

BIẾN ĐỘNG VỀ ĐẶC TÍNH LÝ HÓA VÀ SINH HỌC TRONG QUÁ TRÌNH Ủ HIẾU KHÍ Bùn THẢI NHÀ MÁY GIẤY BÃI BẰNG

**Ngô Thị Tường Châu, Lê Văn Thiện, Vũ Thị Ngọc Trâm,
Nguyễn Trần Bá Minh, Nguyễn Thu Trang**
*Trường Đại học Khoa học tự nhiên,
Đại học Quốc gia Hà Nội*

Cùng với sự phát triển mạnh mẽ của ngành công nghiệp giấy, lượng bùn thải ra môi trường ở nước ta ngày càng gia tăng (Cu 2015). Lượng bùn thải này chủ yếu được xử lý bằng cách ép loại nước, phơi khô, đổ bỏ hay chôn lấp, đã và đang gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng, đồng thời được xem là lãng phí tài nguyên. Trong khi đó, ủ hiếu khí bùn thải với hoạt động phân hủy chất hữu cơ của hệ vi sinh vật không chỉ làm giảm thiểu đáng kể lượng bùn thải mà còn góp phần chuyển đổi bùn thải thành phân bón phục vụ cho nông nghiệp. Để làm rõ cơ chế của biện pháp này, nghiên cứu đặt mục tiêu đánh giá sự biến động về đặc tính lý hóa và sinh học trong quá trình ủ hiếu khí bùn thải nhà máy giấy Bãi Bằng phối trộn với rơm rạ trong hệ thống ủ hai thùng. Những kết quả đạt được sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho việc nghiên cứu tận dụng hiệu quả bùn thải nhà máy giấy nói chung và Bãi Bằng nói riêng trong sản xuất phân bón hữu cơ sinh học.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Phương pháp ủ hiếu khí bùn thải

Nguyên liệu của quá trình ủ hiếu khí bao gồm (i) bùn thải thu từ hệ thống xử lý nước thải nhà máy giấy Bãi Bằng (Phong Châu, Phú Thọ) và (ii) rơm từ làng Hà Cầu (Hà Đông, Hà Nội). Rơm sau khi thu về được cắt thành các đoạn dài 2-3 cm. Việc bổ sung rơm nhằm tăng cường lưu thông không khí trong đồng ủ và cung cấp nguồn cacbon (C) cho hoạt động của vi sinh vật. Quá trình ủ hiếu khí được tiến hành trong một hệ thống ủ hai thùng với thùng nhỏ (80-L) chứa nguyên liệu được đặt trong một thùng lớn (120-L). Tỷ lệ C:N ban đầu của nguyên liệu là 30:1 và độ ẩm 60%. Đồng ủ được đảo trộn định kỳ (2 tuần/lần) để lưu giữ điều kiện hiếu khí và đồng nhất hỗn hợp trong suốt thời gian ủ.

2. Phương pháp thu mẫu

Thu mẫu tại thời điểm 0 ngày và hàng tuần trong vòng 12 tuần. Mẫu được thu ở 3 vị trí trên, giữa và dưới của đồng ủ (cách đáy lần lượt là 85, 50 và 30 cm), trộn đều tạo mẫu tổ hợp. Một phần mẫu được làm khô không khí, nghiền, qua rây 2 mm, dùng để phân tích đặc tính lý hóa, phần còn lại bảo quản ở 4°C, dùng để phân tích đặc tính sinh học.

3. Phương pháp xác định đặc tính lý hóa của đồng ủ

Nhiệt độ của đồng ủ được theo dõi hàng ngày với một nhiệt kế có đồng hồ báo nhiệt được cắm sâu vào giữa đồng ủ. Giá trị pH (KCl) được xác định theo TCVN 5979:2007 (ISO 10390:2005). Độ ẩm được xác định theo TCVN 6648:2000 (ISO11465:1993). Hàm lượng chất hữu cơ được xác định bằng phương pháp sử dụng $K_2Cr_2O_7$ làm tác nhân oxy hóa (TCVN 4050-85). Hàm lượng C tổng số được xác định theo TCVN 6642-2000 (ISO 10694:1995). Hàm lượng nitơ (N) tổng số được xác định theo phương pháp Kjeldahl cải tiến (TCVN 6498:1999 - ISO 11261:1995).

4. Phương pháp xác định mật độ vi sinh vật trong đồng ủ

Mật độ của các quần thể vi sinh vật được ước tính bằng phương pháp đếm trên đĩa chứa môi trường thích hợp ngoại trừ các quần thể vi khuẩn ammonium hóa và nitrate hóa được ước tính

bằng kỹ thuật nhiều ống (MPN). Môi trường Plate Count Agar (Merck 105463), Potato Dextrose Agar (Merck 1.10130) và Starch Casein Agar (HiMedia M801) được sử dụng lần lượt cho vi khuẩn hiếu khí, nấm và xạ khuẩn. Môi trường Ashby's Mannitol Agar (Sigma A1840) và Nitrate Agar (HiMedia M072) được lựa chọn lần lượt cho vi khuẩn cố định nitơ và khử nitrate. Các vi khuẩn ammonium hóa và nitrate hóa được phát hiện bởi sự xuất hiện tương ứng màu vàng và xanh đậm sau khi thêm thuốc thử Nessler và sulphuric diphenylamine vào môi trường sau nuôi cấy (Greenberg et al. 1992). Môi trường Hans Agar cải tiến (Mandels & Weber 1969) và Xylan Agar (Feng et al. 2013) được lựa chọn cho vi sinh vật phân giải cellulose và hemicellulose. Tất cả các nhóm vi sinh vật đều được nuôi cấy ở nhiệt độ 30°C. Vi khuẩn, nấm và xạ khuẩn được nuôi cấy lần lượt trong 2, 3 và 5 ngày. Vi khuẩn cố định nitơ và khử nitrate đều được nuôi cấy trong 7 ngày. Vi khuẩn ammonium hóa và nitrate hóa được nuôi cấy lần lượt trong 3 ngày và 2 tuần. Vi sinh vật phân giải cellulose và hemicellulose được nuôi cấy trong 5 ngày.

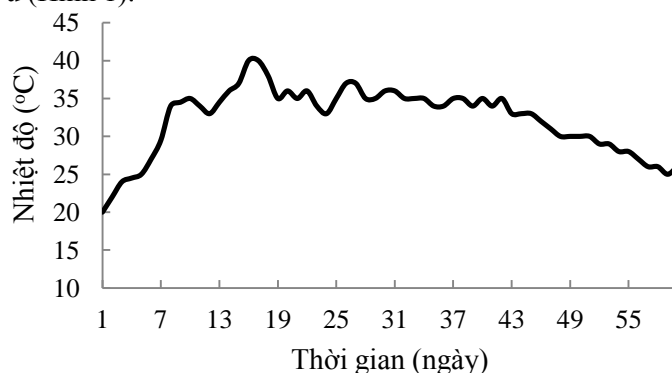
5. Phương pháp đánh giá hoạt tính enzyme trong đồng ủ

API ZYM kit (bioMerieux), một phương pháp bán định lượng mang tính thống kê, đã được sử dụng để đánh giá hoạt tính enzyme. Mỗi thanh API ZYM gồm các giếng nhỏ chứa các cơ chất tạo màu ở dạng khô của 19 enzyme khác nhau và một giếng đối chứng (không chứa cơ chất). Dịch chiết enzyme được chuẩn bị bằng cách trộn 5 g mẫu đồng ủ với 50 mL nước cất vô trùng, nghiền và lắc kỹ hỗn hợp trên máy lắc ở 150 vòng/phút, để lắng trong 10 phút và thu dịch nổi. 65 µL dịch nổi được nhỏ vào mỗi giếng. Đặt nắp thanh API ZYM và ủ ở 37°C trong 4 giờ. Sau khi ủ, 30 µL của mỗi loại thuốc thử (ZYM A và ZYM B, bioMerieux) được thêm vào tất cả các giếng. Sau 5 phút, ghi nhận các giá trị từ 1-5 cho mỗi giếng theo bảng đối chiếu màu được cung cấp bởi nhà sản xuất.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Biến động nhiệt độ của đồng ủ

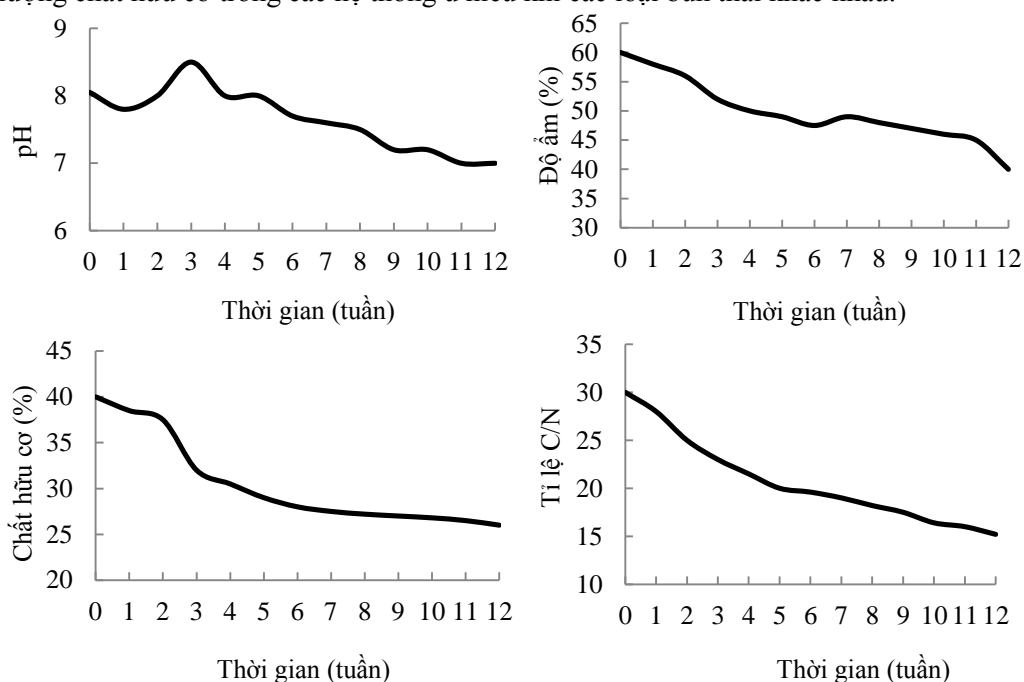
Nhiệt độ là một trong những chỉ thị then chốt cho sự biến động trong quá trình ủ hiếu khí. Sự tăng nhiệt độ tại pha ưa nhiệt trung bình là hệ quả của sự phân hủy các hợp chất hữu cơ không bền bởi vi khuẩn và nấm ưa nhiệt trung bình (Rihani et al. 2010), trong khi nhiệt độ cao tại pha ưa nhiệt cao là một sản phẩm phụ của hoạt động tích cực bởi vi khuẩn và xạ khuẩn ưa nhiệt (Dinesh et al. 2014). Trong nghiên cứu này, ở giai đoạn đầu, nhiệt độ đồng ủ tăng dần theo thời gian ủ và đạt cực đại (40°C) vào ngày thứ 16 của quá trình ủ. Nhiệt độ này chỉ duy trì trong ngày, sau đó nhiệt độ đồng ủ bắt đầu giảm xuống 35°C vào ngày thứ 19, rồi dao động trong phạm vi 32-37°C, và giảm dần đến mức nhiệt độ của môi trường ngoài (25-30°C) vào giai đoạn cuối của quá trình ủ (Hình 1).



Hình 1: Sự biến động của nhiệt độ đồng ủ trong quá trình ủ hiếu khí

2. Biến động về đặc tính lý hóa của đồng ủ

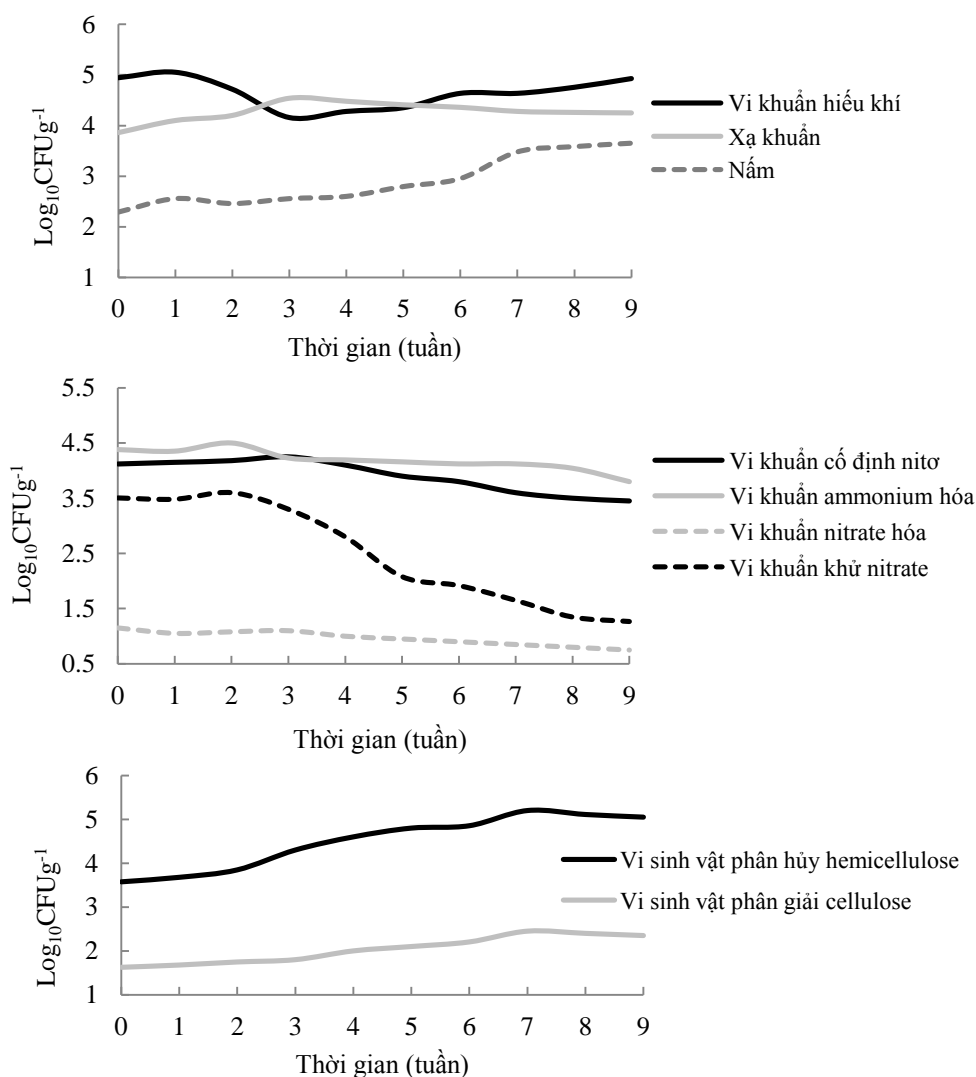
Đặc tính lý hóa của đồng ủ biến động trong quá trình ủ hiếu khí (Hình 2). Giá trị pH biến động trong khoảng 7,0-8,5. Độ ẩm giảm từ 60% xuống còn 40%, hàm lượng chất hữu cơ giảm từ 40% xuống còn 26%, và tỷ lệ C:N ban đầu giảm từ 30:1 xuống còn 15,2:1. Sự biến động của pH trong giai đoạn đầu là do các acid hữu cơ được tích lũy trong quá trình phân hủy chất hữu cơ bởi vi khuẩn và nấm ưa nhiệt trung bình khiến pH giảm nhẹ. Sau đó, NH_3 được hình thành từ quá trình ammonium hóa có thể phản ứng với nước để tạo NH_4^+ và giải phóng các ion hydroxyl (OH^-) làm tăng pH. Tiếp theo, pH có xu hướng trở nên trung tính khi NH_3 bị mất đi do thoát vào không khí hoặc tham gia vào sinh khối mới của vi sinh vật. Sự giảm đáng kể của độ ẩm là do quá trình bay hơi nước khi nhiệt độ đồng ủ tăng lên. Ở đây, tỉ lệ giảm hàm lượng chất hữu cơ (42,5%) là phù hợp với kết quả (30-50%) của Rihani et al. (2010) khi nghiên cứu tỉ lệ giảm hàm lượng chất hữu cơ trong các hệ thống ủ hiếu khí các loại bùn thải khác nhau.



Hình 2: Sự biến động về đặc tính lý hóa của đồng ủ trong quá trình ủ hiếu khí

3. Biến động về mật độ vi sinh vật trong đồng ủ

Vi khuẩn chịu trách nhiệm cho hầu hết các quá trình phân hủy và sinh nhiệt trong đồng ủ, xạ khuẩn đóng vai trò quan trọng trong phân hủy các phân tử hữu cơ phức tạp mà không được phân hủy bởi vi khuẩn và nấm, trong khi nấm lại phân hủy các mạch thực vật phức tạp đặc biệt là các bã thải hữu cơ khô, có tính acid và hàm lượng N thấp mà không được phân hủy bởi vi khuẩn. Trong quá trình ủ hiếu khí bùn thải này, mật độ các quần thể vi sinh vật trong đồng ủ biến đổi theo thời gian (Hình 3). Tổng vi khuẩn hiếu khí có mật độ cao nhất vào tuần thứ 2. Ngược lại, nấm xuất hiện với mật độ khá thấp ở giai đoạn đầu, sau đó giảm nhẹ rồi tăng dần và vượt xa mật độ ban đầu vào cuối quá trình ủ hiếu khí. Trong khi đó, xạ khuẩn có mật độ thấp nhất tại giai đoạn đầu của quá trình ủ hiếu khí và đạt cao nhất vào ngày thứ 15. Điều kiện môi trường ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật vì vậy sự biến động mật độ các quần thể vi sinh vật trong nghiên cứu này có thể là do sự biến động đặc tính lý hóa của đồng ủ trong quá trình ủ hiếu khí (Hình 2).



Hình 3: Sự biến động về mật độ vi sinh vật của đồng ủ trong quá trình ủ hiếu khí

Đối với vi khuẩn tham gia chu trình N, tất cả các quần thể đều đạt mật độ cao nhất tại giai đoạn đầu của quá trình ủ, sau đó giảm dần. Số lượng vi khuẩn cố định nitơ, ammonium hóa và khử nitrate hóa cao hơn so với vi khuẩn nitrate hóa. Điều này có thể là do điều kiện môi trường (như pH, sự có mặt các chất ức chế...) đã kìm hãm sự nitrate hóa. Sự hiện diện của vi khuẩn cố định nitơ giúp cải thiện chất lượng của sản phẩm compost.

4. Biến động về hoạt tính enzyme của đồng ủ

Phosphatase, esterase, amino-peptidase, protease, và glycosyl hydrolase lần lượt là các enzyme xúc tác cho sự thủy phân các ester phosphate hữu cơ thành orthophosphate, phân cắt các liên kết ester, thủy phân protein thành các amino acid, và phân cắt liên kết glycosidic giữa các hợp chất C. Các enzyme này được xem là chỉ thị cho mức độ phân hủy các hợp chất hữu cơ trong quá trình ủ hiếu khí. Ở đây, hoạt tính của acid phosphatase, esterase-lipase, valine amino-peptidase, β -glucosidase, α -glucosidase, β -galactosidase và β -glucuronidase được phát hiện ở mức cao tại tuần thứ 4 và 5, sau đó giảm dần theo thời gian ủ, tuy nhiên vẫn duy trì ở mức trung bình. Trong khi hoạt tính của alkaline phosphatase ở mức trung bình suốt 7 tuần đầu của quá

trình ủ hiếu khí, sau đó giảm xuống mức thấp. Lipase, leucine amino-peptidase và cystine amino-peptidase thường được phát hiện ở mức thấp, thậm chí α -galactosidase, α -mannosidase, và α -fucosidase không được phát hiện trong quá trình ủ hiếu khí (Bảng 1).

Bảng 1

Hoạt tính enzyme ngoại bào của đồng ủ trong quá trình ủ hiếu khí bùn thải

Enzyme	Thời gian (tuần)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Phosphatases										
Alkaline phosphatase	2	3	3	3	3	2	2	2	1	1
Acid phosphatase	4	4	4	4	4	3	3	2	2	3
Phosphohydrolase	2	4	4	3	3	2	1	1	1	1
Esterases										
Lipase	2	3	0	1	1	1	0	0	1	0
Esterase-lipase	3	4	4	4	4	3	3	3	2	3
Esterase	3	3	2	2	2	2	1	0	1	0
Amino-peptidases										
Leucine amino-peptidase	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0
Valine amino-peptidase	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1
Cystine amino-peptidase	3	3	1	0	1	1	0	1	0	1
Proteases										
Chymotrypsin	2	2	4	4	2	2	1	1	1	1
Trypsin	2	2	3	4	3	1	2	2	2	2
Glycosyl-hydrolases										
α -galactosidase	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
β -glucosidase	1	3	4	4	4	2	2	3	3	3
N-acetyl- β -glucosaminidase	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α -glucosidase	2	4	4	4	4	1	1	1	2	2
β -galactosidase	3	4	4	4	4	3	1	1	1	1
β -glucuronidase	3	5	4	4	5	0	1	2	1	0
α -mannosidase	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α -fucosidase	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Ghi chú: 0- không phát hiện, 1- hoạt tính thấp, 2-3 hoạt tính trung bình, 4-5 hoạt tính cao.

III. KẾT LUẬN

Các đặc tính lý hóa và sinh học của đồng ủ luôn biến động trong quá trình ủ hiếu khí bùn thải nhà máy giấy Bãi Bằng. Nhiệt độ cao nhất của đồng ủ đạt 40°C sau 16 ngày và giảm xuống nhiệt độ môi trường ngoài (tức đạt độ chín) sau 7 tuần ủ. Giá trị pH, độ ẩm, hàm lượng chất hữu cơ và tỉ lệ C:N của đồng ủ lần lượt biến động trong khoảng 7,0-8,5; 40-60%; 26-40%; và 15,2: 1-30:1. Mật độ của vi khuẩn hiếu khí, xạ khuẩn, và nấm lần lượt dao động trong khoảng 4,16-5,05; 3,86-4,54; và 2,29-3,65 \log_{10} CFUg⁻¹. Mật độ của vi khuẩn cố định nitơ, ammonium hóa, nitrate hóa và khử nitrate lần lượt dao động trong khoảng 3,45-4,25; 3,80-4,50; 0,75-1,15; và 1,27-3,60 \log_{10} CFUg⁻¹. Mật độ của vi sinh vật phân hủy cellulose và hemicellulose lần lượt dao động trong khoảng 1,62-2,45 và 1,95-2,75 \log_{10} CFUg⁻¹. Hoạt tính của phosphatase acid, esterase-lipase, valine amino-peptidase, β -glucosidase, α -glucosidase, β -galactosidase và β -glucuronidase được phát hiện ở mức cao, trong khi các enzyme khác ở mức trung bình hoặc yếu thậm chí hoạt tính của một số ít enzyme như α -galactosidase, α -mannosidase, và α -fucosidase đã không được phát hiện trong quá trình ủ hiếu khí.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số: 106-NN.04-2014.53.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cu N. X.**, 2015. The ability of sludge from wastewater treatment systems of paper plant to improve soil fertility and crop growth. *Global Journal of Science Frontier Research: D-Agriculture & Veterinary*, 14 (10): 81-84.
2. **Dinesh K. M., Dheeman S. & Agarwal M.**, 2014: *Decomposition of organic materials into high value compost for sustainable crop productivity*. In Dinesh K. M. (ed.) *Composting for Sustainable Agriculture*, Vol. 3 of the series Sustainable Development and Biodiversity, pp. 245-267. Springer.
3. **Feng H. W., Zhi Y. E., Shi W. W., Mao L. & Zhou P.**, 2013. Isolation, identification and characterization of a straw degrading *Streptomyces griseorubens* JSD-1. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 7(22): 2730-2735.
4. **Greenberg A. E., Clesceri L. S. & Eaton A. D.**, 1992. *Standard Methods for the Determination of Water and Wastewater*, 18th ed. EPS Group Inc., Hanover, Maryland, M. A.
5. **Mandels M. & Weber J.**, 1969. *The production of cellulases*. In: George J.H. & Elwyn T.R. (ed) *Cellulases and Their Applications*. *Advances of Chemistry Series 95*, Chapter 23, pp. 391-414. Springer.
6. **Rihani M., Malamis D., Bihaoui B., Etahiri S., Loizidou M. & Assobhei O.**, 2010: In-vessel treatment of urban primary sludge by aerobic composting. *Bioresour. Technol.*, 101(15): 5988-5995.

CHANGES IN PHYSICOCHEMICAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF PILE DURING BAI BANG PULP AND PAPER MILL SLUDGE COMPOSTING

**Ngo Thi Tuong Chau, Le Van Thien, Vu Thi Ngoc Tram,
Nguyen Tran Ba Minh, Nguyen Thu Trang**

SUMMARY

The disposal and burial of pulp and paper mill sludge have been caused serious environmental pollution and considered as a waste of resources. In this circumstance, composting is considered as an economically viable and environmentally acceptable recycling method. In present study, the changes in physicochemical and biological properties of pile of Bai Bang PPMS during composting were determined. Temperature reached 40°C by the day 16, then gradually decreased to ambient level at the end of composting. The pH value, moisture content, organic matter content and C:N ratio changed between the ranges of 7.0-8.5, 40-60%, 26-40%, and 15.2:1-30:1, respectively. The microbial populations varied over time as changed the physicochemical and biological properties of pile. Activities of phosphatase acid, esterase-lipase, valine amino-peptidase, β -glucosidase, α -glucosidase, β -galactosidase and β -glucuronidase reached high levels, while others reached moderate or low levels. Activities of α -galactosidase, α -mannosidase, and α -fucosidase were undetected.