

# Phân hủy các hợp chất chống cháy cơ photpho bởi tổ hợp các chủng vi khuẩn phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội

Nguyễn Thị Lan Anh\*, Trần Thị Thu Lan, Phạm Thị Phương, Trần Thị Thu Hiền, Đào Hải Yến

Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 21/7/2023; ngày chuyển phản biện 23/7/2023; ngày nhận phản biện 4/8/2023; ngày chấp nhận đăng 8/8/2023

## Tóm tắt:

Hợp chất chống cháy cơ photpho (OPFRs) bị phân hủy bởi tổ hợp 10 chủng vi khuẩn được phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội bị ô nhiễm các OPFRs. Tổ hợp vi khuẩn được nuôi cấy trên môi trường A-CI có bổ sung riêng lẻ các hợp chất thuộc OPFRs (nồng độ 10 mg/l) cho kết quả mật độ quang ở bước sóng 600 nm nằm trong khoảng 1-1,5. Tổ hợp 10 chủng vi khuẩn này có khả năng phân hủy tris(2-ethylhexyl) phosphate (TEHP) đạt hiệu suất 98,5 và 100% sau 2 và 3 ngày nuôi. Triethyl phosphate (TEP) cũng bị phân hủy 76,1 và 100% sau 2 và 5 ngày nuôi cấy. Hiệu suất phân hủy trimethyl phosphate (TMP), tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TCDPP) và tributoxo ethyl phosphate (TBEP) đạt 97-100% sau 4 ngày nuôi. Trong thí nghiệm bổ sung hỗn hợp 7 chất thuộc OPFRs có nồng độ 10 mg/l mỗi hợp chất, chỉ có TEHP bị phân hủy hoàn toàn sau 6 ngày nuôi. Hiệu suất phân hủy của các OPFRs khác tăng lên từ 93,2 đến 100% sau 6 ngày nuôi. So sánh tốc độ phân hủy các hợp chất thuộc OPFRs ở cả 2 thí nghiệm, kết quả thể hiện mẫu nuôi cấy có bổ sung từng hợp chất riêng lẻ cho tốc độ phân hủy xảy ra nhanh hơn so với khi bổ sung hỗn hợp các OPFRs.

**Từ khóa:** các hợp chất chống cháy cơ photpho (OPFRs), phân hủy, tributoxo ethyl phosphate, triethyl phosphate, tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate, tris(2-chloroethyl) phosphate, tris(2-ethylhexyl) phosphate.

**Chỉ số phân loại:** 1.4, 1.6

## 1. Đặt vấn đề

OPFRs là các hợp chất mà nguyên tử hydro của axit photphoric được thay thế bằng các nhóm thế hydrocarbon khác nhau như aryl, ankyl và ankyl clo hóa. Các hợp chất này có tác dụng ức chế hóa học đối với quá trình đốt cháy và có xu hướng giảm tính dễ cháy của các sản phẩm chứa chúng. Các OPFRs được sử dụng rộng rãi làm chất chống cháy trong các sản phẩm tiêu dùng khác nhau như dệt may, điện tử, vật liệu công nghiệp và đồ nội thất để ngăn ngừa nguy cơ hỏa hoạn. Ngoài ra, chúng cũng được sử dụng trong sản xuất chất làm dẻo, chống tạo bọt hoặc chống mài mòn trong sơn mài, chất lỏng thủy lực và đánh bóng sàn [1]. Các OPFRs đại diện cho một nhóm các hợp chất có phạm vi rộng về độ phân cực, hòa tan và độ bền của chúng. Hiện nay, các hợp chất polybrominated diphenyl ethers (PBDE) đã bị cấm sử dụng trong các ngành công nghiệp do tính bền vững, khả năng tích lũy sinh học trong chuỗi thức ăn dưới nước và trên cạn cũng như độc tính của nó. Do đó, việc sản xuất và sử dụng các OPFRs đã tăng lên đáng kể trong những năm gần đây. Tiêu thụ toàn cầu của các chất chống cháy photpho hữu cơ tăng từ 186.000 tấn năm 2001 lên 680.000 tấn năm 2015, với ước tính tăng hàng năm là 4,6% [2]. Các nước châu Á - Thái Bình Dương (như Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản và Hàn Quốc) tạo thành thị trường khu vực lớn

nhất cho OPFR và chiếm 55% lượng tiêu thụ OPFRs toàn cầu vào năm 2018 [2]. Hầu hết các hợp chất chống cháy (halogen, cơ photpho) được phân tán vật lý và tạo liên kết yếu với vật liệu nền trong quá trình tổng hợp nên chúng dễ dàng được phóng thích vào môi trường thông qua các quá trình bay hơi và biến đổi của vật liệu trong suốt quá trình sử dụng sản phẩm. Do đó, các OPFRs đã được phát hiện trong các môi trường khác nhau, bao gồm không khí trong nhà và bụi, khí quyển, nước thải, nước bề mặt, nước biển, đất, trầm tích và các mẫu sinh học như máu, sữa và nhau thai [3].

Các nghiên cứu gần đây tập trung vào việc đánh giá độc tính của OPFRs và các tác động tiêu cực có thể có của chúng. Con người khi bị nhiễm OPFRs do tiếp xúc qua da, hay qua đường ăn uống sẽ gây ra ảnh hưởng xấu đến sức khỏe như nhiễm độc thần kinh, nhiễm độc tế bào, nhiễm độc gen, rối loạn nội tiết và có tác dụng gây ung thư tiềm tàng ở các sinh vật sống... [4]. Đặc biệt là mối lo ngại về cụm este photphat có chứa nhóm clo của chất chống cháy gồm TCEP, tris(2-chloroisopropyl) phosphate (TCPP) và tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP). Hợp chất TCEP và tri-n-butyl phosphate (TnBP) được báo cáo là có đặc tính gây độc thần kinh sau khi tiếp xúc lâu dài. Ngoài ra, TCEP và TDCPP đã được chứng minh là những chất gây ung thư, trong khi TCPP và TBEP cũng bị nghi ngờ là

\*Tác giả liên hệ: Email: lananh86dn@gmail.com

# Degradation of organophosphate flame retardants by a consortium of bacterial strains isolated from the Tô Lịch river, Hanoi

Thi Lan Anh Nguyen\*, Thi Thu Lan Tran,  
Thi Phuong Pham, Thi Thu Hien Tran, Hai Yen Dao

Institute of Chemistry, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 21 July 2023; revised 4 August 2023; accepted 8 August 2023

## Abstract:

Organophosphate flame retardants (OPFRs) are degraded by a consortium of 10 bacterial strains isolated from the Tô Lịch river, contaminated with OPFRs. The bacterial consortium is cultured in an A-Cl medium supplemented individually with OPFRs (10 mg/l), resulting in optical density at 600 nm ranging from 1 to 1.5. The consortium of 10 bacterial strains exhibits the ability to degrade tris(2-ethylhexyl) phosphate (TEHP) by 98.5 and 100% after two and three days of cultivation, respectively. Triethyl phosphate (TEP) is also degraded by 76.1 and 100% after two and five days of cultivation, respectively. The degradation efficiency of trimethyl phosphate (TMP), tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP), tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TCDPP), and tributoxo ethyl phosphate (TBEP) is also in the range of 97 to 100% after four days of cultivation. In the experiment adding a mixture of 7 substances in OPFRs at a concentration of 10 mg/l for each compound, only TEHP is completely degraded after six days of cultivation. The degradation efficiency of other OPFRs increases from 93.2 to 100% after six days of cultivation. Comparing the degradation rates of OPFRs in both experiments, the results indicate that the cultures supplemented with each compound individually exhibit a faster degradation rate than when a mixture of OPFRs compounds is added.

**Keywords:** degradation, organophosphorus flame retardants (OPFRs), tributoxo ethyl phosphate, triethyl phosphate, tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate, tris(2-chloroethyl) phosphate, tris(2-ethylhexyl) phosphate.

**Classification numbers:** 1.4, 1.6

chất gây ung thư [5]. Nghiên cứu của X. Liu và cs (2012) [6] cho thấy, một số hợp chất OPFR như TDCPP, triphenyl phosphate (TPhP), TCrP có khả năng gây rối loạn nội tiết và có thể ảnh hưởng đến sự cân bằng hormone giới tính.

Do nhu cầu sử dụng các OPFRs ngày càng tăng và ảnh hưởng xấu đến sức khỏe, nên sự xuất hiện của OPFRs đối với môi trường là mối quan tâm lớn đối với các ngành khoa học và công nghiệp trong những năm gần đây. Ngoài ra, các OPFRs thuộc nhóm alkyl clo hóa được coi là những chất gây ô nhiễm bền do khả năng khó phân hủy của chúng. Cho đến nay, một số phương pháp loại bỏ OPFRs đã được nghiên cứu, như quang xúc tác, phản ứng Fenton và sự phân hủy bằng vi sinh vật [7]. Trong các phương pháp nêu trên thì xử lý bằng phương pháp sinh học được xem là một cách tiếp cận phù hợp để loại bỏ các OPFRs không mong muốn một cách hiệu quả, tiết kiệm chi phí và thân thiện với môi trường. Hiện nay, trên thế giới có ít nghiên cứu về các vi sinh vật thuần khiết có khả năng phân hủy các OPFRs. Một số chủng vi khuẩn thuộc chi *Roseobacter*, *Rhodococcus*, *Sphingopyxis* [7], *Sphingomonas*, *Sphingobium* và *Brevibacillus* [8] đã được báo cáo có khả năng phân hủy các OPFRs. Theo các tài liệu tiếp cận được, hiện nay nghiên cứu về khả năng phân hủy các OPFRs bằng vi sinh vật ở Việt Nam còn ít. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá khả năng phân hủy các OPFRs bởi tổ hợp vi khuẩn được phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội bị ô nhiễm các OPFRs.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Các chủng vi khuẩn *Achromobacter* sp. BWTL1, *Pseudomonas* sp. BWTL2, *Bordetella* sp. BWTL3, *Pseudomonas* sp. BWTL4, *Pseudomonas* sp. BWTL5, *Achromobacter* sp. BWTL6, *Rhizobium* sp. BWTL7, *Rhizobium* sp. BWTL8, *Pseudomonas* sp. BWTL9 và *Pseudomonas* sp. BWTL10 được lấy từ bộ sưu tập của Phòng Hóa sinh Môi trường, Viện Hóa học có nguồn gốc được phân lập từ nước thải sông Tô Lịch bị ô nhiễm các OPFRs.

Môi trường A-Cl có thành phần môi trường: glucose 10 g/l,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2 g/l,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0,032 g/l, cao nấm men 0,5 và 1 ml/l dung dịch vi lượng, pH 7. Dung dịch vi lượng bao gồm 500 mg  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 143 mg  $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 22 mg  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 12 mg  $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 3 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 2,3 mg  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  và 2 mg  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  trong 1 l nước cất [9].

Hóa chất: 7 chất tiêu chuẩn chống cháy cơ photpho, gồm TMP, TEP, TEHP, TBEP, TPhP, TCEP và TDCPP được cung cấp bởi Dr. Ehrenstorfer (LCG, Đức). Các chất chuẩn

đồng hành (TEP-d15, phosphoric acid tripropyl ester-d21 phosphoric acid, tributyl ester-d27, triphenyl phosphate-d15 và tris(2-ethylhexyl) phosphate-d51) được cung cấp bởi Toronto Research Chemicals Inc. (Canada). Dung môi phân tích methanol được cung cấp bởi Công ty Merck (Đức). Tất cả các dụng cụ thủy tinh đã được rửa và tráng bằng dung môi trước khi sử dụng. Methanol được sử dụng để chuẩn bị dung dịch hỗn hợp (chứa tất cả các chất phân tích, nồng độ 4.000 mg/l) và dung dịch đường chuẩn (1-100  $\mu$ g/l) được sử dụng trong khi phân tích nồng độ của các OPFRs. Dung dịch gốc hỗn hợp đã chuẩn bị được giữ ở -20°C.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.2.1. Sự phân hủy các OPFRs bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy ở 150 vòng/phút, 30°C trong 24 giờ để tăng sinh khối. Sau đó, dịch nuôi cấy tế bào được ly tâm (6.000 vòng/phút trong 10 phút) và được rửa 3 lần bằng môi trường A-Cl. Dịch nuôi cấy huyền phù (OD<sub>600</sub>~0,2) của 10 chủng vi khuẩn được chuyển sang bình tam giác 250 ml có chứa 80 ml môi trường A-Cl đã bổ sung 10 mg/l OPFRs riêng lẻ (thí nghiệm 1) và hỗn hợp 7 OPFRs với nồng độ 10 mg/l mỗi hợp chất (thí nghiệm 2) là nguồn carbon và photpho để đánh giá sự phân hủy các OPFRs trong 6 ngày nuôi cấy (theo cơ chế đồng trao đổi chất). Mẫu đối chứng chỉ chứa môi trường và các OPFRs có nồng độ như trên. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Mẫu nuôi cấy được lấy tại thời điểm 0, 1, 2, 3, 4, 5 và 6 ngày để xác định nồng độ của các OPFRs và tốc độ sinh trưởng của vi khuẩn dựa trên phương pháp đo mật độ quang ở bước sóng 600 nm (OD<sub>600</sub>) sử dụng máy quang phổ Hitachi UV-2900 (Hitachi, Nhật Bản).

### 2.2.2. Định lượng hợp chất OPFR

Hệ thống UHPLC (UltiMate 3000+, Thermo Scientific, MA, Mỹ) kết hợp với máy quang phổ MS/MS (API 3200), hệ thống sinh học ứng dụng - MDS SCIEX (Mỹ) được sử dụng để phân tích các OPFRs trong nghiên cứu này. Cột HILIC chế độ hỗn hợp Acclaim (2,1×150 mm, 5  $\mu$ m, Thermo Fisher) đã được chọn để tách các chất phân tích mục tiêu. Nhiệt độ buồng cột được duy trì ở 35°C. Pha di động bao gồm 2 kênh, kênh A (nước siêu tinh khiết) và kênh B (acetonitrile). Tốc độ dòng pha động là 0,3 ml/phút. Chương trình gradient dung môi được minh họa như sau: giữ 30% kênh B trong 5 phút đầu tiên, tăng tuyến tính lên 70% kênh B sau 8 phút, tăng nhanh lên 100% kênh B sau 13 phút, sau đó giảm dần xuống chỉ còn 30% kênh B sau 15 phút, duy trì tối đa 20 phút trước khi tiêm mẫu tiếp theo.

Trong máy dò MS/MS, chế độ ion hóa phun điện dương [10] và chế độ giám sát nhiều phản ứng (MRM) đã được sử dụng. Các thông số chính tối ưu bao gồm: điện áp phun ion 5.000 V, áp suất khí va chạm 0,02 MPa, áp suất khí vô bọc 0,18 MPa và áp suất khí phụ 0,22 MPa. Nhiệt độ nguồn được đặt ở 400°C. Phần mềm TraceFinder 4.0 được sử dụng để xử lý tập dữ liệu.

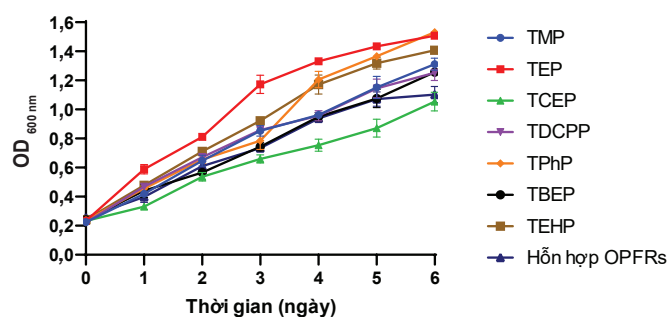
### 2.2.3. Phân tích thống kê

Dữ liệu và phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm GraphPad Prism 8.0.2. Tất cả các thí nghiệm được thực hiện lặp lại 3 lần và biểu thị dưới dạng  $\pm$  độ lệch chuẩn. Phân tích phương sai 1 chiều (ANOVA) được sử dụng để xác định sự khác biệt đáng kể giữa các giá trị, sau đó là thử nghiệm so sánh bội số T3 của Dunnett. Xác suất  $p < 0,05$  được coi là có ý nghĩa thống kê.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Đường cong sinh trưởng của hỗn hợp các chủng vi khuẩn trên môi trường có bổ sung OPFRs

Kết quả ở hình 1 cho thấy, khả năng sinh trưởng của các mẫu nuôi cấy có bổ sung các OPFRs khác nhau và OD<sub>600</sub> đạt 1,05 đến 1,5 sau 6 ngày nuôi cấy. Tuy nhiên, trên môi trường có bổ sung hợp chất TPhP và TEP, hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn sinh trưởng tốt nhất và đạt giá trị mật độ quang ~1,5 sau 6 ngày. Mật độ quang thấp nhất của hỗn hợp các chủng vi khuẩn được quan sát trên môi trường A-Cl có bổ sung thêm hợp chất TCEP đạt giá trị OD<sub>600</sub>=1,054. Hỗn hợp các chủng vi khuẩn nuôi trên các môi trường có bổ sung các OPFRs khác cho mật độ quang nằm trong khoảng từ 1,1 đến 1,4. Trên môi trường A-Cl có bổ sung hỗn hợp các OPFRs, các chủng vi khuẩn phát triển chậm hơn so với mẫu nuôi cấy chỉ bổ sung riêng lẻ từng OPFRs, OD<sub>600</sub> đạt 1,1 sau 6 ngày nuôi cấy (hình 1).



Hình 1. Đường cong sinh trưởng của tổ hợp các chủng vi khuẩn trên môi trường A-Cl có bổ sung các OPFRs.



Trong quá trình phân hủy của từng OPFRs, R. Hou và cs (2021) [11] cũng nhận thấy sinh khối vi sinh vật tăng mạnh với OD<sub>600</sub> khi tăng dần từ 0,1 đến 2,5. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu này, khi thấy có sự tăng trưởng và phát triển của các chủng vi khuẩn sau 6 ngày nuôi cấy trên môi trường có bổ sung các OPFRs. Trong quá trình sinh trưởng vi sinh vật dần thích nghi và sử dụng OPFRs làm nguồn carbon và photpho cho sự tồn tại của chúng. Trong hệ thống trao đổi chất, chất nền để phân hủy được ưu tiên sử dụng làm nguồn năng lượng và nguồn carbon cho sự phát triển của vi sinh vật trước khi các OPFRs cung cấp đủ lượng carbon. Theo đó, quá trình đồng chuyển hóa của OPFRs không halogen hóa và các nguồn hữu cơ bên ngoài có thể tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân hủy các chất ô nhiễm này.

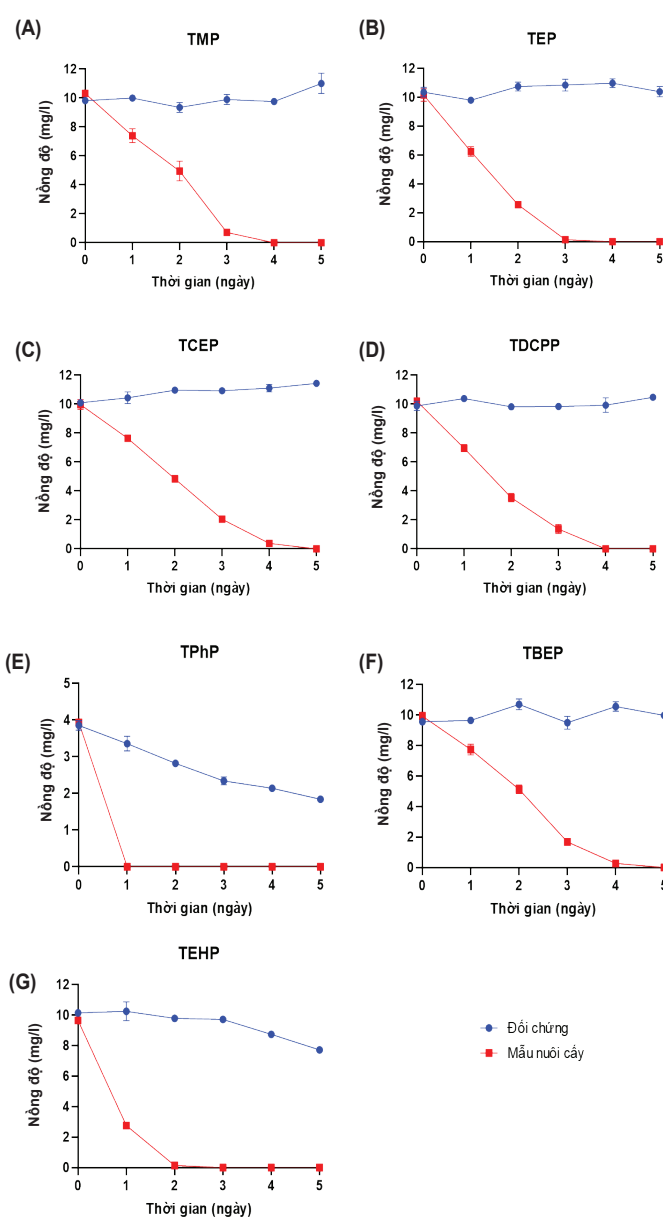
### 3.2. Khả năng phân hủy riêng lẻ các chất thuộc OPFRs bởi tổ hợp các chủng vi khuẩn (thí nghiệm 1)

Khả năng phân hủy mỗi hợp chất OPFRs trong môi trường A-Cl có bổ sung riêng từng loại hợp chất OPFRs (10 mg/l) bởi hỗn hợp 10 vi khuẩn được khảo sát trong 6 ngày nuôi cấy và kết quả thể hiện ở bảng 1 và hình 2. Sau 1 ngày, hiệu suất phân hủy của các hợp chất TMP, TEP, TCEP, TDCPP, TBEP và TEHP bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn còn thấp, trong khi hỗn hợp các chủng vi khuẩn phân hủy TPhP đạt 100%, khác biệt có ý nghĩa so với các OPFRs còn lại (bảng 1 và hình 2). Tuy nhiên, kết quả phân tích ở hình 2 cho thấy, hợp chất TPhP rất dễ bị phân hủy ngay cả khi không có mặt của vi sinh vật (mẫu đối chứng). Sau 2 ngày, hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy TEHP cao nhất đạt 98,5%, tiếp theo là TEP với hiệu suất phân hủy 76,1%. Ở ngày thứ 3, hiệu suất phân hủy TMP, TCEP, TEP, TDCPP, TBEP và TEHP cũng tăng cao (81,2-100%), trong đó hỗn hợp các chủng vi khuẩn phân hủy TEP và TEHP cao nhất đạt lần lượt 98,7 và 100%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với mẫu đối chứng. Khả năng phân hủy các OPFRs của hỗn hợp các chủng vi khuẩn tiếp tục tăng sau 4 ngày nuôi cấy, trong đó TMP, TEP, TDCPP, TPhP và TEHP có hiệu suất phân hủy cao nhất (100%). Tiếp theo là 2 hợp chất TCEP và TBEP cũng đạt hiệu suất phân hủy lần lượt là 97 và 97,3%. Đến ngày thứ 5, sự phân hủy các OPFRs đạt 100% (bảng 1 và hình 2).

**Bảng 1.** Hiệu suất phân hủy các hợp chất OPFRs theo thời gian bởi tổ hợp vi khuẩn.

| Thời gian (ngày) | Hiệu suất phân hủy (%)      |                             |                             |                             |                        |                         |                          |
|------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                  | TMP                         | TEP                         | TCEP                        | TDCPP                       | TPhP                   | TBEP                    | TEHP                     |
| 0                | 0 <sup>a</sup>              | 2                           | 1,3                         | 0,1 <sup>b</sup>            | 0,7                    | 0 <sup>c</sup>          | 4,9 <sup>b,c</sup>       |
| 1                | 26 <sup>a,b,c,d</sup>       | 36,1 <sup>a,c,f,g,h</sup>   | 26,7 <sup>a,i,k,l</sup>     | 33 <sup>a,m,n,o</sup>       | 100 <sup>a,p,q,r</sup> | 19,8 <sup>a,q,r</sup>   | 73 <sup>a,l,o,q,r</sup>  |
| 2                | 48,9 <sup>a,b,c,d,e</sup>   | 76,1 <sup>a,f,g,h,i,k</sup> | 55,8 <sup>a,f,l,m,n,o</sup> | 63,9 <sup>a,g,l,p,q,r</sup> | 100 <sup>a,h,m,p</sup> | 52 <sup>a,i,q</sup>     | 98,5 <sup>a,k,o,r</sup>  |
| 3                | 92,7 <sup>a,b,c,d,e,f</sup> | 98,7 <sup>a,g,h,i</sup>     | 81,2 <sup>a,g,k,l,m</sup>   | 86,1 <sup>a,h,k,n,o</sup>   | 100 <sup>a,i,n,p</sup> | 82,2 <sup>a,i,p,q</sup> | 100 <sup>a,i,m,o,q</sup> |
| 4                | 100                         | 100                         | 97                          | 100                         | 100                    | 97,3                    | 100                      |
| 5                | 100                         | 100                         | 100                         | 100                         | 100                    | 100                     | 100                      |

Các giá trị trung bình trong cùng một ngày theo sau có các ký tự giống nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ .



**Hình 2.** Khả năng phân hủy các chất thuộc OPFRs theo thời gian bởi tổ hợp 10 chủng vi khuẩn.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về tổ hợp chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy hiệu quả cao đối với OPFR clo hóa cũng tương đồng với công bố của S. Takahashi và cs (2010) [9]. Nghiên cứu này đã chứng minh rằng, 2 chủng *Sphingomonas* sp. TDK1 và *Sphingobium* sp. TCM1 có khả năng phân hủy TCEP và TDCPP một cách hiệu quả bằng cách thủy phân các liên kết phosphotriester của chúng, tạo ra 2-chloroethanol (2-CE) và 1,3-dichloro-2-propanol (1,3-DCP) dưới dạng chất chuyển hóa tương ứng từ TCEP và TDCPP. J. He và cs (2023) [12] đã công bố chủng vi khuẩn phân lập *Ochrobactrum tritici* WX3-8 có khả năng phân hủy 75% TEHP sau 104 giờ trong điều kiện tối ưu tại 30°C và

pH 7. Phân tích sâu hơn về con đường trao đổi chất cho thấy, con đường chuyển hóa phân hủy sinh học TEHP có thể là: tri(2-ethylhexyl) phosphate → di(2-ethylhexyl) phosphate → mono(2-ethylhexyl) phosphate → axit photphoric và tạo ra 2-ethylhexanol. Kết quả cho thấy, TEHP được chuyển hóa bởi phản ứng O-dealkyl hóa [12]. 2 mẫu làm giàu từ hỗn hợp các chủng vi khuẩn *Acidovorax* spp., *Sphingomonas* spp. và hỗn hợp của *Acidovorax* spp., *Aquabacterium* spp., *Sphingomonas* spp. có khả năng sử dụng 20  $\mu$ M TCEP và TDCPP như là nguồn photpho duy nhất và phân hủy hoàn toàn trong 6 giờ [13].

### 3.3. Khả năng phân hủy OPFRs bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn (thí nghiệm 2)

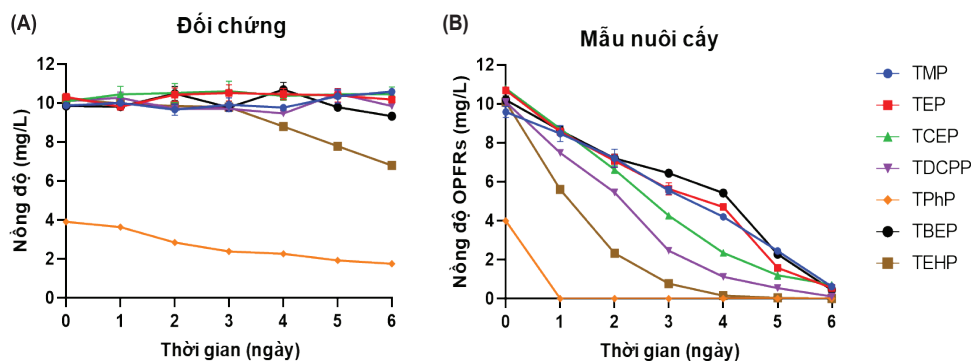
Ở thí nghiệm 2, hỗn hợp cả 7 OPFRs có nồng độ 10 mg/l/mỗi hợp chất được bổ sung cùng lúc vào môi trường nuôi cấy A-Cl để đánh giá sự phân hủy của các OPFRs bởi tổ hợp vi khuẩn. Nhìn chung, hiệu suất phân hủy của tất cả các OPFRs đều tăng sau 6 ngày nuôi cấy (bảng 2 và hình 3). Trong đó, hợp chất TPhP và TEHP cho hiệu suất phân hủy cao nhất sau 1 và 6 ngày nuôi cấy (100%) so với các OPFRs còn lại (bảng 2 và hình 3). Tuy nhiên, kết quả phân tích cho thấy, hợp chất TPhP dễ bị phân hủy ngay cả khi không có mặt của vi sinh vật. Trong môi trường A-Cl có bổ sung hỗn hợp các hợp chất OPFRs, khả năng phân hủy của mỗi hợp chất OPFRs còn thấp sau 1 ngày nuôi cấy, trong đó hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn có khả năng phân hủy TEHP cao hơn các OPFRs còn lại (43,8%). Sau 3 ngày, TEHP đạt hiệu suất phân hủy cao nhất (92,1%), khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các hợp chất OPFRs còn lại. Đến ngày thứ 5, hiệu suất phân hủy của các OPFRs tăng lên (76,2-99,4%), cao nhất là hợp chất TEHP (99,4%) và TDCPP (94,8%). Hiệu suất phân hủy của các hợp chất OPFRs tăng cao sau 6 ngày nuôi cấy, trong đó hợp chất TEHP bị phân hủy cao nhất (100%), khác biệt có ý nghĩa so với hợp chất TMP, TEP, TCEP và TBEP ở mức ý nghĩa  $p < 0,05$ . Sau 6 ngày nuôi cấy, sự phân hủy TMP, TEP, TCEP và TBEP bởi hỗn hợp các chủng vi khuẩn khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (hình 3).

**Bảng 2.** Hiệu suất phân hủy theo thời gian của hỗn hợp các hợp chất OPFRs bởi tổ hợp vi khuẩn.

| Thời gian (ngày) | Hiệu suất phân hủy (%) |                        |                        |                        |                       |                        |                        |
|------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|
|                  | TMP                    | TEP                    | TCEP                   | TDCPP                  | TPhP                  | TBEP                   | TEHP                   |
| 0                | 3,2                    | 0                      | 0                      | 1,4                    | 0                     | 0                      | 1,1                    |
| 1                | 15,2 <sup>abc</sup>    | 12,6 <sup>def</sup>    | 16,4 <sup>ghi</sup>    | 27 <sup>adghlm</sup>   | 100 <sup>behkno</sup> | 12 <sup>hnp</sup>      | 43,8 <sup>cimop</sup>  |
| 2                | 25,3 <sup>abcdef</sup> | 32 <sup>ghik</sup>     | 36,9 <sup>ghimop</sup> | 43,8 <sup>ghlqrs</sup> | 100 <sup>dimgtu</sup> | 31,3 <sup>cortv</sup>  | 76,3 <sup>hpsuv</sup>  |
| 3                | 43,9 <sup>abacde</sup> | 46,5 <sup>fghik</sup>  | 59,7 <sup>afimno</sup> | 74,6 <sup>ghlqrs</sup> | 100 <sup>chmsr</sup>  | 34,1 <sup>dimpnt</sup> | 92,1 <sup>ckoqst</sup> |
| 4                | 56,9 <sup>abacde</sup> | 55 <sup>fghik</sup>    | 77,3 <sup>afimno</sup> | 88,2 <sup>ghlqrs</sup> | 100 <sup>chmps</sup>  | 49,2 <sup>dinqst</sup> | 98,2 <sup>ckort</sup>  |
| 5                | 76,2 <sup>abacde</sup> | 84,7 <sup>afghik</sup> | 88,5 <sup>bklmno</sup> | 94,8 <sup>cikopq</sup> | 100 <sup>dglro</sup>  | 76,7 <sup>hnp</sup>    | 99,4 <sup>cinq</sup>   |
| 6                | 94,1 <sup>abc</sup>    | 94,5 <sup>de</sup>     | 93,2 <sup>fgh</sup>    | 98,8 <sup>st</sup>     | 100 <sup>bqrs</sup>   | 95,3 <sup>ik</sup>     | 100 <sup>chik</sup>    |

Các giá trị trung bình trong cùng một ngày theo sau có các ký tự giống nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ .

Tuy nhiên, khi so sánh với kết quả ở bảng 1 cho thấy, khi được nuôi cấy trong môi trường có bổ sung hỗn hợp của cả 7 hợp chất OPFRs, hiệu suất phân hủy của mỗi hợp chất OPFRs sau 6 ngày nuôi cấy ở thí nghiệm 2 xảy ra chậm hơn so với thí nghiệm 1 chỉ bổ sung riêng từng hợp chất (bảng 1 và bảng 2). Ví dụ từ kết quả ở bảng 1 và 2 cho thấy, sau 3 ngày nuôi cấy, 2 hợp chất OPFRs là TMP và TEP ở thí nghiệm 1 bị phân hủy đạt hiệu suất lần lượt là 92,7 và 98,7%, cao hơn so với hiệu suất phân hủy của 2 hợp chất này ở thí nghiệm 2 (43,9 và 46,5%). Kết quả này có thể là do khi bổ sung hỗn hợp các OPFRs đã làm tăng nồng độ các hợp chất này nên gây ra ức chế tới sinh trưởng của vi khuẩn, do đó làm giá trị OD<sub>600</sub> giảm (hình 1). Theo công bố của L. Pang và cs (2018) [14], tổ hợp các chủng vi khuẩn thuộc chi *Flavobacteria*, *Bacillus*, *Alcaligene* và *Pseudomonas* có thể phân hủy các hợp chất OPE như là TCEP, TCPP, TnBP, TPhP, TBEP có trong bùn thải bằng cả con đường đồng trao



**Hình 3.** Khả năng phân hủy hỗn hợp các hợp chất OPFRs theo thời gian bởi hỗn hợp của 10 chủng vi khuẩn. (A) Mẫu đối chứng không bổ sung vi khuẩn; (B) Mẫu nuôi cấy có bổ sung hỗn hợp 10 chủng vi khuẩn.

đổi chất và khoáng hóa sinh học. Nghiên cứu của Y. Yang và cs (2020) [15] cũng đã chứng minh rằng, *Pseudarthrobacter* và *Sphingopyxis* là các chi chiếm ưu thế trong tổ hợp vi sinh vật trong quá trình phân hủy sinh học TPhP và có khả năng phân hủy 92,2% TPhP hiệu quả trong vòng 4 giờ trong điều kiện tối ưu (pH 7, sinh khối vi khuẩn 1 g/l trọng lượng ướt, 30°C, nồng độ ban đầu TPhP 3  $\mu\text{mol/l}$ ). Do đó, khi sử dụng hỗn hợp các chủng vi khuẩn có thể làm tăng tốc độ phân hủy các OPFRs.

#### 4. Kết luận

Tổ hợp 10 chủng vi khuẩn phân lập từ sông Tô Lịch, Hà Nội bị ô nhiễm các chất OPFRs có khả năng phân hủy cả 7 chất thuộc OPFRs với hiệu suất phân hủy khác nhau. Các mẫu nuôi cấy trên môi trường có bổ sung riêng lẻ từng chất OPFRs cho thấy, tốc độ phân hủy nhanh hơn so với các mẫu nuôi cấy trên môi trường có bổ sung hỗn hợp các chất OPFRs.

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam đánh giá khả năng phân hủy các chất OPFRs bằng tổ hợp các chủng vi khuẩn. Khi sử dụng tổ hợp các chủng vi khuẩn, các chất OPFRs bị phân hủy hoàn toàn trong thời gian ngắn. Dựa vào các kết quả đạt được trong nghiên cứu này, chúng tôi sẽ hướng đến nghiên cứu ứng dụng xử lý các chất ô nhiễm OPFRs trong nước thải ở Việt Nam.

#### LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn đề tài “Nghiên cứu sự phân hủy các hợp chất chống cháy cơ phốt pho từ các chủng vi sinh vật phân lập ở Việt Nam” (mã số VHH.2023.10) do Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam hỗ trợ kinh phí nghiên cứu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] X. Zeng, L. Xu, Q. Hu, et al. (2020), “Occurrence and distribution of organophosphorus flame retardants/plasticizers in coastal sediments from the Taiwan Strait in China”, *Marine Pollution Bulletin*, **151**, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.110843.

[2] S. Lee, H.J. Cho, W. Choi, et al. (2018), “Organophosphate flame retardants (OPFRs) in water and sediment: Occurrence, distribution, and hotspots of contamination of Lake Shihwa, Korea”, *Marine Pollution Bulletin*, **130**, pp.105-112, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2018.03.009.

[3] J. Ding, Z. Xu, W. Huang, et al. (2016), “Organophosphate ester flame retardants and plasticizers in human placenta in Eastern China”, *Sci. Total Environ.*, **554-555**, pp.211-217, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.02.171.

[4] M. Chen, Z. Gan, B. Qu, et al. (2019), “Temporal and seasonal variation and ecological risk evaluation of flame retardants in seawater and sediments from Bohai Bay near Tianjin, China during 2014 to 2017”, *Marine Pollution Bulletin*, **146**, pp.874-883, DOI: 10.1016/j.marpolbul.2019.07.049.

[5] S.H. Brandsma, J.D. Boer, M.J.M.V. Velzen, et al. (2014), “Organophosphorus flame retardants (PFRs) and plasticizers in house and car dust and the influence of electronic equipment”, *Chemosphere*, **116**, pp.3-9, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.02.036.

[6] X. Liu, K. Ji, K. Choi (2012), “Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish”, *Aquat. Toxicol.*, **114-115**, pp.173-181, DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.02.019.

[7] J. Wang, I. Khokhar, C. Ren, et al. (2019), “Characterization and 16S metagenomic analysis of organophosphorus flame retardants degrading consortia”, *J. Hazard. Mater.*, **380**, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120881.

[8] K. Wei, H. Yin, H. Peng, et al. (2018), “Bioremediation of triphenyl phosphate by *Brevibacillus brevis*: Degradation characteristics and role of cytochrome P450 monooxygenase”, *Sci. Total Environ.*, **627**, pp.1389-1395, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.02.028.

[9] S. Takahashi, I. Satake, I. Konuma, et al. (2010), “Isolation and identification of persistent chlorinated organophosphorus flame retardant-degrading bacteria”, *Appl. Environ. Microbiol.*, **76(15)**, DOI: 10.1128/AEM.00506-10.

[10] R. Loos, R. Carvalho, D.C. António, et al. (2013), “EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents”, *Water Research*, **47(17)**, pp.6475-6487, DOI: 10.1016/j.watres.2013.08.024.

[11] R. Hou, Y. Wang, S. Zhou, et al. (2021), “Aerobic degradation of nonhalogenated organophosphate flame esters (OPEs) by enriched cultures from sludge: Kinetics, pathways, bacterial community evolution, and toxicity evaluation”, *Science of The Total Environment*, **760**, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143385.

[12] J. He, Z. Wang, F. Zhen, et al. (2023), “Mechanisms of flame retardant tris(2-ethylhexyl) phosphate biodegradation via novel bacterial strain *Ochrobactrum tritici* WX3-8”, *Chemosphere*, **311**, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.137071.

[13] S. Takahashi, K. Kawashima, M. Kawasaki, et al., (2008), “Enrichment and characterization of chlorinated organophosphate ester-degrading mixed bacterial cultures”, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **106(1)**, pp.27-32, DOI: 10.1263/jbb.106.27.

[14] L. Pang, L. Ge, P. Yang, et al. (2018), “Degradation of organophosphate esters in sewage sludge: Effects of aerobic/anaerobic treatments and bacterial community compositions”, *Data in Brief*, **17**, pp.1030-1035, DOI: 10.1016/j.biortech.2018.01.104.

[15] Y. Yang, H. Yin, H. Peng, et al. (2020), “Biodegradation of triphenyl phosphate using an efficient bacterial consortium GYY: Degradation characteristics, metabolic pathway and 16S rRNA genes analysis”, *Science of The Total Environment*, **713**, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.136598.