

LOẠI MÀU THUỐC NHUỘM BẰNG CÁC CHỦNG NẮM FBV25, FBV28 VÀ FNBLA1 CÓ ĐỊNH TRÊN VẬT LIỆU POLYPROPYLENE

Nguyễn Thị Lan Anh, Ngô Thị Huyền Trang, Đào Thị Ngọc Ánh,
Đinh Thị Thu Hằng, Đặng Thị Cẩm Hà*

Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm KHCNVN, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

*Email: dangcha80@yahoo.com

Đến Tòa soạn: 26/7/2013; Chấp nhận đăng: 30/8/2014

TÓM TẮT

Hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLA1 được phân lập từ gỗ mục rừng quốc gia Ba Vì và rom mục Ninh Bình đã được cố định thành công trên vật liệu polypropylene (PP). Khả năng loại các màu tổng hợp gồm axit đỏ 299 (NY1), axit đỏ 266 (NY7), axit xanh 62 (NY3), axit xanh 281 (NY5), axit xanh 113 (IN13), Remazol Brilliant Blue R (RBBR) và màu xanh dương hoạt tính từ nước thải nhà máy nhuộm Nam Định đã được nghiên cứu ở quy mô khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm. Ở mô hình 100 ml, hỗn hợp ba chủng nấm được cố định trên vật liệu PP có khả năng loại được 86 % màu tổng hợp có nồng độ 100 mg/L sau 144 giờ và 80 % màu xanh hoạt tính có nồng độ 240 mg/L sau 166 giờ nuôi cấy. Đối với quy mô 10 lít, sau 54 giờ hỗn hợp ba chủng nấm cố định trên vật liệu PP chỉ loại được 55 % trong khi chỉ một mình chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP đã loại được 70 % màu xanh hoạt tính có nồng độ 142 mg/L. Chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP cũng loại bỏ được 94 % màu xanh hoạt tính từ nước thải có nồng độ 517 mg/L sau 96 giờ ở quy mô 50 lít. Đây là cơ sở khoa học để xây dựng quy trình công nghệ ở quy mô hiện trường để xử lý thuốc nhuộm trong nước thải của nhà máy nhuộm thuộc Tổng công ty dệt Nam Định.

Từ khóa: laccase, loại màu, màu tổng hợp, màu xanh hoạt tính, vật liệu polypropylene.

1. MỞ ĐẦU

Màu tổng hợp hiện nay đang được sử dụng rất nhiều trong các ngành công nghiệp và gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. Những hợp chất này được chia thành các nhóm màu azo, anthraquinone, heterocyclic, triphenylmethane hoặc phthalocyanine. Ước tính có khoảng 100.000 loại thuốc nhuộm, chất nhuộm khác nhau được sử dụng trong công nghiệp dệt nhuộm. Có khoảng 7×10^5 tấn thuốc nhuộm được sản xuất ra trên toàn thế giới và 10 – 15 % lượng thuốc nhuộm bị thất thoát ra môi trường trong quá trình sản xuất [1]. Sự loại màu thuốc nhuộm bằng các phương pháp vật lý hoặc hóa học thường đòi hỏi kỹ thuật cao, tốn thời gian và ít hiệu quả. Trong những năm gần đây, loại màu và phân hủy màu bằng phương pháp sinh học đã được coi là một phương pháp thay thế và thân thiện với môi trường [2, 3, 4]. Với sự phát triển của khoa

học kỹ thuật nói chung và công nghệ sinh học nói riêng việc sử dụng các vi sinh vật và laccase sinh ra từ vi sinh vật để giảm thiểu lượng clo tiêu thụ và hóa chất tẩy đã được nhiều nhóm tác giả nghiên cứu và chứng minh là giải pháp công nghệ có tính khả thi và mang lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, có nhiều loại thuốc nhuộm không thể bị oxy hóa hoặc bị oxy hóa một phần bởi laccase, do chúng có cấu trúc công kênh khó thâm nhập vào vị trí hoạt động của enzym hoặc có thể oxy hóa khử lớn. Trong những năm gần đây, loại màu bằng laccase với sự tham gia của một số chất gắn kết gồm syringaldehyde, acetosyringone, 1-Hydroxybenzotriazole (HBT) và axit Violuric (ViO) đã được sử dụng và có hiệu quả cao trong công nghiệp nhuộm, dệt may [5, 6].

Quá trình loại màu ở quy mô công nghiệp đòi hỏi phải được thực hiện trong các hệ thống liên tục. Quá trình loại màu sử dụng các tế bào vi sinh vật được cố định dường như có nhiều tiềm năng hơn so với các vi sinh vật không được cố định. Bởi vì khi cố định vi sinh vật lên giá thể thích hợp có độ bền cao có thể làm cho các tế bào vi sinh vật phát triển tốt và enzym được sinh tổng hợp liên tục [7, 8]. Bên cạnh đó, việc sử dụng các enzym và vi sinh vật được cố định có thể tái sử dụng nhiều chu kỳ và loại bỏ được các hợp chất màu và phenol trong khoảng nhiệt độ và pH rộng. Theo nghiên cứu của Kunamneni và cộng sự [9], laccase cố định trên Sepabeads EC-EP3 đã thể hiện được hoạt tính đáng chú ý (203 U/g) cùng với sự cải thiện về độ bền đối với nhiệt độ, pH và thời gian tái sử dụng. Thêm vào đó, laccase cố định còn hoạt động tốt và ổn định, giữ được 84 % hoạt tính ban đầu sau 17 chu kỳ oxy hóa của ABTS và 41 % hoạt tính trong quá trình loại màu methyl xanh trong reactor giường cố định (fixed-bed) sau năm chu kỳ. Có nhiều nghiên cứu đã sử dụng các vật liệu khác nhau để cố định vi sinh vật trong loại màu thuốc nhuộm như xốp polyurethane [10, 11], khối nylon [12, 13], vật liệu xốp polystyrene [14], xốp thép không gỉ [15], sợi polypropylene biến tính [16], vật liệu nano như ống carbon nano [17], sợi nano của hỗn hợp chitosan/poly(vinyl alcohol) [18]. Ngoài ra, độ bền của vật liệu cũng là tiêu chí quyết định tính thực tiễn của giá thể để cố định vi sinh vật và trong nhiều trường hợp, vật liệu tốt có nhiều chỗ bám dính cũng sẽ giúp cho sợi nấm phát triển mạnh. Theo các thông tin tìm hiểu được, cho đến ngày nay chưa có nhiều nghiên cứu về việc sử dụng vật liệu polypropylene để cố định vi sinh vật trong quá trình loại màu thuốc nhuộm.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành đánh giá khả năng loại một số màu tổng hợp và màu xanh dương hoạt tính từ nước thải nhà máy nhuộm Nam Định bởi hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28, FNBLal hoặc chỉ một mình chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP khi so sánh với Bio-Cube và Bio-POP ở quy mô khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Ba chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLal được phân lập từ gỗ mục rừng quốc gia Ba Vì và rơm mục Ninh Bình thuộc bộ sưu tập giống phòng Công nghệ sinh học Tái tạo môi trường, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn Lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Môi trường để ba chủng nấm sử dụng trong nghiên cứu này có các đặc điểm như sau: FBV25 sinh laccase có hoạt tính cao nhất 30.813 U/L trên môi trường dịch chiết khoai tây chứa 4 g/L cao thịt và 0,5 mM axit ferulic. FBV28 sinh laccase đạt hoạt tính 87.461 U/kgdrs trên môi trường lên men rắn (20 % rơm, 50 % cám gạo và 30 % lõi ngô) có bổ sung 200 g/L dịch chiết khoai tây, 10 g/L glucose, 10 g/L pepton và 0,5 mM vanillin để chỉnh độ ẩm môi trường về 70 %. FNBLal sinh laccase với hoạt tính 30.016 U/L trên môi trường có chứa 200 g/L dịch chiết khoai tây, 12 g/L glucose, 3 g/L NaNO_3 , 1g/L casein, 5 g/L cám và 1,5 mM CuSO_4 .

Các màu tổng hợp (là các màu tinh khiết) của hãng Sigma bao gồm hai nhóm màu azo và anthraquynone có cấu trúc và tính chất khác nhau đã được sử dụng trong nghiên cứu. Nhóm màu azo gồm NY1, NY7 và IN13 với bước sóng hấp thụ cực đại tương ứng 520, 499 và 580 nm. Nhóm màu anthraquynone bao gồm NY3, NY5 và RBBR với bước sóng hấp thụ cực đại tương ứng 595, 600 và 595 nm.

Nước thải nhà máy nhuộm Nam Định có màu xanh dương, là hỗn hợp màu của thuốc nhuộm hoạt tính gồm Megafix Blue EBB 0 và Deimalen Red CL5B được trộn theo tỉ lệ 10:1 (gọi tắt là màu xanh hoạt tính).

Các loại vật liệu polypropylene (PP), Bio – Cube (BC) và Bio – POP (BP) được sử dụng để cố định vi sinh vật với hàm lượng tương ứng 3, 6 và 7 g/L. PP là vật liệu do Viện Hóa học hợp tác với Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam tạo ra. Vật liệu có dạng sợi, cấu tạo từ propylene, màu trắng, đường kính 0,05 mm, vật liệu chịu được nhiệt độ cao hơn 150 °C, bền và chống được mài mòn bởi hóa chất.

BC là loại vật liệu của Hàn Quốc, có dạng khối lập phương xấp 0,5 cm × 0,5 cm × 0,5 cm, khối lượng khoảng 0,03 g/khối, cấu tạo bằng bột polyurethane có các lỗ rỗng kích thước khác nhau, hoạt động như chất mang để chứa sinh khối của vi sinh vật. Tỉ lệ bám dính của vi sinh vật lên BC phụ thuộc vào tốc độ dòng chảy qua vật liệu. Khoảng 70 % lỗ rỗng của BC được lấp đầy để loại bỏ được hữu cơ ổn định. Vật liệu BC chịu được nhiệt độ cao từ 70 - 90 °C, xút và axit.

Vật liệu thứ ba được sử dụng trong nghiên cứu này là BP cũng là vật liệu của Hàn Quốc, có dạng khối lập phương xấp 1,5 cm × 1,5 cm × 1,5 cm, khối lượng khoảng 0,14 g/khối, cấu tạo bằng Polyvinyl alcohol, độ xốp 2,5–3 lỗ/mm, đường kính lỗ 250 - 300 µm. Vật liệu BP chống được mài mòn.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Xác định hoạt tính laccase

Hoạt tính laccase được xác định dựa trên sự oxi hóa ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) của laccase tạo thành hợp chất hấp thụ ở bước sóng 420 nm ($\lambda_{420} = 36.000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) ở điều kiện thí nghiệm [19]. Một đơn vị hoạt độ laccase là lượng enzym cần thiết để tạo thành 1 µM sản phẩm từ ABTS trong thời gian 1 phút, ở điều kiện thí nghiệm. Hỗn hợp phản ứng (1 ml) gồm 600 µl đệm natri acetat 20 mM (pH 3), 200 µl ABTS 2,5 mM và 200 µl dịch laccase thô.

2.2.2. Xác định hiệu suất loại màu

Hiệu suất loại màu được xác định theo công thức:

$$\text{Phần trăm loại màu} = (\text{độ hấp thụ ban đầu} - \text{độ hấp thụ cuối}) / \text{độ hấp thụ ban đầu} \times 100 \%$$

2.2.3. Đánh giá hiệu suất loại màu tổng hợp và màu xanh hoạt tính từ nước thải nhuộm Nam Định bởi hỗn hợp nấm FBV25, FBV28, FNBLA 1 cố định trên vật liệu PP, BC và BP ở mô hình 100 ml

Khả năng loại một số màu tổng hợp và màu xanh hoạt tính từ nước thải nhuộm Nam Định bởi hỗn hợp các chủng nấm cố định trên vật liệu PP, BC và BP gồm FBV25, FBV28, FNBLA1 theo tỉ lệ 3 : 5 : 2 đã được khảo sát. Giống hỗn hợp nấm 10 % (v/v) được bổ sung vào môi trường có chứa dịch chiết khoai tây 200 g/L; 2,5 g/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 2,5 g/L NH_4NO_3 ; hỗn hợp bột đầu tương 1 g/L và cám gạo 1 g/L. Màu tổng hợp với tổng nồng độ cuối là 100 mg/L bao gồm

RBBR, NY3, NY5, IN13 (nồng độ mỗi loại 20 mg/L) và NY1, NY7 (nồng độ mỗi loại 10 mg/L) hoặc màu xanh dương hoạt tính từ nước thải nhuộm Nam Định có nồng độ ban đầu 240 mg/L được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Do kết quả thu được từ một số nghiên cứu trước đó cho thấy axit violuric (ViO) là chất gắn kết có hiệu quả tốt nhất khi tham gia vào quá trình loại màu nên ViO với nồng độ 0,1 mM đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Các chủng nấm cố định trên vật liệu được nuôi cấy ở 110 vòng/phút và nhiệt độ phòng 28 - 30 °C.

2.2.4. Đánh giá hiệu suất loại màu xanh hoạt tính từ nước thải Nam Định bởi hỗn hợp nấm FBV25, FBV28, FNBLa 1 hoặc chỉ một mình chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP ở quy mô 10 lít

Thí nghiệm được thực hiện trong các xô nhựa có thể tích 22 lít, không bị tác động bởi các chất trong nước thải. Sục khí bằng máy bơm công suất 35 W với lưu lượng khí 20 lít/phút. Hai đầu sục khí được đặt ở hai bên thành để đảm bảo không khí luôn được đối lưu trong bình. Vật liệu PP (1 g/L) được đặt trong xô nhựa và được treo ở vị trí phù hợp nhằm tạo độ thoáng tốt nhất. Vật liệu PP được dàn đều trong xô nhằm tăng hiệu suất bám dính với vi sinh vật. Khoảng cách giữa xô đựng vật liệu và mặt thoáng bằng ½ chiều cao từ mặt thoáng đến đáy bình. Lượng giống 10 % (v/v) gồm hỗn hợp nấm FBV25, FBV28 và FNBLa1 hoặc chỉ một mình chủng nấm FBV25 được bổ sung vào môi trường chứa nước thải màu xanh hoạt tính có nồng độ ban đầu 142 mg/L; 2,5 g/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 2,5 g/L NH_4NO_3 và CuSO_4 0,15 mM.

2.2.5. Đánh giá hiệu suất loại màu xanh hoạt tính từ nước thải Nam Định bởi chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP ở quy mô 50 lít

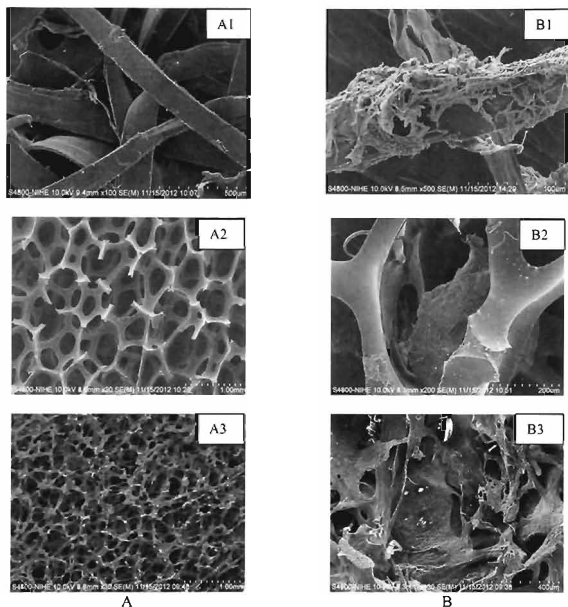
Thí nghiệm được thực hiện trong thùng có thể tích 120 lít. Thùng được sục khí bằng máy bơm công suất 60 W với lưu lượng khí 82 lít/phút. Hai xô đựng vật liệu PP (1 g/L) được đặt cách nhau 10 cm. Bốn đầu sục khí được đặt ở hai bên thành để đảm bảo không khí luôn được đối lưu. Lượng giống nấm FBV25 10 % (v/v) được bổ sung vào môi trường chứa màu xanh hoạt tính từ nước thải có nồng độ ban đầu 517 mg/L; 2,5 g/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 2,5 g/L NH_4NO_3 và CuSO_4 0,25 mM.

3. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu suất loại màu tổng hợp bằng hỗn hợp nấm FBV25, FBV28 và chủng FNBLa1 cố định trên vật liệu PP, BC và BP với chất gắn kết ViO và không có ViO

Ba loại vật liệu PP, BP và BC rất khác nhau về bản chất được sử dụng để so sánh khả năng cố định hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28, FNBLa1 nhằm đánh giá mức độ hấp thụ và khả năng loại màu của chúng ở quy mô 100 ml. Cấu trúc của các loại vật liệu (Hình 1A) và khả năng bám dính của vi sinh vật trên các loại vật liệu này đã được quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét SEM JEOL 5410 LV được trình bày ở Hình 1B.

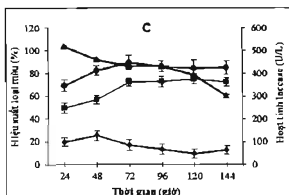
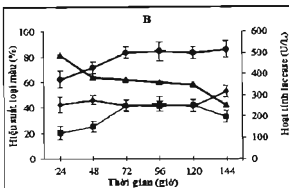
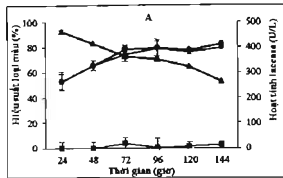
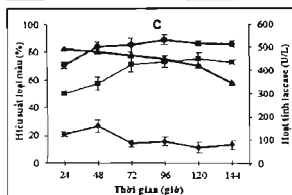
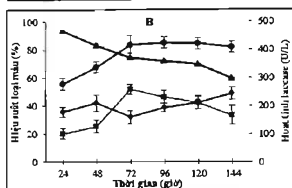
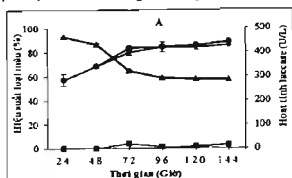
Từ Hình 1B ta thấy các chủng nấm được cố định tốt trên cả 3 loại vật liệu. Tuy nhiên, các chủng nấm bám dính trên vật liệu PP và BC tốt hơn so với BP.



Hình 1. Ảnh kính hiển vi điện từ quét. (A) Cấu trúc của các vật liệu: PP (A1), BP (A2), BC (A3). (B): Sợi nấm đã được cố định trên vật liệu: PP (B1), BP (B2), BC (B3).

Từ Hình 2 ta thấy trong điều kiện chỉ có môi trường, thuốc nhuộm và vật liệu thì màu bị hấp thụ từ 50 - 90 % vào vật liệu BP và BC. Tuy nhiên, màu hấp thụ không đáng kể vào vật liệu PP. Hiệu suất quá trình loại màu của vi sinh vật cố định trên các vật liệu được đánh giá bằng hiệu số khả năng loại màu thực tế của chúng với lượng màu đã bị hấp thụ vào các vật liệu. Hỗn hợp nấm được cố định trên vật liệu PP hoặc không cố định đều có khả năng loại được khoảng 80 % lượng màu thuốc nhuộm có trong môi trường nuôi cấy (Hình 2). Tuy nhiên, việc sử dụng vật liệu cố định sẽ mang lại hiệu quả cao trong thực tế vì vi sinh vật sinh enzyme không bị rửa trôi trong quá trình xử lý. Đối với BP và BC, màu hấp thụ vào hai vật liệu này rất cao do đó rất khó đánh giá được hiệu quả loại màu thực sự của vi sinh vật được cố định. Hơn thế nữa, giá thành của vật liệu BC, BP quá cao so với điều kiện của các nhà máy nhuộm hiện nay. Do đó, việc sử

dùng hai loại vật liệu BP và BC để làm giá thể cố định vi sinh vật sẽ gặp trở ngại trong việc xác định khả năng loại màu của vi sinh vật trong dung dịch và chi phí cho quy trình xử lý tại nhà máy. Hoạt tính laccase được sinh tổng hợp bởi hỗn hợp các chủng nấm phát hiện sau 24 giờ và giảm dần theo thời gian, hiện tượng này chứng tỏ laccase đã đóng vai trò quan trọng trong quá trình loại màu thuốc nhuộm. Từ các kết quả thu được trình bày ở trên nên vật liệu PP đã được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Khả năng loại màu của hỗn hợp nấm cố định lên vật liệu: PP (A), BP (B) và BC (C) khi không có mặt chất gắn kết. Ký hiệu: (◆) - Hiệu quả loại màu bởi hỗn hợp nấm, (▲) - Hoạt tính laccase, (●) - Vật liệu+hỗn hợp nấm, (■) - Vật liệu.

Hình 3 Khả năng loại màu của hỗn hợp nấm cố định lên vật liệu: PP (A), BP (B) và BC (C) khi có mặt chất gắn kết ViO. Ký hiệu: (◆) - Hiệu quả loại màu bởi hỗn hợp nấm khi bổ sung ViO, (▲) - Hoạt tính laccase, (●) - Vật liệu+hỗn hợp nấm+ViO, (■) - Vật liệu.

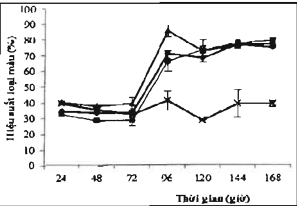
Theo Hu và cộng sự [20], các chất gắn kết, cấu trúc màu và các điều kiện loại màu ảnh hưởng nhiều đến khả năng loại màu bởi vi sinh vật và hệ thống laccase/chất gắn kết. Do đó, để thăm dò ảnh hưởng của chất gắn kết đến hiệu quả loại màu của hỗn hợp vi sinh vật cố định trên

các loại vật liệu, 0,1 mM ViO đã được bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Đối với các màu đã được chọn trong nghiên cứu này, hiệu quả loại màu tổng hợp của hỗn hợp chủng nấm không tăng khi có mặt chất gắn kết ViO (Hình 3). Theo Park và cộng sự [21], 90 % màu từ nước thải nhuộm có nồng độ ban đầu 100 mg/L đã bị loại bỏ sau 13 ngày bởi chủng nấm *Funalia trogii* được cố định trên vật liệu Na-alginate. Chủng nấm *Phanerochaete chrysosporium* cố định trên Kissiris vỏ cơ đã loại được 100 % màu tím tinh thể có nồng độ 45 mg/L sau 8 ngày ở điều kiện nuôi lắc [22]. Như vậy, hỗn hợp nấm FBV25, FBV28 và FNBLA1 cố định trên PP có khả năng loại màu trung bình so với các chủng nấm đã được công bố.

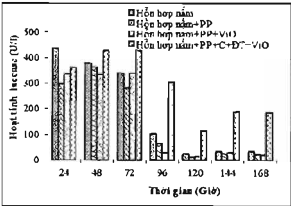
Kết quả thu được cũng cho chúng ta thấy khả năng loại màu của hỗn hợp các chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLA1 tốt ngay cả khi không có mặt của chất gắn kết ViO. Đặc tính này sẽ góp phần làm giảm chi phí của quy trình công nghệ xử lí.

3.2. Hiệu suất loại màu xanh hoạt tính từ nước thải nhà máy nhuộm Nam Định bằng hỗn hợp chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLA1

Hỗn hợp các chủng nấm đã được khảo sát khả năng loại màu tổng hợp, vậy chúng có khả năng loại màu đối với nguồn nước thải thực tế tại nhà máy nhuộm hay không? Để giải đáp câu trả lời này, hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLA1 (tỉ lệ 5 : 3 : 2) cố định lên vật liệu PP có khả năng sinh tổng hợp laccase (500 U/L) đã được lựa chọn nhằm nghiên cứu hiệu quả loại màu màu xanh hoạt tính trong nước thải có nồng độ 240 mg/L. Bột đậu tương và cám gạo thường giàu nitơ là nguồn dinh dưỡng thích hợp để các chủng vi sinh vật sinh tổng hợp laccase. Do đó, ảnh hưởng của các chất dinh dưỡng bổ sung như bột đậu tương và cám gạo cũng như vai trò của chất gắn kết đến khả năng loại màu của hỗn hợp nấm đã được khảo sát và đánh giá sau 168 giờ (Hình 4).



Hình 4. Khả năng loại màu xanh hoạt tính nước thải nhuộm bởi hỗn hợp 3 chủng nấm cố định trên vật liệu PP ở quy mô 100 ml. Ký hiệu: (●) - Hỗn hợp nấm, (■) - Hỗn hợp nấm + PP, (▲) - Hỗn hợp nấm + PP + ViO, (×) - Hỗn hợp nấm + PP + cám + bột đậu tương + ViO.



Hình 5. Hoạt tính laccase trong các thí nghiệm xử lí loại màu nước thải nhuộm hoạt tính đậm đặc bằng hỗn hợp ba chủng nấm cố định ở quy mô 100 ml.

Từ Hình 4 ta thấy khả năng loại màu của vi sinh vật khi được cố định hay không cố định trên vật liệu PP, khi có mặt hay không có mặt của chất gắn kết ViO, đều có hiệu suất loại màu gần như tương đương nhau, khoảng 45 - 50 % sau 24 - 72 giờ. Khi bổ sung hỗn hợp cám và bột đậu tương vào bình xử lí, hiệu suất loại màu không tăng so với mẫu đối chứng và duy trì ở 40 %

cho đến 168 giờ. Ngược lại, hiệu suất loại màu ở các thí nghiệm còn lại tiếp tục tăng đến 70 - 85 % sau 72 giờ.

Số liệu thực nghiệm thu được trong nghiên cứu này một lần nữa khẳng định chất gắn kết ViO không có vai trò trong quá trình loại màu xanh dương hoạt tính trong nước thải ở nhà máy nhuộm Nam Định. Điều này có ý nghĩa rất lớn khi ứng dụng các chủng nấm FNBLa1, FBV28, FBV25 đã được cố định trên vật liệu PP trong thực tế nhằm xử lý màu xanh hoạt tính từ nước thải nhuộm mà không cần tới chi phí cho chất gắn kết.

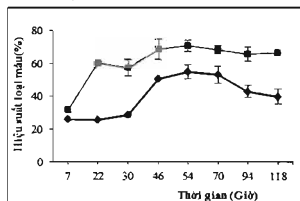
Loại màu và phân hủy thuốc nhuộm thường được thực hiện bởi nấm đảm trắng do sự oxy hóa của các hệ enzym ligninolytic như lignin peroxidase, mangan peroxidase và laccase [23]. Bên cạnh đó cũng có nhiều nghiên cứu đã chứng minh khả năng loại màu thuốc nhuộm khi sử dụng laccase thô và laccase tinh sạch [24]. Do đó, song song với việc xác định hiệu quả loại màu, hoạt tính laccase trong các mẫu cũng đã được xác định (hình 5). Laccase sinh tổng hợp bởi hỗn hợp các chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLa1 giảm dần theo thời gian xử lý và tỷ lệ nghịch với hiệu suất loại màu thuốc nhuộm sau 168 giờ. Kết quả thu được chứng tỏ laccase đã tham gia vào phản ứng phá vỡ cấu trúc hay làm thay đổi nhóm chức của thuốc nhuộm màu xanh hoạt tính.

Theo một nghiên cứu đã công bố, hiệu quả loại màu cam hoạt tính 16 lên đến 90 % sau 3 ngày khi xử lý bằng chủng nấm trắng *Irpex lacteus* đã được cố định trên polyuretan [25]. Hiệu quả loại màu đỏ Maxilon ở nồng độ 75 mg/L bởi chủng *Phanerochaete Chrysosporium* cố định trên Kissiris trong reactor trickle-bed đạt 85 % sau 5 ngày [26]. Từ các kết quả thu được ở trên ta nhận thấy rằng khả năng loại màu hoạt tính của hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLa1 cố định trên vật liệu PP trong nước thải hoạt tính đạt hiệu quả cao hơn so với các chủng đã được công bố trước đó, thậm chí cả khi không có mặt của chất gắn kết.

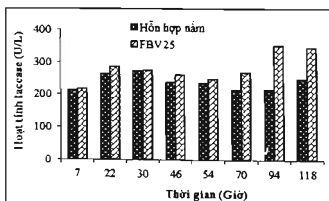
3.3. Hiệu suất loại màu xanh hoạt tính trong nước thải ở quy mô 10 và 50 lít

3.3.1. Quy mô 10 lít

Nhằm tiết kiệm chi phí và dễ dàng sử dụng trong quy trình loại màu thuốc nhuộm ở những quy mô lớn hơn, khả năng loại màu xanh hoạt tính từ nước thải của hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLa1 so với chủng nấm FBV25 cố định trên PP đã được thực hiện ở quy mô 10 lít (Hình 6 và 7).



Hình 6. Khả năng loại màu xanh hoạt tính trong nước thải nhuộm bởi chủng FBV25 (■) và hỗn hợp nấm (●) cố định ở quy mô 10 lít.



Hình 7. Hoạt tính laccase trong xử lý loại màu xanh hoạt tính từ nước thải nhuộm bởi chủng FBV25 và hỗn hợp nấm cố định ở quy mô 10 lít.

Từ Hình 6 ta thấy hiệu quả loại màu xanh hoạt tính của chủng nấm FBV25 cao hơn khoảng 26 % so với hỗn hợp ba chủng nấm FNBLA1, FBV28 và FBV25 cùng cố định trên vật liệu PP sau 118 giờ. Hiệu suất loại màu của hỗn hợp nấm và chủng FBV25 cố định trên vật liệu đạt tương ứng 46 % và 70 % sau 54 giờ xử lý. Hơn nữa, hoạt tính laccase của chủng FBV25 lại tăng cao hơn so với thời điểm ban đầu đưa giống vào là 158 U/L (Hình 7). Như vậy, sử dụng chủng nấm FBV25 để xử lý loại màu xanh hoạt tính trong nước thải nhuộm từ Nhà máy nhuộm Nam Định tốt hơn so với hỗn hợp ba chủng nấm trên.

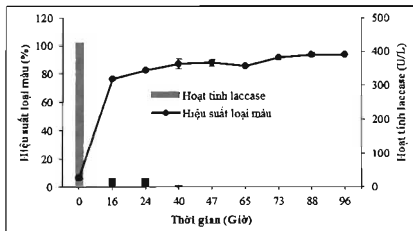
Mohorčić và cộng sự [27] đã sử dụng chủng nấm *Bjerkandera adusta* cố định trên lưới nhựa dạng ống hình trụ có khả năng loại 95 % màu RB5 sau 20 ngày xử lý với nồng độ màu ban đầu là 200 mg/L, màu chuyển từ màu xanh sang màu vàng. Một nghiên cứu khác của Borchert và Libra đã chứng minh được chủng nấm *Trametes versicolor* có khả năng loại được 91 - 99 % hỗn hợp 3 màu RB5, RR198 và BBR sau 200 ngày xử lý ở quy mô 3,5 lít [28].

Như vậy, hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28 và FNBLA1 không cho hoạt tính laccase cao nhất và dẫn đến khả năng loại màu kém hơn chủng nấm FBV25, cũng có thể do môi trường chưa thích hợp cho cả ba chủng nấm trên cùng hoạt động. Cho nên khi kết hợp cả ba chủng nấm này vẫn chưa nâng cao được hiệu quả loại màu trong khi chúng đều có thể cố định tốt trên vật liệu PP.

3.3.2. Quy mô 50 lít

Như đã đề cập ở trên, do chủng nấm FBV25 được cố định trên vật liệu PP có đủ khả năng loại màu xanh hoạt tính trong nước thải từ nhà máy nhuộm Nam Định nên các nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ chỉ tập trung vào chủng FBV25.

Chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP đã được sử dụng để đánh giá hiệu suất loại màu xanh hoạt tính từ nước thải nhuộm có nồng độ màu 517 mg/L ở quy mô 50 lít và quá trình xử lý có bổ sung thêm muối khoáng, CuSO_4 với chế độ sục khí liên tục. Khả năng loại màu và hoạt tính laccase từ chủng nấm FBV25 cố định trên PP đã được xác định theo thời gian và kết thúc sau 96 giờ xử lý (Hình 8).



Hình 8. Khả năng loại màu xanh hoạt tính trong nước thải nhuộm và hoạt tính laccase sinh ra bởi chủng FBV25 cố định trên PP ở quy mô 50 lít theo thời gian.

Kết quả cho thấy hiệu suất loại màu của chủng FBV25 cố định trên PP cao, đạt khoảng 78 % sau 16 giờ và đạt mức cao nhất là 94 % sau 96 giờ. Tuy nhiên, hoạt tính laccase của chủng

FBV25 giảm dần sau 16 giờ và hầu như không xác định được sau 47 giờ, chứng tỏ laccase đã tham gia vào quá trình loại màu thuốc nhuộm.

Theo Selvam và cộng sự [29], hai chủng nấm *Schizophyllum commune* và *Lenzites eximia* có khả năng loại màu nước thải trong công nghiệp nhuộm. Trong đó, chủng *Schizophyllum commune* loại được 76,15 % khi xử lý theo mẻ (batch mode) và ở điều kiện nước chảy liên tục (continuous batch) loại được 55,92 % màu, còn chủng nấm *Lenzites eximia* loại được lần lượt là 75,23 % và 54,60 % sau 5 ngày xử lý. Chủng nấm *Aspergillus flavus* đã cố định trên sodium alginate có khả năng loại được 98,47 % màu từ nước thải nhuộm tại Tirupur; 94,41 % màu axit xanh bô và 95,88 % màu vàng MGR bị loại bởi nấm *Aspergillus wentii* đã được cố định. Trong khi đó, nấm *Aspergillus wentii* không cố định chỉ có thể loại được 88,58 % màu từ nước thải nhuộm; 93,05 % màu axit xanh và 90,48 % màu vàng MGR ở nồng độ 100 mg/L trên môi trường PDB sau 24 giờ nuôi lắc tại nhiệt độ phòng [30]. Như vậy, chủng FBV25 cố định trên vật liệu PP có khả năng loại màu cao hơn so với các chủng nấm đã được công bố.

Các kết quả nghiên cứu loại màu thuốc nhuộm hoạt tính từ nhà máy Nhuộm Nam Định từ quy mô 100 ml đến 10 lít và 50 lít đã thu được các thông số cần thiết nhất. Đây là cơ sở để xây dựng quy trình xử lý loại màu thuốc nhuộm ở quy mô hiện trường. Ở quy mô 50 m³ xử lý loại màu xanh hoạt tính tại nhà máy nhuộm Nam Định đã được tiến hành và đạt hiệu quả cao (kết quả không trình bày ở đây).

4. KẾT LUẬN

Đã lựa chọn được vật liệu PP để cố định vi sinh vật và không cần bổ sung chất gắn kết axit violic (ViO) nhưng hiệu suất loại màu vẫn cao.

Hỗn hợp ba chủng nấm FBV25, FBV28, FNBLa1 và chỉ một mình chủng nấm FBV25 được cố định thành công trên vật liệu PP để xử lý loại một số màu tổng hợp và màu xanh hoạt tính trong nước thải của nhà máy nhuộm Nam Định ở các quy mô khác nhau. Ở mô hình 100 ml, với hỗn hợp 3 chủng FBV25, FBV28, FNBLa1 cố định trên vật liệu PP loại được 86 % màu tổng hợp có nồng độ 100 mg/L sau 144 giờ và 80 % màu xanh hoạt tính có nồng độ 240 mg/L từ nước thải sau 166 giờ xử lý. Ở quy mô 10 lít, hỗn hợp 3 chủng nấm cố định trên vật liệu PP loại được 55 % và khi chỉ sử dụng chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP loại được 70 % màu xanh hoạt tính có nồng độ 142 mg/L từ nước thải sau 54 giờ. Và chủng nấm FBV25 cố định trên vật liệu PP cũng đã loại được 93,78 % màu xanh hoạt tính có nồng độ 517 mg/L từ nước thải sau 96 giờ ở quy mô 50 lít.

Lời cảm ơn. Công trình này được thực hiện nhờ sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài độc lập cấp Nhà nước "Nghiên cứu công nghệ sản xuất enzym ngoại bào laccase, manganese peroxidase và lignin peroxidase từ vi sinh vật phục vụ xử lý các chất ô nhiễm đa vòng thơm". Đề tài đã được nghiệm thu ngày 13 tháng 03 năm 2013.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yesilada O., Asma D. and Cing S. - Decolorization of textile dyes by fungal pellets, Proc. Biochem. **38** (2003) 933-938.
2. Hafiz I., Asgher M., and Bhatti H. N. - Optimization of cibacron turquoise P-GR decolourization by *Ganoderma lucidum* IBL-05, Fresen Environ Bull. **17** (2008) 1987-1993.

3. Asgher M., Azim M., Bhatti H. N. - Decolorization of practical textile industry effluents by white-rot fungus *Coriolus versicolor* IBL-04, *Biochem. Eng. J.* **47** (2009) 61-65.
4. Bibi I., Bhatti H. N. and Asgher M. - Comparative study of natural and synthetic phenolic compounds as efficient laccase mediators for the transformation of cationic dye, *Biochem. Eng. J.* **56** (2011) 225-231.
5. Soares G. M., Amorim M. T. P., Costa-Ferreira M. - Use of laccase together with redox mediators to decolourize Remazol Brilliant Blue R, *J. Biotech.* **89** (2001) 123-129.
6. Couto S. R. and Herrera J. L. T. - Laccase production at reactor scale by filamentous fungi, *Biotech. Adv.* **25** (2007) 558-569.
7. Zhou J. L. and Kiff R. J. - The uptake of copper from aqueous solution by immobilized fungal biomass, *J. Chem. Technol. Biotech.* **52** (1991) 317-330.
8. Tieng Y. P. and Sun G. - Use of polyvinyl alcohol as a cell entrapment matrix for copper biosorption by yeast cells, *J. Chem. Technol. Biotech.* **75** (2000) 541-546.
9. Kunamneni A., Ghazi I., Camarero S., Ballesteros A., Plou F. J., and Alcalde M. - Decolorization synthetic dyes by laccase immobilized on epoxy-activated carriers, *Proc. Biochemis.* **43** (2) (2008) 169-178.
10. Nakamura Y., Sawada T., Sungusi M.G., Kobayashi F., Kuwahara M., and Ito H. - Lignin peroxidase production by *Phanerochaete chrysosporium*, *J. Chem. Engin. Japan.* **30** (1997) 1-6.
11. Mielgo I., Moreira M. T., Feijoo G., and Lema J. M. - Biodegradation of a polymeric dye in a pulsed bed bioreactor by immobilized *Phanerochaete chrysosporium*, *Water. Res.* **36** (2002) 1896-1901.
12. Haapala A. and Linko S. - Production of *Phanerochaete chrysosporium* lignin peroxidase under various culture conditions, *Appl. Microbiol. Biotech.* **40** (1993) 494-498.
13. Rodríguez Couto S., Ravela I., Muñoz M. R., Sanromán A. - Ligninolytic enzyme production and the ability of decolourisation of Poly R-478 in packed-bed bioreactors by *Phanerochaete chrysosporium*, *Biopro. Engin.* **23** (2000) 287-293.
14. Öztürk Ü. R. and Pazarlioğlu N. K. - Production and stimulation of manganese peroxidase by immobilized *Phanerochaete chrysosporium*, *Proc. Biochemis.* **140** (2005) 83-87.
15. Couto S. R., Sanromán M. A., Hofer D., and Gübitz G. M. - Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes, *Biores. Technol.* **95** (1) (2004) 67-72.
16. Kim J. J., Jang T. S., Kwon Y. D., Kim U. Y., and Kim S. S. - Structural study of microporous polypropylene hollow fiber membranes made by the melt - spinning and cold - stretching method, *J. Membr. Sci.* **93** (3) (1994) 209-215.
17. Feng W. and Ji P. - Enzyme immobilized on carbon nanotubes, *Biotech. Adv.* **29** (2011) 889-895.
18. Xu R., Zhou Q., Li F. and Zhang B. - Laccase immobilization on chitosan/ poly(vinyl alcohol) composite nanofibrous membranes for 2,4-dichlorophenol removal, *Chem. Eng. J.* **222** (2013) 321-329.

19. Eggert C., Temp U., and Eriksson K. E. L. - The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: Purification and characterization of the laccase, *Appl. Environ. Microbiol.* **62** (1996) 1151-1158.
20. Hu M. R., Chao Y. C., Zhang G. Q., Xue Z. Q., and Qian S. - Laccase- mediator system in the decolorization of different types of recalcitrant dyes, *J. Ind. Microbiol. Biotech.* **36** (2009) 45-51.
21. Park C., Lee B., Han E. J., Lee J. and Kim S. - Decolorization of Acid Black 52 by fungal immobilization, *Enz. Microbiol. Technol.* **39** (2006) 371-374.
22. Ghasemzadeh R., Kargar A., and Lotfi M. - Decolorization of Synthetic Textile Dyes by Immobilized White-Rot Fungus, International conference on chemical, ecology and environmental sciences, Pattaya, December, 2011, pp. 434-438.
23. Asgher M., Bhatti H. N., Ashraf M. and Legge R. L. - Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system, *Biodegr.* **19** (2008) 771-783.
24. Baldrian P. - Purification and characterization of laccase from the white-rot fungus *Daedalea quercina* and decolorization of synthetic dyes by the enzyme, *Appl. Microbiol. Biotech.* **63** (2004) 560-563.
25. Tavčar M., Svobodova K., Kuplenk J., Novotny Č. and Pavko A. - Biodegradation of azo dye RO16 in different reactors by immobilized *Irpex lacteus*, *Acta. Chim. Slov.* **53** (2006) 338-343.
26. Afzal K., Farzaneh V., Majid M., Mehrnaz M. - Decolorization of Maxilon-Red by Kissiris Immobilized *Phanerochaete Chrysosporium* in a Trickle-Bed Bioreactor - Involvement of Ligninolytic Enzymes, *Iran J. Chem. Chem. Eng.* **28** (2) (2009) 5-13.
27. Mohorčič M., Friedrich J., and Pavko A. - Decoloration of the diazo dye reactive black 5 by immobilised *Bjerkandera adusta* in a stirred tank bioreactor, *Acta Chim. Slov.* **51** (2004) 619-628.
28. Borchert M., Libra J. A. - Decolorization of reactive dyes by the white rot fungus *Trametes versicolor* in sequencing batch reactors, *Biotech. Bioeng.* **75** (3) (2001) 312-321.
29. Selvam K. and Shanmuga P. M. - Biological treatment of azo dyes and textile industry effluent by newly isolated white rot fungi *Schizophyllum commune* and *Lenzites eximia*, *Int. Biodet. Biodegr.* **2** (4) (2012) 1926-1935.
30. Dorthy C. A. M., Sivaraj R. and Venckatesh R. - Decolorization efficiencies of dyes and effluent by free and immobilized fungal isolates, *Inter. J. Env. Sci. Res.* **1** (4) (2012) 109-113.

ABSTRACT

DECOLORIZATION OF DYE BY FUNGAL STRAINS FBV25, FBV28 AND FNBLA1 IMMOBILIZED ON POLYPROPYLENE MATERIAL

Nguyen Thi Lan Anh, Ngo Thi Huyen Trang, Dao Thi Ngoc Anh, Dinh Thi Thu Hang,
Dang Thi Cam Ha

*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc
Viet street, Cau Giay District, Hanoi, VietNam*

*Email: dangcha80@yahoo.com

A mixture of fungal strains FBV25, FBV28 and FNBLA1, isolated from decayed wood of Bavi national forest and from rotten rice straw of Ninh Binh province, was successfully immobilized on polypropylene (PP) material. Decolorization of synthetic dyes including acid red 299 (NY1), acid red 266 (NY7), acid blue 62 (NY3), acid blue 281 (NY5), acid blue 113 (IN13), Remazol Brilliant Blue R (RBBR) and blue reactive dye from wastewater of Nam Dinh textile factory was carried out. In 100 ml scale, synthetic dyes at concentration of 100 mg/L and blue reactive dye with 240 mg/L concentration from wastewater was decolorized 86 % after 144 hours and 80 % after 166 hours, respectively, by mixture of three fungal strains FBV25, FBV28 and FNBLA1 immobilized on PP material. For the 10 liter-scale, blue reactive dye at concentration of 142 mg/L from wastewater was removed 55 % and 70 % by mixture of three fungal strains and FBV25 strain immobilized on PP material, respectively, after 54 hours. FBV25 strain immobilized on PP material also removed 94 % blue reactive dye with 517 mg/L concentration from wastewater after 96 hours at 50 liter-scale. The obtained results providing basis in technological development for dye removal at the field scale.

Keywords: blue reactive dye, decolorization, laccase, synthetic dye, polypropylene material.