

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ỨNG DỤNG VI KHUẨN CHUYỂN HOÁ NITƠ VÀ PHOTPHO TỬ BÃI RÁC ĐỂ XỬ LÝ N VÀ P TRONG NƯỚC RỈ RÁC

Cao Ngọc Điệp¹ và Đoàn Tấn Lực²

¹ Viện Nghiên cứu & Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Trung học Phổ thông Vĩnh Xuân, Trà Ôn, Vĩnh Long

Thông tin chung:

Ngày nhận: 24/03/2014

Ngày chấp nhận: 28/08/2014

Title:

Isolation, Selection and Application of Nitrogen Removal Bacteria and Polyphosphate-Accumulating Bacteria from biowaste station for N and P removal treatment in sewage water

Từ khóa:

Ammonium, nước rỉ rác, orthophosphate, vi khuẩn chuyển hoá nitơ, vi khuẩn tích lũy pophosphate

Keywords:

Ammonium, nitrogen removal bacteria, orthophosphate, polyphosphate-accumulating bacteria, sewage water

ABSTRACT

Forty-five nitrogen removal bacterial isolates and fifty-two polyphosphate-accumulating bacterial isolates were isolated from sewage water of five biowaste stations (Vinh Long, Can Tho, Hau Giang). After testing on minimum medium added NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- and mixture of these three kinds of nitrogen anorthophosphate, three isolates having high N removal ability (TOD1.1, TOD2.3, TND1.4) and three polyphosphate-accumulating bacterial isolates (TL2.3, HP2.3, HP3.2) were chosen to sequence randomly by automatic sequencer. DNA sequencing were compared with GenBank databank of NCBI by BLAST N software. The results showed that TOD1.1, TOD2.3 and TND1.4 isolates were 99% of identity with JF799886 *Enterobacter* sp. CIFRI D-TSB-9-ZMA, HQ259961 *Klebsiella variicola* strain 7 & EU884439 *Enterobacter* sp. 12 and FJ189785 *Enterobacter* sp. CSB08, respectively; while polyphosphate-accumulating bacterial TL2.3 isolate had the identity rate of 98% with JX025736 *Bacillus cereus* strain VP11, the HP2.3 and HP3.2 isolates were 99% of identity with JF505965 *Exiguobacterium mexicanum* strain KNUC9031 and FJ976560 *Acinetobacter soli* strain LCR52, respectively. The combined *Enterobacter* sp. TND1.4 and *Acinetobacter soli* HP3.2 reduced the concentrations of ammonium, total N, Nitrite, Nitrate, orthophosphate, total P and the released ammoniac gas to the lowest level after five days of inoculation.

TÓM TẮT

Bốn mươi lăm dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ và 52 dòng vi khuẩn tích lũy polyphosphate được phân lập từ nước rỉ rác của 5 bãi rác ở Vĩnh Long, Cần Thơ và Hậu Giang. Khảo sát trên môi trường bổ sung NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- và hỗn hợp 3 loại Nitơ (bao gồm NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-) với lượng orthophosphate, 3 dòng vi khuẩn chuyển hóa nitơ (TOD1.1, TOD2.3, TND1.4) và 3 dòng vi khuẩn tích lũy poly-P (TL2.3, HP2.3, HP3.2) cao được chọn để giải trình tự và sử dụng phần mềm BLAST N để so sánh với các trình tự các dòng vi khuẩn trên ngân hàng dữ liệu gen của NCBI. Kết quả cho thấy dòng TOD1.1 đồng hình với JF799886 *Enterobacter* sp. CIFRI D-TSB-9-ZMA và dòng TOD2.3 tương đồng với dòng HQ259961 *Klebsiella variicola* strain 7 & dòng EU884439 *Enterobacter* sp. 12; dòng TND1.4 đồng hình với dòng FJ189785 *Enterobacter* sp. CSB08 đều ở mức 99%; trong khi dòng vi khuẩn tích lũy poly-P TL2.3 tương đồng ở mức 98% với dòng JX025736 *Bacillus cereus* strain VP11 và hai dòng HP2.3 & HP3.2 đồng hình ở mức độ 99% với dòng JF505965 *Exiguobacterium mexicanum* strain KNUC9031 và dòng FJ976560 *Acinetobacter soli* strain LCR52, theo thứ tự. Hỗn hợp hai dòng *Enterobacter* sp. TND1.4 và *Acinetobacter soli* HP3.2 giảm lượng ammonium, TN, Nitrite, Nitrate, orthophosphate và TP trong nước rỉ rác ở mức thấp nhất sau 5 ngày sau khi chúng đồng thời hàm lượng khí ammoniac thải ra thấp nhất.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Cùng với tốc độ đô thị hoá, công nghiệp hoá nhanh chóng dẫn đến sự ô nhiễm và suy thoái nghiêm trọng môi trường, đáng chú ý là ô nhiễm môi trường nước. Nước không chỉ bị ô nhiễm bởi nước thải công nghiệp, nước thải sinh hoạt, sử dụng quá nhiều phân bón hóa học trong sản xuất nông nghiệp... mà còn bị ô nhiễm bởi nhiều nguồn khác trong đó, đáng quan tâm nhất là nước rỉ ra từ các bãi rác vì loại nước này có hàm lượng chất ô nhiễm rất cao. Thành phần nước rỉ rác rất phức tạp trong đó ô nhiễm chất hữu cơ là chủ yếu, bên cạnh còn ô nhiễm chất vô cơ, đặc biệt là một lượng lớn các hợp chất nitơ vô cơ hòa tan (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-). Nồng độ NH_4 cao gây hiện tượng phú dưỡng làm môi trường nước ô nhiễm nặng và hôi thối. Bên cạnh đó, thành phần lân hòa tan chiếm một tỷ lệ lớn cũng góp phần to lớn gây ô nhiễm môi trường. Lượng nước này nếu không được xử lý đúng mức thì có nguy cơ gây ô nhiễm các tầng nước mặt trở thành nguyên nhân trực tiếp phát sinh dịch bệnh, gây bệnh cho con người và ảnh hưởng đến môi trường xung quanh. Đồng thời, nó có thể xâm nhập vào môi trường đất sau đó đi vào các mạch nước ngầm làm ô nhiễm nguồn nước ngầm và làm biến đổi đặc tính của đất. Tuy nhiên, trong nước rỉ rác cũng chứa nhiều chủng loại vi khuẩn chuyển hoá nitơ, vi khuẩn tích lũy polyphosphate... rất phong phú và chính những loại vi khuẩn bản địa này nếu được tuyển chọn và ứng dụng để xử lý N và P hoà tan trong nước rỉ rác mang lại hiệu quả cao. Mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập, tuyển chọn và ứng dụng các dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ, vi khuẩn tích lũy polyphosphate tốt để loại bỏ.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

– Mẫu được thu ở đầu ra của các bãi rác Hoà Phú, Trà Ôn (Vĩnh Long), Tân Long (Phụng Hiệp, Hậu Giang) và Thốt Nốt, Cờ Đỏ (Thành phố Cần Thơ).

– Mẫu được thu bằng cách: tráng lọ nhựa bằng nước thải lấy được từ ống thải, sau đó lấy nước thải rồi đậy nắp, ghi nhãn, đặt lọ vào bọc nilon rồi cho vào thùng trữ lạnh để mang về phòng thí nghiệm và bảo quản.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phân lập vi khuẩn

Dùng micropipet hút 50 μl mẫu nước (ở độ pha loãng thích hợp) rồi trải lên đĩa môi trường phân lập. Dùng que trải mẫu phân phối dịch mẫu trải đều

khắp mặt thạch, ủ trong tủ ủ vi sinh ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 48 giờ (môi trường cho vi khuẩn chuyển hoá nitơ (Zhao *et al.*, 2010) và 72 giờ (môi trường cho vi khuẩn tích lũy poly-P (Wang *et al.*, 2008). Khi vi khuẩn phát triển thành khuẩn lạc, chọn các khuẩn lạc rời rạc và có hình thái khác nhau trên môi trường phân lập (về hình dạng, màu sắc, kích thước, bìa, độ nổi) mỗi dạng khuẩn lạc cấy chuyển nhiều lần sang môi trường cùng loại đến khi các khuẩn lạc rời ra, đồng nhất và đều nhau trên đường cấy. Chọn khuẩn lạc rời cấy chuyển vào ống chứa môi trường cùng loại. Ống đã cấy chuyển được ủ ở 30°C trong tủ ủ vi sinh vật để vi khuẩn phát triển. Sau đó đem trữ lạnh để chờ kiểm tra độ rỗng dưới kính hiển vi.

2.2.2 Tuyển chọn các dòng vi khuẩn phân lập được

Kiểm tra khả năng chuyển hoá nitơ của các dòng vi khuẩn

Các dòng vi khuẩn phân lập được cấy trên 4 loại môi trường có bổ sung NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- và T (NH_4 , NO_3 , NO_2) trong đó NH_4 và NO_3 ở nồng độ 100 mM, NO_2^- ở nồng độ 10 mM để so sánh khả năng phát triển của chúng. Chọn những dòng vi khuẩn phát triển được trên môi trường có bổ sung NH_4 , NO_3 , NO_2 và T (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-) trong đó NH_4^+ và NO ở nồng độ 100 mM, NO_2^- ở nồng độ 10 mM để tiếp tục kiểm tra khả năng phát triển của chúng trên môi trường có bổ sung NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- và T (NH_4 , NO_3 , NO_2) ở nồng độ cao hơn trong đó NH_4 và NO_3^- ở nồng độ tăng dần 200 mM, 300 mM... và NO_2^- ở nồng độ tăng dần 20 mM, 30 mM...

Kiểm tra khả năng tích lũy PO_4^{3-} của các dòng vi khuẩn tích lũy poly-P

Các dòng vi khuẩn sau khi được kiểm tra rỗng tiến hành nuôi trên môi trường lỏng trên máy lắc để kiểm tra khả năng tích lũy poly-P. Mỗi dòng vi khuẩn được chủng vào 5ml môi trường sau thời gian 4-6 ngày.

Ly trích poly-P (Eixler *et al.*, 2005) bằng cách nuôi vi khuẩn trong chai ampicillin chứa 4 ml môi trường tích lũy poly-P, lắc 160 vòng/phút, sau 6 ngày nuôi tiến hành ly tâm 12.000 vòng/phút và trong thời gian 10 phút để thu sinh khối, loại bỏ phần nước dịch. Hòa tan sinh khối trong 4 ml NaOH 0,2 M, ủ trong 20 giờ để trích poly-P. Dịch tế bào được lọc qua giấy lọc Sartorius Stedim 17598 0,45 μm , CE để loại bỏ xác tế bào để thu dịch lọc chứa poly-P. Dịch lọc thu được chia làm 2 phần:

– Phần 1: đo để xác định lượng phosphate tự do (PP1) trong dịch bằng phương pháp Molybdate blue (so màu ở bước sóng 880 nm trên máy Beckman Coulter DU640B).

– Phần 2: thủy phân bằng HCl 1M ở 100°C trong thời gian 10 phút. Dịch thủy phân sau đó để nguội và đem đo hàm lượng phosphate (PP2) với phương pháp giống như phần 1. Hàm lượng poly-P nội bào được tính bằng hiệu số giữa PP2-PP1.

Những dòng vi khuẩn có độ hữu hiệu cao (chuyển hoá đạm và tích lũy phospho hoà tan cao) được chọn để nhận diện bằng cách thực hiện các phản ứng PCR để xác định gen 16S rRNA theo cặp mồi 8F và 1492R (cho vi khuẩn chuyển hoá nitơ) và 27F và 1492R (cho vi khuẩn tích lũy poly-P); sản phẩm PCR sẽ điện di trên gel agarose 0,8% và phổ điện di sản phẩm PCR được chụp hình qua GelDoc với thang chuẩn 100 bp sau đó chúng được giải trình tự ở công ty MACROGEN

(Hàn Quốc), kết quả trình tự được so sánh với dòng vi khuẩn chuẩn ở ngân hàng dữ liệu của NCBI bằng phần mềm BLAST N để nhận diện dòng vi khuẩn được giải trình tự gen 16S rRNA. Xây dựng cây phả hệ của chúng bằng phần mềm MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011) với phương pháp neighbor-joining dựa trên 1000 lần lặp lại (bootstraps).

2.2.3 *Ứng dụng các dòng vi khuẩn tốt trong loại bỏ N&P trong nước rỉ rác ở mô hình bình lên men 1L*

Kết hợp 2 dòng vi khuẩn chuyển hoá N và vi khuẩn tích lũy poly-P trong điều kiện sục khí để loại bỏ N và P trong nước rỉ rác (có thành phần lí hoá tính trình bày trong Bảng 1) trong mô hình bình lên men (bioreactor 1L) cho đến khi hàm lượng Ammonium và orthophosphate giảm dưới mức loại B1 của QCVN 25 :2009/BTNMT).

Bảng 1: Thành phần lý hóa tính trong nước rỉ rác tại bãi rác Tân Long, Phụng Hiệp, Hậu Giang

	pH	TKN	NH ₄ ⁺ (mg/L)	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	TP (mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	COD (mg/L)	TSS (mg/L)
Mùa nắng	7,2	351,65	275,72	0,02	0,09	113,32	23,22	1090	382
Mùa mưa	7,8	280,91	402,02	0,57	0,09	30,67	12,61	964	156

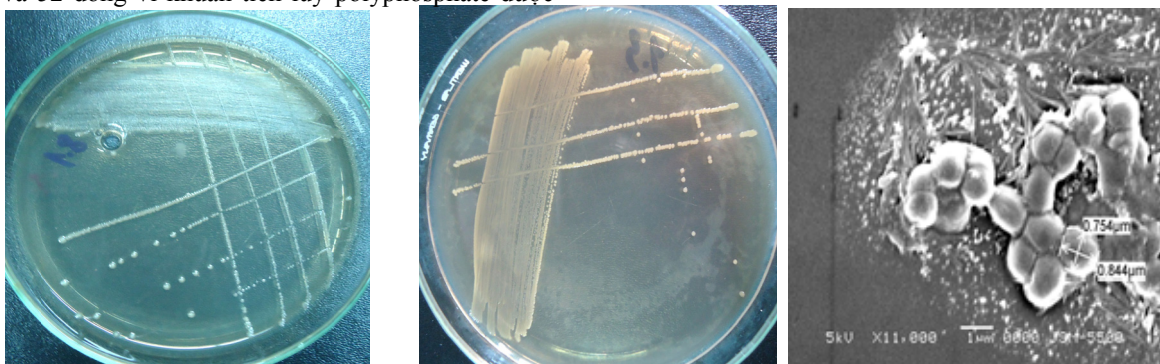
Nguồn phân tích tại PTN Chuyên sâu và Vi sinh môi trường, Đại học Cần Thơ và Trung tâm Kỹ thuật và Ứng dụng Công nghệ thành phố Cần Thơ

Số liệu trung bình được phân tích thống kê bằng phần mềm EXEL 2003 và so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê bằng kiểm định LSD.01 hay Duncan.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bốn mươi lăm dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ và 52 dòng vi khuẩn tích lũy polyphosphate được

phân lập từ 20 mẫu nước rỉ rác của 5 bãi rác Hoà Phú, Trà Ôn (Vĩnh Long), Tân Long (Hậu Giang), Thốt Nốt, Cờ Đỏ (Cần Thơ). Hầu hết các dòng vi khuẩn phân lập được có đặc điểm que ngắn và có khả năng chuyển động, khuẩn lạc có dạng hình tròn, màu trắng đục, bìa nguyên, độ nổi mô, kích thước từ 0,4 – 2,5 mm (Hình 1).



Hình 1: Khuẩn lạc của 2 dòng vi khuẩn TOD1.1 và TL2.3 và hình dạng của dòng TL2.3 (chụp hình ở kính hiển vi điện tử quét với độ phóng đại 11.000 lần)

Sau khi đánh giá qua các nồng độ NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- và hỗn hợp 3 loại nitơ (Bảng 2) cùng lượng orthophosphate tích lũy (Bảng 3), chọn được 3 dòng vi khuẩn chuyển hóa nitơ (TOD1.1, TOD2.3, TND1.4) và 3 dòng vi khuẩn tích lũy poly-P (TL2.3, HP2.3, HP3.2) có độ hữu

hiệu cao vì chúng có khả năng phát triển tốt trên môi trường bổ sung NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- với nồng độ cao cũng như chúng phát triển trên môi trường hỗn hợp 3 loại NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- trong khi đó dòng HP3.2 có hàm lượng tích lũy PO_4 cao nhất.

Bảng 2: Ba dòng vi khuẩn có khả năng chuyển hoá nitơ cao

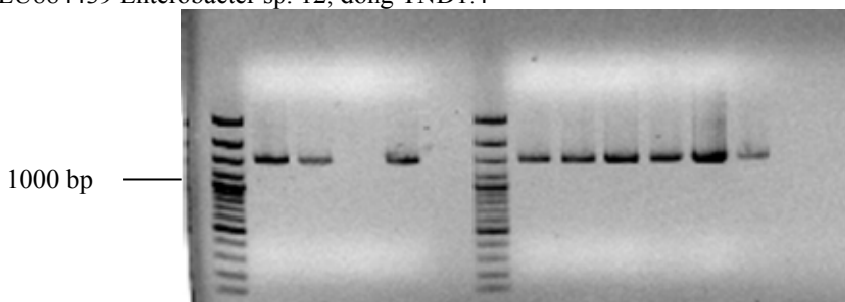
TT	Tên dòng vi khuẩn	mM NH_4^+	mM NO_2^-	mM NO_3^-	mM tổng hợp ba
01	TOD1.1	900	90	600	200
02	TOD2.3	300	100	900	300
03	TND1.4	700	100	900	400

Bảng 3: Ba dòng vi khuẩn có khả năng tích lũy polyphosphate cao

TT	Tên dòng vi khuẩn	Tổng lượng PO_4^{3-} (mg/l)	Lượng PO_4 tự do (mg/l)	Lượng PO_4 tích lũy (mg/l)
01	TL2.3	11,26	0,88	10,33
02	HP2.3	10,56	0,55	10,01
03	HP3.2	46,68	1,10	45,58

Tất cả 6 dòng vi khuẩn đều được nhận diện ở băng 1500 bp trên phổ điện di của PCR-16S rRNA được nhận lên từ DNA của chúng (Hình 2) và được xác định dòng TOD1.1 đồng hình với JF799886 *Enterobacter* sp. CIFRI D-TSB-9-ZMA mức độ 99% và dòng TOD2.3 tương đồng ở mức 99% với dòng HQ259961 *Klebsiella variicola* strain 7 & dòng EU884439 *Enterobacter* sp. 12; dòng TND1.4

đồng hình với dòng FJ189785 *Enterobacter* sp. CSB08; trong khi dòng vi khuẩn tích lũy poly-P TL2.3 tương đồng ở mức 98% với dòng JX025736 *Bacillus cereus* strain VP11 và hai dòng HP2.3 & HP3.2 đồng hình ở mức độ 99% với dòng JF505965 *Exiguobacterium mexicanum* strain KNUC9031 và dòng FJ976560 *Acinetobacter soli* strain LCR52, theo thứ tự.



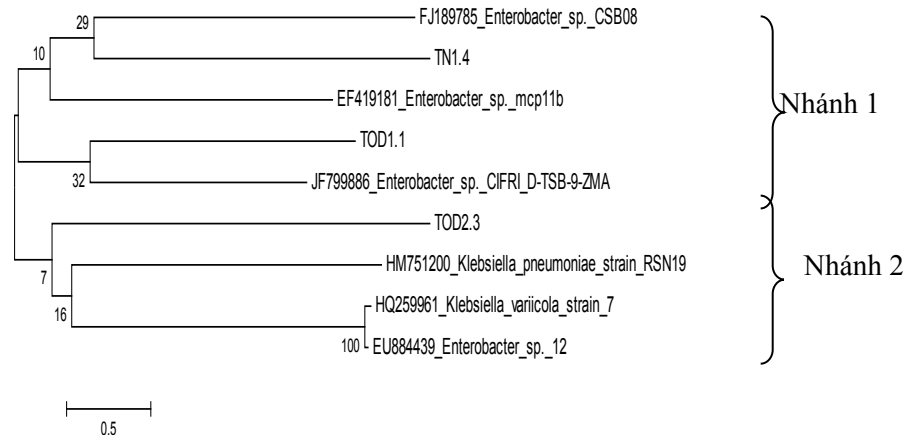
Hình 2: Phổ điện di của sản phẩm PCR được nhận lên từ DNA của các dòng vi khuẩn chuyển hoá N (trái) và vi khuẩn tích lũy poly-P (phải)

Ghi chú: M: thang chuẩn; 1, 2 và 3 là 3 dòng vi khuẩn TOD1.1, TOD2.3 và TND1.4; 4 đến 9 là 3 dòng vi khuẩn tích lũy poly-P, 4-5: dòng TL2.3, 6-7: dòng HP2.3 và 8-9: dòng HP3.2 và 10: đối chứng âm

Từ Hình 3 cho thấy cây phá hệ chia thành 2 nhánh trong đó nhánh 1 bao gồm 2 dòng TN1.4 và TOD1.1 gần với chi *Enterobacter* sp. trong khi nhánh 2 có dòng TOD2.3 gần với chi *Klebsiella* và *Enterobacter* sp.

Chủng vi khuẩn chuyển hoá nitơ và vi khuẩn tích lũy poly-P vào trong nước rỉ rác có nồng độ ammonium ban đầu là 400 mg/l sau 5 ngày cho thấy hỗn hợp 2 dòng TND1.4 và TL2.3 và hỗn hợp 2 dòng TND1.4 và HP3.2 làm giảm lượng

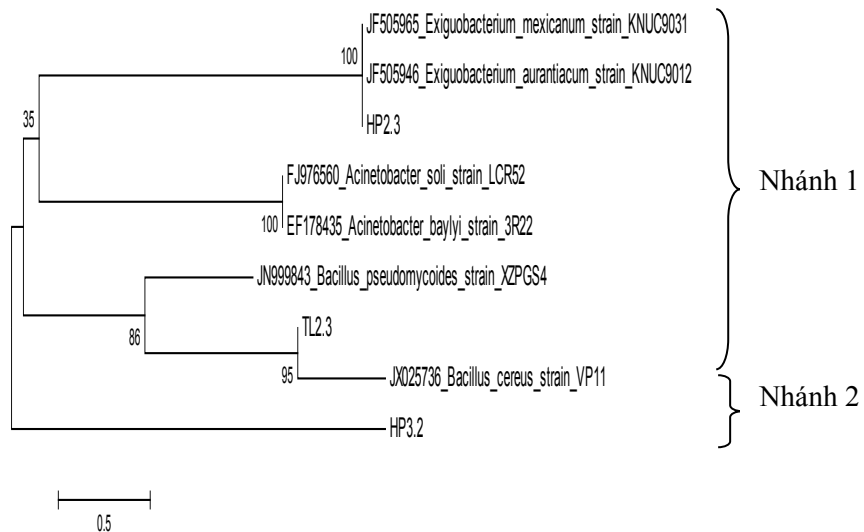
ammonium xuống 5,6 và 5,1 mg/l, theo thứ tự (Hình 5) trong khi đó hỗn hợp 2 dòng TND1.4 và HP3.2 giảm lượng orthophosphate liên tục và đạt mức thấp nhất vào ngày thứ 5 (Hình 6), như vậy hỗn hợp 2 dòng chuyển hoá đạm *Enterobacter* sp. TND1.4 và dòng tích lũy polyphosphate *Acinetobacter soli* HP3.2 hiệu quả nhất trong việc loại bỏ ammonium và orthophosphate trong nước rỉ rác sau 5 ngày chủng vi khuẩn trong mô hình thí nghiệm 1L.



Hình 3: Cây phả hệ trình bày mối quan hệ giữa các dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ dựa trên trình tự 16S rRNA (phương pháp neighbor-joining) với 1000 lặp lại (bootstrap)

Cây phả hệ trình bày mối quan hệ của dòng HP2.3 gần với chi *Exiguobacterium* và dòng TL2.3

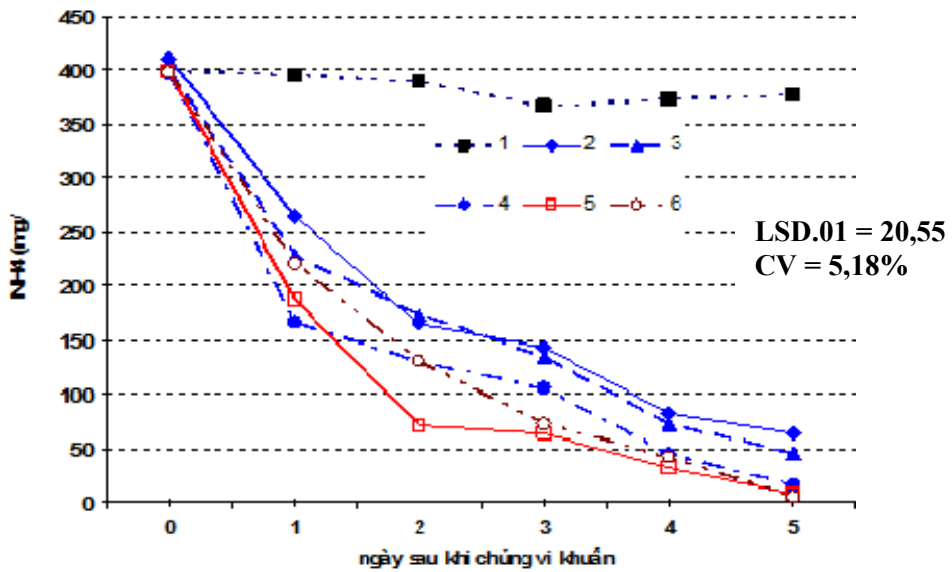
với chi *Acinetobacter* và *Bacillus* (nhánh 1) trong khi đó dòng HP3.2 ở nhánh 2 (Hình 4).



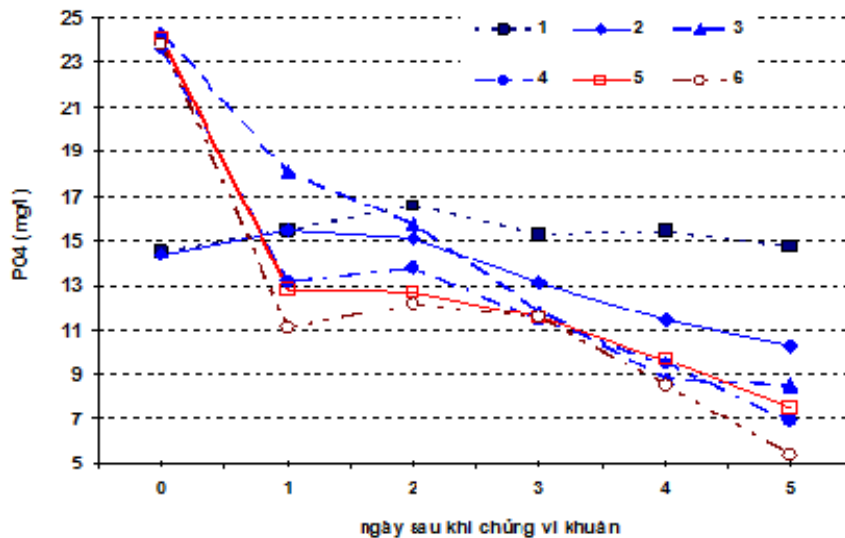
Hình 4: Cây phả hệ trình bày mối quan hệ giữa các dòng vi khuẩn tích lũy poly-P dựa trên trình tự 16S rRNA (phương pháp neighbor-joining) với 1000 lặp lại (bootstrap)

Ngoài ra khi sục khí liên tục làm cho lượng khí ammoniac (NH₃) thoát ra và bay vào không khí vì thể lượng khí NH₃ ở nghiệm thức 2 (chỉ sục khí) cao nhất trong từng ngày. Trái lại nước rỉ rác không sục khí (NT1) có lượng khí ammoniac thoát ra ít nhất, điều đặc biệt nước rỉ rác có chủng vi khuẩn chuyển hoá nitơ làm cho khí NH₃ thoát ra nhưng ít hơn nghiệm thức 2 (sục khí) và lượng nitơ còn lại được vi khuẩn sử dụng như nguồn dưỡng

chất thay vì thoát ra ngoài làm ô nhiễm không khí. Hỗn hợp 2 dòng dòng chuyển hoá đạm *Enterobacter* sp. TND1.4 và dòng tích lũy polyphosphate *Acinetobacter solii* HP3.2 có lượng khí ammoniac thải ra ít nhất (Hình 7). Đặc biệt 2 dòng TOD1.1 và dòng HP3.2 sử dụng nhiều P dễ tan nên khi bổ sung vào thí nghiệm (Hình 6) làm cho lượng P ở ngày 0 thấp hơn các nghiệm thức khác.

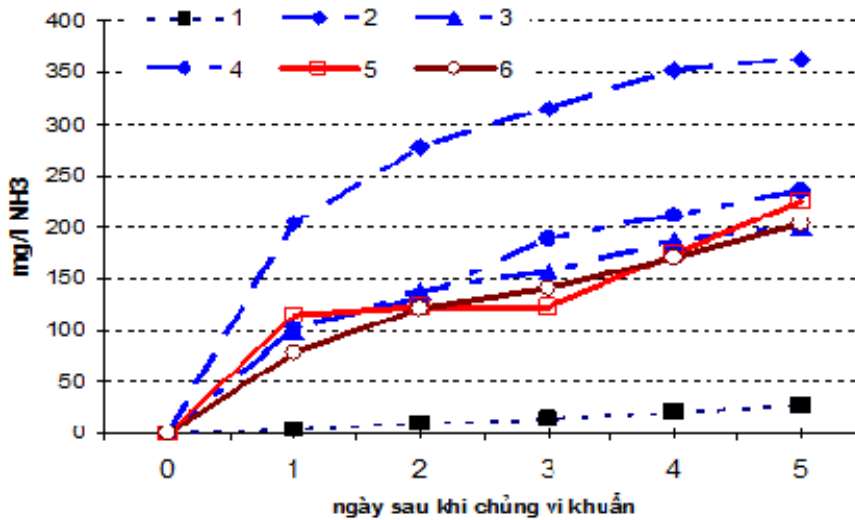


Hình 5: Hiệu quả của vi khuẩn chuyển hóa nitơ và vi khuẩn tích lũy poly-P trên hàm lượng ammonium (mg/l) trong nước rỉ rác theo thời gian



Hình 6: Hiệu quả của vi khuẩn chuyển hóa nitơ và vi khuẩn tích lũy poly-P trên hàm lượng orthophosphate (mg/l) trong nước rỉ rác theo thời gian

Ghi chú: NT1: đối chứng (không sục khí), NT2: đối chứng (sục khí), NT3: dòng TOD1.1 và dòng TL2.3, NT4: dòng TOD1.1 và dòng HP3.2, NT5: dòng TND1.4 và dòng TL2.3, NT6: dòng TND1.4 và dòng HP3.2 [NT3, NT4, NT5, NT6 đều sục khí liên tục]



Hình 7: Hiệu quả của vi khuẩn chuyển hóa nitơ và vi khuẩn tích lũy poly-P trên hàm lượng khí NH₃ (mg/l) thoát ra từ nước rỉ rác theo thời gian

Ghi chú: NT1: đối chứng (không sục khí), NT2: đối chứng (sục khí), NT3: dòng TOD1.1 và dòng TL2.3, NT4: dòng TOD1.1 và dòng HP3.2, NT5: dòng TND1.4 và dòng TL2.3, NT6: dòng TND1.4 và dòng HP3.2 [NT3, NT4, NT5, NT6 đều sục khí liên tục]

Chủng vi khuẩn chuyển hoá nitơ làm giảm hàm lượng Nitơ tổng (TN) so với đối chứng, sục khí (NT2) giảm được 75,31% trong khi các dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ từ 79,01% đến 90,12% trong khi đó sục khí lại làm tăng hàm lượng P tổng

(TP) và hỗn hợp các dòng TOD1.1+dòng HP3.2, TND1.4+dòng TL2.3, dòng TND1.4+dòng HP3.2 giảm lượng TP trái lại hàm lượng nitrite và nitrate trong nước rỉ rác quá thấp (Bảng 4).

Bảng 4: Hiệu quả dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ và vi khuẩn tích lũy poly-P trên hàm lượng TN, TP, Nitrite và Nitrate (mg/l)*

Chỉ tiêu	NT1	NT2	Tỉ lệ giảm (%)	NT3	Tỉ lệ giảm (%)	NT4	Tỉ lệ giảm (%)	NT5	Tỉ lệ giảm (%)	NT6	Tỉ lệ giảm (%)
TN	378	93	75,3	79,4	79,0	42,0	88,9	46,7	87,6	37,4	90,1
TP	16,5	31,4	-	77,8	-	8,0	51,4	9,8	40,4	12,1	26,5
Nitrite	0,05	0	100	0,01	80,0	0,03	40,0	0,02	60,0	0,07	-
Nitrate	1,05	0,17	83,3	0,17	83,8	0,14	86,7	0,14	86,7	0,10	90,0

* Phân tích tại Trung tâm Kỹ thuật và Ứng dụng Công nghệ, Sở Khoa học và Công nghệ TP. Cần Thơ

Ghi chú: NT1: đối chứng (không sục khí), NT2: đối chứng (sục khí), NT3: dòng TOD1.1 và dòng TL2.3, NT4: dòng TOD1.1 và dòng HP3.2, NT5: dòng TND1.4 và dòng TL2.3, NT6: dòng TND1.4 và dòng HP3.2 [NT3, NT4, NT5, NT6 đều sục khí liên tục]

Nhìn chung hỗn hợp 2 dòng TND1.4+HP3.2 hiệu quả nhất trong việc loại bỏ ammonium, nitrite, nitrate, orthophosphate và TP kể đến 2 dòng TND1.4+dòng TL2.3.

Xử lý nitơ và photpho trong nước rỉ rác đã được Lê Văn Cát (2007) đề nghị từ lâu bằng phương pháp lí và hoá học ở Việt Nam tuy chưa đạt kết quả mỹ mãn nhưng tác giả cũng đã đề cập đến mối nguy hiểm từ nước rỉ rác giàu nitơ và photpho; Su et al. (2001) là những nhà khoa học đầu tiên nhận

điện và ứng dụng vi khuẩn khử đạm Pseudomonas stutzeri để loại bỏ amoni trong nước thải trại heo ở Đài Loan trong điều kiện có oxi (sục khí), chúng tôi cũng đã đề nghị loại bỏ nitơ trong nước rỉ rác giàu hữu cơ bằng vi khuẩn khử đạm vi khuẩn Pseudomonas stutzeri và Acinetobacter lwoffii (Cao Ngọc Diệp và Nguyễn Thị Hoàng Nam), gần đây Cao Ngọc Diệp et al. (2013) đã ứng dụng hai dòng vi khuẩn chuyển hoá nitơ dị dưỡng Pseudomonas stutzeri D3b và dòng vi khuẩn tích lũy poly-P Bacillus subtilis DTT001L loại bỏ N và

P trong nước rỉ rác rất hiệu quả, kết quả của chúng tôi trước đây (Bùi Thế Vinh et al. 2011) cũng cho thấy dòng vi khuẩn chuyển hoá nito Enterobacter sp. P11 loại bỏ ammonium trong nước thải nhà máy chế biến sữa rất tốt.

4 KẾT LUẬN

– Trong nước rỉ rác chứa nhiều dòng vi khuẩn chuyển hoá nito và vi khuẩn tích lũy polyphosphate trong đó có nhiều dòng vi khuẩn có độ hữu hiệu cao.

– Kết hợp hai dòng vi khuẩn chuyển hoá nito Enterobacter sp. TND1.4 và dòng vi khuẩn tích lũy polyphosphate Acinetobacter soli HP3.2 loại bỏ N và P trong nước rỉ rác trong điều kiện sục khí ở mô hình thí nghiệm phòng thí nghiệm đạt tiêu chuẩn B1 về ammonium, Tổng N, nitrite, nitrate, orthophosphate, Tổng P của QCVN 24 và QCVN 25: 2009/BTNMT.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi thế Vinh, Hà Thanh Toàn và Cao Ngọc Điệp. 2011. Phân lập và nhận diện vi khuẩn chuyển hóa nito từ chất thải trại nuôi bò sữa, chất thải sữa và ứng dụng trong xử lý nước thải nhà máy sản xuất sữa. Tạp chí Khoa học-Đại học Cần Thơ 18a: 194 - 200.
2. Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Thị Hoàng Nam. 2012. Ứng dụng vi khuẩn Pseudomonas stutzeri và Acinetobacter lwoffii loại bỏ amoni trong nước thải từ rác hữu cơ. Tạp chí Khoa học- Đại học Cần Thơ 22b: 1-8.

3. Cao Ngọc Điệp, Nguyễn Thị Kim Em và Nguyễn Trần Hồng Phúc. 2013. Khả năng loại bỏ nito và photpho trong nước rỉ rác của vi khuẩn khử đạm dị dưỡng và vi khuẩn tích lũy polyphotphat. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2: 16-24.
4. Eixler S., U. Selig and U. Karsten. 2005. Extraction and detection methods for polyphosphate storage in autotrophic planktonic organisms. Hydrobiologia, 533(1): 135-143.
5. Lê Văn Cát. 2007. Xử lý nước thải giàu nito và phospho. Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, and S. Kumar. 2011. MEGA5:
6. Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, and S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance and Maximum Parsimony Methods. Mol. Biol. Evol, 28, pp. 2731-2739.
7. Wang, D.B, X.M. Li, Q. Yang, G.M. Zeng, D.X. Liao and J. Zhang. 2008. Biological phosphorus removal in sequencing batch reactor with single-stage oxic process. Bioresource Technology, 99(13), pp. 5466-5473.
8. Zhao, B, Y.L.He, J.Hughes and X.F.Zhang. 2010. Heterotrophic nitrogen removal by a newly isolated Acinetobacter calcoaceticus HNR. Biores. Technol. 101, pp. 5194-5200.