

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG PHÂN HỦY VẬT LIỆU COMPOZIT AXIT POLYLACTIC/GYPSUM PHÉ THẢI CỦA CHỦNG VI KHUẨN KHỦ SUNFAT BIỂN

KIỀU THỊ QUỲNH HOA ^(2,3), MAI ĐỨC HUYNH ⁽¹⁾, TRẦN HỮU TRUNG ⁽¹⁾,
NGUYỄN HỮU ĐẠT ⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ THU HÀ ⁽²⁾, PHẠM THỊ PHƯỢNG ⁽²⁾,
HOÀNG THỊ VÂN AN ⁽⁴⁾, NGUYỄN VŨ GIANG ^(1,3)

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gypsum phế thải là sản phẩm phụ trong quá trình sản xuất phân lân từ hòa tan quặng apatit trong axit sulfuric (H_2SO_4) dư để thu được axit phosphoric (H_3PO_4) theo phương trình 1 như sau:



Gypsum phế thải (gọi tắt là gypsum) ở dạng bột, màu ghi, có tính axit ($pH = 2-3$). Thành phần chủ yếu của gypsum là $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ (chiếm 75-80% khối lượng), một số các oxit kim loại (SiO_2 , P_2O_5 , SiO_2 , Al_2O_3) và phần còn lại là kim loại nặng chiếm 20-25% khối lượng, do đó tiềm ẩn tác động xấu tới môi trường và con người.

Ở nước ta, có 3 nhà máy phát sinh nguồn chất thải gypsum lớn là nhà máy DAP - Đình Vũ (Hải Phòng), nhà máy DAP - Lào Cai và nhà máy phân bón Đức Giang tại thành phố Lào Cai với lượng tồn đọng lên tới 5,6 triệu tấn. Dự báo lượng chất thải này sẽ tăng lên khoảng 3,8 triệu tấn mỗi năm. Trong các biện pháp xử lý gypsum dư thừa hiện nay, đổ thải trực tiếp gypsum vào nước mặt hoặc đổ ra bãi rác hay chôn lấp hiện đang được sử dụng rộng rãi ở các quốc gia sản xuất phân lân nói chung và ở Việt Nam nói riêng do dễ tiến hành và chi phí thấp [1, 2]. Tuy nhiên, biện pháp này ảnh hưởng nghiêm trọng tới chất lượng nước ngầm và đất đai [3]. Để giảm thiểu các tác động xấu đến môi trường, gypsum đã được sử dụng làm nguyên liệu thô chế tạo vật liệu cho ngành xây dựng hay công nghiệp sản xuất hóa chất như làm phụ gia cho xi măng, bê tông, sản xuất tấm gypsum xây dựng. Một hướng đi mới có nhiều triển vọng hiện nay là sử dụng gypsum thay thế bột đá làm chất độn cho nhựa nhiệt dẻo như poly etylen tỷ trọng thấp (LDPE) [4], poly etylen tỷ trọng cao (HDPE) [5-7]. Vật liệu compozit trên cơ sở nhựa nhiệt dẻo và gypsum có thể ứng dụng làm vỏ cáp điện, ống nước, ống gân xoắn... nhờ khả năng chống cháy, độ bền cơ học tốt, chi phí sản xuất thấp, bảo vệ môi trường. Tuy nhiên, việc sử dụng các nhựa nhiệt dẻo có nguồn gốc dầu mỏ như PE, PP lại gián tiếp gây ra các chất thải khó phân hủy, làm ô nhiễm môi trường.

Xu hướng hiện nay là ưu tiên sử dụng các nhựa nhiệt dẻo có khả năng dễ phân hủy sinh học để thay thế cho các polyme gốc dầu mỏ trong sản xuất vật liệu đóng gói, sợi tổng hợp và các sản phẩm khác như: poly lactic axit (PLA), polyvinyl ancol (PVA). Tiếp nối các kết quả nghiên cứu sử dụng gypsum phế thải làm chất độn cho polyme như đã đề cập ở trên. Năm 2020, Nguyễn Vũ Giang và cộng sự đã chế tạo thành công vật liệu compozit trên cơ sở nhựa PLA (polylactic acid) và gypsum [8].

PLA được tạo bởi axit lactic, sản phẩm của quá trình lên men sinh học từ nguồn cơ chất có thể tái tạo như tinh bột ngô, rễ sắn, đường... [9]. PLA được phân hủy bởi quá trình thủy phân phi sinh học [10], giải phóng axit lactic, là chất vi sinh vật có thể dễ dàng sử dụng trong quá trình trao đổi chất. Phân hủy nhựa PLA bằng vi sinh vật cũng đã được một số nhà khoa học quan tâm nghiên cứu [11].

Tuy nhiên, nghiên cứu sử dụng vi khuẩn khử sunfat (KSF) để phân hủy vật liệu compozit axit polylactic/gypsum hiện là mới trên thế giới và lần đầu tiên được nghiên cứu ở Việt Nam. Với ưu điểm chi phí phù hợp, hiệu quả và thân thiện môi trường, hướng nghiên cứu này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn ứng dụng.

Trong điều kiện kỵ khí, vi khuẩn KSF oxy hóa các hợp chất hữu cơ đơn giản như axit lactic, pyruvate, acetate... (CH_2O) làm nguồn cacbon và năng lượng để khử sunfat (SO_4^{2-}) thành ion sulfide (H_2S , HS^- và S^{2-}) [12-13] (Phương trình 2):



Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn chủng vi khuẩn KSF có khả năng sử dụng vật liệu compozit axit polylactic(PLA)/gypsum nhằm ứng dụng xử lý triệt để vật liệu compozit PLA/gypsum sau khi sử dụng. Trong đó, PLA đóng vai trò như nguồn cacbon (CH_2O) (chất nhận điện tử), gypsum đóng vai trò như sunfat (SO_4^{2-}) (chất nhận điện tử).

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

2.1.1. Chủng vi khuẩn khử sunfat nghiên cứu và điều kiện nuôi cấy

Chủng vi khuẩn KSF M3 được phân lập và làm giàu từ mẫu nước thu được tại giếng khai thác dầu khí, mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu.

2.1.2. Môi trường phân lập, làm giàu vi khuẩn KSF

Postgate cải tiến [14] (g/l): KH_2PO_4 0,5; NH_4Cl 1; NaCl 20; Na_2SO_4 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2; Lactat Na 3,5; cao men 0,5; vitamin C 0,1; Thioglycolat Na 0,1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2; resazurin 0,001; pH 7-7,5. Môi trường bổ sung thạch (agarose) được sử dụng để phân lập chủng M3. Sau đó, chủng này được làm giàu trên môi trường PB cải tiến không bổ sung thạch (agarose).

Môi trường nghiên cứu khả năng sử dụng compozit PLA/gypsum của chủng M3.

Khả năng sử dụng compozit PLA/gypsum như nguồn cacbon và sunfat duy nhất (hay chất nhận cho và nhận điện tử) và ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy (pH, nhiệt độ) và hàm lượng compozit PLA/gypsum tới sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn KSF M3 được tiến hành trên môi trường Widdle and Bak, 1992 (WB) cải tiến (môi trường không bổ sung muối sunfat dễ hòa tan như Na_2SO_4 và MgSO_4 và Lactate Na (nguồn cacbon) như môi trường làm giàu P_B). Nguồn sunfat và cacbon duy nhất cho vi khuẩn KSF sinh trưởng và phát triển là PLA và sunfat giải phóng từ compozit PLA/gypsum. Tất cả môi trường đặc hiệu để làm giàu và phân lập vi khuẩn KSF được chuẩn bị dưới điều kiện kỵ khí theo phương pháp của Hungate cải tiến [15].

Môi trường WB (g/l): KH_2PO_4 0,2; NH_4Cl 0,25; NaCl 20; gypsum 0-60; Lactate Na 2,24; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,15; MgCl_2 0,4; KCl 0,5; Thyoglycolate Na 0,1; resazurin 0,001, pH 7-7,5.

2.1.3. Vật liệu compozit axit polylactic/gypsum

Vật liệu compozit axit polylactic/gypsum: được chế tạo bởi Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Trong đó, hạt gypsum phé thải với đường kính 150 μm được cung cấp bởi Công ty DAP Vinachem Việt Nam, Hải Phòng. Nhựa PLA có tên thương mại Nature Works @ PLA polymer2002D là sản phẩm của hãng Nature Works LLC (United States) có nhiệt độ nóng chảy (T_m) trong khoảng 155-165°C, tỷ trọng 1.24 g/cm^3 , chỉ số chảy (MFI) 10-30 g/10 phút, khối lượng phân tử 110 KDa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu và xử lý mẫu

Mẫu nước thu được tại giếng khai thác dầu khí, mỏ Bạch Hổ, Vũng Tàu được đựng trong bình Duran kín khí. Mẫu được giữ 4°C trong vòng 24 giờ để làm giàu và phân lập.

2.2.2. Làm giàu chủng vi khuẩn khử sunfat M3

Vi khuẩn KSF được làm giàu từ mẫu nước trong bình serum kỵ khí thể tích 150 ml chứa 80 ml môi trường và ống Hungate kỵ khí thể tích 15 ml với 9 ml môi trường. Môi trường làm giàu là môi trường P_B cải tiến với Lactate-Na như nguồn cacbon (chất cho điện tử), Na_2SO_4 và MgSO_4 như nguồn sunfat (chất nhận điện tử). Vi khuẩn KSF được làm giàu ở điều kiện pH 7-7,5, 30°C.

2.2.3. Phân lập chủng vi khuẩn khử sunfat thuần khiết M3

Dịch làm giàu vi khuẩn KSF (tập đoàn vi khuẩn KSF) được pha loãng đến nồng độ phù hợp (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} và 10^{-6} ...). Sau đó ở mỗi cấp độ pha loãng 1 ml dịch làm giàu được cấy vào ống nghiệm chứa 9 ml môi trường kỵ khí có cơ chất Na-lactate và thạch 1,5% (w/v), đảo đều nhẹ rồi đặt đứng trên giá ống nghiệm cho tới khi thạch đông. Các ống thạch bán lỏng được đặt trong thiết bị nuôi cấy kỵ khí (anaerobic chamber), được nuôi trong tủ ấm 30°C cho đến khi vi khuẩn KSF hình thành khuẩn lạc riêng rẽ.

2.2.4. Quan sát hình thái tế bào chủng M3 bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Li tâm 6000 vòng trong 5 phút dịch nuôi cấy chứa chủng M3 sau 7 ngày nuôi cấy. Hút bỏ pha trên và thu sinh khối. Bổ sung 0,5 ml dung dịch cố định mẫu glutaraldehyt 2,5% và trộn đều bằng pipet cố định trong 20 phút. Chuẩn bị lamên vô trùng rửa axit và cồn, sau đó trải polylysin 1% lên để làm đệm bám dính vi khuẩn.

Trộn đều dung dịch đã cố định trên và trải đều các lớp mỏng trên lamên đã có polylysin, không để tạo bọt, để khô trong 15 phút đến khi bề mặt se hẳn (tránh để quá khô). Dùng dung dịch rửa PBS hoặc carbohydrat 0,1M để rửa các mẫu lamên, ngâm trong 5 phút, lặp lại 2 lần bước này và để khô. Tiếp tục sử dụng dung dịch cố

định khác là OsO_4 1% để cố định lại mẫu sau khi đã rửa trong 10 - 15 phút. Rửa lại mẫu sau khi cố định bằng 5 dung dịch cồn với nồng độ khác nhau 50%, 70%, 80%, 90% và 100% trong 5 phút, riêng dung dịch cồn 100% lặp lại 2 lần. Để khô, phủ ion mẫu, đưa lên kính SEM (S - 4800, Nhật Bản) quan sát và chụp ảnh mẫu.

2.2.5. Phân loại của chủng vi khuẩn khử sunfat lựa chọn bằng phân tích trình tự gen 16S rRNA

ADN tổng số từ dịch nuôi cấy chủng vi khuẩn KSF thuần khiết M3 được tách bằng Kit của hãng Thermo scientific, Mỹ (Thermo Scientific GeneJet Genomic DNA purification kit). Cặp mồi 27F (5'-AGA GTT TAG TCC TGG CTC AG-3') và 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') được sử dụng để khuếch đại các đoạn gen cho mục đích xác định vị trí phân loại của chủng M3 và chu trình nhiệt (95°C 3 phút, 95°C 30 giây, 55°C 45 giây, 72°C 1,5 phút) x 30 chu kỳ, 72°C 10 phút, kết thúc 4°C). Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được phân tích trên máy đọc trình tự ABI PRISM®3100-Avant Genetic Analyzer (Applied biosystems, Foster City, CA, USA).

2.2.6. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ tới sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn khử sunfat lựa chọn

Ảnh hưởng của hàm lượng pH (4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5; 9; 9,5 và 10) và nhiệt độ (25, 30, 37, 45 và 55°C) đến sinh trưởng của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 trong môi trường WB bổ sung composite PLA/gypsum lần lượt làm nguồn sunfat và cacbon duy nhất.

* Đánh giá khả năng phân hủy composít PLA/gypsum của chủng vi khuẩn KSF lựa chọn

Khả năng phân hủy composít PLA/gypsum của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 thông qua việc sử dụng gypsum và PLA như nguồn sunfat và cacbon duy nhất và sự biến đổi cấu trúc quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM). Trong các nghiên cứu này, chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được nuôi trong môi trường khoáng WB kỵ khí có bổ sung hàm lượng composite khác nhau.

2.2.7. Xác định hàm lượng sulfide

Hàm lượng sulfide do vi khuẩn KSF tạo ra được xác định bằng phương pháp so màu dựa trên kết tủa màu nâu đen CuS bằng máy quang phổ (APHA, 1998).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

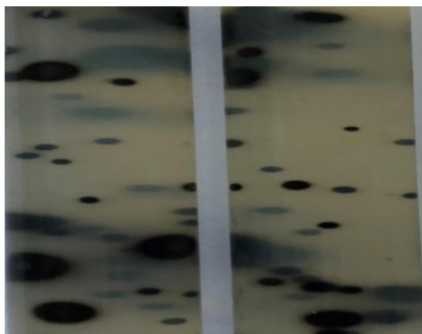
3.1. Làm giàu hỗn hợp chủng vi khuẩn khử sunfat

Sự sinh trưởng của vi khuẩn KSF trong mẫu làm giàu được nhận biết sau 5-7 ngày thông qua kết tủa FeS màu đen và hàm lượng sulfide tạo ra. Cấy chuyển dịch làm giàu được thực hiện sau mỗi 5-7 ngày. Sau 3 lần cấy chuyển, mẫu làm giàu có lượng sulfide tạo ra trong môi trường khá cao, đạt mức 300-350 mg/l, chứng tỏ tập đoàn vi khuẩn KSF đã thích nghi và sinh trưởng tốt ở điều kiện làm giàu.

3.2. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng vi khuẩn KSF lựa chọn

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của chủng M3:

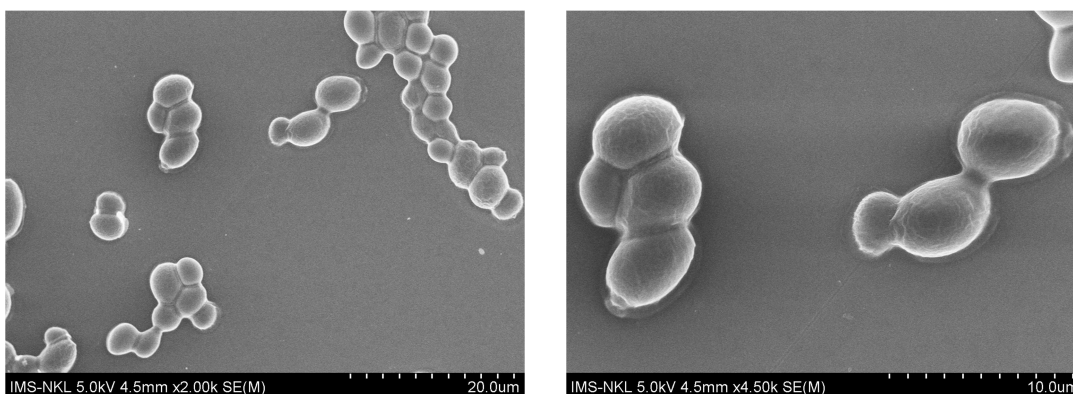
Chủng M3 tạo thành khuẩn lạc hình đĩa lồi hai mặt, kích thước từ 1-2 mm. Màu đen của khuẩn lạc được tạo thành là do kết tủa FeS (hình 1).



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của chủng vi khuẩn khử sunfat *Desulfomicrobium* sp. M3 trên môi trường đặc hiệu

Đặc điểm hình thái tế bào của chủng M3:

Hình ảnh chụp trên kính hiển vi điện tử quét (SEM) cũng cho thấy tế bào của chủng M3 có dạng oval dài đặc trưng cho các loài thuộc chi *Desulfomicrobium*, kích thước $4\mu\text{m} \times 5,5\mu\text{m}$ (hình 2).



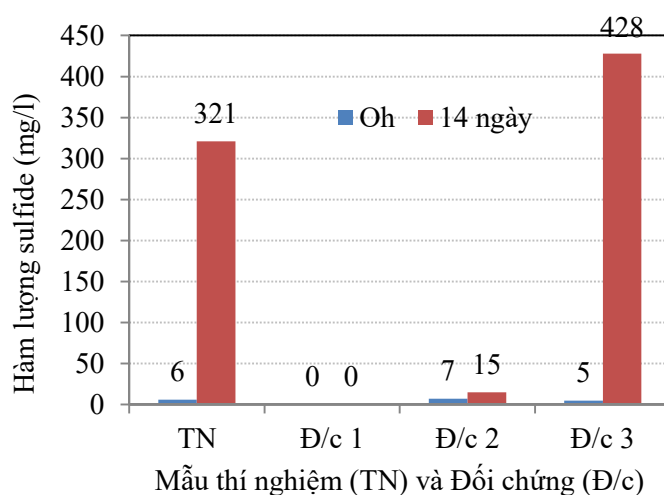
Hình 2. Hình thái tế bào chủng vi khuẩn khử sunfat M3 dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM)

Chủng vi khuẩn khử sunfat lựa chọn đã được phân loại bằng phân tích trình tự gene 16SrRNA.

So sánh trình tự gen cho thấy, chủng M3 gần gũi nhất với *Desulfomicrobium* sp., độ tương đồng khi so sánh trình tự của 16S rADN là 99%. Dựa trên các phân tích về trình tự gen, chủng M3 được định danh là *Desulfomicrobium* sp. M3.

*** Nghiên cứu khả năng sử dụng compozit polylactic axit/gypsum như nguồn sunfat (chất nhận điện tử) và năng lượng cacbon duy nhất (chất nhường điện tử)**

Chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được nuôi cấy trên môi trường khoáng WB cải tiến bổ sung composit polylactic axit/gypsum với hàm lượng 10 g/l. Thí nghiệm được tiến hành ở điều kiện kỵ khí với pH 7,5, 30°C và tỷ lệ tiếp giống vi khuẩn KSF là 1% (v/v) (tương đương với 10^5 tế bào/ml). Đối chứng (1): môi trường WB cải tiến có bổ sung composit PLA/gypsum (10g/l) nhưng không bổ sung chủng *Desulfomicrobium* sp. M3; đối chứng (2): môi trường WB cải tiến có bổ sung chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 (1% (v/v) nhưng không bổ sung composit PLA/gypsum hay bất kỳ muối sunfat và nguồn cacbon nào và đối chứng (3): môi trường WB cải tiến có bổ sung nguồn sunfat là các muối sunfat hòa tan (2g $MgSO_4$ /l và 1g Na_2SO_4 /l), lactate-Na như nguồn cacbon và chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 (1% (v/v)). Khả năng sử dụng composit polylactic axit/gypsum như nguồn sunfat và cacbon, năng lượng duy nhất của chủng M3 được đánh giá dựa trên sự sinh trưởng của chủng này thông qua kết tủa FeS (màu đen) và xác định hàm lượng sulfide tạo ra (hình 3).



Hình 3. Khả năng sử dụng composit PLA/gypsum như nguồn sunfat và cacbon, năng lượng duy nhất

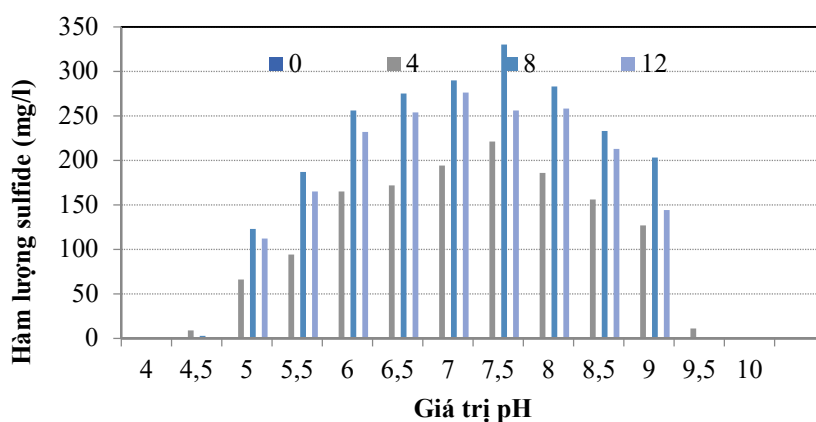
Kết quả (hình 3) cho thấy, chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 sinh trưởng tốt và ổn định trong môi trường bổ sung 10 g/l (w/v) composit PLA/gypsum như nguồn sunfat và cacbon, năng lượng duy nhất (mẫu thí nghiệm), hàm lượng sulfide đạt 321 mg/l tương đương với 67% so với hàm lượng sulfide chủng này tạo ra trên môi trường WB bổ sung muối sunfat hòa tan là 428 mg/l (mẫu Đ/c 3). Gần như không xác định được hàm lượng sulfide tạo ra ở mẫu Đ/c 1, và chỉ một hàm lượng sulfide rất nhỏ được tạo ra ở mẫu Đ/c 2 (15 mg/l) sau 14 ngày.

3.3. Ảnh hưởng của pH tới sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn khử sunfat lựa chọn

Ảnh hưởng của pH tới sinh trưởng và phát triển của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 trên nguồn sunfat và cacbon duy nhất là PLA và sunfat giải phóng từ composit PLA/gypsum được đánh giá trên môi trường khoáng WB cải tiến. Thí

thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện kỵ khí ở 30°C với các giá trị pH khác nhau (4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; 8; 8,5; 9; 9,5 và 10). Hàm lượng composit PLA/gypsum được bổ sung vào môi trường khoáng là 10g/l, tỷ lệ tiếp giống là 1% (v/v) dịch nuôi cấy vi khuẩn KSF sau 3 lần làm giàu trên môi trường WB cải tiến. Sự sinh trưởng của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được đánh giá dựa trên hàm lượng sulfide tạo ra sau 0, 4, 8 và 12 ngày thí nghiệm.

Kết quả ở Hình 4 cho thấy, chủng M3 có khả năng sinh trưởng ở dải pH rộng từ 5 - 9, tuy nhiên sinh trưởng và phát triển tối ưu ở pH trung tính hơi kiềm (pH 6-8). Với pH 7,5 hiệu quả khử sunfat và tạo sulfide của M3 là cao nhất, với hàm lượng sulfide tạo ra ở mức cao 330 mg/l sau 8 ngày thí nghiệm. Vì vậy, chúng tôi chọn pH 7,5 cho các nghiên cứu tiếp theo.

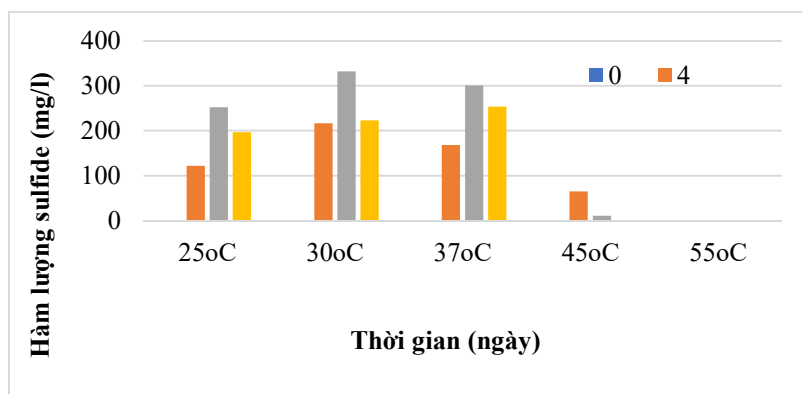


Hình 4. Ảnh hưởng của pH lên khả năng tạo sulfide của chủng vi khuẩn KSF *Desulfomicrobium* sp. M3 theo thời gian

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn khử sunfat lựa chọn

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 trên nguồn sunfat và cacbon (axit lactic) duy nhất giải phóng từ composit PLA/gypsum được đánh giá trên môi trường WB cải tiến. Thí nghiệm được tiến hành ở điều kiện kỵ khí với pH 7,5 ở nhiệt độ khác nhau (25, 30, 37, 45 và 55°C). Hàm lượng composit PLA/gypsum được bổ sung vào môi trường khoáng là 10g/l, tỷ lệ tiếp giống là 1% (v/v) vi khuẩn KSF sau 3 lần làm giàu trên môi trường WB. Sinh trưởng của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được đánh giá dựa trên hàm lượng sulfide tạo ra sau 0, 4, 8 và 12 ngày thí nghiệm.

Kết quả ở Hình 5 cho thấy, chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 sinh trưởng tốt ở dải nhiệt độ từ 25 - 37°C và sinh trưởng tối ưu ở 30°C. Điều này được chứng minh bởi hàm lượng sulfide tạo ra trong suốt 12 ngày thí nghiệm. Hàm lượng sulfide đạt cao nhất ở dải nồng độ 25-37°C sau 8 ngày thí nghiệm là 301-332 mg/l. Ở 30°C hàm lượng sulfide tạo ra là cao nhất đạt tới 332 mg/l. Vì vậy, 30°C được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

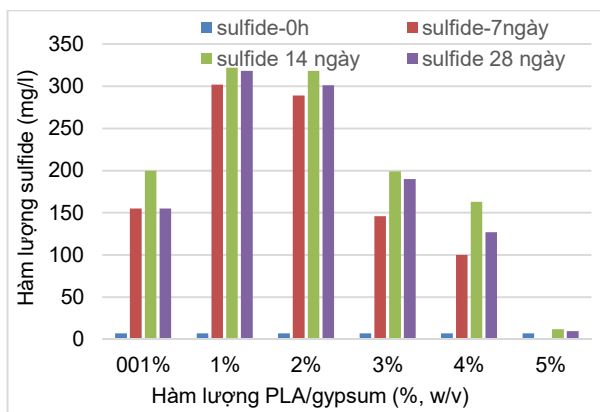


Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới khả năng tạo sulfide của chủng vi khuẩn KSF *Desulfomicrobium* sp. M3 theo thời gian

3.5. Ảnh hưởng của hàm lượng compozit PLA/gypsum tới sinh trưởng và phát triển của chủng vi khuẩn KSF lựa chọn

Chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được nuôi cấy trên môi trường khoáng WB cải tiến bổ sung compozit PLA/gypsum (Hình 6) với hàm lượng khác nhau (5, 10, 20, 30, 40, và 50 g/l tương ứng trên đồ thị hình 6 là 0,5; 1; 2; 3; 4 và 5% w/v). Thí nghiệm được tiến hành dưới điều kiện kỵ khí ở pH 7,5 và 30°C. Tỷ lệ tiếp giống là 1% (v/v) vi khuẩn KSF. Sinh trưởng của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được đánh giá dựa trên hàm lượng sulfide tạo ra sau 0, 7, 14 và 28 ngày.

Kết quả (hình 6) cho thấy, chủng M3 có khả năng sinh trưởng và phát triển trong môi trường có bổ sung compozit PLA/gypsum với hàm lượng từ 5-500g/l. Trong môi trường khoáng WB cải tiến bổ sung compozit PLA/gypsum với hàm lượng 10-20 g/l, ở pH 7,5, 30°C, chủng M3 sinh trưởng và phát triển tốt nhất với hàm lượng sulfide tạo ra sau 14 ngày là 318-322 mg/l. Sinh trưởng của chủng M3 giảm đi trong môi trường bổ sung 30 - 40g/l compozit polylactic axit/gypsum và hầu như không sinh trưởng trong môi trường bổ sung 50 g/l compozit polylactic axit/gypsum (hàm lượng sulfide từ 10-12 mg/l).

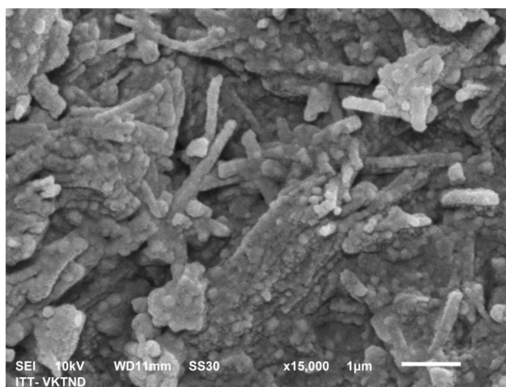


Hình 6. Ảnh hưởng của hàm lượng compozit PLA/gypsum tới khả năng tạo sulfide của chủng vi khuẩn KSF *Desulfomicrobium* sp. M3 theo thời gian

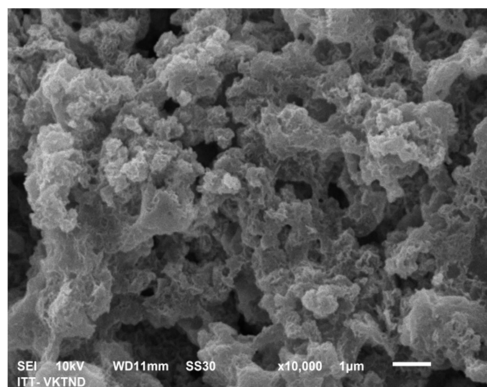
3.6. Khả năng phân hủy compozit PLA/gypsum của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3

Khả năng phân hủy compozit PLA/gypsum của chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 được đánh giá dựa trên (1) khả năng sử dụng compozit PLA/gypsum như nguồn sunfat và cacbon, năng lượng duy nhất (chất nhận và nhường điện tử) và (2) sự phân rã của compozit PLA/gypsum dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM).

Như kết quả đã đề cập ở trên, chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 có khả năng sinh trưởng và phát triển trong môi trường có bổ sung compozit PLA/gypsum với hàm lượng từ 5-40g/l, tốt nhất với hàm lượng compozit PLA/gypsum là 10-20g/l ở pH 7,5 và 30°C. Sự phân hủy compozit PLA/gypsum của chủng vi khuẩn KSF này được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét. So sánh hình ảnh SEM của mẫu đối chứng (không bổ sung vi khuẩn KSF) (7A) và mẫu thí nghiệm (7B) (bổ sung vi khuẩn KSF) nhận thấy, compozit PLA/gypsum đã bị phân hủy sau 21 ngày thí nghiệm.



(A)



(B)

Hình 7. Sự phân hủy compozit PLA/gypsum của chủng vi khuẩn KSF *Desulfomicrobium* sp. M3 được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM) sau 21 ngày thí nghiệm; (A) đối chứng không vi khuẩn KSF; (B) Mẫu bổ sung chủng vi khuẩn KSF

4. KẾT LUẬN

- Đã lựa chọn và phân loại được chủng vi khuẩn khử sulfat M3 có độ tương đồng 99% với *Desulfomicrobium* sp. Chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 có khả năng sử dụng compozit PLA/gypsum như nguồn cacbon, năng lượng và sunfat duy nhất.

- Chủng *Desulfomicrobium* sp. M3 có khả năng sinh trưởng tốt trong môi trường khoáng bổ sung 10-20g/l (w/v) compozit PLA/gypsum ở 30°C, pH7,5. Chủng vi khuẩn KSF *Desulfomicrobium* sp. M3 có khả năng phân hủy compozit PLA/gypsum sau 21 ngày thí nghiệm.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của chương trình hỗ trợ nghiên cứu viên cao cấp của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mã số: NCVCC.13.09/20-20.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Oliveira M.L.S, Ward C.R., French D., Hower J.C., Querol X., Silva L.F.O., *Mineralogy and leaching characteristics of beneficiated coal products from Santa Catarina, Brazil*. Int. J. Coal. Geol., 2012, **94**:314-25.
2. Tayibi H., Choura M., López F.A., Alguacil F.J., López-Delgado A., *Environmental impact and management of phosphogypsum*, J. Environ. Manage., 2009, **90**:2377-86.
3. *Standard methods for examination of water and wastewater*, 20th edition, APHA, 1998.
4. Thái Hoàng, Nguyễn Vũ Giang, Nguyễn Thúy Chinh, Nguyễn Thị Thu Trang, Trần Hữu Trung, Mai Đức Huỳnh, Vũ Mạnh Tuấn, *Nghiên cứu chế tạo và khảo sát một số tính chất của vật liệu tổ hợp EVA/LDPE/gypsum*, Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 2013, **51**(5A):327-333.
5. Khuong Viet Ha, Nguyen Vu Giang et al, *Effect of gypsum modified by stearic acid on properties and morphology of HDPE/EVA/gypsum*, Vietnam Journal of Science and Technology, 2015., **53**(4C):149-159
6. Nguyễn Vũ Giang và cộng sự, *Ảnh hưởng của chất hoạt động bề mặt natri dodecyl sunfat đến tính chất và cấu trúc của hạt gypsum*, Tạp chí Hóa học, 2015, **53**(E2):92-96.
7. Nguyễn Vũ Giang và cộng sự, *Nghiên cứu tính chất cơ lý và cấu trúc vật liệu compozit nhựa nền polypropylene và hạt gypsum biến tính natri dodecyl sunfat*, Tạp chí Hóa học, 2014, **52**(1):101-106.
8. Huynh M. D., Trung T. H., Dat N. H., Giang N.V., *The melting rheology, mechanical properties, thermal stability and morphology of polylactic acid/ethylene bis stearamide modified gypsum composite*, Vietnam Journal of Chemistry, 2020, **58**(2):251-255.
9. Jacobsen S., Fritz H.G., Degee P., Dubois P., Jerome R., *New developments on the ring opening polymerization of polylactide*, Industrial Crops and Products, 2000, **11**:265-275.
10. Kulkarni R.K., Moore E.G., Hegyeli A.F., Leonard F., *Biodegradable poly (lactic acid) polymer*, J. Biomed. Mater., 1971, **5**:169-181.
11. Syama T., Tokiwa Y., Ouichanpagdeen P., Kanagawan T., Kamagatan Y., *Phylogenetic affiliation of soil bacteria that degrade aliphatic polyesters available commercially as biodegradable polymers*, Appl. Environ. Microbiol., 1998, **64**:5008-5011.
12. White C., Gadd G.M., *A comparison of carbon/energy and complex nitrogen sources for bacterial sulphate-reduction: potential applications to bioprecipitation of toxic metals as sulphides*, J. Ind. Microbiol., 1996, **17**:116-23.

13. Widdel F., Bak F., *Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria*, ATrüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH, editors, New York, USA: Springer-Verlag, 1992, 4:3352-78.
14. Postgate, J.R.,. *The sulfate-reducing bacteria*, Cambridge: Cambridge University Press, 1984, 2nd ed.
15. Miller T.L., Wolin M.J., *A serum bottle modification of the Hungate technique for cultivating obligate anaerobes.*, Appl. Microbiol., 1974, 27(5):985-987.

SUMMARY

STUDY ON BIO-DEGRADATION OF POLYLACTIC ACID/GYPSUM COMPOSITE BY A MARINE STRAIN OF SULFATE REDUCING BACTERIUM

A sulfate-reducing bacterium, *Desulfomicrobium* sp. M3 capable of using polylactic acid (PLA)/gypsum composite as the sole carbon, energy and sulfate sources was selected among marine sulfate-reducing bacteria. Solid PLA/gypsum composite mixed in water hydrolyzed abiotically to release lactic acid (electron donor) and sulfate (electron acceptor) into solution over the period of time. The identification using sequencing analysis of 16S rRNA gene showed that the strain M3 similar 99% with *Desulfomicrobium* sp. The addition of PLA/gypsum composite was required for the growth and metabolic activity of the investigated sulfate-reducing bacterium. The suitable conditions for the optimal growth of the strain M3 were found to be 25-37°C, 6-8, 10-20 g/l (w/v) for temperature, initial solution pH, initial concentration of PLA/gypsum composite, respectively. The results of SEM analysis revealed that the *Desulfomicrobium* sp. M3 exhibited a tremendous potential for contaminated bio-degradation of PLA/gypsum composite.

Keywords: Bio-degradation, bioplastic, sulfate-reducing bacteria, polylactic acid /gypsum composite

Nhận bài ngày 30 tháng 11 năm 2020

Phản biện xong ngày 13 tháng 12 năm 2020

Hoàn thiện ngày 15 tháng 12 năm 2020

⁽¹⁾ Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁽²⁾ Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁽³⁾ Học Viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁽⁴⁾ Trường Đại học Công nghiệp Việt Trì