

KHẢO SÁT ĐẶC TÍNH CỘNG ĐỒNG VI KHUẨN TỪ Bùn HOẠT TÍNH VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA TỶ LỆ C:N:P LÊN HIỆU SUẤT XỬ LÝ AMMONIUM TỪ NƯỚC THẢI

Trần Trung Kiên^{1*}, Huỳnh Thị Diệp¹, Nguyễn Hoàng Dũng¹,
Lê Quỳnh Loan¹, Trần Quang Vinh¹, Nguyễn Thị Ly²,
Vũ Thị Tuyết Nhung¹, Phạm Anh Vũ¹, Trần Thị Mỹ Ngọc¹

¹Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

*Email: trkientr@yahoo.com

Ngày nhận bài: 06/5/2020; Ngày chấp nhận đăng: 24/7/2020

TÓM TẮT

Nhiều nhóm vi sinh vật trong tự nhiên có khả năng chuyển hóa các hợp chất nitơ trong nước thải thành các chất không độc hại với môi trường. Việc nghiên cứu cộng đồng vi khuẩn xử lý ammonium ($N-NH_4^+$) trong bùn hoạt tính và ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P đến khả năng xử lý $N-NH_4^+$ là rất cần thiết. Nghiên cứu được thực hiện khảo sát cộng đồng vi khuẩn xử lý $N-NH_4^+$ của mẫu bùn bằng phương pháp sinh học phân tử DGGE và lắp dựng mô hình khảo sát ảnh hưởng của mối quan hệ giữa COD, $N-NH_4^+$ và $P-PO_4^{3-}$ đến sự thích ứng và khả năng xử lý $N-NH_4^+$ của vi khuẩn trong bùn hoạt tính. Kết quả nghiên cứu cho thấy hệ vi khuẩn trong mẫu bùn từ hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt có sự đa dạng cao, trong đó có sự xuất hiện 2 loài vi khuẩn có khả năng xử lý $N-NH_4^+$ gồm *Nitrosomonas* sp và *Anammox*. Mô hình với tỷ lệ C: N:P tương ứng 100:15:1 có hiệu suất xử lý $N-NH_4^+$ cao nhất trung bình đạt 89,5% trong 4 giai đoạn thí nghiệm.

Từ khóa: Ammonium, nước thải sinh hoạt, phương pháp DGGE, vi khuẩn xử lý nitơ.

1. GIỚI THIỆU

Hiện nay, bùn hoạt tính là công nghệ xử lý nước thải được áp dụng nhiều trên thế giới cũng như tại Việt Nam. Bùn hoạt tính hiếu khí có đặc điểm nổi trội như khả năng lắng tốt, duy trì nồng độ sinh khối cao lên đến 10-15 kg COD/m³. ngày, khả năng xử lý chất hữu cơ cao, chịu sốc tải trọng và đặc biệt có khả năng xử lý $N-NH_4^+$ trong nước thải. Tuy nhiên, việc xử lý nước thải bằng phương pháp sinh học là một quá trình phức tạp bởi đó là quá trình phát triển của vi sinh vật xảy ra trong thiết bị xử lý, bị ràng buộc bởi các hiện tượng hóa lý liên quan đến chuyển chất và năng lượng. Việc sử dụng bùn hoạt tính có nhược điểm là mật độ vi sinh giảm trong quá trình vận hành, gây hiệu quả không ổn định và làm tăng chi phí vận hành khi sử dụng nhiều loại chế phẩm sinh học. Do đó, việc khảo sát cộng đồng vi khuẩn trong bùn hoạt tính là rất cần thiết nhằm xác định rõ sự hiện diện của một số nhóm vi khuẩn có lợi, từ đó có những biện pháp giúp duy trì tốt hơn sự hoạt động của nhóm vi khuẩn này. Trong một số yếu tố giúp cho sự phát triển của vi khuẩn trong bùn hoạt tính, tỷ lệ cacbon (C), nitơ (N) và phospho (P) là các yếu tố quan trọng trong việc liên kết chu trình sinh hóa của vi khuẩn. Mối quan hệ giữa COD, N và P có ảnh hưởng rất lớn đến sự hình thành và khả năng oxy hóa của bùn vi sinh. Chính vì vậy, việc nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P đến khả năng xử lý $N-NH_4^+$ trong nước thải là một yêu cầu cấp thiết [1]. Việc khảo sát cộng đồng vi khuẩn trong bùn hoạt

tính kết hợp với tỷ lệ chất dinh dưỡng (C:N:P) làm dữ liệu cơ sở trong việc vận hành hệ thống xử lý nước thải đạt hiệu suất cao, giúp duy trì tính ổn định hiệu suất theo thời gian.

Trong nghiên cứu này, phương pháp điện di trên gel biến tính (DGGE) được sử dụng để khảo sát cộng đồng vi khuẩn xử lý $N-NH_4^+$ trong bùn hoạt tính làm tiền đề cho nghiên cứu sự ổn định các nhóm vi khuẩn có mặt trong bùn. Phương pháp DGGE thường được sử dụng để nghiên cứu đa dạng di truyền của các cộng đồng vi sinh vật trong các môi trường sinh thái khác nhau, cho ta cách nhìn trực quan về tính phức tạp của vi sinh vật và có thể nhận biết đến loài sau khi đọc trình tự các băng đã cắt từ gel hay sau khi tiến hành phân tích lai với các mẫu dò đặc hiệu [2]. Do đó, phương pháp DGGE đã được các nhà khoa học trong và ngoài nước áp dụng rộng rãi trong nghiên cứu đa dạng cũng như sự thay đổi của cộng đồng vi sinh vật trong sinh thái môi trường. Năm 2009, Yamamoto và cộng sự đã sử dụng phương pháp DGGE để nghiên cứu cộng đồng vi khuẩn các mẫu compost từ phân động vật. DNA tổng số của vi khuẩn được tách chiết từ các mẫu thu từ các nhà máy compost khác nhau ở Nhật Bản. Các tác giả đã thành công trong việc nhận dạng cộng đồng vi sinh vật bằng kỹ thuật PCR- DGGE, và cũng ghi nhận những thay đổi của cộng đồng vi sinh vật hiện diện ở những nhiệt độ khác nhau [3]. Cùng năm 2009, Nguyễn Thị Tuyên và cộng sự bước đầu ứng dụng kỹ thuật DGGE để nghiên cứu đa dạng vi khuẩn khử nitrat trong một số môi trường sinh thái ở Việt Nam. Khi phân tách DNA tổng số của mẫu bằng phương pháp điện di trên gel biến tính, nhóm tác giả này đã ghi nhận được 2 nhóm vi khuẩn chiếm ưu thế bao gồm *Ochrobactrum* và *Paracoccus*. Hai nhóm vi khuẩn trên có khả năng loại bỏ nitrat trong môi trường bị ô nhiễm và có sự biến động trong quá trình làm giàu mẫu bùn [4].

Trong một số nguyên nhân ảnh hưởng đến tính ổn định của vi sinh vật trong bùn hoạt tính, tỷ lệ cacbon (C), nitơ (N), và phospho (P) trong môi trường là các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự hình thành và khả năng oxy hóa của bùn hoạt tính [5]. Trong đó, cacbon là thành phần chính của các chất hữu cơ được tìm thấy trong nước thải. Các chất hữu cơ được phân hủy bởi vi sinh vật trong bùn hoạt tính trong điều kiện hiếu khí. Các vi sinh vật sử dụng hợp chất cacbon để xây dựng cấu trúc tế bào và để tạo ra năng lượng. Vi sinh vật sử dụng nitơ để tổng hợp vật liệu tế bào và protein. Quá trình khử nitơ là việc kết hợp các bước oxy hóa cacbon, nitrat hóa và khử nitơ trong một quá trình đơn lẻ. Quá trình này, ngoài việc làm giảm khối lượng khí cần thiết để hoàn thành quá trình nitrat hóa, còn làm giảm tải lượng COD. Cần thiết phải thêm các nguồn chất hữu cơ cung cấp cacbon cho quá trình khử nitơ [6]. Nhu cầu phospho của sinh vật là do vai trò đặc biệt của phospho trong sự chuyển hóa năng lượng của chúng. Phospho cần thiết để tạo thành màng tế bào và DNA. Trong quá trình xử lý nước thải sinh học, polyphosphat và liên kết hữu cơ phospho được chuyển đổi thành phosphat. Một số phospho trong nước thải được loại bỏ sinh học. Phần còn lại có thể được loại bỏ bởi hóa học phospho kết tủa [1]. Năm 2014, nghiên cứu của Mouginot và cộng sự đưa ra trung bình của tỷ lệ C:N:P phù hợp cho sự phát triển và sinh trưởng của vi sinh vật trong bùn hoạt tính là 88:15:1 [7]. Theo Lê Văn Cát (2007), đối với loại vi sinh dị dưỡng hiếu khí trong hệ xử lý bùn hoạt tính, tỷ lệ C:N:P thường được khuyến cáo là 100:5:1 [8]. Tỷ lệ này được sử dụng rộng rãi trong các hệ thống xử lý nước thải. Các tỷ lệ này được sử dụng làm cơ sở lý thuyết để tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P đến hiệu quả xử lý $N-NH_4^+$ của cộng đồng vi khuẩn trong mẫu bùn.

Nghiên cứu được tiến hành với 2 mục tiêu chính: Sử dụng kỹ thuật điện di trên gel có gradient biến tính (DGGE) để khảo sát cộng đồng vi khuẩn xử lý $N-NH_4^+$ từ bùn trong hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt; Lắp dựng chạy mô hình với nước thải được lấy từ bể điều hòa của hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt tại Chi nhánh Công ty Cổ phần Toyota Đông Sài Gòn

để khảo sát tỷ lệ C:N:P cho phù hợp với hoạt động của vi khuẩn xử lý nitơ từ bùn của hệ thống thông qua việc theo dõi các chỉ tiêu COD, N-NH₄⁺ và P-PO₄³⁻.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu bùn thải lấy từ bể hiếu khí và nước thải lấy từ bể điều hòa của hệ thống xử lý nước thải tại Chi nhánh Công Ty Cổ Phần Toyota Đông Sài Gòn, địa chỉ 18 Phan Văn Trị, Phường 7, Quận Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.2. Phương pháp phân tích DGGE

Khảo sát đa dạng cộng đồng vi khuẩn của mẫu bùn bằng kỹ thuật DGGE

Kỹ thuật DGGE được áp dụng để xác định cộng đồng vi khuẩn xử lý nitơ trong bùn. Quy trình phân tích bao gồm tách chiết DNA bằng phương pháp cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB), khuếch đại các mẫu DNA với các môi đặc hiệu cho vi khuẩn.

Bảng 1. Môi dùng trong phản ứng khuếch đại gen 16S rDNA

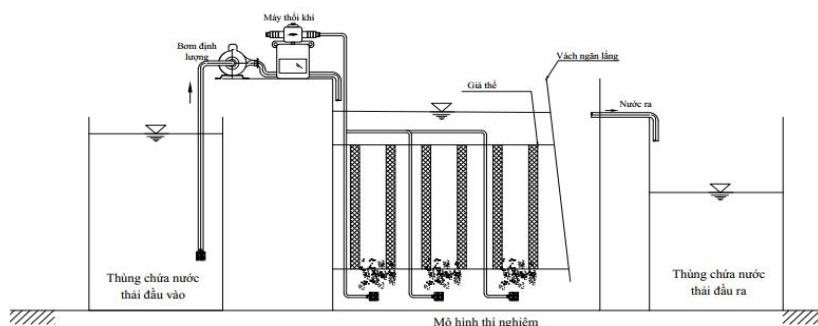
Môi	Trình tự (5'-3')	Số nucleic	Tham khảo
27F	5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'	20	[9]
1492R	5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3'	21	
357F- GC*	5'-CCTACGGGAGGCTGCAG-3' GC*(5'-CGCCC GCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGG CACGGG -3')	17	[10]
517R	5'-CCGGGAAGCGCCTCATTCAATTCA-3'	24	

Phương pháp DGGE giúp khuếch đại trình tự vùng V3. Sản phẩm PCR vùng V3 từ DNA gửi đi giải trình tự tại Công ty Macrogen, Hàn Quốc và được so sánh độ tương đồng bằng công cụ Blast trên ngân hàng dữ liệu NCBI.

2.3. Thiết kế thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ của cộng đồng vi khuẩn xử lý nitơ

2.3.1. Mô hình nghiên cứu

Mô hình nghiên cứu được mô tả trong Hình 1, bao gồm: thùng chứa nước thải đầu vào, bể phản ứng, thùng chứa nước thải đầu ra. Trong đó, bể phản ứng có dạng hình hộp chữ nhật phía trên để hở, kích thước dài × rộng × cao tương ứng là 300 × 150 × 280 mm (thể tích hữu ích là 10 lít). Bể phản ứng chia làm 2 ngăn: ngăn phản ứng 8 lít và ngăn lắng 2 lít, 2 ngăn này thông với nhau ở dưới đáy. Trong ngăn phản ứng có chứa giá thể và được bổ sung bùn với hàm lượng chất rắn lơ lửng dễ bay hơi (volatile suspended solids - VSS) trong bể phản ứng 5.300 mg/L. Nước thải được bơm vào bể phản ứng với lưu lượng 10 lít/ngày.đêm, vào đầu ngăn phản ứng ở phía trên, chảy qua ngăn lắng từ phía dưới, tiếp tục chảy vào bể đầu ra từ phía trên. Mô hình được cấp khí thông qua bơm khí hoạt động liên tục [11]. Sau 48 giờ thu nhận mẫu nước đầu ra và tiến hành phân tích các thông số pH, COD, N-NH₄⁺, P-PO₄³⁻. Các thông số COD, N-NH₄⁺, P-PO₄³⁻ được đo dựa theo phương pháp “Standard methods for the examination of water and wastewater” [12]. pH được đo bằng máy đo pH Sigma 950 Flow Meter.



Hình 1. Mô hình thí nghiệm

2.3.2. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành với 2 giai đoạn, gồm:

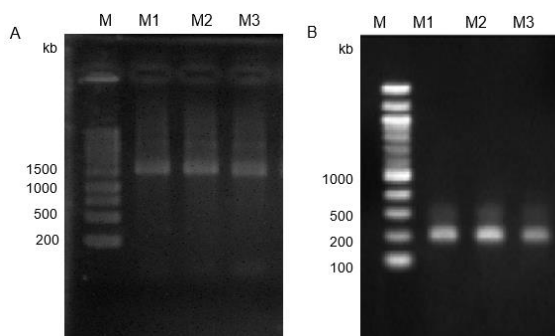
Giai đoạn khảo sát ảnh hưởng của pH: chạy khảo sát ảnh hưởng của pH đến hoạt động của vi sinh vật trong mẫu bùn. Ở giai đoạn này, thực hiện chạy 2 mô hình (mô hình đối chứng và mô hình thực nghiệm) khác nhau về điều kiện pH và giống nhau về điều kiện nhiệt độ, DO và nước thải tự nhiên và tỷ lệ bùn bổ sung. Mô hình đối chứng (pH khoảng 5,8-6,4) không được điều chỉnh pH, mô hình thực nghiệm được điều chỉnh pH (pH duy trì ở mức 7,0-7,5) bằng dung dịch NaOH 10%. Thời gian vận hành mô hình là 30 ngày.

Giai đoạn khảo sát hiệu suất xử lý của mô hình: khảo sát hiệu suất xử lý $N-NH_4^+$ của mô hình thực nghiệm với 4 giai đoạn khác nhau theo tỷ lệ C:N:P lần lượt gồm: giai đoạn 1 (GD 1) là 100:5:1, GD 2 là 100:10:1, GD 3 là 100:15:1 và GD 4 là 100:20:1. Ở các giai đoạn khảo sát này, mô hình được điều chỉnh mức pH thích hợp đã được khảo sát ở giai đoạn trên, để có được các tỷ lệ C:N:P mong muốn, nước thải sau khi đưa về được điều chỉnh nồng độ COD, $P-PO_4^{3-}$ theo hàm lượng $N-NH_4^+$ sẵn có trong nước thải. Nồng độ COD được điều chỉnh bằng mật rỉ đường, $P-PO_4^{3-}$ điều chỉnh bằng KH_2PO_4 . Thời gian vận hành mô hình ở mỗi giai đoạn khảo sát là 30 ngày.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính đa dạng cộng đồng vi khuẩn của mẫu bùn hoạt tính

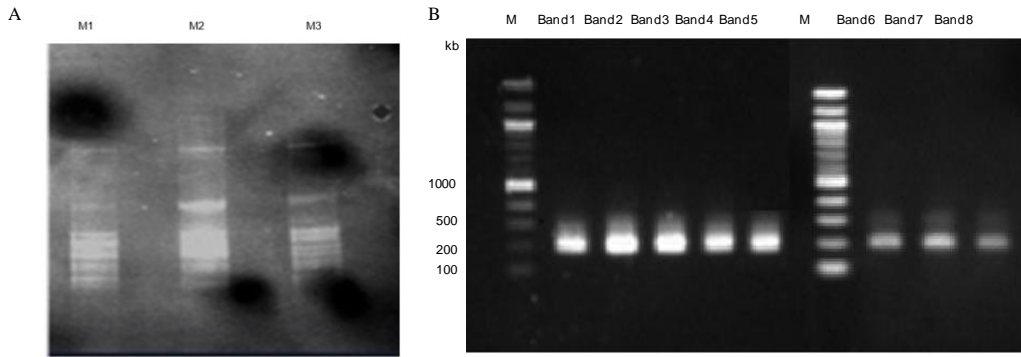
Sản phẩm DNA tổng số từ các mẫu bùn được khuếch đại đoạn gen 16S rDNA với cặp mồi chuyên biệt cho vi khuẩn là 27F và 1492R. Sản phẩm điện di sau khi PCR đoạn 16S rDNA có kích thước khoảng 1500 bp được thể hiện ở Hình 2A.



Hình 2. Sản phẩm PCR của DNA phân tách được từ các mẫu bùn.

A. Sản phẩm PCR đoạn gen 16S rDNA; B. Sản phẩm PCR vùng V3 thuộc đoạn gen 16S rDNA trên gel agarose 1%; M: Ladder, M1, M2, M3 là số lần lặp lại mẫu.

Sản phẩm PCR của đoạn gen 16S rDNA được sử dụng làm khuôn cho việc khuếch đại trình tự V3 bằng cặp mồi có GC clamp: 357F₋GC* và 518R trước khi tiến hành chạy DGGE. Kết quả ở Hình 2B cho thấy, ở cả 3 mẫu bùn đều cho sản phẩm PCR vùng V3 giống nhau với kích thước khoảng 200 bp. Sản phẩm PCR vùng V3 được đem đi phân tích DGGE trên gel polyacrylamide (Hình 3A).



Hình 3. Kết quả điện di. A) Sản phẩm PCR vùng V3 trên gel polyacrylamide.
B) Sản phẩm PCR vùng V3 thuộc trên gel agarose 1%.

Kết quả chạy DGGE cho thấy có sự phân tách các band trên gel rõ, tổng cộng có 8 trình tự có kích thước khác nhau tạo thành các band riêng lẻ trên gel. Tiến hành cắt 8 gel band và ký hiệu từ 1 đến 8. Tách lấy DNA từ các gel band và tinh sạch bằng kit Gel Extraction của QIAEX để thu nhận DNA tinh sạch từ gel polyacrylamide, sau đó các mẫu được khuếch đại trình tự V3 bằng cặp mồi 357F và 518R trước khi đem đi giải trình tự. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 1% (Hình 3B). Sản phẩm PCR vùng V3 cho kết quả các vạch đều sáng rõ kích thước khoảng 200 bp. Sản phẩm được gửi đi giải trình tự tại công ty Macrogen, Hàn Quốc. Sau khi xử lý, trình tự của các chủng được BLAST trên NCBI để so sánh độ tương đồng. Kết quả có 6 loài vi khuẩn khi so sánh các band với ngân hàng GenBank có độ tương đồng tương ứng là: *Clostridium* sp - 94%, *Gordonibacter* sp - 93%, *Actinobacterium* sp - 96%, *Nitrosomonas* sp - 100%, *Anammox* - 100%, *Microbacterium phyllosphaerae* - 93%.

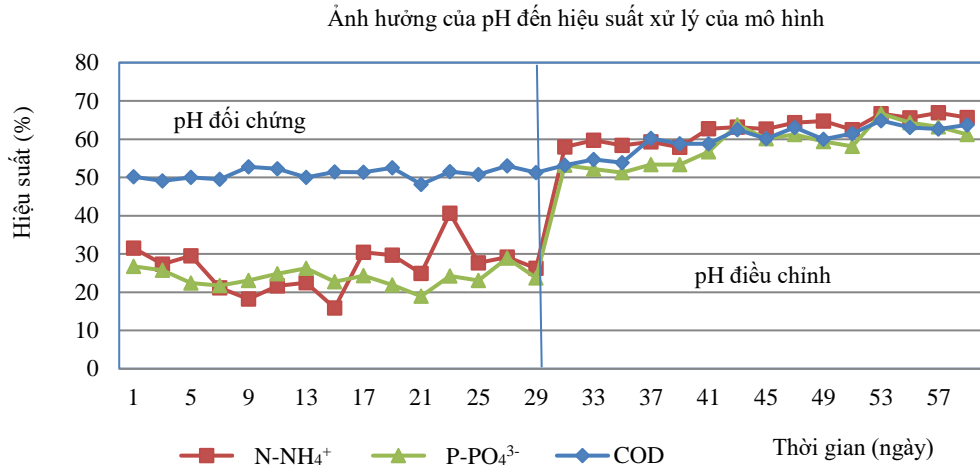
Như vậy, trong bùn của hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt của Chi nhánh Công ty Cổ Phần Toyota Đông Sài Gòn có sự hiện diện của một số vi khuẩn xử lý N-NH₄⁺ thuộc 2 nhóm hiếu khí và kỵ khí. Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm vi khuẩn hiếu khí xử lý N-NH₄⁺ có vi khuẩn *Nitrosomonas* sp. và nhóm vi khuẩn kỵ khí có vi khuẩn *Anammox*. Kết quả khảo sát trên phù hợp với nghiên cứu của nhóm tác giả Hoàng Phương Hà và cộng sự (2016), khi nhóm tác giả tiến hành phân lập và định danh các chủng vi khuẩn khử nitrat từ mẫu nước thải trạm xử lý Trúc Bạch. Kết quả ghi nhận có sự xuất hiện của 2 nhóm vi khuẩn *Nitrosomonas* sp. và *Anammox* [13].

Kết quả nghiên cứu làm cơ sở cho việc sử dụng bùn của hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt tại Chi nhánh Công ty Cổ phần Toyota Đông Sài Gòn làm bùn hoạt tính chạy mô hình ở quy mô 10 lít/ngày.đêm. Sự hiện diện của nhóm vi khuẩn *Nitrosomonas* sp. và *Anammox* trong bùn hoạt tính là nhân tố quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ có trong nước thải.

3.2. Ảnh hưởng của pH đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ của mô hình

Nước thải được lấy từ bể điều hòa của hệ thống xử lý nước thải tại Chi nhánh Công ty Cổ phần Toyota Đông Sài Gòn có hàm lượng N-NH₄⁺ dao động khoảng 30-40 mg/L, hàm lượng COD khoảng 180-220 mg/L và hàm lượng P-PO₄³⁻ khoảng 16-2,2 mg/L. Đây là nguồn nước thải đầu vào sử dụng chạy thí nghiệm ở các mô hình như được bố trí ở trên. Đối với mô hình đối chứng, sau 30 ngày theo dõi, hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ đạt trung bình 26,4%, cao nhất

đạt 40,6% ở ngày vận hành thứ 23 và thấp hơn nhiều so với mô hình thực nghiệm. Ở mô hình thực nghiệm, hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ đạt trung bình 62,5%, cao nhất đạt 66,9% ở ngày vận hành thứ 27. Bên cạnh đó, hiệu suất xử lý COD của cả 2 mô hình (đối chứng và thực nghiệm) đều không cao chỉ đạt trung bình lần lượt là 50,9% và 60,1%. Tuy nhiên, hiệu suất xử lý P-PO₄³⁻ trung bình tăng từ 23,9% ở mô hình đối chứng lên 58,5% đối với mô hình thực nghiệm (Hình 4). pH đầu ra của mô hình trong suốt quá trình vận hành thay đổi không đáng kể (pH 5,8-6,4 đối với mô hình đối chứng, pH 7,0-7,5 đối với mô hình thực nghiệm). Điều này có thể giải thích là trong mô hình thí nghiệm có sự tồn tại và hoạt động đồng thời của 2 nhóm vi khuẩn *Nitrosomonas* sp. và *Anammox*.

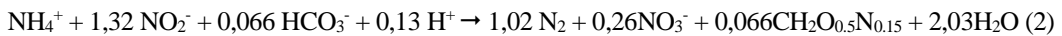


Hình 4. Ảnh hưởng pH đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺.

Theo kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH, ở mô hình thực nghiệm cho hiệu suất xử lý COD, N-NH₄⁺, P-PO₄³⁻ tốt hơn ở mô hình đối chứng. Từ kết quả ghi nhận được, chỉ tiêu pH có sự ảnh hưởng lớn đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ trong mô hình xử lý nước thải. Vi khuẩn *Nitrosomonas* tiêu thụ HCO₃⁻ làm cho pH môi trường giảm xuống theo phương trình dưới đây:



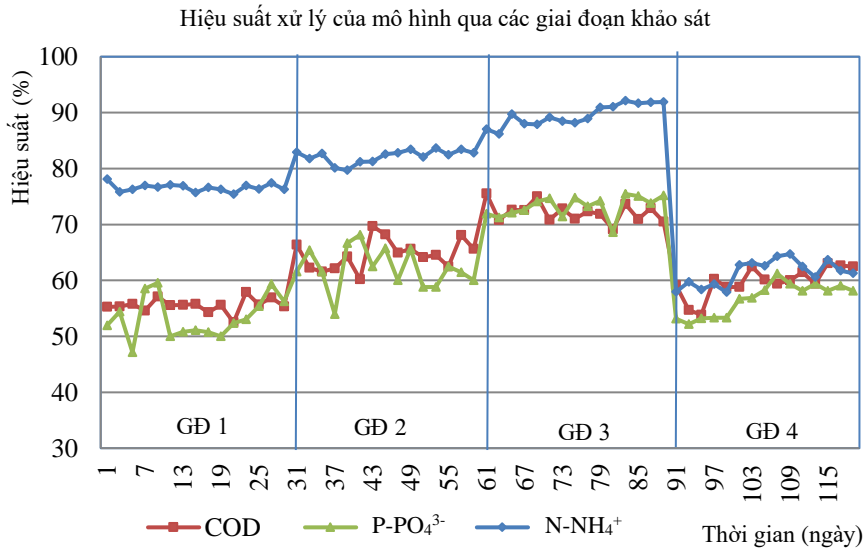
Trong khi đó vi khuẩn *Anammox* tiêu thụ ion H⁺ làm cho pH môi trường tăng lên theo phương trình:



Hai nhóm vi khuẩn này tác động qua lại làm cho pH môi trường tương đối ổn định. Bởi vì, pH môi trường tác động trực tiếp lên quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Điều kiện pH khoảng 7,0-7,5 ở bể thực nghiệm phù hợp cho sự phát triển của nhóm vi khuẩn nitrat hóa bao gồm *Nitrosomonas* sp. và *Anammox*. Do đó, chọn mức pH duy trì từ 7,0-7,5 để áp dụng cho các mô hình trong giai đoạn khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P đến hiệu suất chuyển hóa N-NH₄⁺.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ C:N:P đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ của mô hình

Giai đoạn khảo sát hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ ở các tỷ lệ C:N:P khác nhau cho kết quả được thể hiện rõ ở Hình 5. Sau thời gian 30 ngày theo dõi đối với mỗi giai đoạn, ở các tỷ lệ C:N:P khác nhau cho hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ khác nhau.



Hình 5. Hiệu suất xử lý của mô hình thí nghiệm qua các giai đoạn khảo sát.

Đối với hiệu suất xử lý COD ở GD 1 trung bình đạt 55,6%, cao nhất đạt 57,9% ở ngày khảo sát thứ 23; hiệu suất xử lý ổn định và tăng dần trong GD 2 đạt cao nhất 69,7% ở ngày thứ 43, trung bình đạt 64,8%. Hiệu suất này tiếp tục tăng trong GD 3 đạt trung bình 72,1% rồi sau đó giảm dần ở GD 4 trung bình còn khoảng 60%.

Đối với hiệu suất xử lý P-PO₄³⁻ ở GD 1 trung bình đạt 53,4%, cao nhất đạt 59,5% ở ngày khảo sát thứ 9; hiệu suất xử lý ổn định và tăng dần trong GD 2, đạt cao nhất 66,7% ở ngày thứ 39, trung bình đạt 62,4%. Hiệu suất này tiếp tục tăng trong GD 3, đạt trung bình 73,2% rồi sau đó giảm dần ở GD 4, trung bình còn khoảng 57%. Điều này có thể là do trong điều kiện có oxy, các vi khuẩn đã tích lũy phosphat trùng ngưng trong sinh khối từ phosphat đơn theo phương trình:



Đối với hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ ở GD 1 trung bình đạt 76,6%; hiệu suất xử lý ổn định và tăng dần trong GD 2 trung bình đạt 82,2%. Đặc biệt trong GD 3 đạt hiệu suất trung bình 89,5% rồi sau đó đột ngột giảm ở GD 4, trung bình còn khoảng 61,4%. Hệ vi sinh vật trong bùn của mô hình thí nghiệm đã hoạt động rất hiệu quả trong quá trình xử lý N-NH₄⁺ thông qua các phương trình (1) và (2) ở trên. Bên cạnh đó, có sự tạo thành lượng nhỏ N-NO₃⁻ trong suốt quá trình vận hành thí nghiệm.

Như vậy, từ các kết quả trên cho thấy, trong vận hành mô hình xử lý nước thải, việc quan tâm đến các yếu tố môi trường rất cần thiết. Ngoài chỉ tiêu pH, tỷ lệ C:N:P ảnh hưởng lớn đến hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ có trong nước thải. Tùy thuộc vào tính chất của các loại nước thải khác nhau mà có sự thay đổi khác nhau của tỷ lệ C:N:P. Trong 4 tỷ lệ khảo sát trên, tỷ lệ C:N:P tương ứng GD 3 là 100:15:1 cho hiệu suất xử lý N-NH₄⁺ cao nhất, phù hợp với những loại nước thải có hàm lượng N-NH₄⁺ đầu vào khoảng 30-40 mg/L. Điều đáng chú ý, trong quá trình vận hành mô hình thí nghiệm không bổ sung thêm vi sinh vật hoặc bất kỳ chế phẩm vi sinh nào khác, hiệu suất xử lý của mô hình dựa vào vi sinh vật hiện diện sẵn có trong bùn hoạt tính và nước thải. Điều đó chứng tỏ, các yếu tố môi trường như pH, tỷ lệ C:N:P ảnh hưởng lớn đến quá trình xử lý nước thải, giúp duy trì sự ổn định hệ vi sinh vật, từ đó tăng hiệu suất xử lý. Ngoài ra, việc hạn chế sử dụng chế phẩm vi sinh giúp giảm chi phí trong việc vận hành hệ thống nước thải, đây chính là giải pháp vừa tiết kiệm vừa mang lại hiệu quả cần được nghiên cứu nhiều hơn nữa trong thời gian tới.

4. KẾT LUẬN

Kết quả điện di DGGE trong nghiên cứu cho thấy hệ vi khuẩn trong mẫu bùn từ hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt có sự đa dạng cao, gồm các vi khuẩn xử lý N-NH₄⁺ như nhóm vi khuẩn hiếu khí có *Nitrosomonas* sp và nhóm vi khuẩn kỵ khí *Anammox*. Ngoài ra còn có sự hiện diện của các loài thuộc họ *Microbacterium*, *Actinobacterium*, *Clostridium* và *Gordonibacter*.

Kết quả chạy mô hình thu được, pH thích hợp cho hoạt động của vi khuẩn từ 7,0-7,5 và tỷ lệ C:N:P tương ứng 100:15:1 là tỷ lệ phù hợp nhất cho vi khuẩn tăng trưởng và phát triển được sử dụng trong hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt. Hiệu suất chuyển hóa trung bình COD; N-NH₄⁺; P-PO₄³⁻ theo dõi sau 10 ngày lần lượt đạt 72,5%, 93,5% và 74,3%. Kết quả thí nghiệm là cơ sở đưa ra công nghệ xử lý nước thải với tỷ lệ C:N:P thích hợp cho hệ sinh vật trong hệ thống xử lý nước thải sinh hoạt.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Sinh học Nhiệt đới và Chi nhánh Công ty Cổ phần Toyota Đông Sài Gòn đã giúp đỡ trong quá trình thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lương Đức Phẩm, Đinh Thị Kim Nhung, Trần Cẩm Vân - Cơ sở khoa học trong công nghệ bảo vệ môi trường, Tập 2: Cơ sở vi sinh trong công nghệ bảo vệ môi trường, NXB Giáo dục Việt Nam, Hà Nội (2009).
2. Subasinghe R.M., Samarajeewa A.D., Scroggins R., Beaudette L.A. - Evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and next generation sequencing (NGS) in combination with enrichment culture techniques to identify bacteria in commercial microbial-based products, *Journal of Microbiological Methods* **161** (2019) 118-130.
3. Yamamoto N., Otawa K., Nakai Y. - Bacterial communities developing during composting processes in animal manure treatment facilities, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **22** (6) (2009) 900-905.
4. Nguyễn Thị Tuyên, Nguyễn Minh Giảng, Vũ Hoàng Giang, Đinh Thị Thúy Hằng - Đa dạng vi khuẩn nitrat trong một số môi trường sinh thái ở Việt Nam và các chủng đại diện, *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* **25** (2009) 265-273.
5. Xuechao G., Bing L., Renxin Z., Jiayu Z., Lin L., Guijuan Z., Ruohong L., Jie L., Pu L., Yingyu L., Xiao-yan L. - Performance and bacterial community of moving bed biofilm reactors with various biocarriers treating primary wastewater effluent with a low organic strength and low C/N ratio, *Bioresource Technology* **287** (2019) 121424.
6. Lê Xuân Phương - Vi sinh vật học môi trường, Chương 4: Khả năng chuyển hóa vật chất của vi sinh vật trong các môi trường tự nhiên, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội (2008).
7. Mougino C., Kiwamura R., Matulich K.L., Berlemont R., Allison S.D., Amend A.S., Martiny A.C. - Elemental stoichiometry of fungi and bacteria strains from grassland leaf litter, *Soil Biology & Biochemistry* **76** (2014) 278-285.
8. Lê Văn Cát - Xử lý nước thải giàu hợp chất nitơ và photpho, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội (2007).
9. Oksana K., Ruben G., Yaron D., Tirza D., Yosef S. - Sedimentary Marl mudstone as a substrate in a xeric environment revealed by microbiome analysis, *Extremophiles* **23** (3) (2019) 337-346.

10. Ngô Đức Duy, Đào Thị Thu Hiền, Hoàng Quốc Khánh, Nguyễn Thị Tường Vi - Phân tích cộng đồng vi khuẩn trong phân ủ bằng kỹ thuật DGGE, Tạp chí Sinh học **34** (3SE) (2012) 118-124.
11. Lê Công Nhất Phương, Nguyễn Huỳnh Tấn Long, Ngô Kế Sương - Mối tương quan giữa bicacbonat và ammonium của quá trình nitrit hóa một phần/Anammox để loại ammonium trong nước thải nuôi lợn, Tạp chí Sinh học **34** (3SE) (2012) 63-68.
12. Andrew D.E. - Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st Edn, APHA-AWWA-WEF, Washington D.C. (2005).
13. Hoàng Phương Hà, Nguyễn Quang Huy, Hoàng Thị Yến - Nghiên cứu một số điều kiện thích hợp cho sinh trưởng và tạo biofilm của các chủng vi khuẩn khử nitrate, Tạp chí Công nghệ Sinh học **14** (1) (2016) 191-196.

ABSTRACT

STUDY ON THE CHARACTERIZATION OF NITROGEN-FIXING BACTERIAL COMMUNITY IN ACTIVATED SLUDGE AND EFFECTS OF RATIO C:N:P ON REMOVAL OF AMMONIA FROM WASTEWATER TREATMENT PLANT

Tran Trung Kien^{1*}, Huynh Thi Diep¹, Nguyen Hoang Dung¹,
Le Quynh Loan¹, Tran Quang Vinh¹, Nguyen Thi Ly²,
Vu Thi Tuyet Nhung¹, Pham Anh Vu¹, Tran Thi My Ngoc¹

¹Tropical Biology Institute, Vietnam Academy of Science and Technology

²Nong Lam University Ho Chi Minh City

*Email: trkientr@yahoo.com

Many groups of microorganisms in nature are able to convert nitrogen compounds in wastewater into non-toxic compounds to the environment. It is necessary to exactly determine the bacterial community that posed abilities to remove nitrogen in activated sludge and the effect of the C:N:P ratio to efficiently convert ammonia of the bacterial community. This study was aimed to investigate the bacterial community which can treat nitrogen in the sludge samples by the DGGE method and investigated the effect of the relationship between COD, N-NH₄⁺, and P-PO₄³⁻ on the formation and oxidation ability of bacteria in activated sludge. This research results show that the bacteria community in the sludge sample from the domestic wastewater treatment system is highly diverse, including the presence of two bacteria capable of converting ammonia including *Nitrosomonas* sp and *Anammox*. A ratio of C:N:P of 100:15:1 yielded the highest ammonia removal efficiency for 89.5% in 4 experimental periods.

Keywords: Ammonium, domestic wastewater, DGGE method, nitrogen treats bacteria.