

NÂNG CAO KHẢ NĂNG TẠO SULFIDE CỦA HỖN HỢP CHỨNG VI KHUẨN KHỬ SUNFATE THU ĐƯỢC TỪ NƯỚC THẢI Ô NHIỄM CHÌ

Nguyễn Thị Yên, Đặng Thị Yên, Vương Thị Nga, Nguyễn Thanh Bình,
Kiều Thị Quỳnh Hoa*

Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

*Email: kieuthiquynhhoa@gmail.com

Đến Tòa soạn: 11/12/2014; Chấp nhận đăng: 8/12/2015

TÓM TẮT

Ô nhiễm kim loại nặng nói chung và chì nói riêng từ các quá trình khai thác mỏ, sản xuất công nghiệp, nông nghiệp... ảnh hưởng nghiêm trọng đến sinh vật và con người. Xử lý kim loại nặng bằng công nghệ sinh học sử dụng vi khuẩn khử sulfate (KSF) hiện đang thu hút được sự quan tâm nghiên cứu của các nhà khoa học bởi hiệu quả xử lý cao, an toàn và thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, khả năng tạo sulfide của nhóm vi khuẩn này chủ yếu phụ thuộc vào điều kiện môi trường nuôi cấy như nguồn carbon (lactate, ethanol, acetate...), SO_4^{2-} và pH. Vì vậy, để nâng cao hiệu quả xử lý, việc nghiên cứu sử dụng phương pháp quy hoạch thực nghiệm bằng đáp ứng bề mặt (RSM) dựa trên kiểu tâm phức hợp (CCD) với các yếu tố ảnh hưởng tới khả năng tạo sulfide là cần thiết. Bằng phương pháp RSM với sự hỗ trợ của phần mềm DX7, khả năng tạo sulfide của hỗn hợp chủng vi khuẩn KSF phân lập từ làng nghề tái chế chì Văn Lâm, Hưng Yên được tối ưu với 3 yếu tố ảnh hưởng chính là lactate, SO_4^{2-} và pH. Do có thể nghiên cứu đồng thời nhiều yếu tố ảnh hưởng, phương pháp quy hoạch thực nghiệm không những đem lại hiệu quả cao mà còn tiết kiệm thời gian và chi phí so với các phương pháp nghiên cứu cổ điển chỉ cho phép nghiên cứu từng yếu tố độc lập. Kết quả tối ưu cho thấy hàm lượng sulfide là 14,2 mM khi giá trị lactate, SO_4^{2-} và pH lần lượt là 53,41 mM, 22,64 mM và 7,54. Kết quả này có thể ứng dụng để thiết lập mô hình xử lý nước thải nhiễm kim loại nặng nói chung và nhiễm chì nói riêng bằng vi khuẩn khử sulfate.

Từ khóa: loại chì, tối ưu hóa, vi khuẩn khử sulfate, phương pháp đáp ứng bề mặt, tạo sulfide.

1. MỞ ĐẦU

Ô nhiễm kim loại nặng đang là vấn đề môi trường được nhiều nước trên thế giới quan tâm. Cùng với quá trình công nghiệp hóa, các kim loại nặng như Pb, Cu, Cd, Zn, Ni, Hg... ngày càng được thải nhiều ra môi trường. Trong số các kim loại nặng kể trên, chì được xếp vào nhóm kim loại độc hại nhất. Chì chủ yếu được thải ra môi trường do quá trình khai thác mỏ, hoạt động sản xuất, tái chế pin, ắc quy, chất dẻo tổng hợp, sơn, thuốc nổ, mực in, mạ điện khai thác quặng...

Chì xâm nhập vào cơ thể người trực tiếp qua đường hô hấp, da hoặc gián tiếp qua chuỗi thức ăn gây ức chế một số enzyme quan trọng, làm rối loạn quá trình tạo huyết ở tủy, phá vỡ quá trình tạo hồng cầu, gây hại đến hệ thần kinh, nhất là hệ thần kinh của trẻ sơ sinh... [1, 2]. Vì vậy, việc tìm kiếm phương pháp an toàn và hiệu quả để xử lý nước ô nhiễm chì là vấn đề cấp thiết.

Các phương pháp chủ yếu được sử dụng để xử lý nước thải nhiễm kim loại nặng nói chung và chì nói riêng là kết tủa hóa học, trao đổi ion, oxy hóa-khử, điện hóa, hấp phụ bằng thực vật thủy sinh, vật liệu sinh học... [3, 4, 5].

Tuy nhiên, trong những năm gần đây, xử lý nước thải nhiễm kim loại nặng bằng vi khuẩn KSF thu hút được sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trên thế giới bởi những ưu điểm vượt trội như giá thành xử lý phù hợp, không tạo hóa chất tồn dư gây ô nhiễm thứ cấp, lượng cặn tạo ra từ kết tủa sulfide bền vững trong khoảng pH rộng dễ thu hồi và tái chế. Phương pháp này dựa trên khả năng khử ion sulfate (SO_4^{2-}) đồng thời oxy hóa các hợp chất hữu cơ (lactate, acetate, ethanol, pyruvate...) tạo ion sulfide của vi khuẩn KSF. Sau đó, ion sulfide phản ứng với ion kim loại hòa tan độc hại tạo kết tủa kim loại dưới dạng muối sulfide bền vững [6]. Cơ chế của quá trình này cho thấy hiệu quả loại chì của vi khuẩn KSF phụ thuộc vào hàm lượng sulfide do nhóm vi khuẩn này tạo ra. Nghiên cứu cho thấy, sự sinh trưởng và tạo sulfide của vi khuẩn KSF lại chịu ảnh hưởng mạnh bởi thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy như nguồn carbon, SO_4^{2-} và pH [7]. Vì vậy, việc xác định ảnh hưởng của từng yếu tố lựa chọn cũng như tương tác đồng thời của các yếu tố này đến quá trình tạo sulfide là cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) và phần mềm tin sinh học DX7 để tối ưu hóa khả năng tạo sulfide của hỗn hợp chủng vi khuẩn KSF thu được từ làng nghề tái chế chì Đông Mai, Hưng Yên thông qua nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố lựa chọn (lactate, SO_4^{2-} và pH) [8].

Mặc dù phương pháp RSM đã được biết đến trong nghiên cứu hấp phụ kim loại nặng bằng sinh khối vi sinh vật (vi khuẩn, nấm mốc, nấm men) [9, 10], nhưng ứng dụng phương pháp này để tối ưu hàm lượng sulfide tạo ra trong xử lý kim loại nặng bằng vi khuẩn KSF hiện vẫn còn khá mới mẻ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Hỗn hợp các chủng vi khuẩn KSF nghiên cứu được nuôi cấy làm giàu kỵ khí từ mẫu nước ô nhiễm tại làng nghề tái chế chì thôn Đông Mai, Hưng Yên trong môi trường Postgate B (P_B) [11].

Thí nghiệm tối ưu được tiến hành kỵ khí trong bình có thể tích 120 ml với 80 ml môi trường. Thành phần môi trường bao gồm (g.L^{-1}): NH_4Cl 0,28; KH_2PO_4 0,17; CaCl_2 0,01; MgCl_2 0,01; Na_2SO_4 và $\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$ (lactate natri). Giá trị pH, hàm lượng Na_2SO_4 và $\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$ được bổ sung vào môi trường như sau theo Bảng 2 với khoảng giá trị: pH (6,5 - 8,5), Na_2SO_4 (16 - 32 mM), $\text{C}_3\text{H}_5\text{NaO}_3$ (32 - 96 mM).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp quy hoạch thực nghiệm

Xác định các yếu tố ảnh hưởng bằng cách sử dụng quy hoạch trực giao đôi xứng cho 3 yếu tố: lactate, SO_4^{2-} , pH, mỗi yếu tố tiến hành tại 5 mức ($-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$). Quy hoạch thực nghiệm gồm 20 thí nghiệm, trong đó: 8 thí nghiệm tại nhân (quy hoạch toàn phần 2^3), 6 thí nghiệm tại

điểm sao (2 thí nghiệm cho mỗi biến) và 6 thí nghiệm lặp tại tâm, với 1 hàm mục tiêu là hàm lượng sulfide (Bảng 2).

2.2.2. Xử lý số liệu

Xử lý số liệu thực nghiệm bằng phần mềm thống kê Design-Expert 7.1 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, USA), để phân tích các hệ số quy hồi, bề mặt đáp ứng và tối ưu hóa với thuật toán hàm mong đợi.

2.3. Phương pháp phân tích

Mẫu được phân tích dựa vào phương pháp tiêu chuẩn [12]. Hàm lượng sulfate được xác định bằng phương pháp đo độ đục dựa vào kết tủa BaSO₄ bằng máy quang phổ (SP-3000 Nano, Nhật). Hàm lượng sulfide được xác định bằng phương pháp so màu dựa trên kết tủa CuS bằng máy quang phổ (SP-3000 Nano, Nhật).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chọn miền khảo sát

Trong các nghiên cứu trước, chúng tôi đã xác định được 3 yếu tố chính ảnh hưởng tới khả năng sinh trưởng và tạo sulfide của hỗn hợp chủng vi khuẩn KSF lựa chọn là lactate, SO₄²⁻ và pH. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn miền khảo sát của các yếu tố trên để tiến hành tối ưu quá trình tạo sulfide với các giá trị như sau: lactate (32 ÷ 96 mM), SO₄²⁻ (16 ÷ 32 mM), pH (6,5 ÷ 8,5) (Bảng 1).

Bảng 1. Giá trị mã hóa và giá trị thực nghiệm của các yếu tố thực nghiệm.

Biến số	Kí hiệu	Đơn vị	Kí hiệu giá trị mã hóa				
			-α	-1	0	+1	+α
Lactate (A)	X ₁	mM	15,3	32	64	96	112,78
SO ₄ ²⁻ (B)	X ₂	mM	11,8	16	24	32	36,19
pH (C)	X ₃		5,96	6,5	7,5	8,5	9,02

3.2. Thiết lập mô hình

Giá trị mã hóa, kết quả thiết kế với ma trận kế hoạch thực nghiệm được trình bày trên bảng 2. Bảng 2 gồm 20 thí nghiệm tương ứng là 20 giá trị khác nhau của 3 yếu tố lactate, SO₄²⁻, pH và hàm lượng sulfide (hàm mục tiêu) thu được từ thực nghiệm tương ứng với các giá trị 3 yếu tố trên.

Ảnh hưởng của các yếu tố lactate, SO₄²⁻, pH cũng như sự tương tác giữa các yếu tố đến hàm mục tiêu được tiến hành xây dựng bởi hàm hồi quy bậc 2 như sau:

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad (1)$$

trong đó, Y_i hàm mục tiêu, β₀ hệ số tự do, β_i, β_{ii}, β_{ij} là các vectơ tham số của mô hình được xác định qua thực nghiệm. Mô hình thống kê chỉ có ý nghĩa và được sử dụng sau khi thỏa mãn các tiêu chuẩn thống kê (Fisher).

Bảng 2. Các thí nghiệm tiến hành và kết quả.

Thí nghiệm	Giá trị mã hóa			Giá trị thực			Sulfide (mM)	
	X ₁	X ₂	X ₃	Lactate (mM)	SO ₄ ²⁻ (mM)	pH	Giá trị thực nghiệm	Giá trị dự đoán
1	+1	-1	+1	96	32	8,5	12,97	12,95
2	0	0	0	64	24	7,5	14,88	14,78
3	-1	-1	+1	32	16	8,5	8,53	6,83
4	0	0	0	64	24	7,5	14,88	14,78
5	0	0	0	64	24	7,5	14,79	14,78
6	0	0	+α	64	24	9,02	12,4	12,06
7	-α	0	0	15,21	24	7,5	7,01	7,09
8	+1	-1	-1	96	16	6,5	6,9	6,95
9	+1	-1	+1	96	16	8,5	8,68	9,14
10	0	0	0	64	24	7,5	15	14,78
11	0	+α	0	64	36,19	7,5	12,1	12,34
12	0	-α	0	64	11,80	7,5	11	10,57
13	-1	+1	-1	32	32	6,5	6,97	6,62
14	-1	+1	+1	32	32	8,5	8,3	8,37
15	+1	+1	-1	96	32	6,5	9,5	9,52
16	+α	0	0	112,79	24	7,5	9,97	6,69
17	-1	-1	-1	32	16	6,5	7,97	8,11
18	0	0	0	64	24	7,5	14,94	14,78
19	0	0	-α	64	24	5,97	8,91	9,05
20	0	0	0	64	24	7,5	14,03	14,78

3.3. Phân tích sự có nghĩa của các hệ số hồi quy và sự tương quan của mô hình

Phân tích sự có nghĩa của các hệ số hồi quy và sự tương quan của mô hình được đánh giá qua phân tích ANOVA (Bảng 3) cũng như các chỉ tương quan (Bảng 4). Sự có nghĩa của các hệ số hồi quy được kiểm định bởi chuẩn F, với các giá trị $p < 0,05$ cho biết các hệ số hồi quy là có nghĩa.

Ở Bảng 3, giá trị “Model -F-value” là 131,03, giá trị này cho thấy mô hình hoàn toàn có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99,99 % ($p < 0,0001$). Tương tác của từng yếu tố (lactate, SO₄²⁻, pH) cũng như tương tác từng cặp của các yếu tố này đều có nghĩa bởi giá trị $p < 0,05$ (Bảng 3). Điều này được minh chứng rõ hơn khi quan sát bề mặt đáp ứng trên hình 1a, hình 1b và hình 1c. Kết quả phân tích cũng cho thấy sự lựa chọn các yếu tố cũng như khoảng giá trị của các yếu tố để thiết lập mô hình là phù hợp. Chuẩn F của mô hình (Bảng 3) là 1,28 ($p = 0,3968$) chỉ ra “sự

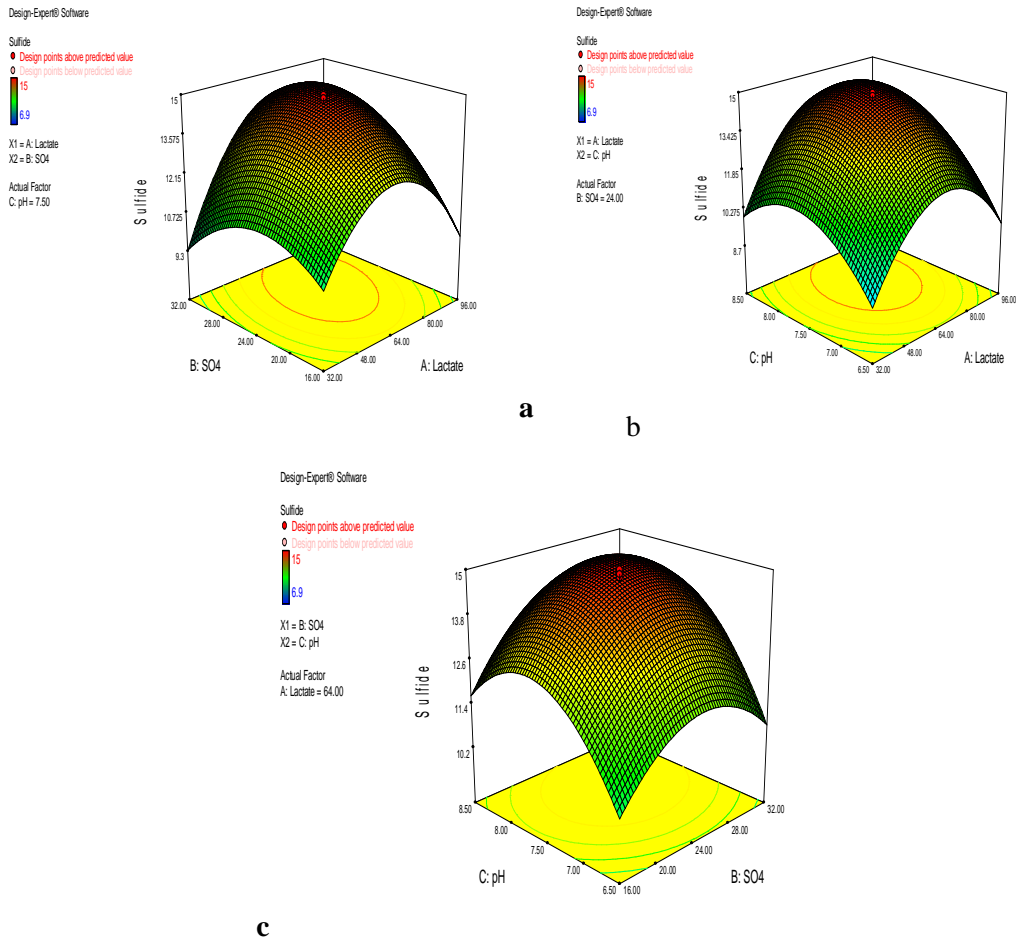
không tương thích” ở đây là vô nghĩa và chỉ có 39,68 % xảy ra độ nhiễu. Điều này là tốt cho quá trình thiết lập mô hình mô phỏng thực nghiệm. Sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm cũng được kiểm chứng bằng hệ số tương quan bội R^2 . Giá trị R^2 càng gần 1 thì giá trị thực nghiệm càng gần với giá trị dự đoán của mô hình. Theo số liệu phân tích ở bảng 4, $R^2 = 0,9915$ chứng tỏ chỉ có 0,85 % tổng giá trị của các yếu tố không được giải thích bằng mô hình (Bảng 4). Giá trị Adj R-Squared và Pred R-Squared ở Bảng 4 khá cao lần lượt là 0,984 và 0,9573 cho thấy mô hình mô phỏng đúng với thực nghiệm.

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy trong tối ưu hóa hàm lượng sulfide.

Nguồn gốc	Phương sai	Bậc tự do	Mean Square	Giá trị-F	Giá trị (khả năng >F)	
Mô hình	175,34	9	19,48	131,03	< 0,0001	có nghĩa
X_1	9,20	1	9,20	61,94	< 0,0001	
X_2	4,25	1	4,25	28,62	0,0003	
X_3	12,27	1	12,27	82,56	< 0,0001	
X_1X_2	8,24	1	8,24	55,43	< 0,0001	
X_1X_3	1,41	1	1,41	9,49	0,0116	
X_2X_3	0,75	1	0,75	5,08	0,0477	
X_1^2	81,50	1	81,50	548,18	< 0,0001	
X_2^2	22,09	1	22,09	148,60	< 0,0001	
X_3^2	35,59	1	35,59	239,40	< 0,0001	
Sự không tương thích	0,83	5	0,16	1,28	0,3968	không có nghĩa

Bảng 4. Kết quả phân tích sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm.

Thông số	Giá trị	Thông số	Giá trị
Std. Dev.	0,386	R-Squared	0,9915
Mean	10,99	Adj R-Squared	0,984
C.V. %	3,51	Pred R-Squared	0,9573
PRESS	7,549	Adeq Precision	29,8977



Hình 1. Bề mặt đáp ứng của hàm lượng sulfide dưới tác động của lactate, SO_4^{2-} và pH cũng như tương tác các yếu tố này.

(a) Lactate và SO_4^{2-} , (b) Lactate và pH, (c) pH và SO_4^{2-} .

3.4. Ảnh hưởng các yếu tố lựa chọn đến quá trình tạo sulfide

Như vậy, từ kết quả phân tích các hệ số hồi quy và sự tương quan của mô hình, ảnh hưởng của các yếu tố lactate, SO_4^{2-} và pH đến giá trị hàm mong đợi được biểu diễn theo phương trình bậc 2 sau:

$$Y_{\text{sulfide (mM)}} = 102,69 + 0,18X_1 + 0,6X_2 + 26,44X_3 + 0,0039X_1X_2 + 0,013X_1X_3 + 0,038X_2X_3 - 0,0027X_1^2 - 0,022X_2^2 - 1,81X_3^2 \quad (2)$$

trong đó Y_{sulfide} là hàm lượng sulfide mong đợi, X_1 , X_2 , X_3 lần lượt là giá trị của các biến lactate, SO_4^{2-} và pH.

Theo số liệu phân tích Bảng 3, tất cả các yếu tố lactate, SO_4^{2-} và pH đều có ảnh hưởng đến quá trình tạo sulfide của hỗn hợp chủng lựa chọn ($p < 0,05$) trong đó hai yếu tố lactate và pH có ảnh hưởng mạnh nhất với giá trị $p < 0,001$. Điều này còn được minh chứng bởi sự dao động mạnh của hàm lượng sulfide ở mỗi bước nhảy khác nhau của lactate và pH ở Bảng 2 và phương

trình 2. Kết quả cũng cho thấy, hàm lượng sulfate cũng ảnh hưởng tới quá trình tạo sulfide ($p < 0,003$) nhưng không bằng hai yếu tố lactate và pH.

3.5. Ảnh hưởng tương tác của các yếu tố đến quá trình tạo sulfide

Kết quả Bảng 2 cho thấy, giá trị hàm mong đợi - sulfide tối ưu theo mô hình dự đoán là 14,78 mM với các cặp yếu tố ở thứ tự 2, 4, 5, 10, 18 và 20. Ở giá trị này, hàm lượng lactate, SO_4^{2-} và pH lần lượt là 64 mM, 24 mM và 7,5, đây cũng là giá trị tại tâm của các yếu tố này. Kết quả Hình 1 (Hình 1a, 1b, và 1c) mô phỏng ảnh hưởng tương tác của hai yếu tố đến quá trình tạo sulfide khi yếu tố còn lại được giữ ở giá trị tại tâm.

Ảnh hưởng tương tác của hai yếu tố lactate và SO_4^{2-} đến quá trình tạo sulfide khi giá trị pH được giữ tại tâm (pH 7,5) được thể hiện ở hình 1a và bảng 3. Với giá trị $p < 0,001$ (Bảng 3), tương tác của hai yếu tố lactate và SO_4^{2-} có ảnh hưởng mạnh đến quá trình tạo sulfide hơn so với các cặp tương tác khác.

Hàm lượng sulfide tạo ra là cao nhất (13,57 mM - 14,94 mM) khi hàm lượng lactate và sulfate lần lượt nằm trong khoảng 48 - 80 mM và 20 - 28 mM. Ngoài khoảng này, hàm lượng sulfide thấp hơn và giảm đáng kể (9,3 mM) khi hàm lượng lactate gần đến 96 mM. Hàm lượng sulfide giảm dần khi hàm lượng lactate vượt quá 80 mM có thể là do khi tỉ lệ lactate/ SO_4^{2-} cao, hợp chất hữu cơ trong môi trường dư thừa khiến vi khuẩn KSF bị ức chế [13].

Hình 1b và Bảng 3 cho thấy ảnh hưởng tương tác của lactate và pH đến quá trình tạo sulfide khi SO_4^{2-} được giữ ổn định tại tâm (24 mM). Sự tương tác của hai yếu tố này có nghĩa đến sự tạo thành sulfide với $p < 0,05$ (Bảng 3). Khi tương tác với SO_4^{2-} lactate có ảnh hưởng lớn hơn pH đến sự tạo thành sulfide. Hàm lượng sulfide tăng dần khi hàm lượng lactate tăng từ 32 mM đến 80 mM. Tuy nhiên, khi hàm lượng lactate vượt quá 80 mM thì hàm lượng sulfide lại giảm. Hàm lượng sulfide cao nhất khi hàm lượng lactate từ 48 mM đến 80 mM. Tương tự như vậy, với yếu tố pH thì hàm lượng sulfide được tạo ra cao nhất trong khoảng pH 7 đến 8. Ngoài khoảng pH này (pH < 7, pH > 8), hàm lượng sulfide giảm, đặc biệt giảm mạnh ở pH 6. Theo Postgate và cộng sự (1984) vi khuẩn KSF thường bị ức chế khi pH thấp hơn 6 hoặc cao hơn 9. Ở pH thấp, sulfide tạo ra dưới dạng khí sẽ ức chế sự phát triển của vi khuẩn KSF.

Hình 1c và Bảng 3 cho thấy ảnh hưởng tương tác của hai yếu tố pH và SO_4^{2-} khi yếu tố lactate được giữ ở giá trị trung tâm (64 mM). Theo Bảng 3, tương tác giữa hai yếu tố này có ảnh hưởng đến quá trình tạo thành sulfide của hỗn hợp chủng vi khuẩn KSF lựa chọn với giá trị $p < 0,05$. Tuy nhiên, so sánh với ảnh hưởng tương tác của các cặp (lactate- SO_4^{2-} với giá trị $p < 0,001$) và (lactate- pH, $p = 0,0116$) thì cặp tương tác (pH- SO_4^{2-}) ảnh hưởng ít nhất đến sự tạo thành sulfide vì có giá trị p lớn hơn cả ($p = 0,0477$).

3.6. Lựa chọn giá trị tối ưu cho quá trình tạo sulfide

Như vậy, sau khi phân tích ảnh hưởng của từng yếu tố và tương tác của các cặp yếu tố này đến khả năng tạo sulfide cho thấy khoảng giá trị của các yếu tố lựa chọn để cho hàm lượng sulfide cao nhất (14,1 - 14,94) là lactate (48 - 80 mM), SO_4^{2-} (20 - 28 mM) và pH 7 - 8.

Tuy nhiên, việc lựa chọn điều kiện nuôi cấy phù hợp để hỗn hợp chủng vi khuẩn KSF nghiên cứu tạo được hàm lượng sulfide cao nhất cần căn cứ vào các giải pháp tối ưu phần mềm đưa ra kết hợp với phương trình (3). Như vậy, giá trị của 3 yếu tố nghiên cứu đưa ra tương ứng với hàm lượng sulfide cao nhất xếp theo thứ tự được trình bày trên bảng 5.

Ở các giải pháp 1, 2, 3, 4, hàm lượng sulfide tạo ra xấp xỉ nhau lần lượt là 14,94, 14,85, 14,81 và 14,77, tuy vậy hàm lượng lactate tương ứng cũng khá cao là 66,37; 64; 81,79; 78,99 mM. Như vậy, nếu lựa chọn các giải pháp này để tối ưu quá trình tạo sulfide thì cần lượng lactate đầu vào tương đối lớn. Trong quá trình sử dụng vi khuẩn KSF để xử lý kim loại nặng, ngoài yếu tố mong muốn là chủng vi khuẩn tạo hàm lượng sulfide cao, thì việc giảm hàm lượng cơ chất đầu vào cũng vô cùng quan trọng vì sẽ giảm giá thành xử lý. Trong các giải pháp trên, giải pháp 8 cho thấy hàm lượng sulfide tạo ra chỉ thấp hơn giải pháp số 1 (có hàm lượng sulfide cao nhất) 0,7 mM nhưng hàm lượng lactate ban đầu lại thấp hơn đến 12,96 mM. Cũng so sánh với các giải pháp 5, 6, 7, hàm lượng sulfide tạo ra ở giải pháp 8 gần bằng nhưng hàm lượng lactate đầu vào lại thấp hơn nhiều. Như vậy, để tiết kiệm nguồn cơ chất đầu vào trong quá trình xử lý chì bằng vi khuẩn KSF thì giải pháp số 8 có giá trị phù hợp nhất.

Bảng 5. Hàm lượng sulfide tạo ra ở các giá trị tối ưu.

STT	Lactate (mM)	SO ₄ ²⁻ (mM)	pH	Sulfide (mM)
1	66,37	25,34	7,47	14,94
2	64	24	7,5	14,85
3	81,79	30,23	7,84	14,81
4	78,99	25,62	7,48	14,77
5	73,85	22,96	7,29	14,38
6	80,51	22,29	7,95	14,35
7	64,71	28,34	8,2	14,3
8	53,41	22,64	7,54	14,21

4. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã chọn được miền khảo sát của các ba yếu tố ảnh hưởng để tiến hành tối ưu quá trình tạo sulfide với các giá trị như sau: lactate (32 ÷ 96 mM), SO₄²⁻ (16 ÷ 32 mM), pH (6,5 ÷ 8,5). Bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm sử dụng bề mặt đáp ứng trong mô hình tối ưu bậc 2 và chấp mục tiêu theo thuật toán “hàm mong đợi”, đã xác định được hàm lượng lactate, SO₄²⁻ và pH tối ưu cho quá trình tạo sulfide lần lượt là 53,41 mM, 22,64 mM và pH 7,54. Ở điều kiện tối ưu này hàm lượng sulfide tạo ra là 14,2 mM. Kết quả này có thể ứng dụng để thiết lập mô hình xử lý nước thải nhiễm kim loại nặng nói chung và nhiễm chì nói riêng bằng vi khuẩn khử sulfate.

Lời cảm ơn. Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ về kinh phí của đề tài độc lập trẻ cấp Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số VAST.DLT.03/13-14.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bahadir T., Bakan G., Aitas H. B. - The investigation of lead removal by biosorption: an application at storage battery industry wastewaters, *Enzyme Microb. Technol.* **41** (2007) 98-102.

2. Rosen J. F. - Health effects of lead in children at low exposure levels: experconsensus based upon the federal and non-federal literature, In Allan RJ, Nrigau JO, editor, Heavy Metals in the Environment, Vol. II. Edinburgh, London: CEP, Consultans, 1993, pp. 516.
3. Damianovic M. H. R. Z., Porresti E. - Anaerobic degradation of sunthetic wastewaters at defferent levels of sufate anf COD/Sulfate ratio in Horizontal-flow anaerobic reactors Environ, Eng. Sci. **24** (3) (2007) 383-398.
4. Sedighi M., Ghasemi M., Hassan S. H. A., Wan R. W. D, Isamail M., Abdallah E. - Process optimization of batch biosorption of lead using *Lactobacillus Bulgaricus* in an aqueous phase system using response surface methodology, World J. Microbiol. Biotechnol **28** (2012) 2047-2055.
5. Dang D. K, , Tran V. T. - Using bioabsorbent in order to treatment of Cromium, Nickel and lead - contaminated industrial wastewaters, National Biotechnology Conference, 1999, pp. 552-557.
6. Gallegos-Garcia M., Celis L. B., Rangel-Mendez R., Razo-Flores E. - Precipitation and recovery of metal sulfides from metal containing acidic wastewater in a sulfidogenic down-flow fluidized bed reactor, Biotechnol. Bioeng. **102** (2009) 91-99.
7. Kieu T. Q. H., Nguyen T. B., Dang T. Y. Vuong T. N. - Lead removal enhancement by an indigenous consortium of sulfate-reducing bacteria cultivated from the lead contaminated wastewater, Journal of Biology **35** (3se) (2013) 73-78.
8. Myers H., Montgomery D. C. - Response surface Methodology Process and Product Optimization using Designed Experiments Wiley, New York, 1995.
9. Preetha B., Viruthagiri T.- Application of response surface methodology for the biosorption of copper using *Rhizopus arrhizus*, J. Hazard.Mater. **143** (2007) 506-510.
10. Gabr R. M. , Hassan S. H. A., Shoreit A. A. M. - Biosorption of lead and nickel by living and non-living cells of *Pseudomonas aeruginosa* ASU 6a. Int Biotetecior Biodegs **62** (2) (2008) 195-203.
11. Postgate J. R. - The sulfate-reducing bacteria, 2nd ed. Cabridge: Cambridge University Press (1984).
12. APHA. - Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, twentieth ed.. American Public Health Association, Wahington DC, USA, 1998.
13. Choi E., Rim J. M. - Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment, Water Sci. Technol. **23** (1991) 1259-1264.

ABSTRACT

ENHANCEMENT OF SULFIDE PRODUCTION BY A CONSORTIUM OF SULFATE REDUCING BACTERIA CULTIVATED FROM THE LEAD-CONTAMINATED WASTEWATER

Nguyen Thi Yen, Đàng Thi Yen, Vuong Thi Nga, Nguyen Thanh Binh, Kieu Thi Quynh Hoa *

*Department of Petroleum Microbiology, Institute of Biotechnology,
Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay district, Hanoi*

*Email: kieuthiquynhhoa@gmail.com

Heavy metal-contaminated wastewater from mining and industry processing negatively impacts to living organisms as well as humans. Environmental-friendly and cost effectiveness process based on biological sulfide production by sulfate-reducing bacteria (SRB) have become an alternative for the removal of heavy metals. Bio-treatment of heavy metal-contaminated waters by sulfate-reducing bacteria (SRB) strongly depends on the sulfide producing ability of these bacteria. To enhance the efficiency of these processes, the response surface methodology (RSM) was used to optimize the culture conditions for sulfide production by an indigenous consortium of sulfate-reducing bacteria that was cultivated from the lead-contaminated wastewater in Dong Mai, a craft village known for the recycling of batteries in Hung Yen. Experiments were conducted based on central composite design (CCD) and analyzed using RSM. The sulfide production process was investigated as a function of three independent factors: the initial solution pH (6.5 - 8.5), the initial concentration of lactate (32 - 96 mM) and sulfate (16 - 32 mM). The results indicate that lactate, sulfate and pH were key factors for sulfide producing of the SRB consortium. The optimum conditions for the sulfide production were found to be 7.54, 53.41 mM and 22.64 mM, respectively, for initial solution pH, initial concentrations of lactate and sulfate.

Keywords: sulfate-reducing bacteria, response surface methodology, lead removal, optimization, sulfide production.