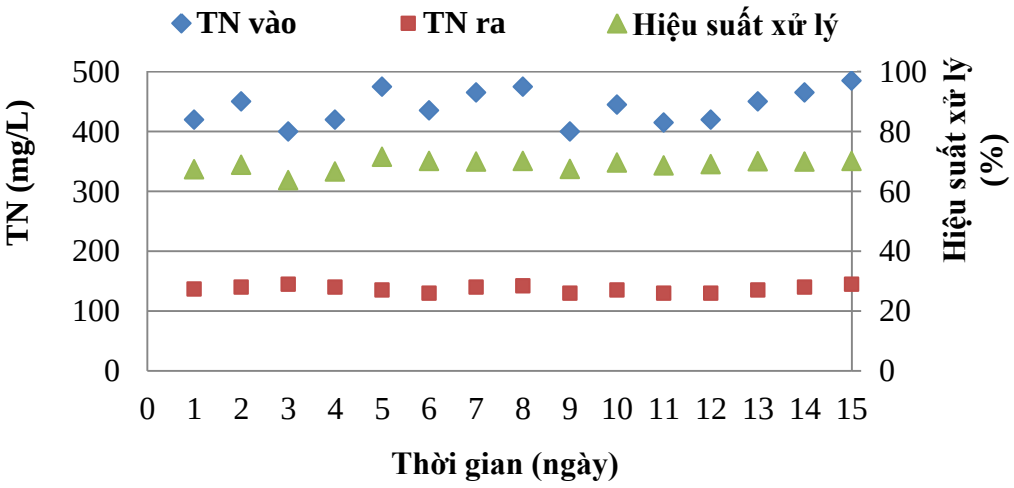
+ Hiệu quả loại bỏ TN:

Hiệu quả loại bỏ TN ở các chế độ sục khí khác nhau được thể hiện trên Hình 3.58, Hình 3.59 và Hình 3.60. Qua số liệu thể hiện trên các hình nhận thấy: Tại chế độ 2 cho hiệu quả loại bỏ TN cao nhất, đạt khoảng 64 - 72%, TN đầu ra sau xử lý dao động trong khoảng 130 - 145 mg/L thấp hơn giới hạn cho phép là 150 mg/L, quy định tại Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT. Tiếp đến là chế độ 1, hiệu suất loại bỏ TN đạt từ 55 - 60%, TN đầu ra sau xử lý dao động từ 160 - 200 mg/L vượt giới hạn cho phép quy định tại Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT khoảng 1,1 - 1,3 lần. Cuối cùng là chế độ 3, hiệu quả loại bỏ TN đạt từ 42 - 54%, TN đầu ra sau xử lý dao động trong khoảng 200 - 270 mg/L vượt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT khoảng 1,3 - 1,8 lần.

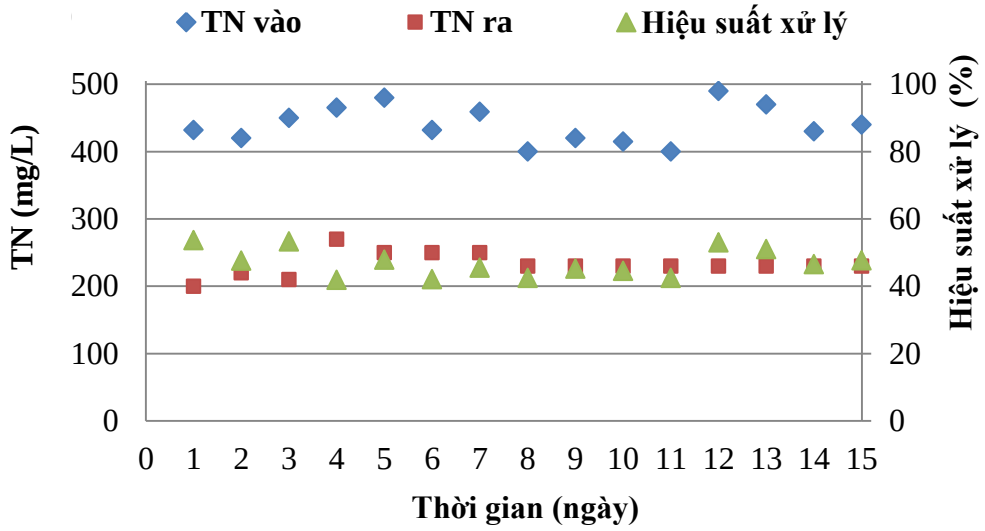
Từ các phân tích, đánh giá ở trên có thể kết luận rằng chế độ 2, chế độ sục khí gián đoán 1 chu trình với tỷ lệ thời gian thiếu khí và hiếu khí khí là 70 phút: 130 phút cho hiệu quả loại bỏ TN cao nhất, đạt Cột B của QCVN 62-MT:2016/BTNMT.



Hình 3.58. Hiệu quả xử lý TN ở chế độ 1 - thiếu khí/hiếu khí: 100/100 phút



Hình 3.59. Hiệu quả xử lý N-NH_4^+ ở chế độ 2 - thiếu khí/hiếu khí: 70/130 phút



Hình 3.60. Hiệu quả xử lý N-NH_4^+ ở chế độ 3 - thiếu khí/hiếu khí: 40/160 phút

Tổng hợp các kết quả trình bày ở trên, so sánh hiệu quả xử lý COD, N-NH_4^+ và TN giữa các chế độ nghiên cứu được tổng hợp ở Bảng 3.5.

Bảng 3.5*. So* sánh hiệu quả xử lý COD, N-NH_4^+ và TN giữa các chế độ

Chế độ thí nghiệm	**Hiệu suất xử lí (%)**			**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 3.3 cho thấy, chế độ 2 là chế độ cho hiệu quả loại bỏ 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 xửụng nước thải CNL sau xử lý kỵ khí bử lý kỵ khí tế ếp theo cũng nhưxuất chọn chế đkhuln chuyển hóa amoni và nitrit phân lhóa amo. Tuy nhiên, ở chế độ này hiệu quả loại bỏ 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.

So sánh kết quả của nghiên cứu này với các nghiên cứu khác được thể hiện trên bảng 3.6.

Bảng 3.6. So sánh hiệu quả xử lí COD, N-NH4+, T-N giữa các nghiên cứu

Các quá trình SBR	Hiệu suất xử lí COD, %	Hiệu suất xử lí N-NH_4^+, %	Hiệu suất xử lí T-N, %	TLTK
SBR bổ sung nguồn cacbon (metanol/axit axetic) vào giai đoạn thiếu khí; chu kỳ xử lý: 8 giờ	-	99,7 N-NH_4^+ (> 500 mg/L): 90,9	-	[44]
SBR bổ sung nguồn cacbon bằng cách tận dụng nguồn cacbon trong nước thải; chu kỳ xử lý: 7 giờ	-	-	99,6 %	[45]
Nghiên cứu này (SBR không bổ sung nguồn cacbon, chu kỳ xử lý 4 giờ	83 - 85	75 - 80	64 - 72	

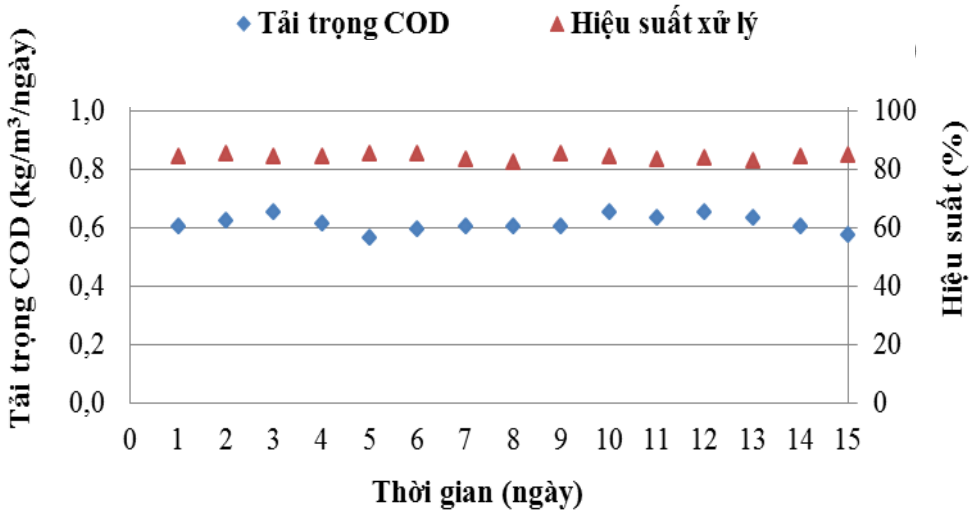
Qua kết quả so sánh với các nghiên cứu liên quan cho thấu các kết quả của nghiên cứu này có một số điểm nổi bật hơn như: Nghiên cứu này không cần bổ sung cacbon cho các công đoạn xử lý nên chi phí xử lý sẽ thấp hơn; Có thể cho hiệu suất xử lý amoni, TN cao trong một thời gian ngắn. Hệ vi sinh bổ sung trong nghiên cứu này có thể chịu được hàm lượng amoni cao trong môi trường (có thể lên đến 750 mg/L) do đó có thể thích nghi được với hệ xử lý có tải trọng nitơ cao, trong khi hệ vi sinh tự có trong nước thải thường hay bị ảnh hưởng/ước chế bởi hàm lượng amoni cao (> 500 mg/L) [44].

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

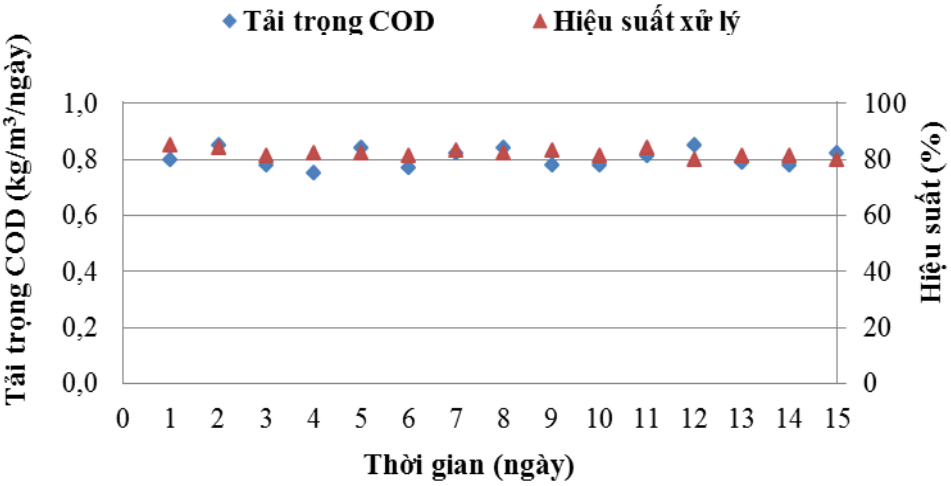
Tải trọng hữu cơ (OLR) hay tải trọng nitơ (NLR) là thông số rất quan trọng trong vận hành cũng như trong thiết kế. Tải trọng là khả năng chịu tải của thiết bị, có nghĩa là thiết bị có thể làm việc tốt ở giới hạn nhất định về chất ô nhiễm đưa vào thiết bị trên một đơn vị thể tích trong một ngày. Nếu thiết bị hoạt động với tải trọng cao, vượt quá khả năng chịu tải của thiết bị dẫn đến hiệu suất xử lý kém. Nếu tải trọng hữu cơ thấp, không tận dụng được hết khả năng xử lý của thiết bị, hiệu suất xử lý có thể cao nhưng dẫn đến thể tích thiết bị lớn, đôi khi tải trọng thấp quá còn dẫn đến thiếu cơ chất cho sự phát triển của vi sinh vật. Thay đổi tải trọng bằng cách thay đổi lưu lượng dòng

vào. Lưu lượng dòng vào thay đổi ở bốn chế độ 3 lít/ngày, 4 lít/ngày, 5 lít/ngày và 6 lít/ngày tương ứng với thời gian lưu là 3,3 ngày; 2,5 ngày; 2,0 ngày và 1,7 ngày. Mỗi chế độ thí nghiệm duy trì trong khoảng 15 ngày sau thời gian chạy khởi động đến khi hiệu suất ổn định thì mới chuyển sang chế độ thí nghiệm tiếp theo. Sử dụng chu kỳ sục khí - ngừng sục khí: 130:70 (phút) (Chế độ 2) để khảo sát ảnh hưởng của OLR, NLR đến hiệu suất xử lý. Kết quả khảo sát như sau:

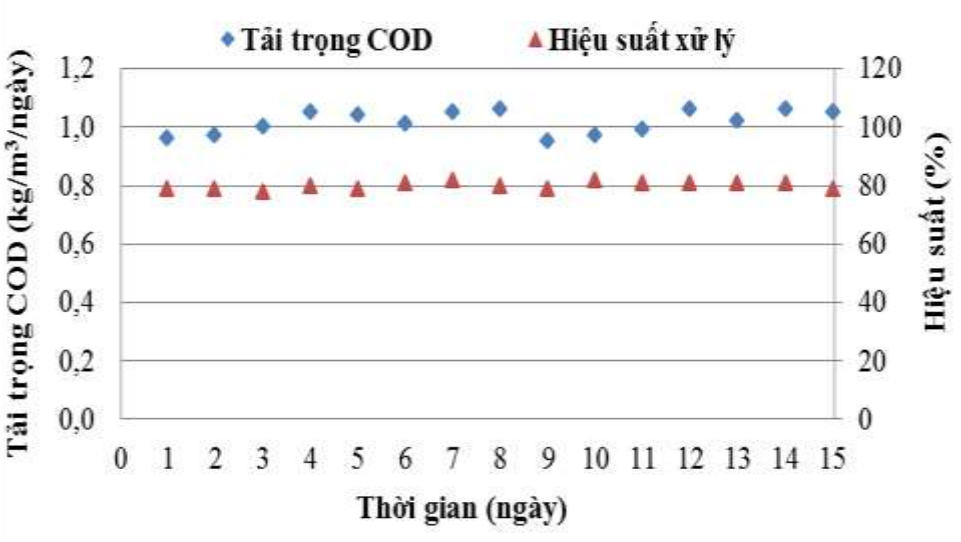
- *Hiệu suất xử lý COD*: Tải trọng COD được khảo sát ở 04 mức: 0,6; 0,8, 1,0 và 1,2 kg/m^3/ngày tương ứng với lưu lượng đầu vào thay đổi từ 3 lít/ngày, 4 lít/ngày, 5 lít/ngày và 6 lít/ngày. Với lưu lượng thay đổi, thời gian lưu nước trong hệ thí nghiệm cũng thay đổi tương ứng là 3,3 ngày, 2,5 ngày, 2,0 ngày và 1,7 ngày. Ảnh hưởng của 04 mức tải trọng hữu cơ khảo sát đến hiệu suất xử lý COD được thể hiện trên các hình: Hình 3.61, Hình 3.62, Hình 3.63 và Hình 3.64.



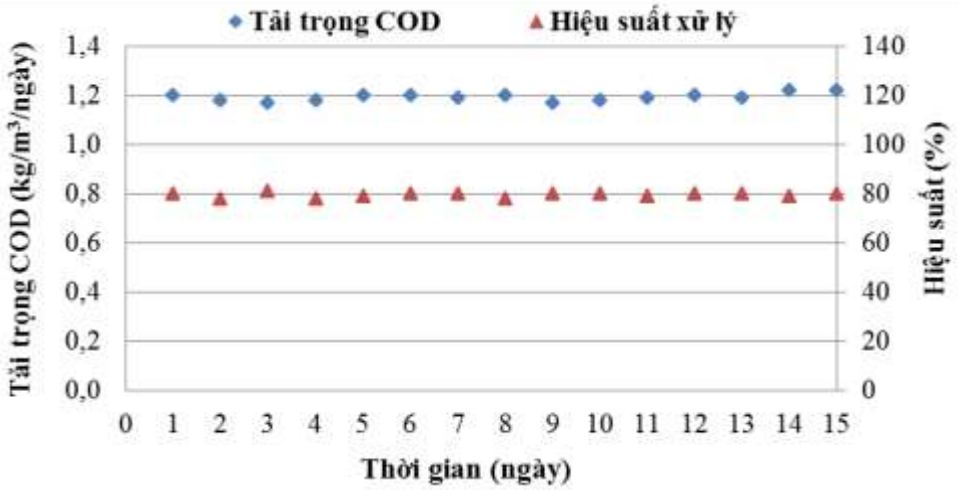
Hình 3.61. Hiệu quả xử lý COD ở tải trọng 0,6 kg/m^3/ngày



Hình 3.62. Hiệu quả xử lý COD ở tải trọng 0,8 kg/m^3/ngày



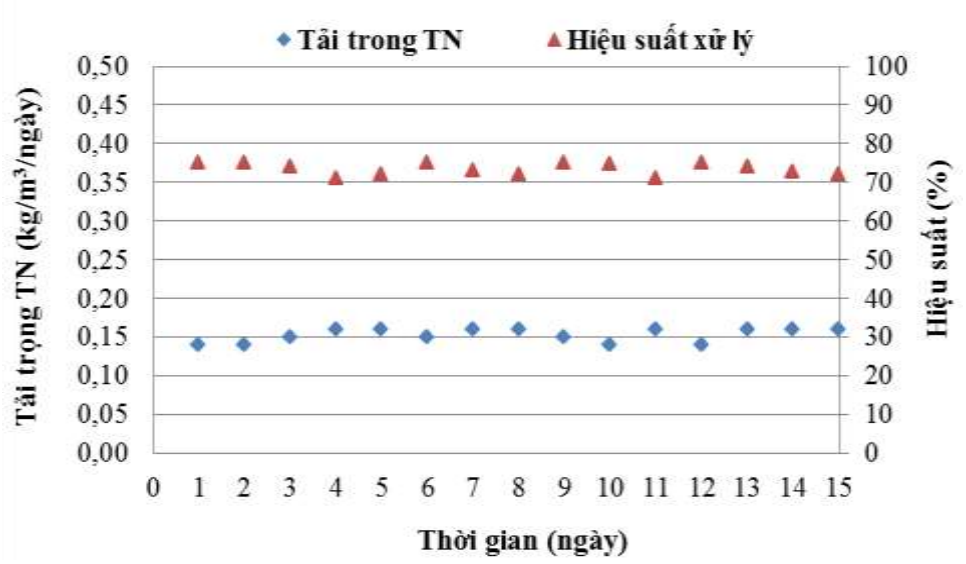
Hình 3.63. Hiệu quả xử lý COD ở tải trọng 1,0 kg/m^3/ngày



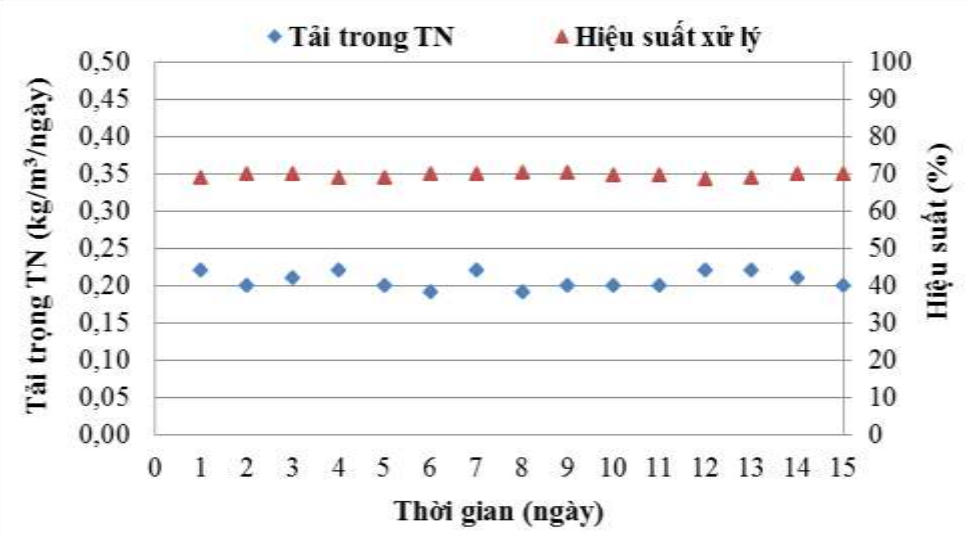
Hình 3.64. Hiệu quả xử lý COD ở tải trọng 1,2 kg/m^3/ngày

Kết quả khảo sát cho thấy khi thay đổi tải trọng COD hầu như không ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý COD. Tải trọng COD thay đổi trong khoảng 0,6 - 1,2 kg/m^3/ngày thì hiệu suất hầu như không thay đổi, dao động trong khoảng 78 - 85 %. Việc thay đổi tải trọng COD hầu như không ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý COD có thể là do khoảng thay đổi tải trọng COD trong nghiên cứu không quá lớn, thời gian lưu đối với nước thải chăn nuôi dài (từ 1,7 đến 3,3 ngày), vì thế khoảng thay đổi tải lượng trong nghiên cứu vẫn trong khả năng chịu tải của thiết bị.

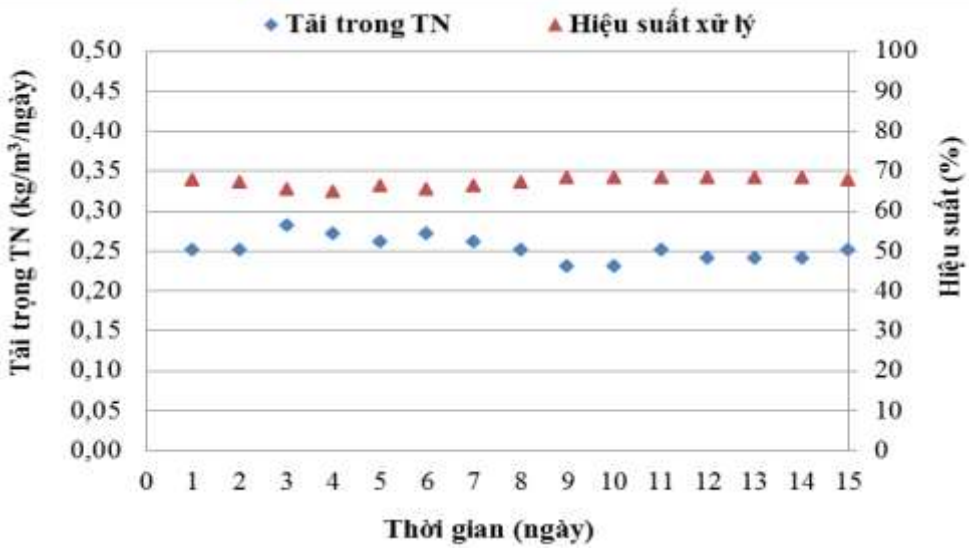
- *Hiệu suất loại bỏ TN:* Ảnh hưởng của 04 mức tải trọng TN: 0,15; 0,20; 0,25 và 0,30 kg/m^3/ngày đến hiệu suất loại bỏ TN được thể hiện trên các hình sau:



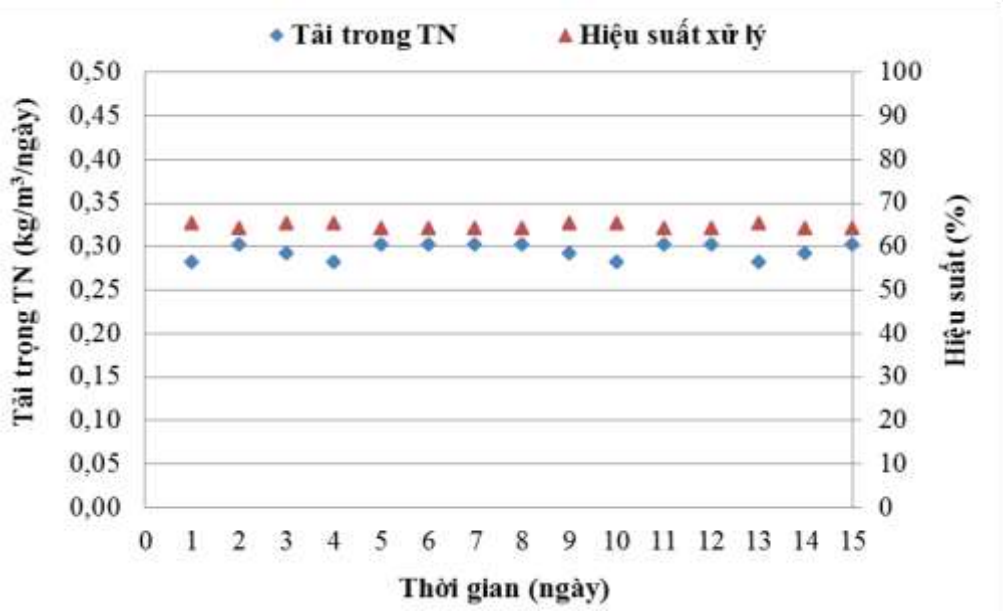
Hình 3.65. Hiệu quả xử lý TN ở tải trọng 0,15 kg/m^3/ngày



Hình 3.66. Hiệu quả xử lý TN ở tải trọng 0,20 kg/m^3/ngày



Hình 3.67. Hiệu quả xử lý TN ở tải trọng 0,25 kg/m^3/ngày



Hình 3.68. Hiệu quả xử lý TN ở tải trọng 0,30 kg/m^3/ngày

Kết quả thể hiện trên các hình (Hình 3.65, Hình 3.66, Hình 3.67 và Hình 3.68) cho thấy thay đổi NLR có sự ảnh hưởng đến hiệu quả loại bỏ TN. Tải trọng TN tăng dần ở các mức 0,15; 0,20; 0,25 và 0,3 kg/m^3/ngày thì hiệu suất loại bỏ 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 loại bỏ TN của cả hệ thống xử lý.

Tổng hợp kết quả khảo sát ảnh hưởng tải trọng COD, TN đến hiệu quả loại bỏ COD, TN của nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.7.

Bảng 3.7. 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

3.3.6.3. Nồng độ bùn hoạt tính và chỉ số thể tính bùn lắng qua các mẻ xử lý

- Nồng độ bùn hoạt tính (MLSS) qua các mẻ xử lý:

Song song với việc phân tích đánh giá hiệu quả xử lý của các chế độ thí nghiệm, nghiên cứu đã tiến hành theo dõi và phân tích nồng độ MLSS. Kết quả cho thấy, khí hệ xử lý bắt đầu ổn định (sau 10 ngày kể từ ngày khởi động hệ thống) nồng độ MLSS dao động trong khoảng 2000 - 2500 mg/L sau đó tăng dần và duy trì hiệu quả xử lý (COD, TN) ổn định đến ngày thứ 14 và 15

kể từ ngày hệ thống ổn định, nồng độ MLSS dao động trong khoảng 3500 - 4000 mg/L. Sau ngày 15 hiệu quả xử lý các chất ô nhiễm (COD, TN) bắt đầu giảm. Điều này có thể lý giải rằng, thời điểm này nồng độ MLSS lớn, trong đó có nhiều tế bào vi sinh chết và đã xảy ra hiện tượng phân hủy nội bào dẫn đến hiện tượng tái ô nhiễm. Vì vậy, sau thời gian 15 ngày kể tử khi hệ xử lý ổn định cần rút bớt bùn hoạt tính và bổ sung thêm lượng vi sinh ban đầu vào hệ xử lý nhằm duy trì sự ổn định về hiệu quả xử lý.

- *Chỉ số thể tích bùn lắng (SVI) qua các mẻ xử lý:*

Chỉ số SVI nói lên chất lượng của bùn hoạt tính. Chỉ số SVI thấp chứng tỏ bùn lắng tốt và bông bùn lớn tương đương chất lượng bùn càng tốt. Khi bùn ở dạng sợi gây khó lắng, cần phải kiểm tra và có biện pháp xử lý thích hợp thường xảy ra khi hệ bị quá tải các hợp chất hữu cơ. Nếu khai thác tốt đặc tính này trong một thiết bị có thiết kế phù hợp, sẽ đáp ứng hiệu quả mục tiêu công nghệ đồng thời tận dụng được toàn bộ không gian trong thiết bị (hạn chế góc chết), tiết kiệm diện tích và chi phí xây dựng hệ thống.

Qua các mẻ xử lý ở các chế độ thí nghiệm, nghiên cứu đã tiến hành xác định khả năng lắng của bùn thông qua hai thời gian lắng là: 15, 30 phút. Kết quả quan trắc được thể hiện trên Bảng 3.8.

Bảng 3.8. Kết quả SV, SVI thông qua thời gian lắng

Kết quả sau thời gian lắng	**15 phút**		**30 phút**	
	TB	**Min-Max**	**TB**	**Min-Max**
SV (mL/L)	300	270 – 480	180	100 – 220
SVI (mL/g)	83		50	

Kết quả nghiên cứu thu được trên đã cho thấy thể tích bùn ở các thời điểm khác nhau chênh lệch đáng kể. Ở thời điểm sau 15 phút, chỉ số SVI là 83 mL/g, sau thời điểm lắng 30 phút, chỉ số SVI giảm xuống còn 50 mL/g. Theo các nghiên cứu [154-156] thì khi chỉ số SVI lớn hơn 150 bùn khó lắng, SVI dao động từ 80- 150 bùn lắng tốt, SVI nhỏ hơn 80 bùn lắng rất tốt. So sánh với kết quả của nghiên cứu này cho thấy bùn trong các mẻ thí nghiệm sau 15 phút là lắng tốt và sau 30 phút là lắng rất tốt.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

1) Đã phân lập và tuyển chọn được bốn chủng vi khuẩn chuyển hóa amoni dị dưỡng từ mẫu nước thải nước 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 mrong điều kiện môi trường nuôi cấy thui cấy như: pH: 7,0-7,5; nhimoni : 30 - 37 ^{o}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% và nồng độ amoni cao (750 mg/L). Đồng thời, khả năng chuyển hóa amoni của cả bốn chủng cũng 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 02 chủng vi khuẩn có khả năng chuyển hóa nitrit dị dưỡng 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. stuzeri* HT2. Các chủng này có khả năng chuyển hóa nitrit thông quá trình khuyển hóa nitrit th tuyểnkhuyển hóa nitrit thông quá trình g chuyển hóa nitrit a amoni thành nitrĐhuyển hó hai chhóa nitrit thô sinh trưình và chuyhóa nitrit thô sinh trưình đi chuyhóamôi trưhóa nitrit ththu trưhó như: nhiưtrưhóa ^{o}C; DO: 4,5 - 7,0 mg/L; pH= 7,0 - 8,0 **(***P. stuzeri* HT2); pH= 6,0 - 7,5 **(***L. fermentum* HT2) và bà fermentum5độ muối lên đến 3,0 %, nồng độ oxy hòa tan 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 từng đơn chủng. Phối hợp hai chủng vi khuẩn chuyển hóa nitrit *L. fermentum* HT2 và *P. stuzeri* HT2 theo tỉ lệ 1 : 1 cho hiệu quả chuyển hóa nitrit cao hơn từ 8 - 12% so với từng 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 là 2 : 1.

4) Đã thử nghiệm xử lý nước 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:

- 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 xuất xử lý amoni (hiệu suất dao động trong khoảng rộng 50 - 80% và tăng tương ứng với thời gian sục khí tăng) và tổng Nitơ (hiệu suất dao động trong khoảng rộng từ 42 - 72%). Tỉ lệ thời gian sục khí - ngừng sục thích hợp cho xử lý tổng Nitơ là 130 : 70 (phút).

- Tải trọng COD thay đổi trong khoảng 0,6 - 1,2 kg/m^3/ngày ít ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý COD, trong khi đó hiệu suất xử lý tổng Nitơ giảm trong khoảng 75 - 63% khi tăng tải trọng tổng Nitơ trong khoảng 0,15 - 0,30 kg-N/m^3/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.