

## Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ

Phần A: Khoa học tự nhiên, Công nghệ và Môi trường



Tạp chi Khoa học ĐẠI HỌC CẨN TH

DOI:10.22144/ctujos.2024.478

## PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN CÓ TIỀM NĂNG PHÂN HỦY NHỰA POLYSTYRENE (PS) TỪ ĐẤT BÃI RÁC TRÊN ĐIA BÀN THÀNH PHỐ CẦN THƠ

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm\*, Nguyễn Văn Khởi, Đinh Ngọc Bích, Lê Trần Y Khoa, Dương Thanh Nhựt Lâm, Trần Thị Thu Trang và Huỳnh Yến Nhi

Viện Công nghệ Sinh học & Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

\*Tác giả liên hệ (Corresponding author): hnttam@ctu.edu.vn

#### Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 06/06/2024 Sửa bài (Revised): 23/07/2024 Duyệt đăng (Accepted): 31/08/2024

**Title:** Isolation and selection of bacterial strains capable of decomposing polystyrene from landfill soil in Can Tho city

Author(s): Huynh Ngoc Thanh Tam\*, Nguyen Van Khoi, Dinh Ngoc Bich, Le Tran Y Khoa, Duong Thanh Nhut Lam, Tran Thi Thu Trang and Huynh Yen Nhi

Affiliation(s): Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Viet Nam

#### TÓM TẮT

Polystyrene (PS) là loại nhựa nhiệt đẻo được sử dụng phổ biến với những đặc tính tiện lợi và giá thành rẻ. Tuy nhiên, lượng rác thải từ loại nhựa này đang ngày càng gia tăng ở mức đáng báo động và gây ra những tác hại đến môi trường cũng như sức khỏe con người. Nghiên cứu này nhằm mục đích phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhựa PS trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nghiên cứu cho thấy, 15 chủng vi khuẩn phân lập có thể tồn tại trong môi trường Basal salt medium có bổ sung 0,1% bột nhựa polystyrene. Hai chủng CT26 và CT10 chỉ phát triển sinh khối mạnh tại vị trí có đặt tấm nhựa polystyrene trên môi trường thạch. Đồng thời, hai chủng vi khuẩn này có khả năng làm giảm khối lượng bột nhựa lần lượt là 42,12% và 34,08% sau 28 ngày nuôi cấy trong môi trường lỏng. Kết quả giải trình tự gene 16S rRNA cho thấy hai chủng CT26 và CT10 được xác định lần lượt là Cronobacter sakazakii và Pseudomonas aeruginosa với độ tương đồng đạt lần lượt là 99,85% và 100%.

**Từ khóa:** Hộp xốp nhựa PS, nhựa polystyrene, phân hủy sinh học, vi khuẩn

#### **ABSTRACT**

Polystyrene (PS) is a commonly used thermoplastic with convenient properties and low price. Nevertheless, the amount of waste from this type of plastic has been alarmingly increasing and creating negative impacts on the environment and humans. This study aimed to isolate and select bacterial strains that have the capability of degrading PS plastics. Fifteen isolated bacterial strains were found to survive in a Basal salt medium supplemented with 0,1% PS plastic powder. Research results showed that the two strains CT26 and CT10, only developed substantial biomass at the location where polystyrene plastic sheets were placed on an agar medium. At the same time, these two bacterial strains were found to possess the PS degrading ability through the weight loss of plastic powder by 42.12% and 34.08%, respectively, after 28 days of culture in the liquid environment. The results of 16S rRNA gene sequencing showed that the two strains CT26 and CT10 were identified as Cronobacter sakazakii and Pseudomonas aeruginosa, respectively, with similarities reaching 99.85% and 100%, respectively.

Keywords: Bacteria, biodegradation, PS foam box, polystyrene plastic

### 1. GIỚI THIỆU

Nhựa polystyrene (PS) là một loại nhựa nhiệt dẻo đã và đang sử dụng rất phổ biến trong đời sống sinh hoạt hằng ngày với đặc tính bền, đa dạng và tiện dụng. Đối với các ngành công nghiệp, nhựa PS phố biến bởi đặc tính hữu ích, chi phí thấp, trong lượng nhe, dễ sản xuất, tính linh hoạt, hiệu suất nhiệt và khả năng chống ẩm. Tuy nhiên, theo Ho et al. (2018) vì đặc tính bền nên nhưa PS rất khó bị phân hủy ngoài môi trường sau khi thải bỏ. Monomer của PS là styrene, có công thức là C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH=CH<sub>2</sub> là một trong những loại monomer có vòng thơm, lần đầu tiên được chiết xuất vào thế kỷ 19 từ quá trình chưng cất storax, một loại nhựa thơm tự nhiên. Nhựa PS có thể chia thành 3 loại phụ thuộc vào nhu cầu sử dụng bao gồm: nhựa PS thông dụng (general purpose polystyrene – GPPS) có đặc tính vật lý giòn, chịu va đập kém và có độ trong như thủy tinh; nhựa PS chịu va đập cao (high impact polystyrene - HIPS) có độ bên cao; nhựa PS giãn nở (expandable polystyrene -EPS) là loại nhựa dạng xốp phổ biến, có đặc tính cách nhiệt do cấu tạo xốp có hơn 95% là không khí (Salisu & Maigari, 2022).

Nhu cầu sử dụng các sản phẩm nhưa dùng một lần hiện nay rất lớn dẫn đến lượng rác thải nhựa ngày càng tăng, các loại nhựa này thường không thể tái chế và sẽ bị tích tụ trong một thời gian dài. Sư tích tụ và xâm nhập của các sản phẩm phân hủy nhựa vào chuỗi thức ăn có thể gây ra các vấn đề sức khỏe nghiêm trong cho cả con người và động vật (Gilami et al., 2023). Do đó, nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyên chọn vi khuẩn có khả năng phân hủy nhưa PS từ mẫu đất bãi rác trên địa bàn thành phố Cần Thơ. Nhưa PS đã được chứng minh là được phân hủy bởi Pseudomonas aeruginosa, Bacillus megaterium, Rhodococcus ruber. marcescens, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes và các chủng vi khuẩn khác (Amobonye et al., 2021). Kết quả từ nghiên cứu của Sekhar et al. (2016) với các chủng vi khuẩn chỉ ra rằng Enterobacter sp. là chủng có tỉ lệ giảm khối lượng cao nhất 12,4% HIPS (có chứa decabromodiphenyl oxide và antimon trioxide được tổng hợp trong phòng thí nghiệm) là nguồn carbon duy nhất bị mất trong vòng 30 ngày khi sử dụng chủng phân lập. Sự phân hủy sinh học của nhưa do vi khuẩn xảy ra khi chúng có thể sử dụng nhựa làm nguồn carbon để phát triển. Quá trình phân hủy sinh học PS bắt đầu khi vi sinh vật bắt đầu phát triển trên bề mặt PS và tiết ra enzyme của chúng để phân hủy polymer thành các mảnh phân tử nhỏ hơn là oligomer và có thể là monomer, styrene có thể được sử dụng như một

nguồn carbon cho sự tăng trưởng bởi một số vi sinh vật (Ho et al., 2018).

#### 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu đất được thu thập tại bãi rác Cờ Đỏ (10°05'12.1"N, 105°27'52.7"E) và bãi rác Hưng Lợi (10°01'07.4"N, 105°46'12.3"E) trên địa bàn thành phố Cần Thơ. Hạt nhựa được mua từ địa chỉ đường Xuân Thới Thượng 3, tổ 16, ấp 1, xã Xuân Thới Thượng, Hóc Môn, thành phố Hồ Chí Minh. Hộp nhựa được mua tại cửa hàng Thu Mart (126, đường 30/4, phường An Phú, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ), hộp xốp được mua tại cửa hàng bán lẻ bao bì Chiêu Thủy (162, đường Trần Ngọc Quế, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ).

Môi trường phân lập vi khuẩn Nutrient Agar (NA): peptone (6 g/L), meat extract (1 g/L), yeast extract (2 g/L), NaCl (5 g/L), agar (20 g/L). Môi trường Basal salt medium (BSM) được sử dụng theo nghiên cứu của Kim et al. (2021), bao gồm: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (12,8 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (3 g/L), NaCl (0,5 g/L), NH<sub>4</sub>Cl (1 g/L), MgSO<sub>4</sub> (0,24 g/L), CaCl<sub>2</sub> (0,011 g/L).

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Phân lập vi khuẩn

Thu mẫu

Mẫu đất được thu từ 2 bãi rác ở Cờ Đỏ và Hưng Lợi trên địa bàn thành phố Cần Thơ, mỗi địa điểm thu 3 mẫu đất. Đất được thu ở độ sâu khoảng 3 – 5 cm, đất ở gần vị trí có các hộp xốp đang bị phân hủy hoặc bên dưới các hộp xốp đang trong quá trình phân hủy, có dán nhãn ghi thời gian thu và địa điểm lấy mẫu.

Xử lý mẫu

Đất được cân 1 g và cho vào bình tam giác có dung tích 50 mL đã khử trùng, thêm 9 mL nước cất khử trùng, đậy bình bằng giấy bạc. Đặt bình tam giác lên máy khuẩy từ trong 30 phút và để lắng trong 1 giờ. Pha loãng mẫu bằng cách hút 1 mL dung dịch gốc cho vào 9 mL nước cất khử trùng, lần lượt pha loãng đến nồng độ  $10^{-5}$  sau đó hút 50  $\mu$ L ở mỗi nồng độ cấy trải trên đĩa thạch môi trường NA.

#### Phân lập vi khuẩn

Sau 48 giờ cấy trải, các khuẩn lạc trên đĩa thạch có sự khác nhau về hình dạng, kích thước, màu sắc được cấy chuyển ra đĩa thạch môi trường NA mới, sau đó tiếp tục cấy chuyển nhiều lần cho đến khi

nhận được chủng thuần (kiểm tra độ thuần bằng cách đánh giá hình dạng khuẩn lạc và quan sát vi khuẩn dưới kính hiển vi quang học).

# 2.2.2. Tuyển chọn sơ bộ các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhựa PS

Các chủng vi khuẩn được chuyển vào từng ống nghiệm môi trường BSM lỏng có thể tích 10 mL và có bổ sung 1 g/L bột nhựa polystyrene làm nguồn carbon duy nhất, mật số được đồng nhất là 6 log CFU/mL. Các ống nghiệm được ủ ở điều kiện nhiệt độ 28°C trong vòng 7 ngày, sau đó tiến hành xác định mật số để đánh giá khả năng sinh trưởng của vi khuẩn trong môi trường.

Mật số vi khuẩn được xác định bằng phương pháp đếm sống nhỏ giọt của Hoben & Somasegaran (1982): sau 7 ngày, dung dịch BSM trong ống nghiệm được pha loãng bằng cách hút 1 mL dung dịch cho vào ống nghiệm chứa 9 mL nước cất khử trùng, thực hiện lần lượt đến nồng độ 10<sup>-5</sup>, sau đó tiến hành hút 10 μL từ dung dịch đã pha loãng nhỏ từng giọt riêng biệt lên bề mặt môi trường sao cho giọt dung dịch không bị chảy lan ra xung quanh.

Công thức tính mật số:

Mật số vi khuẩn (CFU/mL) =  $A \times B \times 100$ 

Trong đó:

A: số khuẩn lạc trung bình đếm được

B: hệ số pha loãng

100: hệ số chuyển đổi từ 10 μL đến 1 mL

Những chủng vi khuẩn có thể phát triển được trong môi trường BSM có bổ sung nhựa được chọn để tiếp tục thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

## 2.2.3. Khảo sát khả năng phân hủy bột nhựa PS của các chủng vi khuẩn

Bột nhựa PS được xử lý bằng cách sử dụng máy xay để xay nhỏ hạt nhựa nguyên sinh, lọc mịn bằng ray có kích thước lỗ khoảng 0,1 mm đến 0,5 mm.

Các chủng vi khuẩn được cho lần lượt vào từng ống nghiệm chứa sẵn 10 mL môi trường BSM lỏng có bổ sung 1 g/L bột nhựa polystyrene làm nguồn carbon duy nhất. Các ống nghiệm được ủ ở 28°C và ghi nhận chỉ tiêu sau 28 ngày. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Ông nghiệm đối chứng âm là ống nghiệm chỉ chứa môi trường BSM và bột nhựa PS, không chứa vi khuẩn.

Xác định khối lượng bột nhựa sau 28 ngày: Bột nhựa trong ống nghiệm có khối lượng nhẹ, nổi lên trên bề mặt dung dịch, thu nhận bột nhựa bằng cách

rót dung dịch ra giấy lọc đã sấy khô và xác định trước khối lượng, sau đó sấy khô và tiến hành cân khối lượng tổng. Khối lượng bột nhựa bằng khối lương tổng sau khi sấy trừ khối lương của giấy lọc.

Công thức xác định lượng bột nhựa hao hụt:

$$W = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100$$

Trong đó:

W: lượng bột nhưa hao hụt (%)

W<sub>0</sub>: khối lượng bột nhưa ban đầu (mg)

W<sub>1</sub>: khối lượng bột nhựa sau thí nghiệm (mg)

Dựa vào kết quả lượng bột nhựa hao hụt, ta đánh giá khả năng phân hủy nhựa PS của các chủng vi khuẩn, sau đó tuyển chọn những chủng vi khuẩn có hoạt tính cao để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

#### 2.2.4. Khảo sát khả năng phân hủy mảnh hộp nhưa PS

Hộp nhựa PS là sản phẩm nhựa có đặc tính mỏng, dai được cắt thành các mảnh có kích thước 1 × 1 cm, khử trùng bằng cách ngâm trong cồn 70% trong vòng 30 phút và để khô trong tủ cấy vô trùng. Que cấy được dùng để lấy một lượng khuẩn lạc vi khuẩn lần lượt cho vào ống nghiệm có chứa sẵn 10 mL môi trường BSM lỏng đã khử trùng, đồng nhất mẫu bằng máy vortex. Micropipette được dùng để hút 50 µL dịch huyền phù vi khuẩn trải trên đĩa petri môi trường BSM thạch. Sau đó, các mảnh hộp nhựa PS (nguồn carbon duy nhất) được đặt lần lượt lên bề mặt môi trường. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Đánh giá sự hình thành khuẩn lạc phần rìa của mảnh hộp nhựa sau 28 ngày.

## 2.2.5. Khảo sát khả năng phân hủy mảnh hộp xốp nhựa PS

Hộp xốp nhựa PS là một loại sản phẩm phổ biến dùng trong bảo quản thực phẩm, có đặc điểm xốp nhẹ, có cấu trúc là các hạt giãn nở. Hộp xốp trong thí nghiệm này được cắt thành các mảnh có kích thước 3 × 3 cm, khử trùng bằng cách ngâm trong cồn 70% và để khô trong tủ cấy. Micropipette được dùng để hút 50 μL dịch huyền phù vi khuẩn trải trên đĩa petri có sẵn môi trường BSM thạch. Sau đó, các mảnh hộp nhựa PS (nguồn carbon duy nhất) được đặt lần lượt lên bề mặt môi trường. Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Đánh giá sự hình thành khuẩn lạc phần rìa của mảnh hộp nhựa sau 28 ngày. Sau 28 ngày, ta quan sát và ghi nhận sự hình thành khuẩn lạc xung quanh mảnh hộp xốp.

# 2.2.6. Định danh chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhựa PS

Chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhựa PS cao nhất sau khi được tuyển chọn từ thí nghiệm trên được chọn định danh đến mức độ loài bằng phương pháp giải trình tự vùng gene 16S rRNA và đối chiếu với dữ liệu trên trang website National Center for Biotechnology Information (NCBI). Cặp mồi tổng 27F và 1495R (Weisburg et al., 1991) được sử dụng với trình tư như sau:

### 27F: 5'GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG3'

#### 1495R: 5'CTACGGCTACCTTGTTACGA3'

Chu trình PCR có 3 giai đoạn: Giai đoạn 1 có 1 chu kỳ biến tính ở nhiệt độ 94°C trong thời gian 4 phút; giai đoạn 2 có 35 chu kỳ, mỗi chu kỳ bao gồm 3 bước nhỏ: biến tính ở nhiệt đô 94°C trong 45 giây,

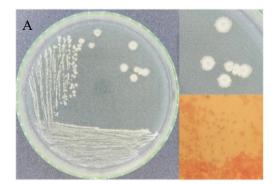
bắt cặp ở 53°C trong 45 giây, kéo dài ở nhiệt độ 72°C trong 1 phút; giai đoạn 3 có 1 chu kỳ kéo dài ở nhiệt độ 72°C trong 7 phút.

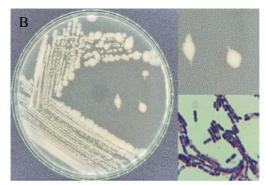
Từ kết quả giải trình tự, ta so sánh trình tự với ngân hàng gene NCBI bằng công cụ BLAST để xác định chủng vi khuẩn. Kết quả giải trình tự được dùng để kiểm tra đối chứng với các thử nghiệm sinh hóa nhằm xác định mức đô loài của chủng vi khuẩn.

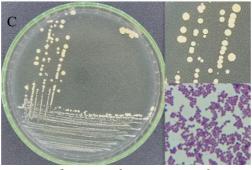
### 3. KÉT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

## 3.1. Kết quả phân lập vi khuẩn

Từ mẫu đất thu thập tại hai bãi rác Cờ Đỏ và Hưng Lợi trên địa bàn thành phố Cần Thơ, 28 chủng vi khuẩn đã được phân lập. Đa số khuẩn lạc có hình dạng tròn (96,4%), còn lại có hình dạng không đều (3,6%). Kích thước các khuẩn lạc sau 48 giờ dao động từ 1 đến 4 mm.







Hình 1. Hình thái khuẩn lạc và tế bào của một số chủng vi khuẩn

Ghi chú: A: chủng CT1; B: chủng CT2; C: chủng CT11

Kết quả nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 1000× cho thấy có 26

chủng vi khuẩn Gram âm (chiếm 93%) và có hai chủng vi khuẩn Gram dương (chiếm 7%), hình que chiếm 71% và hình cầu chiếm 29% (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm hình thái của các chủng vi khuẩn

STT	Chủng vi khuẩn	Hình dạng	Gram	Đường kính (mm)
1	CT1	Que	-	1-2
2	CT2	Que	+	3-4
2 3	CT3	Que	-	1-1,5
4	CT4	Que	-	1,5-3
5	CT5	Que	-	3,5-4
6	CT6	Cầu	-	1-2
7	CT7	Cầu	-	2-3
8	CT8	Que	-	3,5-4
9	CT9	Que	-	2,5-3
10	CT10	Que	-	3-5
11	CT11	Cầu	+	1,2-1,5
12	CT12	Cầu	-	1-1,5
13	CT13	Cầu	-	1,5-2
14	CT14	Que	-	3-4
15	CT15	Que	-	1-1,5
16	CT16	Que	-	3-3,5
17	CT17	Cầu	-	3-3,5
18	CT18	Que	-	3-3,5
19	CT19	Que	-	3-3,5
20	CT20	Que	-	3-4
21	CT21	Cầu	-	2-2,5
22	CT22	Que	-	1,5-2,5
23	CT23	Que	-	3-3,5
24	CT24	Que	-	3-3,5
25	CT25	Cầu	-	1-1,5
26	CT26	Que	-	2-3
27	CT27	Que	-	3-3,5
28	CT28	Que	-	3,5-4

## 3.2. Kết quả tuyển chọn sơ bộ các chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhựa PS

Hai mươi tám chủng vi khuẩn sau khi đã phân lập được ủ trong môi trường BSM lỏng có bổ sung 1 g/L bột nhưa PS làm nguồn carbon duy nhất, mật số ban đầu được xác định là 6 logCFU/mL. Sau thời gian 7 ngày, mật số được xác định trên môi trường NA. Kết quả thống kê trong Bảng 2 cho thấy, sau 7 ngày nuôi cấy, mật số vi khuẩn có sự chênh lệch giữa các nghiệm thức, với các giá trị dao động từ 6 đến 8,96 logCFU/mL, trong đó CT10 là chủng vi khuẩn đạt cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiêm thức còn lai ở mức ý nghĩa 5%. Điều này chứng tỏ chủng vi khuẩn CT10 có khả năng phát triển mật số cao trong môi trường BSM lỏng có bổ sung bột nhựa PS. Các chủng vi khuẩn gồm CT3, CT4, CT8, CT12, CT13, CT14, CT21, CT22, CT23 và CT24 không tìm thấy khuẩn lạc, ba chủng CT15, CT16 và CT25 phát triển không đáng

kể với các giá trị dao động từ 6 đến 6,59 logCFU/mL (Bảng 2).

Bảng 2. Mật số vi khuẩn sau 7 ngày nuôi cấy trong môi trường BSM

trong mor truong bow									
STT	Chủng vi	Mật số vi khuẩn							
511	khuẩn	(logCFU/mL)							
1	CT1	$7,41^{\text{defg}} \pm 0,01$							
2	CT2	$7,13^{g}\pm0,02$							
3	CT3	-							
4	CT4	-							
5	CT5	$7,58^{\text{cde}} \pm 0,04$							
6	CT6	$7,62^{cd}\pm0,01$							
7	CT7	$7,40^{\text{defgh}} \pm 0,00$							
8	CT8	-							
9	CT9	$7,10^{g}\pm0,14$							
10	CT10	$8,96^{a}\pm0,00$							
11	CT11	$7,54^{\text{cdef}} \pm 0,06$							
12	CT12	-							
13	CT13	-							
14	CT14	-							
15	CT15	$6,59^{h}\pm0,16$							
16	CT16	$6,00^{i}\pm0,00$							
17	CT17	$7,25^{\rm efg} \pm 0,07$							
18	CT18 $7,81^{bc}\pm0,1$								
19	CT19	$6,85^{bc}\pm0,01$							
20	CT20	$7,22^{fg}\pm0,15$							
21	CT21	-							
22	CT22	-							
23	CT23	-							
24	CT24	-							
25	CT25	$6,15^{i}\pm0,21$							
26	CT26	$8,00^{b}\pm0,00$							
27	CT27	$7,15^{g}\pm0,11$							
28	CT28	$7,56^{\text{cdef}} \pm 0,00$							
-	P-Value	0,00							
	CV (%)	1,18							

Ghi chú: (-) không có mật số; các giá trị trung bình theo sau bởi các ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% bằng kiểm định Tukey

Trong 28 chủng vi khuẩn phân lập được, chỉ có 15 chủng vi khuẩn lần lượt là CT1, CT2, CT5, CT6, CT7, CT9, CT10, CT11, CT17, CT18, CT19, CT20, CT26, CT27 và CT28 có thể phát triển được mật số trên môi trường BSM có bố sung bột nhựa. Các chủng vi khuẩn còn lại không phát triển mật số hoặc có nhưng không đáng kể. Điều này cho thấy sau thời gian 7 ngày, các chủng này không đủ hoạt tính hoặc không thể sử dụng bột nhựa PS làm nguồn carbon. Qua kết quả trên, có 15 chủng vi khuẩn được chọn để tiếp tục thực hiện cho thí nghiệm tiếp theo.

## 3.3. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy bột nhưa PS

Kết quả khảo sát khối lượng bột nhựa PS

Số liệu lượng bột nhựa PS hao hụt sau 28 ngày thử nghiệm trong môi trường BSM được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Khối lượng bột nhựa hao hụt sau thí nghiệm

	Chủng vi	Lượng PS hao hụt				
STT	khuẩn	(%)				
1	CT1	$3,62^{e}\pm2,02$				
2	CT2	$13,24^{d}\pm1,46$				
3	CT5	$1,63^{e}\pm1,11$				
4	CT6	$12,75^{d}\pm3,53$				
5	CT7	$21,07^{bcd}\pm1,81$				
6	CT9	$2,95^{e}\pm2,58$				
7	CT10	$34,08^{a}\pm4,88$				
8	CT11	$22,13^{bc}\pm1,49$				
9	CT17	$25,23^{b}\pm2,72$				
10	CT18	$2,56^{e}\pm0,73$				
11	CT19	$3,99^{e}\pm1,00$				
12	CT20	$20,20^{\text{bcd}} \pm 1,50$				
13	CT26	$42,12^{a}\pm4,36$				
14	CT27	$15,72^{\text{cd}}\pm2,39$				
15	CT28	$23,79^{bc}\pm2,90$				
16	Đối chứng	$0,\!00^*$				
	P-value	0,00				
	CV(%)	16,96				

Ghi chú: (\*) ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung vi khuẩn vào môi trường và không có sự thay đổi khối lượng, do đó không đưa vào thống kê so sánh; các giá trị trung bình theo sau bởi các ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% bằng kiểm định Tukey

Sau 28 ngày, các chủng vi khuẩn giúp giảm khối lượng bột PS dao động từ 1,63% đến 42,12%. Trong đó chủng vi khuẩn CT26 đạt cao nhất là 42,12% và CT10 là 34,08%. Chủng vi khuẩn CT26 không có sư khác biệt về mặt thống kệ với CT10. Số liệu trong thí nghiệm thấp hơn so với nghiên cứu của Asmita et al. (2015) khi khảo sát sư phân hủy PS do chủng Bacillus subtilis trong môi trường Bushnell Hass có sư giảm trong lượng tối đa là 58,82%. Ngoài ra, một số nghiên cứu khác trước đây đã cho ra kết quả thấp hơn nghiên cứu hiện tại, trong nghiên cứu của Xiang et al. (2023) với vi nhưa PS sau 30 ngày nuôi cấy, tỷ lê giảm khối lượng do Stenotrophomonas maltophilia, Bacillus velezensis và Acinetobacter radioresistens lần lượt là 6,9%, 2,1% và 11,5%. Sau 60 ngày xử lý, tỷ lệ giảm khối lượng của ba chủng trên lần lượt là 9,5%, 4,1% và 16,7%. Theo kết quả

của Park et al. (2023) về khả năng phân hủy PS nhờ vi khuẩn cộng sinh đường ruột phân lập từ giun bột (ấu trùng *Tenebrio molitor*) cho thấy có sự thay đổi trọng lượng từ 9,4% đến 11,8%.

Kết quả khảo sát mật số

Để xác định được khả năng sinh trưởng và phát triển của từng chủng trong môi trường BSM lỏng có bổ sung 1 g/L bột nhựa PS, các chủng vi khuẩn đều được xác định mật số ban đầu là 6 logCFU/mL, sau 28 ngày thu nhận đếm mật số vi khuẩn, kết quả xử lý số liệu được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Mật số của các chủng vi khuẩn sau 28 ngày thí nghiệm

		7
STT	Chủng vi	Mật số vi khuẩn
511	khuẩn	(logCFU/mL)
1	CT1	$6,12^{e}\pm0,39$
2	CT2	$6,06^{e}\pm0,10$
3	CT5	$6,90^{\text{bcd}} \pm 0,14$
4	CT6	$7,04^{abc}\pm0,12$
5	CT7	$6,67^{\text{bcde}} \pm 0,06$
6	CT9	$6,22^{e}\pm0,07$
7	CT10	$7,63^{a}\pm0,09$
8	CT11	$6,03^{e}\pm0,35$
9	CT17	$6,89^{\text{bcd}} \pm 0,11$
10	CT18	$7,05^{abc}\pm0,20$
11	CT19	$6,36^{\text{de}} \pm 0,10$
12	CT20	$6,33^{\text{de}} \pm 0,06$
13	CT26	$7,23^{ab}\pm0,50$
14	CT27	$7,24^{ab}\pm0,01$
15	CT28	$6,51^{\text{cde}} \pm 0,13$
	P-value	0,00
	CV (%)	3,17

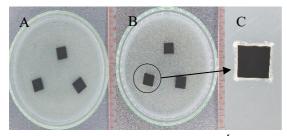
Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi các ký tự giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kẻ ở mức 5% bằng kiểm định Tukey

Tất cả 15 chủng vi khuẩn được tuyển chọn đều có sự phát triển mật số vi khuẩn sau 28 ngày với các giá trị dao động từ 6,03 đến 7,63 logCFU/mL. Chủng vi khuẩn CT10 mật số đạt cao nhất (7,63 logCFU/mL), chủng vi khuẩn CT27 mật số cao thứ hai (7,24 logCFU/mL), chủng vi khuẩn CT26 mật số cao thứ ba (7,23 logCFU/mL). Ba chủng CT6, CT18 và CT27 mặc dù đạt mật số tương đối cao nhưng làm giảm khối lượng nhựa thấp hơn khi so với CT10 và CT26 (Bảng 3). Việc giảm khối lượng mẫu cho thấy vi khuẩn có thể phân hủy và sử dung PS làm nguồn carbon cho các hoạt động trao đổi chất của chúng (Kumar et al., 2021). Theo Xiang et al. (2023), từ 10 ngày đến 30 ngày, vi khuẩn phát triển chậm và nồng đô vi khuẩn đạt trang thái ổn định, từ ngày thứ 30 đến ngày thứ 60, ở một số

chủng vi khuẩn có sự giảm tốc độ phát triển. Từ thí nghiệm này đã cho thấy chủng CT10 và CT26 là hai chủng có hoạt tính phân hủy nhựa cao hơn so với các chủng còn lại, do đó cả hai được chọn để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

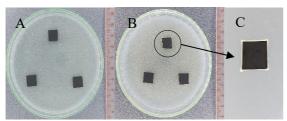
## 3.4. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy mảnh hộp nhựa PS

Kết quả mảnh hộp nhựa sau khi tiếp xúc với hai chủng CT10 và CT26 được trình bày trong Hình 2 và Hình 3.



Hình 2. Mảnh hộp nhựa PS sau khi tiếp xúc với chủng CT10

Ghi chú: A: sau 7 ngày; B: sau 28 ngày; C: Khuẩn lạc CT10 xung quanh mảnh nhựa



Hình 3. Mảnh hộp nhựa PS sau khi tiếp xúc với chủng CT26

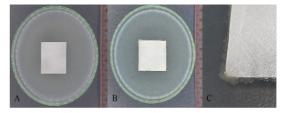
Ghi chú: A: sau 7 ngày; B: sau 28 ngày; C: Khuẩn lạc CT26 xung quanh mảnh nhựa

Qua kết quả trên, sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường thạch BSM, đĩa môi trường có chủng vi khuẩn CT10 và CT26 chưa có dấu hiệu khuẩn lạc bám lên rìa mảnh hộp nhựa PS (Hình 2A và 3A). Sau 28 ngày nuôi cấy, chủng CT10 và CT26 có sự xuất hiện khuẩn lạc bám xung quanh phần rìa của mảnh hộp nhựa PS. Điều này cho thấy khi phát triển được khuẩn lạc xung quanh mảnh hộp nhựa, hai chủng vi khuẩn trên đã sử dụng mảnh hộp nhưa PS làm nguồn carbon duy nhất sau 28 ngày. Ở thí nghiệm của Yang et al. (2014), chủng Bacillus sp. phát triển trên tấm nhưa polyethylene thành các khuẩn lạc tương đối dày có thể nhìn thấy bằng mắt thường. Trong thí nghiệm này, sự xuất hiện khuẩn lạc xung quanh rìa mảnh hộp nhựa PS cho kết quả tương tự các thí nghiệm của nghiên cứu trên, điều này chỉ ra chủng CT10 và CT26 có khả năng tồn tại

và phát triển trên môi trường có mảnh hộp nhựa PS làm nguồn carbon.

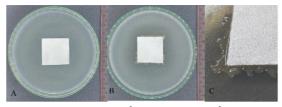
## 3.5. Kết quả khảo sát khả năng phân hủy hộp xốp PS

Hai chủng vi khuẩn CT10 và CT26 được nuôi cấy trong môi trường BSM thạch có đặt mảnh hộp xốp PS lên bề mặt tương tự như thí nghiệm với mảnh hộp nhựa PS. Kết quả được so sánh giữa hai thời điểm sau 7 ngày và sau 28 ngày được trình bày qua Hình 4 và Hình 5.



Hình 4. Mảnh hộp xốp PS sau khi tiếp xúc với chủng vi khuẩn CT10

Ghi chú: A: sau 7 ngày; B: sau 28 ngày; C: khuẩn lạc CT10 xung quanh mảnh hộp xốp



Hình 5. Mảnh hộp xốp PS sau khi tiếp xúc với chủng vi khuẩn CT26

Ghi chú: A: sau 7 ngày; B: sau 28 ngày; C: khuẩn lạc CT26 xung quanh mành hộp xốp

Chung CT10 (Hình 4A) và chung CT26 (Hình 5A) ở thời điểm 7 ngày chưa phát triển, không có khuẩn lạc xuất hiện quanh mảnh hộp xốp. Sau 28 ngày nuôi cấy, chủng vi khuẩn CT10 (Hình 4B) phát triển manh, lan rộng quanh bề mặt mảnh hộp xốp (Hình 4C), đồng thời chủng vi khuẩn CT26 cũng cho ra kết quả tương tự (Hình 5B và 5C). Kết quả của thí nghiệm này tương tư với kết quả nghiên cứu ở thí nghiệm của Yang et al. (2014), chủng vi khuẩn Enterobacter asburiae phát triển thành các khuẩn lạc mỏng, mờ và có thể nhìn thấy được. Kết quả quan sát môi trường BSM thạch bên ngoài vùng không có mảnh hộp xốp PS, các khuẩn lạc chỉ xuất hiện rất nhỏ và không có dấu hiệu tăng kích thước kể từ sau 48 giờ cấy trải, tuy nhiên vùng tiếp xúc với mảnh hộp xốp lại xuất hiện khuẩn lạc với độ nổi mô và phát triển lan rộng. Điều này cho thấy chủng vi khuẩn có khả năng tiếp cận và sử dụng các phân tử

carbon trong PS nhờ vào các enzyme và cơ chế sinh hoc đặc biệt của chúng.

Qua kết quả các thí nghiệm khảo sát sự phân hủy bột nhựa PS, sự xuất hiện khuẩn lạc xung quanh mảnh hộp nhựa PS và mảnh hộp xốp PS đã chứng minh được ưu thế và khả năng phân hủy nhựa cao nhất của 2 chủng vi khuẩn CT10 và CT26. Đặc điểm khuẩn lạc khi xuất hiện xung quanh mảnh hộp nhựa PS và mảnh hộp xốp PS có sự khác biệt hình dạng bìa và màu sắc so với đặc điểm hình thái khuẩn lạc khi phát triển trên môi trường NA. Từ các kết quả trên, cả 2 chủng vi khuẩn CT10 và CT26 được chọn để giải trình tự định danh loài.

## 3.6. Kết quả định danh chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy nhưa PS

3.6.1. Kết quả thử nghiệm một số đặc tính sinh hóa của hai chủng CT10 và CT26

Chủng CT10 có hình thái khuẩn lạc tròn, bìa chia thùy, độ nổi mô và có màu xanh lá. Khuẩn lạc chủng CT26 có hình dạng tròn, bìa răng cưa, độ nổi mô và có màu vàng. Kết quả một số đặc tính sinh hóa của hai chủng vi khuẩn CT10 và CT26 được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả thử nghiệm một số phản ứng sinh hóa

Tên vi khuẩn	Catalase	Oxidase	Gram	Hình dạng tế bào
CT10	+	+	-	Que
CT26	+	-	-	Que

3.6.2. Kết quả giải trình tự gene 16S rRNA của hai chủng vi khuẩn CT10 và CT26

Chủng vi khuẩn CT10 và CT26 có tiềm năng phân hủy nhựa PS cao nhất được chọn để giải trình tự gene. Kết quả giải trình tự gene 16S rRNA dòng vi khuẩn CT10 có chiều dài 1422 nucleotide và CT26 có chiều dài 1375 nucleotide.

Kết quả giải trình tự đoạn gene 16S rRNA của vi khuẩn CT10 như sau:

CCCCAGTCATGAATCACTCCGTGGTAAC
CGTCCCCCTTGCGGTTAGACTAGCTACTTCT
GGAGCAACCCACTCCCATGGTGTGACGGGC
GGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCAC
CGTGACATTCTGATTCACGATTACTAGCGA
TTCCGACTTCACGCAGTCGAGTTGCAGAC
TGCGATCCGGACTACGATCGGTTTTATGGG
ATTAGCTCCACCTCGCGGCTTGGCAACCCT
TTGTACCGACCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCTGGCCGTAAGGGCCATGATGACTTGAC
GTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCG

GCAGTCTCCTTAGAGTGCCCACCCGAGGT GCTGGTAACTAAGGACAAGGGTTGCGCTCG TTACGGGACTTAACCCAACATCTCACGACA CGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTG TGTCTGAGTTCCCGAAGGCACCAATCCATC TCTGGAAAGTTCTCAGCATGTCAAGGCCAG GTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAA ACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCC CGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGC CGTACTCCCCAGGCGGTCGACTTATCGCG TTAGCTGCGCCACTAAGATCTCAAGGATCC CAACGCTAGTCGACATCGTTTACGGCGTG GACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCT CCCCACGCTTTCGCACCTCAGTGTCAGTAT CAGTCCAGGTGGTCGCCTTCGCCACTGGTG TTCCTTCCTATATCTACGCATTTCACCGCTA CACAGGAAATTCCACCACCCTCTACCGTAC TCTAGCTCAGTAGTTTTGGATGCAGTTCCC AGGTTGAGCCCGGGGATTTCACATCCAACT TGCTGAACCACCTACGCGCGCTTTACGCCC AGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCCTTCG TATTACCGCGGCTGCTGGCACGAAGTTAGC CGGTGCTTATTCTGTTGGTAACGTCAAAAC AGCAAGGTATTAACTTACTGCCCTTCCTCC CAACTTAAAGTGCTTTACAATCCGAAGACC TTCTTCACACACGCGGCATGGCTGGATCAG GCTTTCGCCCATTGTCCAATATTCCCCACTG CTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTC TCAGTTCCAGTGTGACTGATCATCCTCTCA GACCAGTTACGGATCGTCGCCTTGGTAGGC CTTTACCCCACCAACTAGCTAATCCGACCT AGGCTCATCTGATAGCGTGAGGTCCGAAGA TCCCCCACTTTCTCCCTCAGGACGTATGCG GTATTAGCGCCCGTTTCCGGACGTTATCCC CCACTACCAGGCAGATTCCTAGGCATTACT CACCCGTCCGCCGCTGAATCCAGGAGCAAG CTCCCTTCATCCGCTCGA

Kết quả giải trình tự đoạn gene 16S rRNA của vi khuẩn CT26 như sau:

GCGCCCTCCCGAAGGTTAAGCTACCTAC
TTCTTTTGCAACCCACTCCCATGGTGTGAC
GGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTA
TTCACCGTGGCATTCTGATCCACGATTACT
AGCGATTCCGACTTCATGGAGTCGAGTTGC
AGACTCCAATCCGGACTACGACGCACTTTA
TGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGGTCGCTT
CTCTTTGTATGCGCCATTGTAGCACGTGTGT
AGCCCTGGTCGTAAGGGCCATGATGACTT
GACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTATCA
CCGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGGA
CCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCG
CTCGTTGCGGGGACTTAACCCAACATTTCAC
AACACGAGCTGACGACCACCATGCAGCAC

CTGTCTCAGAGTTCCCGAAGGCACTCCCGC ATCTCTGCAGGATTCTCTGGATGTCAAGAC CAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATT AAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGC CCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGC GGCCGTACTCCCCAGGCGGTCGACTTAACG CGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGG GCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACGG CGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTT GCTCCCCACGCTTTCGCACCTGAGCGTCAG TCTTCGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCG GTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTCACCG CTACACCTGGAATTCTACCCCCCTCTACGA GACTCAAGCCGGCCAGTTTCAAATGCAGTT CCCAGGTTGAGCCCGGGGATTTCACATCTG ACTTAATAGACCGCCTGCGTGCGCTTTAC GCCCAGTAATTCCGATTAACGCTTGCACCC TCCGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGGAGT TAGCCGGTGCTTCTTCTGCGGGTAACGTC AATCGCTGTGGTTATTAACCACAACGCCTT CCTCCCGCTGAAAGTACTTTACAACCCGA AGGCCTTCTTCATACACGCGGCATGGCTGC ATCAGGCTTGCGCCCATTGTGCAATATTCC CCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACC GTGTCTCAGTTCCAGTGTGGCTGGTCATCC TCTCAGACCAGCTAGGGATCGTCGCCTAGG TGAGCCGTTACCCCACCTACTAGCTAATCC CATCTGGGCACATCTGATGGCATGAGGCC CGAAGGTCCCCACTTTGGTCCGTAGACGT TATGCGGTATTAGCTACCGTTTCCAGTAGT TATCCCCCTCCATCAGGCAGTTTCCCAGAC ATTACTCACCCGTCCGCCACTCGTCAGCAG AGCA

Kết quả tìm kiếm và so sánh trình tự đoạn gene 16S rRNA của CT10 với cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gene của NCBI cho thấy vi khuẩn CT10 có trình tự tương đồng với độ tương đồng đạt 100% với các trình tự gene dòng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* (Hình 6).

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Snore	Cover	El value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
V	Pseudamonas aeruginosa sirain 100890 chromasome, complete genome	Pseudomonas aeruginosa	2627	10502	100%	0.0	100.00%	8931898	CP159883.
V	Pseudomonas aerupinosa sirain PA3117 chromosome PA3117, complete sequence	Pseudomonas aeruginosa	2627	10502	100%	0.0	100.00%	8913846	CP159841.
V	Pseudomonas aerupinosa sirain PAS4 chromosome PAS4, complete sequence	Pseudomonas aeruginesa	2627	10502	100%	0.0	100.00%	8927092	CP159840.
V	Pseudomonas aerupinosa sirain P1110 chromosomo, completo genome	Pseudomonas aeruginosa	2627	10508	100%	0.0	100.00%	7056884	CP158061.
Y	Pseudomonas aeruginosa sirain Y010 chromosomo, complete genome	Pseudomenas aeruginesa	2627	10508	100%	0.0	100.00%	8415828	CP158068.
V	Pseudomonas aerupinosa strain GIMCS017 PA3Ts24 chromosome	Pseudomonas aeruginosa	2627	10508	100%	0.0	100.00%	8992759	CP157868.
V	Pseudamonas aeruginosa sirain SRPA1308 chramosoma, camplete genome	Pseudomonas aeruginesa	2627	10508	100%	0.0	100.00%	8947288	CP158578.
V	Pseu domonas aerucinose PA103 chromosome, complete ganoma	Pseudomonas aerugino	2627	10908	100%	0.0	100.00%	6791280	CP157469.

Hình 6. Kết quả tìm kiếm trình tự tương đồng với trình tự 16S rRNA của vi khuẩn CT10

Kết hợp với so sánh trình tự đoạn gene 16S rRNA của CT26 với cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gene của NCBI cho thấy chủng vi khuẩn CT26 có trình tự tương đồng với độ tương đồng đạt 99,85% với các trình tự gene vi khuẩn *Cronobacter sakazakii* (Hình 7).

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Aoc Len	Accession
	Cronobacter sakazakii strain BDCSS027-16S ribosomal RNA pene, partial seque	Cronobacter sakazaki	2529	2529	100%	0.0	99.85%	1453	KU364478.1
~	Cronobacter sekszakti strein NCTC 8156, complete ganome	Cronobacter salesreid	2529	17582	100%	0.0	99.85%	4329295	CP012253.1
	Cronobacter sakazakii strain Crono 884 chromosome, complete genome	Cronobacter sakazaki	2529	17580	100%	0.0	99.85%	4364183	CP060594.1
✓	Cronobacter selezakti strain USDA-ARS-USMARC-54664 chromosome_complet_	Cronobacter salesteid	2529	17665	100%	0.0	99.85%	4249538	CP104108.1
$\checkmark$	Cronobacter sakazakii strain 70402496 ohromosome, comolete genome	Cronobacter sakazaki	2529	17587	100%	0.0	99.85%	4315580	CP093378.1
$\overline{\mathbf{v}}$	Cronobacter sekszekti strein PM495 16S ribosomai RNA gene, partial sequence	Cronobecter sakszekt	2529	2529	100%	0.0	99.85%	1434	KF360282.1
V	Cronobacter sakazakii etrain G4023 chromosome	Cronobacter sakazaki	2529	17578	100%	0.0	99.85%	4380895	CP034340.1
$\overline{\mathbf{v}}$	Cronobader sakszakii shain WJ1185 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Cronobecter sakazaki	2529	2529	100%	0.0	99.85%	1411	KC818188.1

Hình 7. Kết quả tìm kiếm trình tự tương đồng với trình tự 16S rRNA của vi khuẩn CT26

Mặc dù kết quả nghiên cứu này định danh được *Cronobacter sakazakii* và *Pseudomonas aeruginosa* là vi khuẩn có thể gây bệnh vẫn không thể phủ định tiềm năng phân hủy nhựa của hai chủng vi khuẩn này. Asmita et al. (2015) khi nghiên cứu với nhựa polyethylene đã cho kết quả chủng vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* làm giảm trọng lượng nhựa nhiều nhất trong môi trường Bushnell Hass. Trong nghiên cứu của Bae et al. (2021), khi chiết xuất đường tiêu hóa của sâu bột (*Tenebrio molitor*) và phân tích bằng phương pháp metagenomics, mật độ quần thể của *Cronobacter sakazakii* đã tăng 24,70% ở nhóm được tiêu thụ EPS.

### 4. KÉT LUẬN

Từ mẫu đất thu được từ các bãi rác ở địa bàn thành phố Cần Thơ, 2 chủng vi khuẩn được phân lập và tuyển chọn có tiềm năng phân hủy nhựa PS cao nhất với CT10 là Pseudomonas aeruginosa và CT26 là Cronobacter sakazakii trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nghiên cứu này góp phần cung cấp thông tin mang giá trị tham khảo trong quá trình nghiên vi khuẩn trở thành giải pháp xử lý rác thải nhựa trong tương lai, việc nghiên cứu công nghệ xử lý rác thải nhựa bằng vi khuẩn có tiềm năng ứng dụng cao trong bảo vệ môi trường và sức khỏe con người. Tuy nhiên, cần có thêm nhiều nghiên cứu để xác định tính an toàn và hiệu quả của một số chủng vi khuẩn, kết quả cho thấy rằng một số vi khuẩn có tiềm năng được phát hiện nhưng có thể gây tác động không tốt đến sức khỏe con người.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2021). Plastic biodegradatiom: Frontline microbes and their enzymes. *Science of the Total Environment*, 759, 1-16. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143536
- Asmita, K., Shubhamsingh, T., & Tejashree, S. (2015). Isolation of Plastic Degrading Microorganisms from Soil Samples Collected at Various Locations in Mumbai, India. *International Research Journal of Environment* Sciences, 4(3), 77-85.
- Bae, J., Cho, H. W., Jung, H., Park, J., Yun, S., Ha, S., Lee, Y., & Kim, T. J. (2021). Changes in Intestinal Microbiota Due to the Expanded Polystyrene Diet of Mealworms (*Tenebrio molitor*). *Indian J Microbiol*, 61(2), 130-136.
- Gilami, I. E., Sayadi, S., Zouari, N., & Al-Ghouti, M. A. (2023). Plastic waste impact and biotechnology: Exploring polymer degradation, microbial role, and sustainable development implications. *Bioresource Technology Reports*, 24, 1-25.
- Ho, B. T., Roberts, K. T., & Lucas, S. (2018). An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(2), 308-320.
- Hoben, H. J., & Somasegaran, P. (1982).
  Comparision of the Pour, Spread, and Drop Plate Methods for Enumeration of *Rhizobium* spp. in Inoculants Made from Presterilized Peat. *Applied and Environmental Microbiology*, 44: 1246-1247.
- Kim, H. W., Jo, J. H., Kim, Y.-B., Le, T. K., Cho, C. W., Yun, C., & Yeom, S. J. (2021). Biodegradation of polystyrene by bacteria from the soil in common environments. *Journal of Hazardous Materials*, 416.

- Kumar, A. G., Hinduja, M., Sujitha, K., Rajan, N. N., & Dharani, G. (2021). Biodegradation of polystyrene by deep-sea *Bacillus paralicheniformis* G1 and genome analysis. *Science of the Total Environment*, 774, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145002
- Park, W. J., Kim, M., Kim, Y. S., Bae, J., & Kim, J. T. (2023). Biodegradation of polystyrene by intestinal symbiotic bacteria isolated from mealworms, the larvae of *Tenebrio molitor*. *Heliyon*, 9, 1-14. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17352
- Salisu, A., & Maigari, Y. S. (2022). Polystyrene and its recycling: a review. Proceedings of Materials Science and Technology Society of Nigeria (MSN), 195-203.
- Sekhar, V. C., Nampoothiri, K. M., Mohan, A. J., Nair, N. R., Bhaskar, T., & Pandey, A. (2016). Microbial degradation of High Impact Polystyrene (HIPS), an e-plastic with decabromodiphenyl oxide and antimony trioxide. *Journal of Hazardous Materials*,1-26.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M. Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). *16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study*. https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991h
- Xiang, P., Zhang, Y., Zhang, T., Wu, Q., Zhao, C., & Li, Q. (2023). A novel bacterial combination for efficient degradation of polystyrene microplastics. *Journal of Hazardous Materials*, 458, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131856
- Yang, J., Yang, Y., Wu, M. W., Zhao, J., & Jiang, L. (2014). Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms. *Envionmental Science & Technology*, 48, 13776-13784.