

NGHIÊN CỨU XỬ LÝ NƯỚC THẢI SINH HOẠT CỦA XÍ NGHIỆP XỬ LÝ NƯỚC THẢI THỦ DẦU MỘT BẰNG VI KHUẨN *BACILLUS SUBTILIS*

Phạm Kim Liên⁽¹⁾, Nguyễn Bằng Phi⁽¹⁾

⁽¹⁾Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 4/4/2017; Ngày gửi phản biện 15/4/2017; Chấp nhận đăng 30/6/2017

Email: bangphibdu@gmail.com

Tóm tắt

Bacillus subtilis là trực khuẩn hình que, có khả năng tạo bào tử, có khả năng chịu đựng các điều kiện môi trường khắc nghiệt. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* với khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào phân giải các hợp chất protein không tan thành các đơn phân tử (các monomer và oligomer) dễ tan hơn và dễ hấp thụ. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* có thể sử dụng được đa dạng nguồn cơ chất để tăng sinh khối và phát triển. Do vậy, *Bacillus subtilis* đã và đang được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau của đời sống nói chung và trong vấn đề xử lý nước thải không triệt để đang ảnh hưởng đến môi trường và con người nói riêng ở Việt Nam. Do đó, nhằm nghiên cứu khả năng xử lý nước thải sinh hoạt của loài *Bacillus subtilis*, chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm xử lý nước thải bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis* ở điều kiện sục khí liên tục, với các nồng độ pha loãng khác nhau (100% nước thải sinh hoạt, 75% nước thải sinh hoạt và 25% nước cất, 50% nước thải sinh hoạt và 50% nước cất). Các mẫu nước thải trước khi xử lý bằng *B. subtilis* đã được khử trùng bằng tia UV và bổ sung *B. subtilis* với các mật độ vi khuẩn khác nhau (10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml và 10^8 cfu/ml). Các mẫu nước thải sau khi xử lý sẽ được đo các chỉ tiêu (pH, BOD₅, COD, NH₄⁺) ở các điểm thời gian 0, 3, 6, 9, 12 ngày. Kết quả sau 12 ngày vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng xử lý tốt nước thải sinh hoạt với mật số vi khuẩn là 10^7 (cfu/ml) với độ pha loãng là 50% nước thải sinh hoạt và 50% nước cất. Các chỉ tiêu pH, COD, BOD₅ đạt chuẩn đầu ra theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước thải sinh hoạt QCVN:2008/BTNMT cột A. Chỉ tiêu NH₄⁺ đạt chuẩn đầu ra theo quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước thải sinh hoạt QCVN:2008/BTNMT cột B.

Từ khóa: *Bacillus subtilis*, xử lý nước thải, Thủ Dầu Một

Abstract

STUDYING THE POSSIBILITY OF DOMESTIC WASTEWATER TREATMENT OF THU DAU MOT WASTEWATER TREATMENT ENTERPRISE BY BACTERIA *BACILLUS SUBTILIS*

Bacillus subtilis is rod-shaped bacilli, producing spores, and withstanding the harsh environmental conditions. *Bacillus subtilis* can produce extracellular enzymes which cut insoluble protein into monomer. *Bacillus subtilis* can use various carbon sources to increase biomass and development. Thus, *Bacillus subtilis* has been applied in many different areas of life generally and in wastewater treatment problems particularly. Therefore, to study waste water treatment by *Bacillus subtilis*, we conducted experiments treatment of wastewater by *B. subtilis* bacteria in continuous aeration conditions, with different dilution concentrations

(100% waste water, waste water 75% and 25% water, 50% waste water and 50% distilled water) and different bacterial densities (10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml và 10^8 cfu/ml). Samples of wastewater before treating with *B.subtilis*, has been UV- sterilization. After that, the wastewater samples will be measured through water parameters (pH, BOD₅, COD, NH₄⁺) at time points (0, 3, 6, 9, 12 days). Results showing that after 12 days, *Bacillus subtilis* can treating best in treatment of wastewater dilution (waste water: distilled water = 1:1) and *B.subtilis* density 10^7 (cfu/ml). The parameters (pH, COD, BOD₅) are suitable with VietNam technical regulation QCVN: 2008 / BTNMT column A. The parameter NH₄⁺ is suitable with VietNam technical regulation QCVN: 2008 / BTNMT column B.

1. Mở đầu

Ngày nay việc ứng dụng vi sinh trong xử lý nước thải đang được khuyến khích sử dụng bởi vi sinh đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong các quá trình phân giải các chất hữu cơ có trong nước. Bên cạnh đó thì phương pháp này đạt hiệu quả tối ưu hơn so với các ứng dụng khác, lợi ích kinh tế hơn và chi phí đầu tư thấp. Mặt khác, các chất bã của quá trình xử lý này có thể sử dụng làm phân bón sinh học. Đặc biệt là vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng phân giải chất hữu cơ giúp cải thiện chất lượng nước đáng kể.

Tại Malaysia, Yusufab và ctv (2011) đã đánh giá được khả năng xử lý nước thải ngành sản xuất da của vi khuẩn *Bacillus subtilis* so với vi khuẩn *Pseudomonas fragi* thông qua đề tài “Một so sánh về hiệu quả của hai chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Pseudomonas fragi* trong xử lý nước thải thuộc ngành sản xuất da”. Hiệu suất xử lý COD của *Bacillus subtilis* là 87,6% trong khi *P.fragii* là 85,2%. Đối với TSS, *Bacillus subtilis* làm giảm nồng độ từ 876 mg/l đến 73 mg/l (91,7%), trong khi *P.fragii* giảm nồng độ từ 876 mg/l đến 98 mg/l (88,8%). *Bacillus subtilis* làm giảm nồng độ clorua từ 127,08 mg/l đến 65,39 mg/l (48,5%) so với *P.fragii* từ 127,08 mg/l đến 57,72 mg/l (54,6%). Từ kết quả, có thể nói rằng các vi khuẩn có trong nước thải thuộc da có tiềm năng đáng kể trong xử lý nước thải thuộc da (Yusufab và ctv, 2011). Ở Việt Nam, vi khuẩn *Bacillus subtilis* đã được nghiên cứu và ứng dụng thành công trong việc xử lý nước thải. Tại An Giang, nhóm tác giả Lâm Thị Dung và ctv (2006) đã nghiên cứu “Sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* trong xử lý nước máu cá”, bước đầu đã tìm ra một quy trình xử lý hoàn chỉnh có thể áp dụng cho xử lý nước ở dạng ô nhiễm nhẹ. *Bacillus subtilis* còn được ứng dụng trong xử lý nước máu cá. Qua quá trình nghiên cứu và tiến hành thí nghiệm kết quả đã tìm ra được quy trình xử lý hoàn chỉnh có thể áp dụng cho mẫu nước máu cá ở mật độ vi khuẩn là 10^7 cfu/ml, nồng độ muối là 1%, điều chỉnh pH = 6 và trong thời gian xử lý là 20 ngày (Lâm Thị Dung và ctv, 2006).

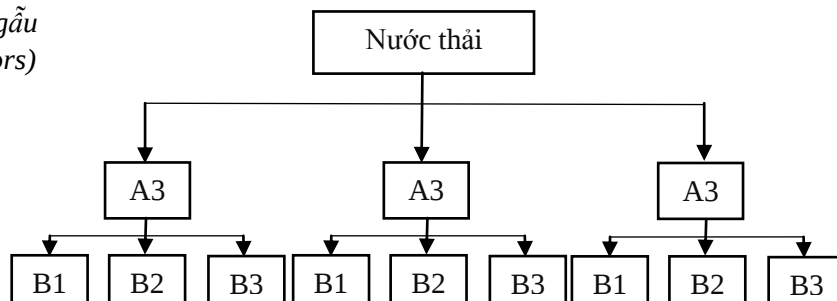
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật Liệu: Nước thải sinh hoạt được lấy từ bể thu gom nước thải đầu vào của xí nghiệp xử lý nước thải Thủ Dầu Một đặt tại khu phố 6, phường Phú Thọ, thành phố Thủ Dầu Một. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* mua từ Viện Công Nghệ Sinh Học – Môi Trường, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.

Phương pháp nghiên cứu: Mẫu nước thể thu về được khử trùng bằng tia UV. Bố trí thí nghiệm xử lý nước thải sinh hoạt bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis* trong điều kiện sục khí liên tục.

Hình 1. Bố trí thí nghiệm ngẫu nhiên 2 yếu tố (CRD-2 factors)

Chú thích: A: Độ pha loãng; A1: 100% nước thải sinh hoạt; A2: 75% nước thải sinh hoạt+25% nước cát; A3: 50% nước thải sinh hoạt+50% nước cát; B: Mật độ vi khuẩn; B1: 10^6 cfu/ml, B2: 10^7 cfu/ml, B3: 10^8 cfu/ml.



Thuyết minh quy trình:

100% nước thải và được tiến hành thí nghiệm với 4 nghiệm thức:

- DC-1: Đối chứng được tiến hành như mẫu thật nhưng không cho vi khuẩn vào.
- Nghiệm thức 1: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^6 cfu/ml
- Nghiệm thức 2: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^7 cfu/ml
- Nghiệm thức 3: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^8 cfu/ml

Hình 2. Bố trí thí nghiệm

75% nước thải + 25% nước cát và được tiến hành thí nghiệm với 4 nghiệm thức:

- DC-2: Đối chứng được tiến hành như mẫu thật nhưng không cho vi khuẩn vào.
- Nghiệm thức 4: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^6 cfu/ml.
- Nghiệm thức 5: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^7 cfu/ml
- Nghiệm thức 6: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^8 cfu/ml

50% nước thải + 50% nước cát và được tiến hành thí nghiệm với 4 nghiệm thức:

- DC-3: Đối chứng được tiến hành như mẫu thật nhưng không cho vi khuẩn vào.
- Nghiệm thức 7: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^6 cfu/ml
- Nghiệm thức 8: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^7 cfu/ml
- Nghiệm thức 9: 800ml mẫu nước thải sinh hoạt + 10^8 cfu/ml

Trong nghiên cứu này, sử dụng vi khuẩn *Bacillus subtilis* được tăng sinh trong môi trường NB rồi bổ sung vào nước thải ở các mật độ 10^6 , 10^7 , 10^8 cfu/ml. Tiến hành theo dõi các chỉ số COD theo TCVN 6491:1999 (ISO 6060:1989), BOD₅ theo TCVN 6001:1995 (ISO 5815 – 1989), NH₄⁺ bằng phương pháp Phenat SMEWW (2012), pH sau 3, 6, 9, 12 ngày.



Hình 3. Tăng sinh vi khuẩn và xác định vi khuẩn trong dịch tăng sinh

Phân tích và xử lý số liệu: Kết quả sau khi phân tích được xử lý thống kê bằng phần mềm Statgraphics 15.1.02 để so sánh trị trung bình của các nghiệm thức. Kiểm tra hiệu xuất xử lý của các thông số chất lượng nước (pH, BOD₅, COD, PO₄³⁻, DO, NH₄⁺) và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả đo các chỉ tiêu chất lượng nước thải đầu vào của xí nghiệp xử lý nước thải Thủ Dầu Một

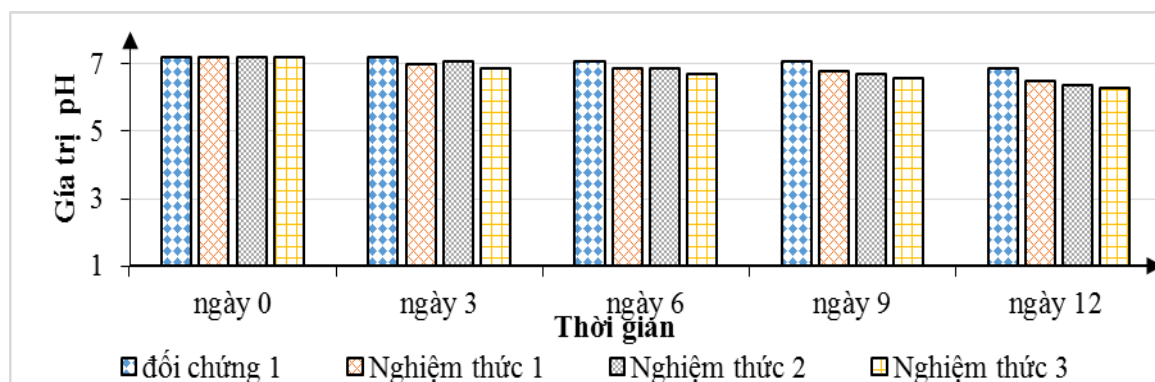
Bảng 3.1. Bảng kết quả phân tích chất lượng nước thải đầu vào của xí nghiệp xử lý nước thải Thủ Dầu Một

Chỉ tiêu	Đầu vào	QCVN 14:2008/BTNMT	
		A	B
pH	7.14	5 - 9	5 - 9
NH ₄ ⁺ (mg/l)	18.5	5	10
COD (mg/l)	165.78	-	-
BOD ₅ (mg/l)	146.35	30	50

Bảng 3.1 cho thấy, các chỉ tiêu BOD₅, COD, NH₄⁺ vượt quá quy chuẩn cho phép của QCVN 14:2008/BTNMT (Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước thải sinh hoạt).

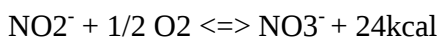
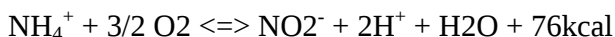
3.2. Kết quả đo các chỉ tiêu các nghiệm thức 100% nước thải của xí nghiệp xử lý bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis*

• Kết quả đo pH



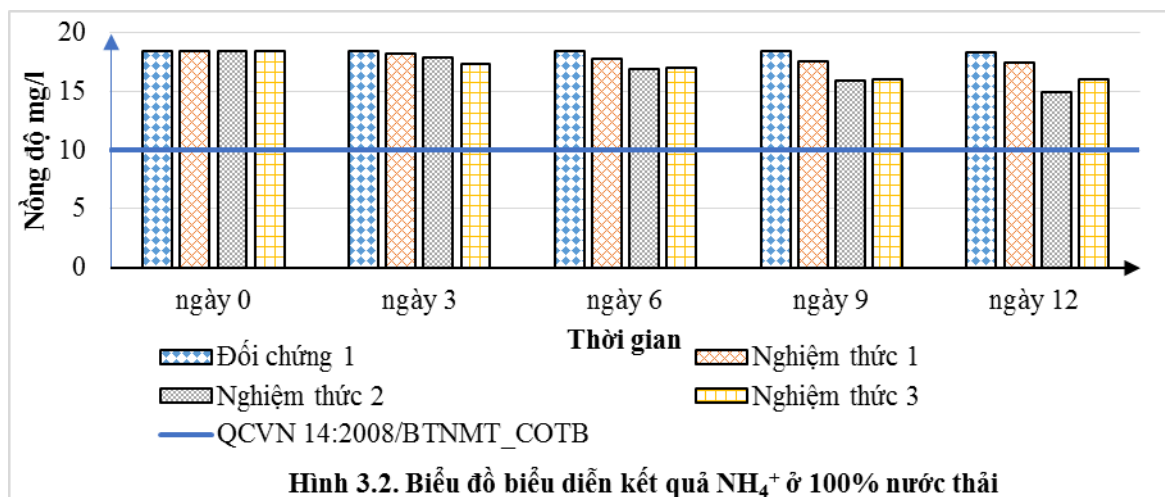
Hình 3.1. Biểu đồ biểu diễn kết quả pH ở 100% nước thải

Giá trị pH của các nghiệm thức 100% nước thải sinh hoạt giảm so với nghiệm thức DC-1 sau 12 ngày xử lý. Nguyên nhân pH giảm là do trong quá trình thí nghiệm có xảy ra quá trình nitrat hóa oxy hóa ammonia (NH₃) và muối ammonium (NH₄⁺) hình thành acid nitrous và acid nitric làm giảm giá trị pH của môi trường, tăng lượng NO₃⁻ trong nước, qua đó vi sinh vật thu năng lượng cần thiết cho hoạt động sống của mình. Các phản ứng xảy ra như sau:



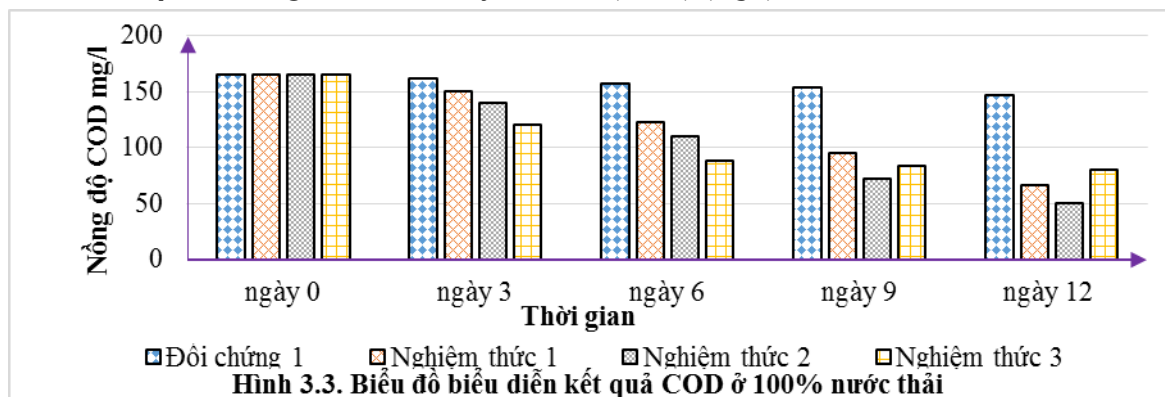
Từ kết quả kiểm định Duncan cho thấy, giá trị pH trung bình của các nghiệm thức NT1 là 6.88 ; NT2 là 6.86 và NT3 là 6.74 khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95% so với nghiệm thức DC-1 (7.106).

• Kết quả đo nồng độ ammonium (NH_4^+) (mg/l)



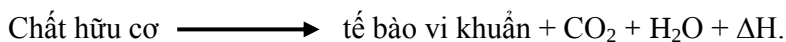
Nghiệm thức DC-1 vẫn ổn định sau 12 ngày. Ngày 9 nồng độ NH_4^+ ở nghiệm thức NT3 giảm nhiều nhất từ 18.5 mg/l (ngày 0) xuống còn 15.89 mg/l (ngày 9), sau đó giảm nhẹ và khác biệt không có ý nghĩa thống kê cho đến ngày 12. Nồng độ NH_4^+ trung bình ở các nghiệm thức giảm là do khi bổ sung vi khuẩn *Bacillus subtilis* xảy ra quá trình amon hóa protein nhằm chuyển nito dạng khó hấp thu sang dạng muối amôn để vi sinh vật dễ hấp thụ và giải phóng NH_3 .

• Kết quả đo nồng độ nhu cầu oxy hóa học (COD) (mg/l)



Ngày thứ 9 nồng độ COD giảm mạnh ở nghiệm thức NT3 từ 165.78 mg/l (ngày 0) còn 94.98 mg/l do mật số vi khuẩn nhiều nên chúng tiêu thụ chất hữu cơ nhanh chóng sau đó giảm nhẹ trong các ngày tiếp theo của quá trình xử lý là do chất hữu cơ còn rất ít không đủ vi khuẩn tiêu thụ nên một số vi khuẩn chết và còn 66.65 mg/l (ngày 12).

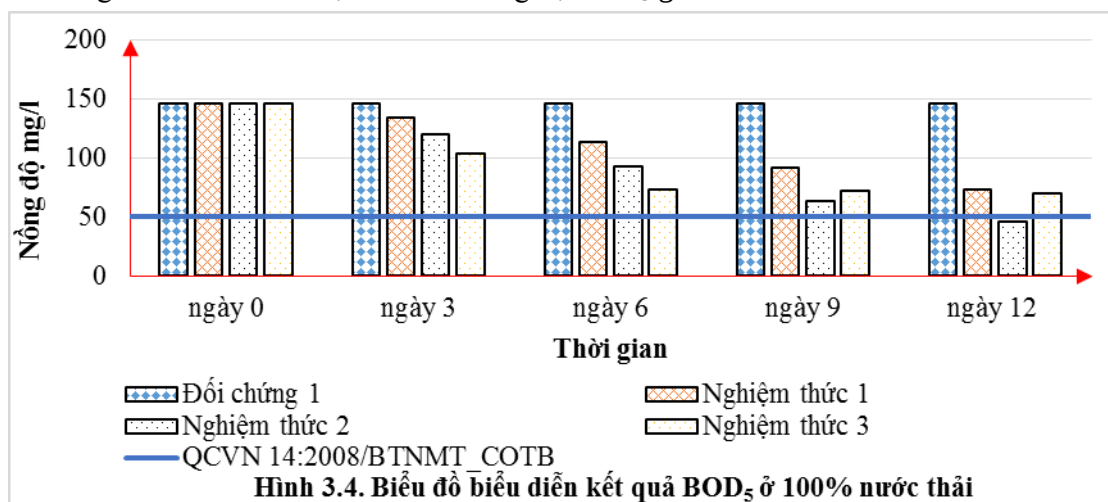
Nồng độ COD giảm là do trong quá trình sinh trưởng các vi khuẩn đã tiêu thụ chất hữu cơ trong môi trường nhờ enzym ngoại bào để tạo sinh khối mới:



• Kết quả đo nồng độ nhu cầu oxy sinh học (BOD_5) (mg/l)

Giữa các ngày trong quá trình xử lý của các nghiệm thức có khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nghiệm thức NT1 và NT2 giảm liên tục nhưng không nhiều từ ngày 0 đến ngày 9, đến ngày

12 nghiệm thức NT2 có nồng độ BOD₅ giảm nhiều nhất còn 46 mg/l đạt QCVN 14:2008/BTNMT cột B. Điều này chứng tỏ, vi khuẩn *Bacillus subtilis* đã tiêu thụ các chất hữu cơ có trong nước thải sinh hoạt làm cho nồng độ BOD₅ giảm.



Hình 3.4. Biểu đồ biểu diễn kết quả BOD₅ ở 100% nước thải

3.3. Kết quả đo các chỉ tiêu các nghiệm thức 75% nước thải của xí nghiệp và 25% nước cất được xử lý bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis*

Sau 12 ngày xử lý giá trị pH của các nghiệm thức giảm so với nghiệm thức DC-2. Có sự khác biệt về mặt ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95% ở ngày 12 trong quá trình xử lý, giá trị pH trung bình nghiệm thức NT4 là 6.64, NT5 là 6.62, NT6 là 6.5 khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95% so với DC-2 (6.904). Giữa 3 nghiệm thức NT4, NT5 và NT6 khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nồng độ NH₄⁺ trung bình NT4 là 15.506 mg/l giảm so với nghiệm thức DC-2 (16.046 mg/l) và sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95%. Ngày thứ 3 nồng độ COD giảm mạnh ở các nghiệm thức NT4, NT5 và NT6 so với ngày 0 và khác biệt có ý nghĩa thống kê, trong đó nghiệm thức NT6 giảm nhiều nhất từ 123.48 mg/l (ngày 0) còn 59.78 mg/l. Điều đó cho thấy Nồng độ nước thải càng pha loãng thì hiệu quả xử lý của vi khuẩn càng cao. Cũng giống như nghiệm thức NT3 ở độ pha loãng 100% nước thải sinh hoạt thì ở nghiệm thức NT6, nồng độ BOD₅ giảm nhiều nhất là ngày thứ 6 từ 118 mg/l (ngày 0) còn 52 mg/l giảm nhẹ đến ngày 12. Có thể giải thích là do nghiệm thức NT6 mật số vi khuẩn nhiều nên ở những ngày đầu của quá trình xử lý chúng đã sử dụng gần hết lượng chất hữu cơ có trong nước thải và đến các ngày sau đó lượng vi khuẩn giảm do không còn đủ lượng thức ăn.

3.4. Kết quả đo các chỉ tiêu các nghiệm thức 50% nước thải của xí nghiệp và 50% nước cất được xử lý bằng vi khuẩn *Bacillus subtilis*

Giá trị pH của các nghiệm thức giảm so với nghiệm thức DC-3 sau 12 ngày xử lý. Nghiệm thức NT8 giảm nhiều so với nghiệm thức NT7 và NT9. Nghiệm thức NT9 ngày 6 giảm nhiều nhất là do quá trình nitrat xảy ra tạo môi trường acid. Nghiệm thức NT8 ngày 12 giảm nhiều nhất còn 9.98mg/l đạt quy chuẩn cho phép của QCVN 14:2008/BTNMT cột B. Điều đó cho thấy nồng độ nước càng pha loãng thì hiệu quả xử lý của vi khuẩn càng cao. Ở nghiệm thức NT9, nồng độ BOD₅ giảm nhiều nhất là ngày thứ 6 từ 83 mg/l (ngày 0) còn 38 mg/l, sau đó giảm nhẹ và đến ngày 12. Nghiệm thức NT7 và NT8 giảm liên tục sau 12 ngày xử lý, trong đó nồng độ BOD₅ ở ngày 9 của nghiệm thức NT8 là 22 mg/l đạt quy chuẩn cho phép nước loại A

của QCVN 14:2008/BTNMT. Điều này chứng tỏ rằng nồng độ nước thải càng pha loãng thì vi khuẩn xử lý càng tốt.

4. Kết luận

Giá trị pH của tất cả các nghiệm thức đều giảm so với đối chứng ban đầu và khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa 95% giữa các nghiệm thức. Chỉ số BOD₅ có hiệu suất xử lý cao nhất là 73.49 % ở nghiệm thức NT8 với mật số vi khuẩn là 10^7 (cfu/ml) và ở nồng độ pha loãng 50% nước thải sinh hoạt và 50% nước cất. Hiệu suất xử lý nồng độ COD cao nhất là 75.49 % ở nồng độ pha loãng 50% nước thải sinh hoạt và 50% nước cất với mật số vi khuẩn là 10^7 (cfu/ml). Ở nồng độ pha loãng 50% nước thải sinh hoạt và 50% nước cất và mật số vi khuẩn là 10^7 (cfu/ml) chỉ số NH₄⁺ có hiệu suất xử lý cao nhất là 26.07 %. Vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng xử lý nước thải sinh hoạt với mật số vi khuẩn là 10^7 (cfu/ml) khi nồng độ nước thải sinh hoạt càng pha loãng thì hiệu suất xử lý càng cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Hữu Hiệp (2008), *Sử dụng vi khuẩn Bacillus Subtilis, kết hợp với vật liệu hấp phụ để xử lý nước thải giết mổ gia súc và chế biến phân hữu cơ*, Trường Đại học Cần Thơ.
- [2] Lý Kim Hữu (2005), *Khảo sát đặc điểm của Bacillus subtilis và tìm hiểu điều kiện nuôi cấy thích hợp sản xuất thử nghiệm chế phẩm probiotic*, luận văn tốt nghiệp cử nhân Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP. HCM.
- [3] Trần Văn Nhân, Ngô Thị Nga (2002), *Giáo trình công nghệ xử lý nước thải*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- [4] Nguyễn Xuân Thành, Nguyễn Bá Hiên, Hoàng Hải và Vũ Thị Hoan (2005), *Giáo trình Vi sinh vật công nghiệp*, NXB Giáo dục.
- [5] Phạm Hoàng Thái (2007), *Phân lập vi khuẩn Bacillus subtilis từ đất, khảo sát khả năng ức chế sản sinh Aflatoxin của các chủng phân lập được*, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.
- [6] Trần Thanh Thủy (1999), *Hướng dẫn thực hành vi sinh vật học*, NXB Giáo dục.
- [7] Dongyai, Likitsaraan and Jitjumroonchokchai (2011), *Isolated Effective Microorganism (EM: B.subtilis) from Natural to be Green Material for Environmental Management in Wastewater Treatment*, University of Technology of North Bangkok.
- [8] Yusufab, Noorb, Hassanb, Agarryc and Solomond (2013), *A comparison of the efficacy of two strains of Bacillus subtilis and Pseudomonas fragii in the treatment of tannery wastewater*, University of Ilorin, Ilorin, Kwara State, Nigeri.