

## LÀM GIÀU SINH KHỐI ANAMMOX TỪ MỘT SỐ NGUỒN THẢI CHỨA HẠM LƯỢNG AMMONIUM CAO

Hoàng Phương Hà, Đỗ Thị Liên, Đỗ Thị Tố Uyên

Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

### TÓM TẮT

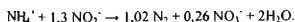
Tại các trạm xử lý nước thải chứa hàm lượng ammonium cao, các hợp chất nitrogen được loại đi đáng kể nhờ hệ thống bùn hoạt tính bằng những quá trình riêng biệt nitrate hóa-khử nitrate. Trong những năm qua, một công nghệ mới trong việc loại bỏ các hợp chất chứa nitrogen đã được phát triển thay thế cho những công nghệ truyền thống đó phù hợp với tính chất nước thải và giảm giá thành công nghệ. Con đường mới được khám phá này là quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí (ANAMMOX). Ammonium bị chuyển đổi thành khí nitrogen trong điều kiện kỵ khí với nitrite như chất nhận điện tử. So sánh với quá trình truyền thống nitrate hóa và khử nitrate, nhu cầu sử dụng oxy giảm đi hơn 50% và nguồn cacbon giảm đi 100%. Để phát hiện qua trình anammox từ một số nguồn thải trên địa bàn Hà Nội, sinh khối vi khuẩn anammox đã được làm giàu từ 3 mẫu bùn thải tại khu tái tập trung của làng nghề chế biến thực phẩm Phú Đô, khu vực giết mổ lợn Bình Dã và hồ ga của khách sạn TOSERCO. Sau 54 ngày làm giàu vi khuẩn anammox, bắt đầu phát hiện hoạt tính anammox bởi sự tiêu thụ đồng thời ammonium và nitrite trong hệ làm giàu, tính chất này ổn định từ ngày thứ 97 trở đi. Trong quá trình anammox, ammonium chỉ có thể bị mất đi khi có mặt nitrite. Hoạt tính anammox đã được khẳng định thêm bởi sự hình thành hydrazine-là sản phẩm trung gian của quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí với nitrite là chất nhận điện tử. Sau khi hoạt tính anammox ổn định màu của cả 3 mẫu bùn chuyển từ màu đen sang nâu sẫm. Kết quả của các thử nghiệm hoạt tính là khả năng loại bỏ 10 mg N-NH<sub>4</sub>/l/ngày và 5 mg N-NO<sub>2</sub>/l ngày trong bình kỵ khí có dung tích 250 ml chứa 30ml bùn lắng (tương đương 2,6 g/l bùn khô)

**Từ khóa** Bùn thải, chất nhận điện tử, oxy hóa ammonium kỵ khí-ANAMMOX, hoạt tính anammox, sản phẩm trung gian-hydrazine

### MỞ ĐẦU

Quá trình loại bỏ các hợp chất chứa nitrogen là một vấn đề quan trọng trong xử lý nước thải với sự tham gia của các nhóm vi khuẩn nitrate hóa và khử nitrate. Các quá trình này được biết đến từ những năm 1890 (Winogradski, 1890) và được ứng dụng rất thành công trong những mô hình xử lý nước thải ở qui mô pilot. Gần đây, một quá trình loại bỏ các hợp chất nitrogen mới được phát hiện trong các bể phản ứng xử lý nước thải tại Hà Lan đó là quá trình anammox (Mulder *et al.*, 1995).

Quá trình anammox (anaerobic ammonium oxidation) là một quá trình dựa vào sự chuyển đổi năng lượng từ sự oxy hóa ammonium trong điều kiện kỵ khí với nitrite như chất nhận điện tử, không cần bổ sung nguồn cacbon, sản phẩm cuối cùng tạo khí nitrogen và 10% nitrate. Hydrazine và hydroxylamine là sản phẩm trung gian của quá trình (Khin *et al.*, 2004). Quá trình này được thực hiện theo phương trình:



Quá trình ANAMMOX hứa hẹn một con đường mới trong việc loại bỏ các hợp chất nitrogen từ nước thải (Jetten *et al.*, 1997). Tham gia vào quá trình này là nhóm vi khuẩn anammox, nguồn cacbon chính cho sinh trưởng của vi khuẩn là CO<sub>2</sub> (van de Graaf *et al.*, 1996). Đây là nhóm vi khuẩn hóa tự dưỡng, chúng sinh trưởng chậm, thời gian lưu sinh khối lâu. Lợi thế của quá trình ANAMMOX là không đòi hỏi bổ sung nguồn cacbon hữu cơ để xử lý nước thải giàu ammonium như quá trình phân nitrate hóa (denitrification). Ngoài ra, hoạt tính của vi khuẩn anammox không bị ảnh hưởng âm tính bởi các chất hóa học có trong nước.

Trong những năm gần đây, việc ứng dụng quá trình ANAMMOX trong xử lý nước thải giàu ammonium được coi là những công nghệ mang tính đột phá do tính khả thi là tiết kiệm được oxy và nguồn cacbon. Các thí nghiệm ở mức độ phòng thí nghiệm cho thấy, trong các bể phản ứng chứa sinh khối anammox có khả năng loại bỏ đến 88% ammonium và 99% nitrite trong điều kiện kỵ khí (Jetten *et al.*, 1999).

Tại Việt Nam, rất nhiều nguồn thải bị ô nhiễm ammonium cao như các làng nghề chế biến thức ăn, những nông trang chăn nuôi gia súc, những nhà máy sản xuất phân đạm... Ví dụ như ở huyện Hoài Đức, ngoài nghề sản xuất miến dong người dân còn chú trọng đến ngành chăn nuôi (chủ yếu nuôi lợn). Ở thôn Phú Đô, 80% người dân sống bằng nghề làm bún kết hợp với chăn nuôi. Các loại phế thải, nước thải sinh hoạt, chăn nuôi, sản xuất ở đây đều đổ trực tiếp ra hồ, ao, mà không qua một khâu xử lý nào nên hàm lượng ammonium trong nước thải có khi lên tới hàng trăm mg  $\text{NH}_4^+/\text{l}$ . Đây là nguyên nhân gây ô nhiễm nặng nguồn nước mặt cũng như nước ngầm (Trần Văn Nhi, 2003)

Để loại bỏ các hợp chất chứa nitrogen vô cơ gây ô nhiễm này, công nghệ nitrat hóa - khử nitrat vẫn được áp dụng là chủ yếu. Một số nghiên cứu thăm dò về quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí cũng bắt đầu tiến hành như trường đại học Bách Khoa Hà Nội nhưng kết quả chưa chi tiết lại ở các nghiên cứu cơ bản. Lê Công Nhật Phương và cs đã nghiên cứu xử lý ammonium trong nước thải nuôi heo bằng quá trình nitrate hóa một phần/anammox qui mô phòng thí nghiệm đạt hiệu suất 92% khi sử dụng giá thể polyacrylic (Lê Công Nhật Phương, 2012). Nguồn cứu thăm dò trước đây của chúng tôi cũng đã phát hiện được khả năng oxy hóa ammonium kỵ khí trong hệ thống xử lý nước thải tại làng bún Phú Đô (Hoàng Phương Hà, 2010). Đây là một phát hiện quan trọng về quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí được phát hiện tại làng nghề chế biến thực phẩm và cũng là một trong những đối tượng để chúng tôi tiếp tục nghiên cứu.

Quá trình làm giàu sinh khối anammox trong điều kiện kỵ khí và phát hiện quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí trong một số loại bùn thải chứa hàm lượng hữu cơ và ammonium cao là mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi. Đây là một bước nghiên cứu rất quan trọng để có thể phát triển công nghệ xử lý nước thải ô nhiễm ammonium hiệu quả hơn trong tương lai.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Đối tượng nghiên cứu

Các mẫu bùn được thu thập tại những điểm thải có hàm lượng ammonium cao. Mẫu bùn được lấy tại các công thải của làng bún Phú Đô; khu vực giặt mớ lợn tại Bình Đà; hồ ga của khách sạn TOSERCO thuộc địa bàn Hà Nội

Các hóa chất sử dụng trong môi trường làm giàu bùn Anammox có nguồn gốc Trung Quốc.

Các thiết bị sử dụng để làm giàu sinh khối anammox kỵ khí là các bình plastic, bình thủy tinh được thiết kế sao cho không để oxy lọt vào, có đầu vào, ra để lấy mẫu và luân chuyển khí. Sử dụng bình khí nitrogen để đẩy oxy ra khỏi bình làm giàu.

Các thiết bị cần thiết cho thí nghiệm như máy ly tâm, máy quang phổ, tủ cấy vi sinh... là trang thiết bị của phòng Công nghệ Sinh học Môi trường, phòng Các chất Chức năng Sinh học, phòng Thí nghiệm Trọng điểm về Công nghệ Gene, Viện Công nghệ sinh học.

### Phương pháp nghiên cứu

1. Mẫu được lấy tại các điểm cách mặt bùn khoảng 10 - 30cm, và được giữ trong chai, lọ vô trùng. Mẫu được lấy đầy tràn qua miệng chai (hay lọ) tránh không để khoảng không chứa không khí và được bảo quản lạnh ( $0^{\circ}\text{C}$  -  $4^{\circ}\text{C}$ ) cho đến khi đem phân tích

2. Môi trường làm giàu vi khuẩn anammox trong điều kiện kỵ khí theo Egli (Jetten et al., 1999; Mora et al., 2004).

3. Quá trình làm giàu vi khuẩn anammox kỵ khí được tiến hành trong các bình plastic có thể tích 10lít, hay bình thủy tinh có dung tích 2 lít. Bình được thiết kế sao cho trong quá trình làm giàu không cho không khí lọt vào, có đầu vào, ra để tiến hành sục khí nitrogen loại oxy và lấy mẫu (hình 1). Hệ thống làm giàu vi khuẩn anammox được duy trì ở nhiệt độ khoảng  $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ , pH trong khoảng 7,5-8. Môi trường làm giàu được bổ sung hàng tuần và được khuấy đảo bằng hệ thống máy khuấy tốc độ 100 v/ph. Các hợp chất chứa nitrogen trong các mẫu bùn được kiểm tra hàng ngày.

Quá trình làm giàu vi khuẩn anammox giai đoạn 2 được tiến hành trong các bình thủy tinh có dung tích 250 ml chứa 30 ml bùn lắng, môi trường làm giàu sinh khối vi khuẩn đưa vào với thể tích cuối cùng 200 ml, bình được bịt kín bằng nút cao su để ngăn không cho không khí lọt vào. Sử dụng khí nitrogen để đẩy không khí ra khỏi bình. Các bình chứa mẫu được đặt trên máy với tốc độ 100 v/ph để trộn đều môi trường nuôi vi khuẩn (hình 1). Mẫu được lấy hàng ngày để xác định các hợp chất chứa nitrogen

4. Xác định hoạt tính anammox bằng cách phát hiện sự giảm đồng thời hàm lượng ammonium và

nitrite trong điều kiện kỵ khí, sản phẩm trung gian là hydrazine ( $N_2H_4$ ).

5. Định lượng hydrazine: (ASTM, <http://www.astm.org>)

Dung dịch *p*-dimethylaminobenzaldehyde: hòa tan *p*-dimethylaminobenzaldehyde trong 200 ml methyl alcohol, thêm 20 ml HCl đậm đặc. Dung dịch chuẩn gốc hydrazine 1 mg/l.

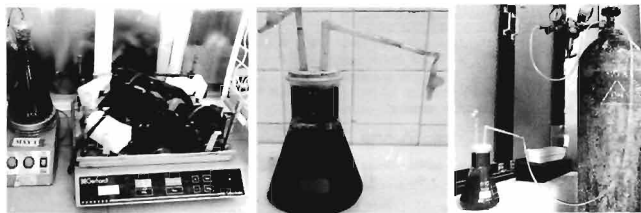
Tiến hành: Thêm 1 ml dung dịch dimethylaminobenzaldehyde và 0,1 ml HCl đậm đặc vào 5 ml dung dịch mẫu. Sau 10 phút ở nhiệt độ phòng đo độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 458 nm. Dung độ thị chuẩn hydrazine từ dung dịch 1 mg/l với các nồng độ: 5, 10, 25, 50, 100 và 200  $\mu\text{g/l}$ . Tính lượng hydrazine tạo thành trong mẫu nghiên cứu dựa

vào đồ thị chuẩn.

6. Xác định hàm lượng BOD<sub>5</sub>, hàm lượng ammonium, nitrite, nitrate, trong các mẫu nước thải theo các phương pháp chuẩn quốc tế (Franson, 1995).

7. Xác định trọng lượng khô của bùn bằng cách sấy bùn ở nhiệt độ 105°C/2 giờ.

8. Nghiên cứu đánh giá khả năng oxy hóa ammonium trong điều kiện kỵ khí: 30 ml bùn lắng phủ đỏ có hoạt tính anammox được chia đều vào 3 bình nhỏ có dung tích 100 ml tất cả được đặt trong điều kiện kỵ khí: Bình 1 chứa 10 mg N-NH<sub>4</sub>/l, bình 2 chứa 5 mg N-NO<sub>2</sub>/l; bình 3 chứa 10 mg N-NH<sub>4</sub>/l và 5 mg N-NO<sub>2</sub>/l. 3 bình thí nghiệm đặt trong điều kiện kỵ khí. Tất cả các bình được đặt trên máy lắc, tốc độ 60 v/phút ở nhiệt độ phòng (25-30°C), pH 7.5.



Hình 1. Các thiết bị sử dụng trong quá trình ANAMMOX.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đánh giá mức độ ô nhiễm của các mẫu nước thải

Các mẫu bùn thải sau khi thu thập từ Phú Đô, Bình Đa và khách sạn Toserko đã được tiến hành xác định một số thành phần gây ô nhiễm (Bảng 1).

Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng

ammonium và các hợp chất hữu cơ khá cao trong các mẫu bùn thải, nhất là các mẫu lấy ở Phú Đô và lò mổ có hàm lượng amonium lên tới 120 mg/l. Nước thải bị ô nhiễm này không được xử lý trước khi thải ra môi trường sẽ gây ô nhiễm cho môi trường thủy sinh và môi trường xung quanh. Đây là lý do để tiến hành nghiên cứu các mô hình xử lý nước thải.

Bảng 1. Một số thành phần gây ô nhiễm trong nước thải

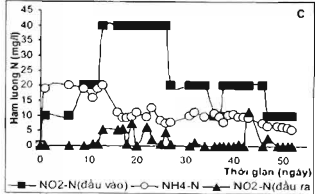
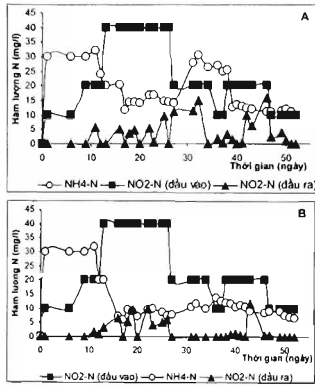
Mẫu bùn	Thông số					
	pH	BOD (mg/l)	N <sub>hồng</sub> (mg/l)	N-NH <sub>4</sub> (mg/l)	N-NO <sub>2</sub> (mg/l)	N-NO <sub>3</sub> (mg/l)
Phú Đô	7,8	2355	195	120	0,1	0,7
Lò mổ	7,8	2235	207	123	0,5	0,5
Hồ ga	7,5	1767	50	25	0,7	0,9

Làm giàu vi khuẩn anammox để xác định quá trình loại bỏ ammonium kỵ khí từ trong mẫu nước thải phú đỏ, lò mổ, hồ ga

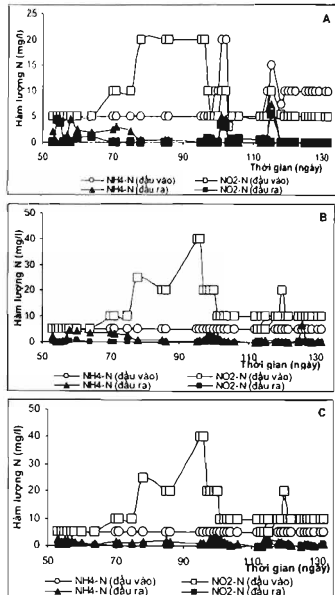
Mẫu tươi sau khi thu thập được để lắng qua đêm, loại bỏ dịch và tiến hành rửa loại bớt đi các tạp chất.

một số thành phần chất hữu cơ và hợp chất nitrogen. Sau đó bổ sung môi trường đặc trưng để làm giàu nhóm vi khuẩn anammox.

Kết quả làm giàu vi khuẩn trong 52 ngày đầu (giai đoạn 1) được thể hiện ở hình 2 (A, B và C).



Hình 2. Sự biến động các hợp chất chứa nitrogen trong quá trình làm giàu bùn anammox giai đoạn 1 A. Bùn Phú Đỏ, B. Bùn lò mổ, C. Bùn hồ ga



Hình 3. Sự biến động các hợp chất chứa nitrogen trong quá trình giàu bùn anammox giai đoạn 2 A. Bùn Phú Đỏ, B. Bùn lò mổ, C. Bùn hồ ga

Kết quả làm giàu sinh khối vi khuẩn anammox kỵ khí trong 52 ngày đầu tiên cho thấy, các mẫu bùn thu về chứa nhiều hợp chất hữu cơ chưa phân hủy nên trong giai đoạn đầu của quá trình làm giàu đã xuất hiện khả năng khử nitrate của cả 3 mẫu bùn,

lượng nitrite được bổ sung vào 5 ngày đầu là 10 mgN/l. ngày, 8 ngày tiếp theo là 20 mgN/l. ngày, hàm lượng nitrite này đều giảm gần như hết và thậm chí khi tăng nitrite tới 40 mgN/l. ngày, lượng nitrite cũng giảm hết hoặc gần hết. Sự giảm thiểu hàm

lượng nitrite trong giai đoạn đầu cũng đã chỉ ra, khả năng khử nitrate của bùn hồ ga và lò mổ gần như triệt để hơn bùn Phú Đô (Hình 2). Do các mẫu bùn chứa rất nhiều các hợp chất hữu cơ chưa phân hủy, nên hàm lượng ammonium được tạo thành từ quá trình phân hủy có trong 3 mẫu bùn là khác nhau. Trong quá trình làm giàu vi khuẩn anammox, các hợp chất hữu cơ phân hủy theo thời gian và được giảm dần do xuất hiện quá trình khử nitrate và các quá trình dị dưỡng kỵ khí khác, hàm lượng ammonium từ ngày 40 trở đi giảm đến 60% so với những ngày đầu.

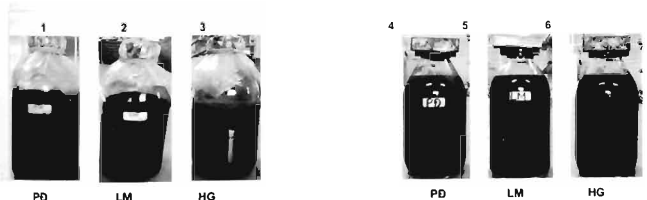
Để có thể phát hiện nhanh hơn quá trình ANAMMOX trong giai đoạn làm giàu, một phần bùn được chuyển sang bình thủy tinh có dung tích nhỏ hơn. 30 ml bùn lắng (tương đương 2,6 g/l bùn khô) đã được chuyển sang bình có dung tích 250 ml. Kết quả làm giàu vi khuẩn anammox giai đoạn 2 được tiến hành trong 78 ngày tiếp theo (Hình 3 A, B, C).

Trong quá trình làm giàu vi khuẩn anammox giai đoạn 2, hàm lượng ammonium được đưa vào bình hàng ngày luôn là 5 mg N/l, hàm lượng nitrite đầu vào được thay đổi tùy thuộc vào từng mẫu. Kết quả cho thấy, khả năng khử nitrite trong thời gian đầu của giai đoạn 2 vẫn rất cao, đặc biệt đối với bùn hồ ga và lò mổ. 40mg N-NO<sub>2</sub>/l.ngày đã được khử hết (ngày thứ 95, 96). Từ ngày thứ 97 đến 101, hàm

lượng nitrite bị khử giảm đi. Hàm lượng ammonium đầu ra giảm và giảm gần hết từ ngày thứ 95, điển hình với mẫu bùn Phú Đô. Như vậy, rất có thể quá trình ANAMMOX đã xuất hiện song song với quá trình khử nitrite. Từ ngày thứ 97, lượng nitrite được đưa vào 10mg N/l.ngày, lượng ammonium là 5 mg N/l ngày đối với hai mẫu bùn LM và HG Riêng mẫu bùn PD do lượng ammonium bị loại đi triệt để hơn nên từ ngày 112 lượng ammonium đã tăng từ 5 mgN/l lên 10mgN/l, lượng nitrite vẫn giữ ở 5 mgN/l. Hai hợp chất này được chuyển hóa hết hàng ngày và kết quả được ổn định tới ngày 130. Điều này chứng tỏ khả năng oxy hóa ammonium trong điều kiện kỵ khí đã diễn ra rõ ràng.

Tại thời điểm này, bên cạnh sự xuất hiện hoạt tính anammox, màu của các mẫu bùn cũng thay đổi, màu được chuyển từ đen sậm sang nâu đỏ (Hình 4).

Nghiên cứu về quá trình anammox trong bùn thải chăn nuôi lợn của Ahn và đồng tác giả (2004) cũng cho thấy, khi xuất hiện hoạt tính oxy hóa ammonium kỵ khí là có sự thay đổi màu bùn từ đen sang đỏ đậm. Van de Graaf và đồng tác giả (1996) lại cho rằng, sự thay đổi màu bùn có thể là sự tăng lượng cytochrome theo thời gian. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy, khi màu bùn thay đổi thì hoạt tính anammox thể hiện rõ ràng hơn.



Hình 4. Các mẫu bùn thí nghiệm trước và sau khi có hoạt tính anammox (trước: 1, 2, 3, sau: 4, 5, 6)

#### Đánh giá khả năng oxy hóa ammonium kỵ khí của quá trình ANAMMOX

Hoạt tính oxy hóa ammonium kỵ khí ngày càng ổn định và có chiều hướng tăng lên, hàm lượng ammonium và nitrite được chuyển hóa hết hàng ngày khi lượng ammonium được tăng lên đến 10mg N/l, nitrite được giữ ở nồng độ 5,5mg N/l (hình 5). Cũng tại thời điểm này, hàm lượng BOD của 3 mẫu bùn

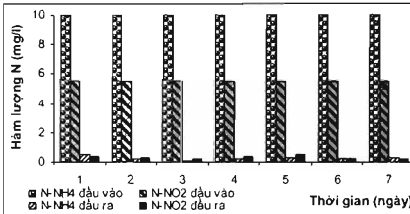
PD, LM, HG tương ứng là 110, 125 và 135 mg/l, giảm 95% so với ban đầu. Hàm lượng BOD giảm đồng nghĩa với khả năng khử nitrate giảm, chính vì vậy mà nitrite cần cho quá trình anammox

Quá trình anammox chỉ xuất hiện trong điều kiện không có oxy với ammonium là chất cho điện tử, còn nitrite là chất nhận điện tử. Để thêm một minh chứng cho điều này, thí nghiệm được tiến hành với

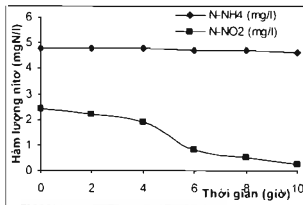
30 ml bùn lắng (tương đương 2.6 g/l bùn khô) được chia đều vào 3 bình nhỏ có dung tích 100 ml, tất cả được đặt trong điều kiện kỵ khí như đã trình bày ở phần phương pháp nghiên cứu. Kết quả được thể hiện ở hình 6 và hình 7.

Trong điều kiện kỵ khí, ở bình 1 môi trường chỉ chứa ammonium thì hàm lượng gần như không thay đổi trong suốt thời gian thí nghiệm 10 giờ, nhưng ngược lại ở bình 2, hàm lượng nitrit lại giảm dần từ giờ thứ 4 (hình 6). Khi kết hợp cả ammonium và nitrit trong môi trường của bình 3, kết quả cho thấy

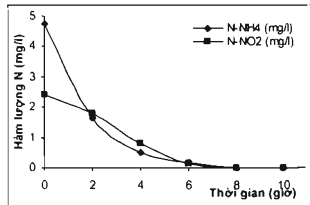
cả hai hợp chất này đều giảm nhanh theo thời gian và không phát hiện chúng sau 6 giờ (hình 7). Như vậy trong điều kiện kỵ khí, khi không có mặt nitrite hàm lượng ammonium không thay đổi. Hàm lượng nitrite giảm đi ở bình 2 có thể quá trình khử nitrite trong điều kiện kỵ khí vẫn xảy ra. Nhưng khi nitrite có mặt cùng với ammonium thì nó lại là chất nhận điện tử nên cả hai thành phần này đều giảm đồng thời theo thời gian. Kết quả này cũng đã được minh chứng trong các nghiên cứu trước đây của chúng tôi khi tiến hành nghiên cứu thẩm độ khả năng oxy hóa ammonium kỵ khí của bùn thải Phú Đô.



Hình 5. Hiệu suất chuyển hóa ammonium và nitrite trong điều kiện kỵ khí



Hình 6. Khả năng giảm ammonium ở bình 1 và nitrite ở bình 2



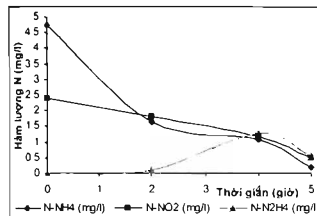
Hình 7. Khả năng giảm ammonium và nitrite ở bình 3.

Khi quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí xuất hiện, sản phẩm trung gian tạo thành là hydrazine và hydroxylamine. Nghiên cứu sự có mặt của hydrazine trong các mẫu bùn đã làm giảm được tiến hành, kết quả được trình bày ở hình 8.

lượng hydrazine bắt đầu xuất hiện ở giờ thứ 2 và tăng dần đến giờ thứ 4 với hàm lượng 1,27 mg/l, hàm lượng này được giảm dần ở giờ thứ 5. Song song với sự tạo thành sản phẩm trung gian hydrazine, hàm lượng nitrite và ammonium cũng giảm dần và hiệu suất loại bỏ tới 80 và 95% tương ứng ở giờ thứ 5. Như vậy, ngoài sự giảm đồng thời ammonium và nitrite

Kết quả nhận được từ hình 8 cho thấy, hàm

trong điều kiện kỵ khí của các mẫu bùn nghiên cứu thì sự tạo thành sản phẩm trung gian (hydrazine) đã thêm một minh chứng để khẳng định sự hiện diện của quá trình ANAMMOX trong các hệ thống làm giàu vi khuẩn oxy hóa ammonium kỵ khí. Ahn và đồng tác giả (2004) cho rằng, sự hình thành sản phẩm trung gian hydrazine là một thông số quan trọng đánh dấu sự thành công của quá trình loại bỏ các hợp chất chứa nitrogen bằng con đường kỵ khí.



Hình 8 Sự hình thành hydrazine trong quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí của mẫu bùn PD

Các kết quả thu được trong công trình này đã chứng minh được sự xuất hiện quá trình oxy hóa ammonium trong điều kiện kỵ khí của 3 mẫu bùn thải chứa hàm lượng hữu cơ và ammonium cao. Kết quả nghiên cứu đã góp thêm những dữ liệu mới về sự oxy hóa ammonium xảy ra trong điều kiện kỵ khí của các loại nước thải làng nghề và nước thải sinh hoạt. Quá trình oxy hóa ammonium kỵ khí diễn ra chắc hẳn có sự tham gia của nhóm vi khuẩn anammox và sự có mặt của nhóm vi khuẩn này sẽ được chứng tỏ trong những nghiên cứu tiếp theo. Các nghiên cứu này góp phần mở ra hướng công nghệ mới trong xử lý nước thải nhiễm ammonium bằng con đường kỵ khí có hiệu quả cao và tiết kiệm giá thành tại Việt Nam.

## KẾT LUẬN

Đã làm giàu vi khuẩn anammox và phát hiện quá trình ANAMMOX trong cả 3 mẫu bùn lấy từ nước thải làng nghề và nước thải sinh hoạt. Hoạt tính anammox được xác định bằng sự giảm đồng thời ammonium và nitrite trong điều kiện kỵ khí, đặc biệt là sự hình thành sản phẩm trung gian hydrazine. Khi

có hoạt tính anammox, có sự thay đổi màu bùn từ đen sang màu nâu sẫm.

Quá trình ANAMMOX đã loại bỏ 10 mgN-NH<sub>4</sub>/l.ngày và 5 mgN-NO<sub>2</sub>/l.ngày trong bình thí nghiệm dung tích 250 ml chứa 30 ml bùn lắng.

**Lời cảm ơn:** Các thí nghiệm được tiến hành trong công trình này có sự dụng trang thiết bị của Phòng thí nghiệm Trọng tâm Công nghệ Gen, Viện Công nghệ Sinh học.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahn YH, Kim HC (2004) Nutrient removal and microbial granulation in an anaerobic process treating inorganic and organic nitrogenous wastewater. *Water Sci Technol* 50(6): 207-215
- ASTM International Standard test method for hydrazine in water. ASTM D1385-01. In Book of ASTM standards, vol. 11.01. ASTM International, West Conshohocken, Pa [Online ] <http://www.astm.org>
- Egli K, Franger U, Alvarez PJJ, Siegrist HR, van der Meer JR, Zehnder AJB (2001) Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate *Arch Microbiol* 175: 198-207.
- Franson MAH (1995) *Standard methods for the Examination of Water and Wastewater*. Publication Office American Public Health Association-Washington, DC 20005. 19th Edition: 225-227, 240-243; 461-464
- Hoàng Phương Hà (2010) Nghiên cứu vi khuẩn nitrate hóa để ứng dụng trong công nghệ xử lý nước nhiễm ammonium *Luận án Tiến sĩ, chuyên ngành vi sinh vật Viện Công nghệ Sinh học- Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
- Jetten MSM, Logemann S, Muyzer G, Robertson LA, de Vries S, van Loosdrecht MC, Kuennen JG (1997) Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds *Antonie Van Leeuwenhoek* 71(1-2) 75-93.
- Jetten MSM, Strous M, van de Pas-Schoonen KT, Schalk J, Van Dongen UGJM, Van De Graaf AA, Logemann S, Muyzer G, Van Loosdrecht MCM, Kuennen JG (1999) The anaerobic oxidation of ammonium *FEMS Microbiol Rev* 22: 421- 437.
- Khin T, Annachatre AP (2004) Novel microbial nitrogen removal processes *Biotechnol Adv* 22: 519-532.
- Lê Công Nhật Phương (2009) Nghiên cứu ứng dụng nhóm vi khuẩn Anammox trong xử lý nước thải nuôi heo *Luận án Tiến sĩ, chuyên ngành công nghệ môi trường và nước thải Viện sinh học nhiệt đới, thành phố Hồ Chí Minh*

Lê Công Nhật Phương, Lê Thị Cẩm Huyền, Nguyễn Huỳnh Tấn Long (2012) Xử lý ammonium trong nước thải giết mổ bằng việc sử dụng kết hợp quá trình nitrit hóa một phần/ anammox. *Tạp chí Sinh học* 34(S1), 105-110.

Mora DA, Van Hulle WHS, Campos LJ, Méndez R, Vanrolleghem PA, Jetten M (2004) Enrichment of Anammox biomass from municipal activated sludge: experimental and modelling results. *J Chem Technol Biotechnol* 79: 1421-1428.

Mulder A, Van de Graaf AA, Robertson LA, Kuennen JG (1995) Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FLMS Microb Ecol* 16:

177-184.

Trần Văn Nhị (2003) *Báo cáo tổng kết dự án Xây dựng mô hình áp dụng kỹ thuật sinh học khử nitrogen liên kết trong nước ăn uống 2002-2003*, cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Van de Graaf AA, de Bruijn P, Robertson LA, Jetten MSM, Kuennen JG (1996) Autotrophic growth of anaerobic ammonium oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 142: 2187-96

Winogradsky S (1890) Recherches sur les organismes de la nitrification. *Ann Inst Pasteur* 4: 213-231.

## ENRICHMENT OF ANAMMOX BIOMASS FROM SOME SEWAGE SLUDGE SOURCES WITH HIGH AMMONIUM CONCENTRATION

Hoàng Phương Hà\*, Do Thị Lien, Do Thị To Uyen

*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

### SUMMARY

In wastewater treatment plants with high ammonium concentration, nitrogen compounds would significantly reduce by activated sludge system with separate treatments: nitrification and denitrification. Over the past few years, new technologies for nitrogen removal have been developed to change to the traditional wastewater treatment technologies because it was consistent with nature of waste water and reducing technology costs. Newly discovered pathways are the anaerobic oxidation of ammonium (ANAMMOX). Ammonium is converted to nitrogen gas under anoxic conditions with nitrite as the electron acceptor. Compared to conventional nitrification and denitrification, the aeration and carbon-source demand is reduced by over 50 and 100%, respectively. Anaerobic ammonia oxidizing (Anammox) biomass was enriched from sludge collected in Hanoi's areas such as food processing Phudo villages, sewage sludge of pig slaughtering area in Binhda and septic tank of TOSERCO hotel. After 54 days anammox activity started to be detected, by the simultaneous consumption of ammonium and nitrite in the sludge enrichment system, this particularly stable from day 97 onwards. In anaerobic conditions, ammonia can be lost only in the presence of nitrite. Anammox activity was further confirmed by the formation of hydrazine-are intermediate products of anaerobic ammonium oxidation with nitrite as electron acceptor. After a stable anammox activity, the color of biomass of the 3 samples changed from black to dark brown. The results of the activity tests is the ability to remove 10 mg N-NH<sub>4</sub>/l day and 5 mg N-NO<sub>2</sub>/l day in 250 ml glass bottles with 30 ml of sediment sludge (equivalent to 2, 6 g / l dry sludge).

**Keywords:** Anaerobic oxidation of ammonium (ANAMMOX), anammox activity, electron acceptor, hydrazine intermediate product, sewage sludge

\* Author for correspondence: Tel: +84-4-37564295; Fax: +84-4-38363144, E-mail: [ha27682002@yahoo.com](mailto:ha27682002@yahoo.com)