

DOI:10.22144/ctu.jvn.2017.121

HIỆU QUẢ PHÂN HỦY HOẠT CHẤT THUỐC TRỪ SÂU PROPOXUR TRONG ĐẤT CỦA DÒNG VI KHUẨN *Paracoccus* SP. P23-7 CỐ ĐỊNH TRONG BÃ CÀ PHÊ

Nguyễn Khởi Nghĩa¹ và Trần Thị Anh Thu²

¹Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Nghiên cứu lúa đồng bằng sông Cửu Long

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/04/2017

Ngày nhận bài sửa: 24/07/2017

Ngày duyệt đăng: 31/10/2017

Title:

Efficacy of the insecticide propoxur biodegradation in soil by *Paracoccus* sp. P23-7 strain immobilized in spent coffee grounds

Từ khóa:

Bã cà phê, chất mang, phân hủy sinh học, propoxur, vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7

Keywords:

Biodegradation, carrier materials, *Paracoccus* sp. P23-7, propoxur, spent coffee grounds

ABSTRACT

The main objective of this study was to evaluate the efficacy of spent coffee grounds as carrier material to immobilize propoxur degrading bacteria strain, *Paracoccus* sp. P23-7 on degradation of propoxur in soil collected from shallot cultivation soil in Vinh Chau, Soc Trang province. Wood biochar and spent coffee grounds were used as two carrier materials to compare their function on immobilization and degradation capacity of propoxur in soil. Cow manure, azolla, milled eggshell and domestic charcoal were materials used to amend into the soil. Soil bacterial and fungal numbers and remained concentration of propoxur in soil were determined at day 0, 1, 3, 5, 7 and 11 of the experiment. The results showed that degradation of propoxur in soil by *Paracoccus* sp. P23-7 was more effective when this bacterial strain was immobilized in spent coffee grounds than in wooden biochar. The treatment amended with 1% milled eggshells (w/w) or 1% biomixture including cow manure, azolla, milled eggshell and domestic charcoal had higher propoxur degradation than other treatments. The results allowed us to conclude that spent coffee grounds could be reutilized as carrier material to immobilize *Paracoccus* sp. P23-7 strain to enhance the degradation of propoxur in soil and degradation result would be even much better if the soil was amended with either 1% milled eggshells or 1% biomixture. These materials can be used as soil amender or soil conditioner to accelerate the efficacy of bioremediation technology in cleaning up the contaminated soil.

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu nhằm đánh giá hiệu quả của bã cà phê làm chất mang thay thế biochar cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 giúp gia tăng tốc độ phân hủy propoxur trong đất trồng hành tím ở Vinh Châu, Sóc Trăng. Biochar và bã cà phê (BCP) là chất mang trong thí nghiệm. Phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trùng và xỉ than tổ ong là vật liệu bổ sung vào đất. Mật số vi khuẩn, nấm và nồng độ propoxur trong đất ở các thời điểm 0, 1, 3, 5, 7, và 11 ngày được thu thập. Kết quả cho thấy dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê cho hiệu quả cao hơn so với biochar trong phân hủy propoxur trong đất. Ngoài ra, nghiệm thức bón vỏ trùng (1%) hoặc hỗn hợp phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trùng và xỉ than (1%) giúp gia tăng hiệu quả và tốc độ phân hủy propoxur bởi dòng *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê so với các nghiệm thức khác. Tóm lại, bã cà phê có thể sử dụng để cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7, giúp gia tăng tốc độ phân hủy propoxur trong đất và kết hợp bón vỏ trùng (1%) hoặc hỗn hợp hữu cơ gồm phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trùng và xỉ than (1%) là một trong những biện pháp tác động nhằm gia tăng tốc độ phân hủy propoxur trong đất.

Trích dẫn: Nguyễn Khởi Nghĩa và Trần Thị Anh Thu, 2017. Hiệu quả phân hủy hoạt chất thuốc trừ sâu propoxur trong đất của dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 52b: 31-40.

1 GIỚI THIỆU

Tiến trình công nghiệp hóa và hiện đại hóa đã sử dụng kim loại nặng cũng như các độc chất hữu cơ tổng hợp dẫn đến vấn đề ô nhiễm môi trường đất (Akhtar *et al.*, 2003; Bayat and Cappello, 2015). Việc ô nhiễm môi trường đất bởi các sản phẩm dầu khoáng, hợp chất dược phẩm, chloro và nitrophenol, các hợp chất PHAs, thuốc nhuộm hữu cơ, thuốc trừ sâu và kim loại nặng đang diễn biến phức tạp và nghiêm trọng. Những độc chất này đi vào môi trường bằng nhiều cách khác nhau. Tại nạn dầu, sự rò rỉ và tràn dầu đã dẫn đến việc ô nhiễm dầu khoáng trầm trọng trong hệ sinh thái (Chatterjee and Lefcovitch, 2010; Lade *et al.*, 2015). Ngoài ra, thuốc bảo vệ thực vật là một nguồn ô nhiễm khác chiếm một lượng lớn trong tổng độc chất hiện diện trong đất. Khoảng 2,36 triệu tấn thuốc bảo vệ thực vật được tiêu thụ hàng năm trên toàn cầu cho hoạt động nông nghiệp (Moreno-Medina *et al.*, 2014). Các hợp chất thuốc bảo vệ thực vật này được sử dụng trong một thời gian dài ở một diện tích nhất định dẫn đến sự xáo trộn về thành phần sinh vật bản địa và ảnh hưởng đến sức khỏe con người do thuốc bảo vệ thực vật thường có độ độc cao không chỉ cho đối tượng phòng trị mà còn độc cho cả đối tượng không phòng trị (Roberts and Karr, 2012; Mesnage *et al.*, 2014). Thêm vào đó, nhiều sản phẩm phân hủy trung gian trong tiến trình phân hủy sinh học thuốc bảo vệ thực vật cũng gây độc, ví dụ, sản phẩm trung gian của parathion và 2,4-dichloropenoxy acetic acid lần lượt cho ra sản phẩm trung gian là p-nitrophenol and 2,4-dichlorophenol (Liu *et al.*, 2007; Herrera *et al.*, 2008; Wojcieszyska *et al.*, 2008). Nhiều báo cáo cho thấy nhiều vi sinh vật có khả năng phân hủy sinh học nhiều độc chất khác nhau trong đất. Tuy nhiên, tốc độ phân hủy sinh học phụ thuộc rất nhiều vào giai đoạn sinh lý của vi sinh vật, trong khi vi sinh vật rất nhạy cảm với sự biến động của các yếu tố môi trường (Kaczorek *et al.*, 2013; Lade *et al.*, 2015).

Việc cố định vi sinh vật trong chất mang được biết đến như là biện pháp hữu hiệu trong việc giúp vi sinh vật chống lại sự thay đổi bất lợi của điều kiện môi trường (Wasilkowski *et al.*, 2014; Wojcieszyska *et al.*, 2013). Hiện tại, ngày càng có nhiều nghiên cứu chứng minh hiệu quả của phương pháp cố định tế bào vi sinh vật bằng chất mang giúp gia tăng tiến trình xử lý sinh học đất ô nhiễm với độc chất hữu cơ. Việc cố định vi sinh vật được xem là biện pháp nhằm giới hạn khả năng di động của tế bào vi sinh vật tự do và enzyme tham gia vào tiến trình phân hủy độc chất, đồng thời bảo

toàn khả năng sống sót của vi sinh vật và các chức năng tham gia vào tiến trình phân hủy độc chất của enzyme (Kourkoutas *et al.*, 2004; Guzik *et al.*, 2014a; Guzik *et al.*, 2014b; Guzik *et al.*, 2014c). Tiến trình này có thể sử dụng bản chất tự nhiên của vi sinh vật để hình thành biofilm trên bề mặt chất mang và biofilm thường được tìm thấy rất nhiều trong môi trường tự nhiên. Việc dùng công nghệ cố định vi sinh vật bằng chất mang giúp giảm chi phí đáng kể trong tiến trình xử lý sinh học và gia tăng hiệu lực xử lý độc chất. Phương pháp này mang đến nhiều ưu điểm cho việc xử lý sinh học đất ô nhiễm như gia tăng hiệu quả phân hủy độc chất, cho phép kết hợp nhiều tác nhân xúc tác sinh học lại với nhau và giảm được chi phí trong tiến trình chuẩn bị vi sinh vật. Các nghiên cứu trước đây cho thấy biochar còn có chức năng như một giá thể của sự sống nhằm bảo vệ vi sinh vật khỏi sự tấn công của các sinh vật khác (Pleasant, 2000). Do đó, biochar được đề nghị sử dụng như là chất mang dùng cho việc chủng vi sinh vật có lợi vào trong đất, trong đó có vi sinh vật phân hủy hiệu quả thuốc bảo vệ thực vật. Ngoài ra, nghiên cứu của Nguyễn Khởi Nghĩa và *ctv.* (2015a và 2015b) cho thấy việc cố định dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 vào trong chất mang biochar gỗ giúp gia tăng phân hủy sinh học hoạt chất thuốc trừ sâu propoxur trong môi trường nuôi cấy lỏng và đất rất hiệu quả khi so với biện pháp chủng tế bào tự do. Tuy nhiên, biochar là vật liệu đất tiền và không dễ dàng sản xuất, việc tìm ra một vật liệu hữu cơ thay thế biochar nhưng có cùng chức năng, rẻ tiền và dễ tìm là cần thiết. Bã cà phê được xem như là một vật liệu có thể đáp ứng được các yêu cầu này. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá và so sánh hiệu quả của biochar và bã cà phê như là vật liệu hữu cơ làm chất mang để cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 lên tốc độ phân hủy hoạt chất thuốc trừ sâu propoxur trong đất và tìm ra biện pháp tác động giúp gia tăng tốc độ phân hủy Propoxur trong đất.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Thí nghiệm 1: So sánh hiệu quả của hai chất mang biochar và bã cà phê dùng cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 lên khả năng phân hủy hoạt chất propoxur trong môi trường đất

2.1.1 Nguồn vi khuẩn

Dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 phân hủy chuyên biệt và hiệu quả hoạt chất thuốc trừ sâu propoxur được phân lập từ mẫu đất trong kho bảo quản hành tím tại khu vực canh tác hành tím ở Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng (Đỗ Hoàng Sang và *ctv.*, 2014) được trữ trong tủ đông.

2.1.2 Nguồn biochar và cách chuẩn bị biochar cho thí nghiệm

Biochar rác đô thị được cung cấp từ công ty sản xuất Biochar (Vina Energy Group, thành phố Hồ Chí Minh) (tham khảo Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv., 2015a về cách chuẩn bị biochar cho thí nghiệm).

2.1.3 Nguồn bã cà phê và cách chuẩn bị bã cà phê cho thí nghiệm

Bã cà phê được thu gom từ quán cà phê trong khu vực thành phố Cần Thơ. Bã cà phê sau khi thu về được rửa dưới vòi nước 6 lần. Mục đích của việc rửa bã cà phê trước khi bố trí thí nghiệm là nhằm loại bỏ màu đen của bã cà phê giúp cho việc quan sát sự phát triển vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do trong môi trường nuôi cấy lỏng ở nghiệm thức bổ sung bã cà phê dễ dàng. Bã cà phê sau khi rửa sạch được sấy khô kiệt ở 105°C qua đêm, sau đó, được sàng qua rây 2 mm. Lượng bã cà phê nằm trên rây được dùng để bố trí thí nghiệm. Cần 0,5 g (trọng lượng khô) bã cà phê cho mỗi nghiệm thức vào giấy nhôm, tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút.

2.1.4 Cách chuẩn bị nguồn vi khuẩn dạng tế bào tự do

Đòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 được nuôi trong bình tam giác 100 mL chứa 30 mL dung dịch GYE trên máy lắc tròn với tốc độ 100 vòng.phút⁻¹ trong 5 ngày và trong tối. Thành phần của môi trường GYM trong 1 L dung dịch bao gồm: 10 g glucose và 10 g yeast extract. Sau đó, sinh khối vi khuẩn được thu hoạch bằng cách ly tâm 10.000 vòng.phút⁻¹ trên máy ly tâm trong 5 phút. Lặp lại 4 lần rửa với nước khử khoáng tiệt trùng nhằm loại bỏ hoàn toàn dinh dưỡng và nguồn carbon còn sót lại trong môi trường nuôi cấy. Hiệu chỉnh độ đục của dung dịch chứa vi khuẩn với nước khử khoáng tiệt trùng bằng máy đo quang phổ về OD 600 nm = 0,7 (3x10⁸ CFUs x mL⁻¹) (tham khảo Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv., 2015a cho phương pháp xác định mật số vi khuẩn trước khi bố trí thí nghiệm).

2.1.5 Cách chuẩn bị vi khuẩn cố định trong biochar và bã cà phê

Quy trình chuẩn bị biochar và bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 được thực hiện như sau: 0,5 g biochar và bã cà phê (trọng lượng khô) sau khi được rửa sạch, sấy khô ở trong tủ sấy 105°C qua đêm và tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút trong máy tiệt trùng ướt, sau đó cho vào bình tam giác tiệt trùng 100 mL chứa 24 mL dung dịch khoáng tối thiểu bổ sung 30 ppm propoxur (sản phẩm của Dr. Ehrenstorfer GmbH, Đức), và 1 mL dung dịch vi khuẩn đã được chuẩn bị sẵn ở mục 2.1.4 có mật số 3x10⁸ CFUs x mL⁻¹. Thành phần

của môi trường khoáng tối thiểu trong 1 L dung dịch, quy trình thu biochar/xi than chứa vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 và quy trình đếm mật số vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong biochar và bã cà phê tham khảo Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015a).

2.1.6 Bố trí thí nghiệm

Mẫu đất:

Mẫu đất dùng cho bố trí thí nghiệm được thu thập từ nền đất có thời gian canh tác hành tím 30 năm tại xã Vĩnh Hải, thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. Cách xử lý mẫu đất và một số đặc tính lý hóa học đất đầu vụ tham khảo Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015a).

Nghiệm thức thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức và kéo dài trong 11 ngày dưới điều kiện phòng thí nghiệm. Nồng độ ban đầu của Propoxur là 80 mg.kg⁻¹, lượng đất của mỗi lặp lại tương ứng 50 g tính theo trọng lượng khô kiệt. Tổng mật số vi khuẩn của mẫu đất trước khi bố trí thí nghiệm đạt 0,21 x 10⁷ CFUs/g đất. Thí nghiệm có tổng cộng 6 nghiệm thức như sau:

- (1) 50 g đất + 80 mg.kg⁻¹ propoxur
- (2) 50 g đất + 80 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5g biochar + 0,5g bã cà phê
- (3) 50 g đất + 80 mg.kg⁻¹ propoxur + vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do (0,22x10⁶ CFUs/g đất)
- (4) 50 g đất + 80 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5g bã cà phê + vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 tự do (0,22x10⁶ CFUs/g đất)
- (5) 50 g đất + 80 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,23x10⁴ CFUs/1 g bã cà phê)
- (6) 50 g đất + mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5g biochar cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,17x10⁴ CFUs/1 g biochar)

Quy trình thực hiện thí nghiệm: Tham khảo Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015a).

Chỉ tiêu theo dõi:

Trong thời gian thí nghiệm một số chỉ tiêu được theo dõi như sau: Mật số vi khuẩn, nấm trong đất và nồng độ hoạt chất Propoxur còn lại trong đất vào các thời điểm 0, 1, 3, 5, 7, 9 và 11 ngày thí nghiệm. Tham khảo Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015a) cho phương pháp xác định mật số vi khuẩn, nấm và nồng độ Propoxur còn lại trong đất.

2.2 Thí nghiệm 2: Đánh giá và so sánh hiệu quả của các biện pháp tác động lên khả năng phân

hủy hoạt chất propoxur trong đất bởi dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê

Nguồn vi khuẩn, nguồn bã cà phê và cách chuẩn bị bã cà phê cho thí nghiệm, cách chuẩn bị nguồn vi khuẩn dạng tế bào tự do, cách chuẩn bị vi khuẩn cố định trong bã cà phê tham khảo mục 2.1.1, 2.1.3, 2.1.4 và 2.1.5.

2.2.1 Bố trí thí nghiệm

Mẫu đất: Thu mẫu và chuẩn bị tương tự như thí nghiệm 1 mục 2.1.6.

Các vật liệu hữu cơ:

Các vật liệu hữu cơ dùng trong thí nghiệm gồm phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trứng và xỉ than tổ ong. Cách chuẩn bị cho từng vật liệu được mô tả như sau:

Bèo hoa dâu: Bèo hoa dâu được thu hoạch từ các bể nuôi bèo, rửa sạch dưới vòi nước, để ráo nước, trộn đều và xác định ẩm độ trước khi bố trí thí nghiệm.

Phân bò: Phân bò được thu từ trại nuôi bò sữa trong khu vực Tp. Cần Thơ. Phân bò hoai mục, nghiền nhỏ, trộn đều và xác định ẩm độ trước khi bố trí thí nghiệm.

Vỏ trứng: Vỏ trứng được thu từ các xe bán bánh mì trong khu vực Tp. Cần Thơ. Vỏ trứng sau khi thu được rửa sạch dưới vòi nước, phơi khô, nghiền mịn và xác định ẩm độ trước khi bố trí thí nghiệm.

Xỉ than tổ ong: Xỉ than tổ ong được thu thập trong khu vực Tp. Cần Thơ. Mẫu sau khi thu được phơi khô, nghiền, sàng qua rây với kích thước 2 mm, trộn đều và xác định ẩm độ trước khi bố trí thí nghiệm.

Cả 4 vật liệu trên được phân tích thành phần hóa học như: pH, EC, CHC, N, tỉ lệ C/N, P, K, Ca, Mg và Na tổng số. Riêng xỉ than tổ ong phân tích thêm thành phần kim loại nặng như: Pd, Cd, As, Cu và Zn.

Nghiệm thức thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí trong điều kiện phòng thí nghiệm theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại cho mỗi nghiệm thức và được kéo dài trong 11 ngày. Nồng độ ban đầu của propoxur là 105 mg.kg⁻¹, lượng đất cho mỗi lặp lại tương ứng 50 g tính theo trọng lượng khô kiệt. Tổng mật số vi khuẩn của mẫu đất trước khi bố trí thí nghiệm đạt 0,96x10⁷ CFUs/g đất. Thí nghiệm tổng cộng có 8 nghiệm thức như sau:

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5 g hỗn hợp gồm phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trứng và xỉ than tổ ong theo tỉ lệ: 1:1:1:1

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5 g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,25x10⁴ CFUs/g bã cà phê)

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5 g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,25x10⁴ CFUs/g bã cà phê) + 0,5 g phân bò

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ Propoxur + 0,5 g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,25x10⁴ CFUs/g bã cà phê) + 0,5 g bèo hoa dâu

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5 g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,25x10⁴ CFUs/g bã cà phê) + 0,5 g vỏ trứng

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5 g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,25x10⁴ CFUs/g bã cà phê) + 0,5 g xỉ than tổ ong

50 g đất + 105 mg.kg⁻¹ propoxur + 0,5 g bã cà phê cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 (0,25x10⁴ CFUs/g bã cà phê) + 0,5 g hỗn hợp gồm phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trứng và xỉ than tổ ong theo tỉ lệ: 1:1:1:1

Quy trình thực hiện thí nghiệm

Cân 45 g đất (trọng lượng khô kiệt) đã lược qua rây 2x2 mm cho vào chai nắp xanh 250 mL tiệt trùng. Tiếp theo cân 0,5 g (trọng lượng khô kiệt) của các vật liệu hữu cơ bổ sung gồm phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trứng và xỉ than tổ ong (theo trọng lượng khô kiệt) (đã chuẩn bị ở mục 2.2.1 theo từng nghiệm thức riêng biệt tương đương với 1% (w/w) của đất thí nghiệm. Sau đó, trộn đều đất và các vật liệu hữu cơ bằng muỗng chuyên biệt (spatula) trong 2 phút. Một lượng 5 g đất còn lại cho vào beaker và được đem sấy khô kiệt trong tủ sấy ở nhiệt độ 105°C qua đêm. Các bước tiếp theo trong quy trình thực hiện thí nghiệm tham khảo mục 2.1.6.

Chỉ tiêu theo dõi

Trong thời gian thí nghiệm một số chỉ tiêu được theo dõi như sau: Mật số vi khuẩn vào các thời điểm: 0, 1, 3, 5, 7, 9, và 11 ngày thí nghiệm và nồng độ hoạt chất Propoxur còn lại trong đất vào các thời điểm 0, 1, 3 và 5 ngày thí nghiệm. Tham khảo mục 2.1.6 cho phương pháp đếm mật số vi khuẩn và phương pháp xác định nồng độ Propoxur trong mẫu đất ở thời gian thí nghiệm.

2.3 Phương pháp xử lý và thống kê số liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 16 theo phân tích ANOVA của phép thử Turkey.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Thành phần hóa học của một số vật liệu hữu cơ dùng trong thí nghiệm

Kết quả phân tích một số đặc tính hóa học của các vật liệu hữu cơ dùng trong thí nghiệm được

trình bày trong Bảng 1 cho thấy bã cà phê và phân bò là hai vật liệu có hàm lượng chất hữu cơ cao nhất lần lượt là 73,9 và 34,2 %, phù hợp làm phân bón hữu cơ cho đất. Ngoài ra, vỏ trứng cũng có chức năng như là một dạng phân vô cơ có tác dụng cải tạo đất tốt do có hàm lượng canxi tổng số rất cao (2,95%) và xỉ than có thể dùng làm chất cải tạo đất an toàn vì các thành phần kim loại nặng trong xỉ than thấp hơn so với ngưỡng gây độc.

Bảng 1: Đặc tính hóa học của một số vật liệu hữu cơ dùng trong thí nghiệm

Vật liệu	CHC (%)	C _{ts} (%)	N _{ts} (%)	P _{ts} (%)	K _{ts} (%)	Ca _{ts} (%CaO)	Mg _{ts} (%MgO)
Bèo hoa dâu	13,6	8,74	0,84	0,26	0,15	0,09	0,20
Bã cà phê	73,9	45,1	2,99	0,52	1,16	0,25	0,78
Vỏ trứng	11,2	2,95	0,87	0,36	0,11	19,9	1,43
Phân bò	34,2	21,9	1,63	1,80	0,85	0,82	2,20
Xỉ than	12,7	1,52	0,07	0,35	1,53	0,01	0,69

Vật liệu	Na _{ts} (%Na ₂ O)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	As (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)
Bèo hoa dâu	0,12	x	x	x	x	x
Bã cà phê	0,44	x	x	x	x	x
Vỏ trứng	0,25	x	x	x	x	x
Phân bò	0,47	x	x	x	x	x
Xỉ than	0,65	0,55	0,46	13,2	24,6	120

3.2 Thí nghiệm 1: So sánh hiệu quả của hai chất mang biochar và bã cà phê dùng cố định vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 lên khả năng phân hủy hoạt chất propoxur trong môi trường đất

3.2.1 Diễn biến mật số vi khuẩn trong đất giữa các nghiệm thức theo thời gian thí nghiệm

Kết quả diễn biến mật số vi khuẩn trong đất giữa các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm được trình bày ở Bảng 2. Nhìn chung, mật số vi khuẩn trong đất ở các nghiệm thức vào các thời điểm lấy mẫu khá cao. Mật số vi khuẩn trong các nghiệm thức có xu hướng tăng nhanh vào giai đoạn từ 0 ngày đến 5 ngày thí nghiệm, sau đó mật số vi

khảo giảm dần cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Tuy nhiên, mật số vi khuẩn ở các ngày thu mẫu cao nhất ở hai nghiệm thức có bổ sung 1% bã cà phê và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Kết quả trên cho thấy việc bổ sung 1% bã cà phê (dựa theo trọng lượng đất) vào đất giúp gia tăng mật số vi khuẩn trong đất có thể giải thích là do bã cà phê có khả năng bổ sung thêm cho vi sinh vật đất nguồn dinh dưỡng thiết yếu đặc biệt là nguyên tố đạm, đồng thời bã cà phê còn giúp tăng độ thoáng khí trong môi trường đất. Kết quả này tương tự như kết quả nghiên cứu của Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015c).

Bảng 2: Diễn biến mật số vi khuẩn trong đất giữa các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm (log CFU/g đất, n=3)

Nghiệm thức	Thời gian thí nghiệm (ngày)						
	0	1	3	5	7	9	11
ĐC	6,35	6,73b	6,9c	8,05c	8,5a	6,77c	6,86b
Biochar (1%) + BCP (1%)	6,35	7,23a	8,19a	8,25bc	8,84a	7,47a	7,57a
<i>Paracoccus</i> sp. P23-7 tự do	6,35	6,48c	6,89c	7,42d	8,76a	7,48a	6,93b
<i>Paracoccus</i> sp. P23-7 tự do + BCP (1%)	6,35	7,21a	8,09a	8,76a	8,08b	7,23b	7,79a
BCP (1%) cố định <i>Paracoccus</i> sp. P23-7	6,35	7,04a	7,28b	8,14c	8,87a	6,96c	7,87a
Biochar (1%) cố định <i>Paracoccus</i> sp. P23-7	6,35	7,17a	6,9c	8,39b	7,1c	6,84c	7,81a
F		*	*	*	*	*	*
Cv (%)		4,23	7,78	5,18	7,8	4,26	5,97

Ghi chú: ĐC: đối chứng; BCP: bã cà phê và trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.2.2 *Diễn biến mật số nấm trong đất giữa các nghiệm thức theo thời gian thí nghiệm*

Kết quả diễn biến mật số nấm trong đất giữa các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm được trình bày ở Bảng 3 cho thấy mật số nấm trong đất ở tất cả các nghiệm thức đều tăng rất nhanh ở thời điểm từ 1 đến 3 ngày thí nghiệm, sau đó, tăng nhẹ vào thời điểm 3 đến 7 ngày và giảm dần cho đến

khi kết thúc thí nghiệm. Tuy nhiên, mật số nấm ở các ngày thu mẫu cao nhất ở hai nghiệm thức có bổ sung 1% bã cà phê và khác biệt ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Kết quả trên một lần nữa cho thấy việc bổ sung 1% bã cà phê (dựa theo trọng lượng đất) vào đất không những giúp gia tăng mật số vi khuẩn trong đất mà còn giúp gia tăng mật số nấm.

Bảng 3: Diễn biến mật số nấm trong đất giữa các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm (log CFU/g đất, n=3)

Nghiệm thức	Thời gian thí nghiệm (ngày)						
	0	1	3	5	7	9	11
ĐC	0	0	0d	0e	0d	4.19c	4.36c
Biochar (1%) + BCP (1%)	0	0	5.39a	5.69a	5.89a	5.60a	5.36a
<i>Paracoccus</i> sp. P23-7 tự do	0	0	3.60c	3.60d	3.60c	4.19c	4.54bc
<i>Paracoccus</i> sp. P23-7 tự do + BCP (1%)	0	0	5.66a	5.79a	5.94a	5.34a	5.33a
BCP (1%) cố định <i>Paracoccus</i> sp. P23-7	0	0	4.02b	5.06b	5.06b	4.54b	5.06ab
Biochar (1%) cố định <i>Paracoccus</i> sp. P23-7	0	0	4.19b	4.87c	4.60b	4.12c	4.15c
F			*	*	*	*	*
Cv (%)			18.45	16.27	18.19	13.19	10.92

Ghi chú: ĐC: đối chứng; BCP: bã cà phê và trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.2.3 *Khả năng phân hủy hoạt chất propoxur trong đất ở các nghiệm thức thí nghiệm*

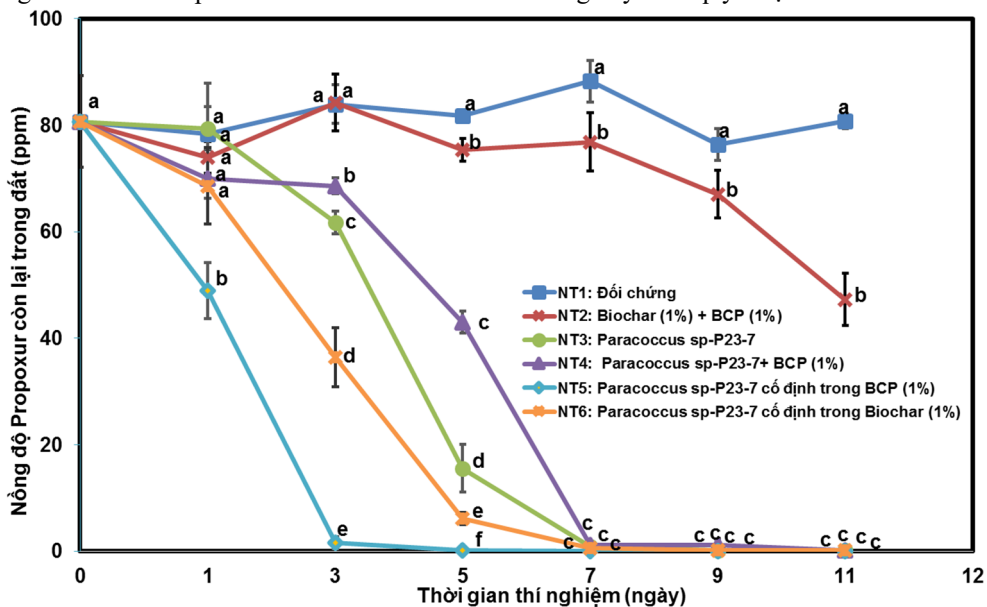
Kết quả về sự phân hủy hoạt chất propoxur trong môi trường đất ở các nghiệm thức thí nghiệm được thể hiện trong Hình 1 cho thấy khả năng phân hủy propoxur trong môi trường đất có sự khác nhau giữa các nghiệm thức thí nghiệm và có xu hướng giảm dần theo thời gian thí nghiệm. Nghiệm thức 1 (Đối chứng) và nghiệm thức 2 (Bổ sung 1% Biochar + 1% bã cà phê) có nồng độ propoxur còn lại trong đất cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại có chủng dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 ở dạng tự do hay cố định. Sau 1 ngày thí nghiệm chỉ duy nhất nghiệm thức 5 (Chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1% bã cà phê) có nồng độ propoxur trong đất còn lại là 48,97 ppm, chiếm 39% tổng nồng độ hoạt chất propoxur ban đầu bị phân hủy. Vào thời điểm 7 ngày thí nghiệm, các nghiệm thức có chủng dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 dưới dạng tự do hay cố định nồng độ propoxur trong đất đều đạt dưới ngưỡng phát hiện của máy HPLC. Tóm lại, kết quả nghiên cứu cho thấy việc chủng dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 ra ngoài môi trường đất nhằm xử lý sinh học hoạt chất propoxur bằng chất mang bã cà phê sẽ cho hiệu quả cao hơn so với chủng bằng chất mang biochar và việc bổn 1% biochar và 1% bã cà phê cũng có tác dụng kích thích làm gia tăng khả năng phân hủy độc chất propoxur trong đất bởi vi sinh vật bản địa.

Nghiệm thức đối chứng có nồng độ propoxur cao hơn và khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5% so với nghiệm thức có bổn 1% bã cà phê và 1% biochar ở tất cả thời điểm thu mẫu. Điều này cho thấy có thể có sự hấp thu một lượng đáng kể nào đó của propoxur bởi bã cà phê và biochar. Tuy nhiên, theo kết quả nghiên cứu của Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015a) cho thấy biochar không hấp phụ propoxur trong đất. Như vậy, rõ ràng, chỉ có bã cà phê là vật liệu có khả năng hấp phụ propoxur trong đất ở thí nghiệm này. Tuy nhiên, cũng cần có nghiên cứu tiếp theo kiểm tra lại giả thuyết này. Bên cạnh đó, cũng không loại trừ khả năng vật liệu bã cà phê không hấp phụ propoxur trong đất. Việc giảm nồng độ propoxur trong đất ở nghiệm thức bổn bã cà phê và biochar là do vi sinh vật ở nghiệm thức này được hoạt động tốt hơn do được cung cấp nguồn dinh dưỡng từ bã cà phê và biochar, do đó, việc phân hủy hoạt chất propoxur được cải thiện đáng kể so với nghiệm thức đối chứng.

Ngoài ra, các nghiệm thức chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 vào trong đất ở dạng tự do mặc dù có cải thiện đáng kể tốc độ phân hủy thuốc trừ sâu propoxur trong đất so với các nghiệm thức không chủng vi khuẩn, nhưng hiệu quả kém hơn so với các nghiệm thức chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 vào trong đất dưới dạng chất mang (bã cà phê và biochar). Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Nguyễn Khởi Nghĩa và ctv. (2015a) và được giải thích là do khi vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 phân hủy chuyên biệt

propoxur cố định trong biochar/bã cà phê đã tạo ra một hệ vi sinh vật sống chung với nhau, giúp chúng tạo ra một lực tổng hợp tất cả các vi khuẩn cố định trong biochar/bã cà phê lại với nhau để kéo propoxur tự do trong dịch đất bằng lực hút khuếch tán nhằm chuyển khối lượng propoxur hướng đến biochar/bã cà phê, vì vậy, propoxur hữu dụng di chuyển về phía biochar/bã cà phê nhanh hơn so với từng tế bào vi khuẩn tự do trong môi trường đất và dẫn đến tốc độ phân hủy propoxur ở nghiệm thức chúng vi khuẩn bằng cách cố định trong biochar/bã cà phê cao hơn rất nhiều so với các nghiệm thức khác. Điều này cũng được chứng minh bởi các nghiên cứu trước đây của Grundmann *et al.* (2007) và Wang *et al.* (2010). Ngoài ra, hệ vi khuẩn cố định trong biochar/bã cà phê có thể đã hình thành

biofilm, giúp bảo vệ vi khuẩn trong biochar/bã cà phê sống sót tốt hơn trong những điều kiện bất lợi của môi trường như thiếu dinh dưỡng, thay đổi pH hoặc những yếu tố khác vì chúng tận dụng sự hợp tác và cộng sinh lẫn nhau nhằm giúp nhau tồn tại và phát triển một cách bền vững trong hệ vi sinh vật (Wang *et al.*, 2010). Tuy nhiên, bã cà phê dùng làm chất mang chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 vào trong đất có hiệu quả cao hơn so với vật liệu biochar, điều này có thể giải thích là do trong bã cà phê có các đặc điểm về lý và hóa tính phù hợp cho vi sinh vật cư trú, sinh trưởng và phát triển tốt hơn so với vật liệu biochar, trong đó có thể các yếu tố gồm kích thước lỗ hổng, pH và nguồn dinh dưỡng thiết yếu cho vi sinh vật của vật liệu chất mang là yếu tố quyết định nhất.



Hình 1: Nồng độ hoạt chất propoxur còn lại trong đất ở các nghiệm thức thí nghiệm (n=3, độ lệch chuẩn)

Ghi chú: Thống kê so sánh các nghiệm thức với nhau trong cùng 1 ngày thu mẫu và trong cùng một cột, các chữ số có mẫu tự theo sau giống nhau thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.3 Thí nghiệm 2: Đánh giá và so sánh hiệu quả của các biện pháp tác động lên khả năng phân hủy hoạt chất propoxur trong đất bởi dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê

3.3.1 Sự phát triển của mật số vi khuẩn trong đất giữa ở các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm

Kết quả diễn biến mật số vi khuẩn trong đất giữa các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm được trình bày ở Bảng 4 cho thấy mật số vi khuẩn đất ở tất cả các nghiệm thức vào các thời điểm lấy

mẫu khá cao. Mật số vi khuẩn tăng lên nhanh sau 1 ngày thí nghiệm, sau đó tăng chậm vào thời điểm 3 ngày và cuối cùng là giảm dần sau 3 ngày cho đến kết thúc thí nghiệm. Vào thời điểm 1 ngày thí nghiệm, mật số vi khuẩn ở hai nghiệm thức: Nghiệm thức 5 (Chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1% bã cà phê + 1% bèo hoa dâu) và nghiệm thức 6 (Chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1% bã cà phê + 1% vỏ trứng) cao nhất và khác biệt thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Như vậy, việc bón bèo hoa dâu và vỏ trứng giúp gia tăng mật số vi khuẩn đất sau 1 ngày thí nghiệm.

Bảng 4: Diễn biến mật số vi khuẩn trong đất giữa các nghiệm thức trong 11 ngày thí nghiệm (log CFU/g đất, n=3)

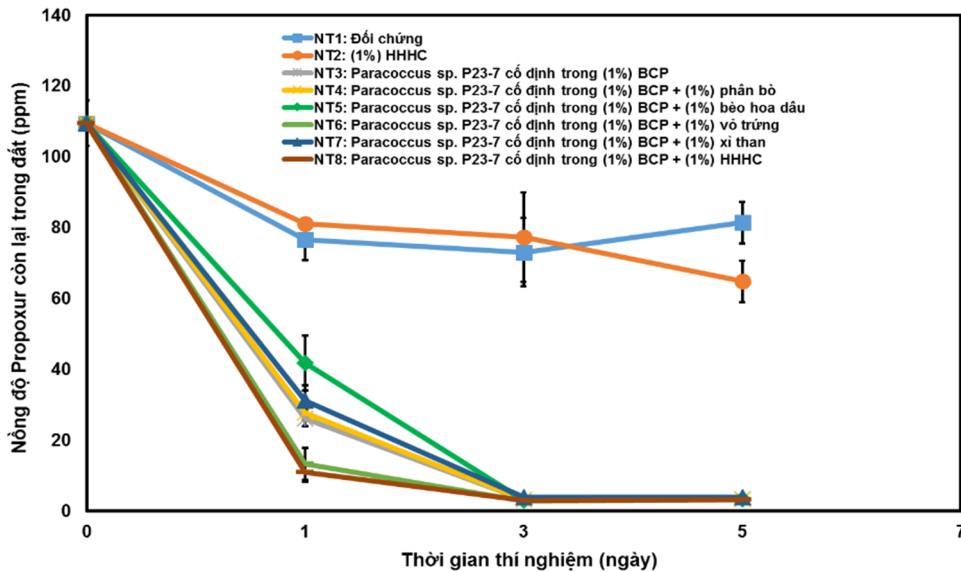
Nghiệm thức	Thời gian thí nghiệm (ngày)						
	0	1	3	5	7	9	11
NT1	6,97	7,67bc	7,72c	7,29e	7,08cd	6,89c	6,64c
NT2	6,97	7,95b	8,09b	7,57d	7,99a	7,49ab	7,26a
NT3	6,97	7,88b	8,45a	8,24a	7,99a	7,23b	6,88bc
NT4	6,97	7,43cd	8,22ab	7,65cd	7,61b	7,31ab	7,03ab
NT5	6,97	8,45a	8,48a	7,93b	7,18cd	7,66a	7,32a
NT6	6,97	8,34a	8,40a	7,85bc	6,83d	7,54ab	7,35a
NT7	6,97	7,36d	8,29ab	8,28a	7,22c	7,44ab	7,27a
NT8	6,97	7,19d	7,76c	7,98b	6,98cd	7,18bc	7,07ab
F		*	*	*	*	*	*
CV (%)		5,79	3,7	4,17	6,01	3,64	3,61

* Ghi chú: NT1: Đối chứng, NT2: Hỗn hợp hữu cơ (1%), NT3: *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê (1%), NT4: *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê (1%) + phân bò (1%), NT5: *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê (1%) + bèo hoa dâu (1%), NT6: *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê (1%) + vỏ trứng (1%), NT7: *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê (1%) + xỉ than (1%), NT8: *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê (1%) + hỗn hợp hữu cơ (1%); *: khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% ($p < 0,05$), trong cùng một cột các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa ở 5%

3.3.2 Khả năng phân hủy hoạt chất propoxur trong đất ở các nghiệm thức thí nghiệm

Kết quả về phân hủy hoạt chất propoxur trong đất giữa các nghiệm thức trong thí nghiệm được thể hiện ở Hình 2 cho thấy vào thời điểm 1 ngày thí nghiệm, tất cả các nghiệm thức có chủng dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 đều thể hiện khả năng phân hủy cao hoạt chất propoxur trong môi trường đất so với hai nghiệm thức không chủng vi khuẩn (nghiệm thức 1 và nghiệm thức 2). Tuy nhiên, nghiệm thức 6 (Chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1% bã cà phê + 1% vỏ trứng) và nghiệm thức 8 (Chứa vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1% bã cà phê + 1% HHHHC) là hai nghiệm thức có hiệu quả phân hủy propoxur cao nhất trong đất và khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với các nghiệm thức còn lại. Vào thời điểm 3 và 5 ngày thí nghiệm, nồng độ hoạt chất propoxur trong đất ở tất cả các nghiệm thức có chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong 1% bã cà phê kết hợp với các biện pháp bổ

sung khác nhau đều không được phát hiện trên máy HPLC. Trong khi hai nghiệm thức không chủng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 có nồng độ propoxur còn lại trong đất cao hơn 70 ppm. Kết quả thí nghiệm cho thấy bên cạnh việc chủng dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 bằng chất mang với bã cà phê là cần thiết để gia tăng tốc độ phân hủy hoạt chất propoxur trong đất thì việc bổ sung 1% hỗn hợp phân hữu cơ gồm: phân bò, bèo hoa dâu, vỏ trứng và xỉ than tổ ong hoặc 1% vỏ trứng có chức năng gia tăng tốc độ phân hủy hoạt chất thuốc trừ sâu propoxur trong môi trường đất. Điều này có thể giải thích là do dinh dưỡng trong đất là yếu tố trở ngại nhất cho các vi sinh vật tham gia vào tiến trình phân hủy propoxur trong đất, do đó, khi bổ sung vật liệu hữu cơ gồm nhiều nguồn vật liệu khác nhau vào trong đất giúp cải tạo đặc tính lý và hóa học đất từ đó mật số vi sinh vật tham gia phân hủy propoxur được cải thiện và dẫn đến việc gia tăng tốc độ phân hủy propoxur trong đất.



Hình 2: Nồng độ hoạt chất propoxur còn lại trong đất ở các nghiệm thức thí nghiệm (n=3, độ lệch chuẩn)

4 KẾT LUẬN

Bã cà phê là một vật liệu hữu cơ rẻ tiền và dễ tìm có thể thay thế vật liệu chất mang biochar trong việc chùng dòng vi khuẩn phân hủy chuyên biệt hoạt chất propoxur, *Paracoccus* sp. P23-7 vào trong môi trường đất nhằm xử lý sinh học rất hiệu quả đất bị ô nhiễm với propoxur.

Bón 1% biochar + 1% bã cà phê hoặc bón 1% hỗn hợp hữu cơ gồm: phân bò, vỏ trứng, bèo hoa dâu và xỉ than tổ ong giúp tăng tốc độ phân hủy propoxur bởi vi sinh vật bản địa trong môi trường đất.

Bổ sung 1% vỏ trứng hoặc hỗn hợp hữu cơ vào trong đất giúp tăng tốc độ phân hủy hoạt chất thuốc trừ sâu propoxur trong đất bởi dòng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong bã cà phê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Akhtar, N., Iqbal, J., Iqbal, M., 2003. Microalgal-luffa sponge immobilized disc: A new efficient biosorbent for the removal of Ni (II) from aqueous solution. *Lett. Appl. Microbiol.*, 37(2): 149–153.

Bayat, Z., Hassanshahian, M., Cappello, S., 2015. Immobilization of microbes for bioremediation of crude oil polluted environments: A mini review. *Open Microbiol. J.*, 9: 48–54.

Chatterjee, C., Lefcovitch, A., 2010. Gulf of Mexico oil disaster: Some legal issues. *Amicus Curiae*, 84: 17–24.

Đỗ Hoàng Sang, Đỗ Thị Xuân, Dương Minh Viễn, Võ Thị Guong, Nguyễn Khởi Nghĩa, 2014. Phân lập và định danh một số dòng vi khuẩn bản địa phân hủy chuyên biệt hoạt chất propoxur từ nền

đất bảo quản hành tím tại thị xã Vĩnh Châu, tỉnh Sóc Trăng. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 34(A): 92-99.

Grundmann, S., Fuß, R., Schmid, M., Laschinger, M., Ruth, B., Schulin, R., Munch, J.C., Schroll, R., 2007. Application of microbial hot spots enhances pesticide degradation in soils. *Chemosphere*, 68(3): 511–517.

Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., Krysiak, M., Wojcieszynska, D., 2014a. Degradation potential of protococatechuate 3,4-dioxygenase from crude extract of *Stenotrophomonas maltophilia* strain KB2 immobilized in calcium alginate hydrogels and on glyoxyl agarose. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, 2014: 1–8.

Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., Marchlewicz, A., Wojcieszynska, D., 2014b. Enhancement of biodegradation potential of catechol 1, 2-dioxygenase through its immobilization in calcium alginate gel. *Electron J. Biotechnol.*, 17(2): 83–88.

Guzik, U., Hupert-Kocurek, K., Wojcieszynska, D., 2014c. Immobilization as a strategy for improving enzyme properties—Application to oxidoreductases. *Molecules*, 19(7): 8995–9018.

Herrera, Y., Okoh, A.I., Alvarez, L., Robledo, N., Trejo-Hernández, M.R., 2008. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by a *Bacillus* consortium. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 24(1): 55–60.

Kaczorek, E., Satek, K., Guzik, U., Jesionowski, T., Cybulski, Z., 2013. Biodegradation of alkyl derivatives of aromatic hydrocarbons and cell surface properties of a strain of *Pseudomonas stutzeri*. *Chemosphere*, 90(2): 471–478.

Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I.M., Marchant, R., Koutinas, A.A., 2004.

- Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: A review. *Food Microbiol.*, 21(4): 377–397.
- Lade, H., Kadam, A., Paul, D., Govindwar, S., 2015. Biodegradation and detoxification of textile azo dyes by bacterial consortium under sequential microaerophilic/aerobic processes. *EXCLI J*, 14: 158–174.
- Liu, Z., Yang, C., Qiao, C., 2007. Biodegradation of p-nitrophenol and 4-chlorophenol by *Stenotrophomonas* sp. *FEMS Microbiol. Lett.*, 277(2): 150–156.
- Mesnage, R., Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J., Seralini, G.E., 2014. Major pesticides are more toxic to human cells than their declared active principles. Hindawi Publishing Corporation *BioMed Research International*, 2014: 1–8.
- Moreno-Medina, D.A., Sánchez-Salinas, E., Ortiz-Hernández, M.L., 2014. Removal of methyl parathion and coumaphos pesticides by a bacterial consortium immobilized in *Luffa cylindrica*. *Rev Int Contam Ambiental*, 30(1): 51–63.
- Nguyễn Khởi Nghĩa, Đỗ Hoàng Sang, Nguyễn Thị Kiều Oanh, Nguyễn Thị Tô Quyên, Lâm Từ Lãng, Dương Minh Viễn, 2015a. Hiệu quả phân hủy sinh học hoạt chất propoxur trong đất bởi dòng vi khuẩn phân lập *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong biochar. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 40(B): 91-99.
- Nguyễn Khởi Nghĩa, Đỗ Hoàng Sang, Nguyễn Thị Kiều Oanh, Lâm Từ Lãng, Dương Minh Viễn, 2015b. Gia tăng tốc độ phân hủy sinh học hoạt chất propoxur trong môi trường nuôi cấy lỏng bằng vi khuẩn *Paracoccus* sp. P23-7 cố định trong biochar. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 39(B): 44-51.
- Nguyễn Khởi Nghĩa, Nguyễn Vũ Bằng, Đỗ Hoàng Sang, Lâm Từ Lãng, 2015c. Hiệu quả của việc bón hỗn hợp bã cà phê và vỏ trứng lên năng suất đậu bắp (*Abelmoschus esculentus* MOENCH) và dinh dưỡng đất trong điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 39(B): 75-84.
- Pleasant, B., 2000. Make biochar-This ancient technique will improve our soils, accessed on 15 April 2017. Available from <http://www.motherearthnews.com/Organic-Gardening/Make-Biochar-To-Improve-Your-Soil.aspx>.
- Roberts, J.R., Karr, C, J., 2012. Pesticide exposure in children. *Pediatrics*, 130(6): 1757–1763.
- Wang, F., Dörfler, U., Schmid, M., Fischer, D., Kinzel, L., Scherb, H., Munch, J.C., Jiang, X., Schroll, R., 2010. Homogeneous inoculation vs. microbial hot spots of isolated strain and microbial community: What is the most promising approach in remediating 1,2,4-TCB contaminated soils?. *J. of Soil Biol. and Biochem.*, 42(2): 331–336.
- Wasilkowski, D., Mroziak, A., Piotrowska-Seget, Z., Krzyżak, J., Pogrzeba, M., Płaza, G., 2014. Changes in enzyme activities and microbial community structure in heavy metalcontaminated soil under in situ aided phytostabilization. *Clean Soil Air Water*; 42(11): 1618–1625.
- Wojcieszynska, D., Gren, I., Guzik, U., 2008. New pathway of dichlorophenols degradation by *Pseudomonas* sp. strain US1 in aerobic conditions. *Ecol. Chem. Eng. A*, 15(7): 703–710.
- Wojcieszynska, D., Hupert-Kocurek, K., Guzik, U., 2013. Factors affecting activity of catechol 2,3-dioxygenase from 2-chlorophenol-degrading *Stenotrophomonas maltophilia* strain KB2. *Biocatal Biotransform*, 31(3): 141–147.
- Wojcieszynska, D., Hupert-Kocurek, K., Jankowska, A., Guzik, U., 2012. Properties of catechol 2,3-dioxygenase from crude extract of *Stenotrophomonas maltophilia* strain KB2 immobilized in calcium alginate hydrogels. *Biochem. Eng. J.*, 66: 1–7.