



DOI:10.22144/ctujos.2026.121

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ SỰ PHÂN HỦY PRETILACHLOR VÀ FENCLORIM TRONG THUỐC TRỪ CỎ BỞI *Pseudomonas* sp. PRE2 VÀ *Acinetobacter* sp. F0 CỐ ĐỊNH TRONG ALGINATE

Hà Danh Đức^{1,*}, Võ Hồ Phong², Lê Thị Trúc Phương¹ và Nguyễn Thị Diệu Thuý³

¹Trường Đại học Đồng Tháp, Việt Nam

²Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng và Dịch vụ khoa học công nghệ, Đồng Tháp, Việt Nam

³Viện Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): hadanhduc@gmail.com

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 09/09/2025

Sửa bài (Revised): 04/10/2025

Duyệt đăng (Accepted): 02/05/2026

Title: Determination of the degradability towards pretilachlor and fenclorim in herbicide by *Pseudomonas* sp. Pre2 and *Acinetobacter* sp. F0 immobilized in alginate

Author(s): Ha Danh Duc^{1,*}, Vo Ho Phong², Le Thi Truc Phuong¹ and Nguyen Thi Dieu Thuy³

Affiliation(s): ¹Dong Thap University, Viet Nam; ²Center for Research and Application of Science Technology, Dong Thap, Viet Nam; ³Institute of Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, Viet Nam

TÓM TẮT

Hỗn hợp hai chủng vi khuẩn là *Pseudomonas* sp. Pre2 (phân hủy pretilachlor) và *Acinetobacter* sp. F0 (phân hủy fenclorim) được khảo sát về hiệu quả phân hủy của chúng trong môi trường khoáng lỏng, nước thu về từ ruộng lúa và kênh rạch nhiễm mặn. Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim bổ sung vào nước thu về từ ruộng lúa bởi vi khuẩn không cố định tương ứng là 61,9±4,8% và 50,9±6,6% sau 8 giờ, trong lúc sự phân hủy bởi vi khuẩn cố định tương ứng là 89,9±2,2% và 80,6±4,4%. Sự phân hủy còn được thực hiện trong hệ phân hủy đệm, giúp tăng cường hiệu quả của vi khuẩn. Ngoài ra, alginate được hút khô và bảo quản sau ba tháng vẫn có thể sử dụng hiệu quả để phân hủy cả hai hoạt chất.

Từ khóa: Alginate, cố định, fenclorim, phân hủy, pretilachlor, vi khuẩn

ABSTRACT

A mixed culture of two bacterial strains, *Pseudomonas* sp. Pre2 (a pretilachlor-degrading bacterial strain) and *Acinetobacter* sp. F0 (a fenclorim-degrading bacterial strain) was investigated for their degradation abilities in a mineral medium, water collected from a rice field, and a saline canal. The degradation of pretilachlor and fenclorim added in water collected from the rice field by non-immobilized bacteria was 61.9±4.8% and 50.9±6.6% after 8 hours, respectively, while the degradation by immobilized bacteria was 89.9±2.2% and 80.6±4.4%, respectively. The degradation was also carried out in a packed bed reactor to enhance the efficiency of the bacteria. In addition, the dried alginate beads, which were stored for three months, still degraded both active ingredients effectively.

Keywords: Alginate, immobilization, fenclorim, degradation, pretilachlor, bacteria

1. GIỚI THIỆU

Pretilachlor là một trong những hoạt chất của thuốc diệt cỏ thuộc nhóm chloroacetamide, được sử

dụng phổ biến trên thế giới (Lamberth, 2016). Pretilachlor là thành phần chính thường được trộn với fenclorim và các chất phụ gia khác trong thuốc diệt cỏ để giảm tổn thương cho cây trồng. Fenclorim

là chất an toàn giúp giảm quá trình peroxy hóa lipid và tổn thương oxy hóa do pretilachlor gây ra, đồng thời tăng cường sự chuyển hóa theo hướng phân hủy của pretilachlor trong mô lúa (Hu et al., 2020). Nồng độ pretilachlor/fenclorim trong thuốc diệt cỏ thường ở mức 3/1. Pretilachlor được phát hiện trong hệ thống nước của một cánh đồng lúa ở Malaysia (Sapari & Ismail 2012), trong nước mặt với 68,9% mẫu thu thập được ở Đồng bằng sông Cửu Long (Toan et al., 2013). Bên cạnh đó, tồn dư lượng của chúng đã được phát hiện trong đất và thậm chí trong sinh khối (Kobayashi et al., 1999; Marin-Morales et al., 2013). Ngoài ra, sự tích tụ pretilachlor trong trầm tích đã được báo cáo (Vidotto et al., 2004).

Mặc dù được ứng dụng rộng rãi trong nông nghiệp, pretilachlor gây ô nhiễm môi trường sinh thái và các sinh vật khác. Pretilachlor có tính độc cao đối với các sinh vật thủy sinh như cá ngựa vằn (Jiang et al., 2016) và cá trê trắng (*Clarias batrachus*) (Verma et al., 2022). Chúng gây tổn thương mô mang và gan của cá trắm cỏ (*Ctenopharyngodon idella*) (Maryam et al., 2013). Đối với con người, việc tiếp xúc lâu dài với pretilachlor có liên quan đến ung thư (Huang et al., 2020). Pretilachlor tồn dư trong thực phẩm gây ra ngộ độc nghiêm trọng (Dahal et al., 2023). Do đó, cần phải loại bỏ chất gây ô nhiễm ra khỏi môi trường. Đối với fenclorim, hiện chỉ có một số nghiên cứu về độc tính của chúng. Chẳng hạn, fenclorim gây độc tính cấp tính cao đối với loài cá hồi *Oncorhynchus mykiss* với LC50 là 0,6 mg/kg (96 giờ) (Lewis et al., 2016). Tỷ lệ nở và chiều dài cơ thể của phôi cá *Danio rerio* bị giảm đáng kể sau 96 giờ tiếp xúc với 0,1 mg/L và 0,2 mg/L hợp chất này (Liu et al., 2021).

Phân hủy sinh học được coi là biện pháp hiệu quả và thân thiện với môi trường để loại bỏ các chất độc hại trong môi trường. Tuy nhiên, chỉ có một số vi sinh vật được phân lập và đánh giá khả năng phân hủy pretilachlor. Chẳng hạn, *Paracoccus* sp. FLY-8 (Zhang et al., 2011) và *Rhodococcus* sp. B1 (Liu et al., 2012) có thể phân hủy một số thuốc diệt cỏ chloroacetamide, nhưng phân hủy pretilachlor với tốc độ thấp hơn các hoạt chất khác. Hai chủng nấm, *Aspergillus ficuum* AJN2 và *Aspergillus* sp. PDF1 phân hủy thuốc diệt cỏ và đã được thử nghiệm ở trạng thái cố định và không cố định (Kwatra & Abraham, 2023). Đối với fenclorim, hai chủng phân hủy fenclorim (*Dechloromonas* sp. Fe1 và *Ralstonia pickettii* Fe2) đã được báo cáo là có khả năng phân hủy hợp chất này trong điều kiện yếm khí (Duc et al., 2024). Tuy nhiên, thông tin về quá trình phân hủy sinh học fenclorim trong điều kiện hiếu khí vẫn

còn hạn chế. Do đó việc sử dụng hỗn hợp các chủng vi sinh vật phân hủy cả hai hoạt chất này cần được thực hiện.

Alginate là một loại polyme tự nhiên được sử dụng rộng rãi để cố định vi sinh vật trong các thí nghiệm phân hủy sinh học vì alginate tương đối nhẹ, rẻ tiền và không độc hại (Partovinia & Rasekh, 2018). Sự phân hủy thuốc bảo vệ thực vật và các chất độc khác bởi vi khuẩn cố định trong alginate đã được mô tả (Đức, 2020; Ha et al., 2020; Duc & Oanh, 2022). Hệ thống phân hủy đệm, trong đó các vi sinh vật được cố định trong các vật liệu phù hợp, đã cho thấy khả năng phân hủy thuốc trừ sâu hiệu quả (Duc et al., 2023). Trong một công bố trước đây, sự phân hủy pretilachlor được thực hiện bởi vi khuẩn *Enterobacter* sp. Pre1 và *Pseudomonas* sp. Pre2 cố định trong polyurethane foam đã được thực hiện. *Enterobacter* sp. Pre1 có khả năng phân hủy pretilachlor và hình thành biofilm mạnh, trong lúc *Pseudomonas* sp. Pre2 có thể phân hủy được pretilachlor và butachlor nhưng hình thành biofilm yếu (Oanh & Duc, 2025). Sự cố định *Pseudomonas* sp. Pre2 trong alginate có thể được lựa chọn khi vi sinh vật hình thành biofilm yếu.

Khi sử dụng thuốc trừ cỏ, môi trường có thể bị ô nhiễm bởi cả pretilachlor và fenclorim. *Acinetobacter* sp. F0 là một chủng vi khuẩn phân hủy fenclorim được phân lập và lưu trữ trong phòng thí nghiệm. Trong bài báo này, sự phân hủy được thực hiện bởi sự kết hợp của hai chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. Pre2 và *Acinetobacter* sp. F0. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bởi vi khuẩn không được cố định và cố định trong alginate. Sự phân hủy còn được thực hiện trong hệ phân hủy đệm ở các nồng độ khác nhau. Ngoài ra, sự phân hủy bởi vi khuẩn cố định cũng được đánh giá sau một thời gian lưu trữ.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Môi trường khoáng lỏng, thuốc trừ cỏ

Môi trường khoáng lỏng được sử dụng để phân hủy pretilachlor và fenclorim được pha chế với thành phần hóa học như sau: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,78 mg/L), KH_2PO_4 (1,36 mg/L), MgSO_4 (0,12 mg/L) và 2,0 mL dung dịch stock khoáng. Dung dịch stock khoáng bao gồm: CaCl_2 (0,56 g/L), H_3BO_3 (0,31 g/L), $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1,18 g/L), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1,25 g/L), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1,44 g/L), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,61 g/L), và $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,50 g/L) (Oanh & Duc, 2025).

Môi trường LB (Luria-Bertani) có thành phần hóa học là 10 g/L peptone, 5 g/L yeast extract và 5 g/L NaCl. pH các môi trường được điều chỉnh ở mức $7,0 \pm 0,1$. Các môi trường được khử trùng ở nhiệt độ 121 °C trong 15 phút.

Thuốc trừ sâu Sofit 300EC được mua từ công ty Syngenta (Thụy Sĩ) có thành phần hóa học là 300 g/L pretilachlor và 100 g/L fenclorim. Các chất này được hấp thu qua bao lá mầm và rễ của mầm. Fenclorim là chất bảo vệ cây trồng được bổ sung thuốc trừ cỏ nhằm tăng cường khả năng chịu đựng của cây trồng, giúp cây phát triển khỏe mạnh mà vẫn đảm bảo hiệu lực trừ cỏ.

Ngoài việc sử dụng thuốc trừ cỏ, sự phân hủy còn được thực hiện đối với pretilachlor và fenclorim tinh khiết. Hoạt chất tinh khiết được sử dụng để pha chế thành thuốc trừ cỏ, có thể đổ tràn ra môi trường khi gặp sự cố. Việc phân hủy hoạt chất tinh khiết chỉ cần bổ sung pretilachlor hoặc fenclorim cùng với vi khuẩn phân hủy hoạt chất tương ứng vào môi trường. Pretilachlor và fenclorim (Sigma-Aldrich, Đức) với độ tinh khiết > 98% được hòa tan trong cồn tuyệt đối với nồng độ 0,1 M và sử dụng như dung dịch stock. Dung dịch này có thể tiếp tục pha loãng trong cồn tuyệt đối ở nồng độ 0,01 mM để sử dụng cho các thí nghiệm ở nồng độ khác nhau. Dung dịch stock được hút vào bình tam giác bằng micropipette; sau khoảng 20 phút, ethanol bốc hơi hết thì môi trường khoáng lỏng mới được cho vào bình.

2.2. Vi khuẩn phân huỷ pretilachlor và fenclorim

Hai chủng vi khuẩn là *Pseudomonas* sp. Pre2 (GenBank No. PV506404) và *Acinetobacter* sp. F0 (GenBank No. PX116788) phân lập từ đất trồng lúa được sử dụng trong các thí nghiệm. *Pseudomonas* sp. Pre2 có khả năng sử dụng hai hoạt chất của thuốc trừ cỏ là pretilachlor và butachlor làm nguồn carbon và nitrogen duy nhất để sinh trưởng (Oanh & Duc 2025). Trong lúc đó, *Acinetobacter* sp. F0 có khả năng sử dụng fenclorim làm nguồn carbon và nitrogen duy nhất. Các chủng vi khuẩn được bảo quản ở nhiệt độ -80°C trước khi sử dụng.

Các chủng vi sinh vật này được nuôi cấy riêng rẽ trong môi trường LB. Sau 24 giờ, vi khuẩn được thu hoạch bằng cách ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút. Môi trường lỏng được loại bỏ; môi trường khoáng lỏng có thể tích bằng với thể tích môi trường LB được đưa vào tube ly tâm, vortex trong 5 phút, sau đó ly tâm lần hai nhằm làm sạch hóa chất có thể còn sót lại bám vào vi khuẩn. Cuối cùng, vi khuẩn được

chuyển sang môi trường khoáng lỏng mới để có dung dịch đậm đặc chứa $1,0 \times 10^{11}$ khuẩn lạc/mL.

2.3. Thu mẫu nước từ ruộng lúa và từ kênh rạch nhiễm mặn

Nước được thu từ một cánh đồng canh tác lúa tại xã Thanh Hòa, Đồng Tháp (10°38'34,3"N, 105°38'47,2"E) lúc lúa đã thu hoạch. Mẫu nước thứ hai thu về từ một kênh rạch nhiễm mặn (10°09'10,6"N, 106°37'25,8"E) thuộc xã Anh Định, Vĩnh Long. Mẫu nước được lấy bằng các chai thủy tinh có nắp đậy. Chai này đã rửa sạch bằng nước cất, sấy khô ở nhiệt độ 70 °C trong 24 giờ, rồi khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 15 phút. Mỗi chai đựng khoảng 250 mL và được đặt trong thùng xốp chứa nước đá. Nước được vận chuyển về phòng thí nghiệm ngay trong ngày, để yên trong 2 giờ để lắng cặn tự nhiên trước khi thực hiện các thí nghiệm khác. Nước chưa được sử dụng được bảo quản ở nhiệt độ -20°C. Thành phần hóa chất chủ yếu trong nước được phân tích dựa trên phương pháp mô tả bởi Hiệp hội Y tế Công cộng Hoa Kỳ (American Public Health Association [APHA], 2005) và thể hiện ở Bảng 1. Các mẫu nước này được sử dụng cho các thí nghiệm về phân hủy pretilachlor và fenclorim.

Bảng 1. Đặc điểm và thành phần hóa học của mẫu nước thu về từ ruộng lúa và kênh nhiễm mặn

Tính chất, thành phần của nước	Nồng độ	
	Nước thu về từ ruộng lúa	Nước thu về từ kênh nhiễm mặn
pH	6,54±0,07	6,68±0,02
Total N (g/L)	1,85±0,11	2,35±0,15
Total P (g/L)	0,56±0,03	0,77±0,04
Total K (g/L)	4,64±0,09	2,21±0,02
BOD ₅ (mg/L)	14,85±1,07	26,98±2,15
COD (mg/L)	8,81±0,25	14,22±1,06
NO ₃ ⁻ (mg/L)	1,16±0,08	2,76±0,12
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,69±0,07	1,11±0,08
NaCl (g/L)	< 0,1	10,21±0,64
Fenclorim	0	0
Pretilachlor	0	0

2.4. Cố định vi khuẩn trong alginate

Quá trình cố định vi khuẩn trong alginate được thực hiện theo mô tả ở một nghiên cứu trước đây (Đức, 2020). Môi trường khoáng lỏng với thể tích 70 mL được thêm vào 30 g alginate và khử trùng. Sau đó, hai chủng vi khuẩn từ dung dịch đậm đặc được bổ sung vào để được $1,0 \times 10^9$ khuẩn lạc/mL mỗi chủng. Dung dịch này chứa môi trường khoáng, vi khuẩn và alginate (môi trường a). Môi trường b

bao gồm nước cất được pha thêm 3% CaCl₂. Môi trường a được hút bằng syringe rồi được nhỏ giọt vào môi trường b và khuấy đều bằng khuấy từ ở tốc độ 500 vòng/phút trong suốt quá trình nhỏ giọt. Hạt được tạo ra, được rửa lại bằng nước cất đã khử trùng, sau đó chuyển sang môi trường b mới và bảo quản trong 24 giờ ở nhiệt độ 4°C để hoàn tất quá trình cố định.

2.5. Thí nghiệm phân hủy pretilachlor và fenclorim trong bình tam giác

Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim trong môi trường khoáng lỏng, nước thu về từ ruộng lúa và từ kênh nhiễm mặn được thực hiện. Môi trường khoáng lỏng hoặc nước được chuyển vào các bình tam giác (250 mL) được đậy bằng nút bông. Mỗi bình được đổ vào 100 mL nước rồi bổ sung thuốc trừ cỏ Sofit 300EC để được 6,75 mg/L (21,7 μM) pretilachlor và 2,25 mg/L (10 μM) fenclorim (tỷ lệ 3/1 về khối lượng).

Quá trình phân hủy được thực hiện bằng vi khuẩn không cố định và cố định trong hạt alginate. Đối với các nghiệm thức sử dụng vi khuẩn không cố định, vi khuẩn từ môi trường đậm đặc được bổ sung vào nước để mỗi chủng là 1,0×10⁸ khuẩn lạc/mL. Đối với sự phân hủy bởi vi khuẩn cố định thì hạt alginate được bổ sung vào các bình tam giác để có số lượng vi khuẩn tương đương với nghiệm thức không cố định. Quá trình phân hủy được thực hiện bằng máy lắc quay vòng với 150 vòng/phút và nhiệt độ 30°C trong 8 giờ. Mẫu nước (2,0 mL) được lấy hai giờ mỗi lần bằng micropipette.

2.6. Thí nghiệm phân hủy pretilachlor và fenclorim trong hệ thống phân hủy đệm

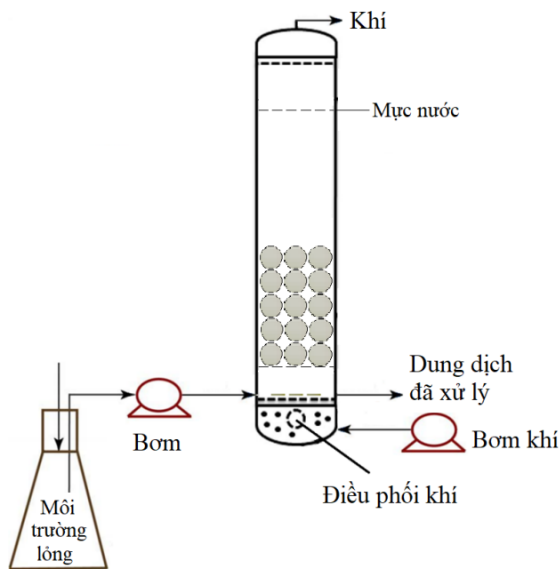
Hệ thống phân hủy đệm (packed bed reactor) được tạo ra ở quy mô phòng thí nghiệm dùng để phân hủy pretilachlor và fenclorim (Hình 1). Hệ thống được thiết lập dựa trên nguyên mẫu đã được mô tả trước đây (Duc, 2023) nhưng vi khuẩn được cố định trong alginate thay vì trong polyurethane foam. Hệ thống bao gồm một bồn phản ứng (reactor) là một ống thủy tinh hình trụ có đường kính, chiều cao và thể tích rộng lần lượt là 5,0 cm, 30 cm và 500 mL. Một bơm điện nối với bình tam giác chứa môi trường lỏng có bổ sung thuốc trừ cỏ vào bồn phản ứng, một bộ phận bơm khí từ dưới lên với tốc độ 1,5 L/giờ.

Trong giai đoạn phân hủy, hệ thống bơm chất lỏng hoạt động liên tục. Tốc độ bơm được thiết lập để có thời gian lưu trong bồn phản ứng là 8 giờ. Quá trình được thực hiện trong 40 giờ (5 chu kỳ). Mẫu

chất lỏng được phân tích nồng độ pretilachlor và fenclorim sau khi kết thúc mỗi chu kỳ.

Alginate được đưa vào bồn phản ứng trước, sau đó bơm dung dịch lỏng vào để có 44 g hạt alginate và 400 mL môi trường lỏng, với khoảng 10⁸ khuẩn lạc/mL mỗi chủng vi khuẩn. Quá trình phân hủy được thực hiện với dung dịch là môi trường khoáng lỏng, nước từ ruộng lúa và nước từ kênh nhiễm mặn. Thuốc trừ cỏ Sofit 300EC được bổ sung để có 6,75 mg/L pretilachlor và 2,25 mg/L fenclorim. Quá trình được chạy trong 2 giờ đầu để ổn định, sau đó bắt đầu tính giai đoạn phân hủy chính thức.

Sự phân hủy pretilachlor trong hệ thống phân hủy đệm còn được thực hiện ở nồng độ cao (100, 250 và 300 μM). Do fenclorim có mức hòa tan trong nước thấp (11,1 μM ở 20°C), sự trích ly gặp khó khăn nên chỉ phân tích đối với phân hủy hoạt chất tinh khiết bằng vi khuẩn cố định ở nồng độ 100 và 250 μM. Ở nồng độ 250 và 300 μM, pretilachlor không hòa tan hết, nhưng khi bị phân hủy xuống dưới 160,4 μM thì tất cả đã hòa tan trong nước. Do tốc độ phân hủy chậm của các nồng độ này, quá trình phân hủy được thực hiện trong bồn phản ứng có thời gian lưu là 24 và 48 giờ.



Hình 1. Hệ thống phân hủy đệm được sử dụng để phân hủy pretilachlor và fenclorim

(Nguồn: Duc et al., 2023)

2.7. Phương pháp hút khô (sấy khô) và bảo quản alginate

Các hạt alginate được sấy khô bằng máy hút chất không (Henan Zhuoxian Import & Export Trading Co., Ltd, Trung Quốc). Quá trình hút được

điều chỉnh ở nhiệt độ 4°C và thời gian hút được ngưng lại khi các hạt alginate có khối lượng còn lại bằng 10-15% so với khối lượng tươi ban đầu. Các hạt alginate được trữ trong các túi nilon màu đen và bảo quản ở nhiệt độ 4°C và 30°C trong 3 tháng. Khi sử dụng lại, các hạt alginate đã sấy khô được ngâm vào nước cất khử trùng trong 6 giờ để hạt được phục hồi trước khi tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

2.8. Phương pháp đếm vi khuẩn và phân tích nồng độ pretilachlor và fenclorim

Đối với vi khuẩn không cố định, số lượng của chúng trong môi trường lỏng được đếm dựa trên số khuẩn lạc/mL. Đối với vi khuẩn cố định, số lượng vi khuẩn được đếm dựa theo phương pháp của Schoebitz et al. (2012) với một số thay đổi nhỏ (Ha et al., 2020). Một số hạt alginate (1,0 g) được chuyển vào 10 ml dung dịch sodium citrate (6%) đã khử trùng, lắc trên máy lắc ở tốc độ 500 vòng/phút trong 30 phút. Sau đó, dung dịch được pha loãng và trải trên đĩa thạch chứa môi trường thạch LB (2,0% agar). Số lượng vi khuẩn được xác định dựa trên số lượng khuẩn lạc xuất hiện sau khi ủ 24 giờ.

Mẫu chất lỏng với thể tích 0,5 mL được ly tâm ở tốc độ 10.000 vòng/phút rồi lọc qua bộ lọc ống tiêm 0,45 µm trước khi chạy HPLC. Nồng độ pretilachlor và fenclorim trong môi trường lỏng được phân tích bằng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Hệ thống HPLC (LC-10AD, Shimadzu, Nhật Bản) được gắn với cột C18 (5 µm, 250 mm × 4,6 mm; Hyperclone, Phenomenex, Hoa Kỳ). HPLC với bơm gradien và detector với đầu dò quang phổ tử ngoại ở bước sóng 240 nm. Pha động là hỗn hợp acetonitrile (70%) và nước tinh khiết (30%) với tốc độ bơm 1,0 mL/phút. Thể tích mẫu được bơm để phân tích là 30 µL mỗi lần. Thời gian lưu (Retention time) của pretilachlor và fenclorim lần lượt là 5,8 và 4,1 phút. Sự xuất hiện của các peak khi chạy HPLC các hoạt chất khi phân hủy được đối chiếu với peak của HPLC mẫu chuẩn để xác định sự có mặt của hoạt chất này trong mẫu cần phân tích. Nồng độ thu được từ HPLC được tính toán dựa trên đường chuẩn của hoạt chất tinh khiết. Đường chuẩn được thiết lập với các hoạt chất tinh khiết ở các nồng độ bao gồm 0,001, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,25, 0,5 và 0,75 mM. Hệ thống HPLC này có thể phát hiện các hoạt chất này dưới 0,001 mM nhưng thường được áp dụng hơn với nồng độ từ 0,001 mM trở lên.

Tất cả các nghiệm thức đối chứng đều không bổ sung vi khuẩn. Đối phân hủy bằng vi khuẩn cố định thì đối chứng là các hạt alginate không chứa vi khuẩn. Hiệu quả của sự phân hủy được đánh giá

thông qua sự giảm nồng độ của hoạt chất so với ban đầu và với nghiệm thức đối chứng.

2.9. Phương pháp thống kê

Số liệu được phân tích dựa trên ít nhất ba lần lặp lại và được biểu thị bằng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Phần mềm SPSS phiên bản 22.0 được sử dụng để phân tích số liệu. Kiểm định Duncan trong Two-way Anova được sử dụng để phân tích sự khác biệt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bổ sung vào môi trường khoáng lỏng

Trong môi trường khoáng lỏng, thuốc trừ cỏ Sofit 300EC được bổ sung với nồng độ ban đầu là 6,75 mg/L pretilachlor và 2,25 mg/L fenclorim. Sau 6 giờ phân hủy bằng vi khuẩn không cố định, các hoạt chất này bị phân hủy tương ứng là $85,2 \pm 4,2\%$ và $71,5 \pm 6,5\%$, trong khi ở nghiệm thức đối chứng nồng độ hoạt chất giảm xuống không quá 3,7% (Hình 2a). Khi vi khuẩn được cố định trong alginate, những hoạt chất này bị phân hủy tương ứng là 100% và $94,7 \pm 2,2\%$, trong lúc ở nghiệm thức đối chứng sự giảm nồng độ tương ứng là $9,1 \pm 1,0\%$ và $5,6 \pm 0,6\%$ (Hình 2b). Sự phân hủy pretilachlor bởi *Pseudomonas* sp. Pre2 luôn cao hơn phân hủy fenclorim bởi *Acinetobacter* sp. F0 dù nồng độ pretilachlor cao hơn. Nghiệm thức đối chứng khi phân hủy bằng vi khuẩn cố định có nồng độ hoạt chất giảm nhiều hơn có thể là do hạt alginate bị bào mòn trong quá trình lắc, làm tăng thể tích dung dịch.

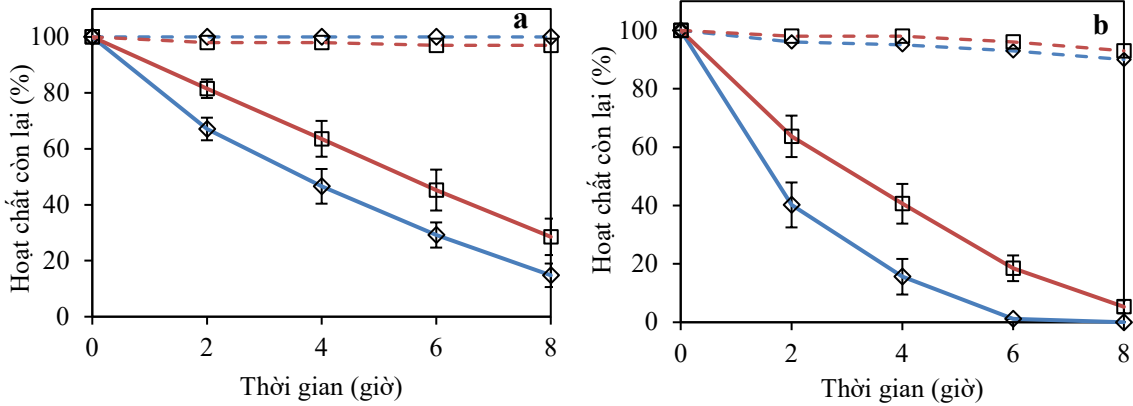
Sau khi kết thúc, một số hạt alginate được phá hủy để kiểm tra nồng độ pretilachlor và fenclorim và thấy rằng nồng độ chúng trong hạt không đáng kể. Sau khi trừ đi sự giảm nồng độ ở đối chứng này, sự phân hủy bởi vi khuẩn cố định cũng cao hơn hẳn vi khuẩn không được cố định cho dù lượng vi khuẩn trong môi trường ban đầu là tương đương nhau. Sự cố định trong alginate giúp sự phân hủy diễn ra nhanh hơn so với vi khuẩn tự do.

Công bố trước đây cho thấy *Pseudomonas* sp. Pre2 phân hủy $48,0 \pm 6,0\%$ pretilachlor ở nồng độ 150 µM trong môi trường khoáng lỏng sau 24 giờ (Oanh & Duc, 2025), thấp hơn tỷ lệ phần trăm sự phân hủy trong nghiên cứu này. Sự khác biệt này là do khác nhau về nồng độ và số lượng vi khuẩn. Trong thí nghiệm này, vi khuẩn ban đầu là $1,0 \times 10^8$ khuẩn lạc/mL, trong khi thí nghiệm trước đây có số lượng vi khuẩn ban đầu ít hơn 100 lần. Hơn nữa, nghiên cứu này sử dụng hoạt chất trong thuốc trừ cỏ

Sofit 300EC, khác với việc sử dụng hóa chất tinh khiết như trước đây của Oanh and Duc (2025).

Các nghiên cứu trước đây cho thấy, *Rhodococcus* sp. B2 chuyển hóa 86,1% pretilachlor trong 5 ngày ở điều kiện tối ưu (Liu et al., 2021). *Paracoccus* sp. FLY-8 phân hủy chậm và không

hoàn toàn pretilachlor, với 35,9% ở nồng độ 100 mg/L trong 5 ngày (Zhang et al., 2011). Trong một nghiên cứu khác, nuôi cấy vi sinh vật cần 30 ngày để phân hủy 79,8 ± 4,1% pretilachlor ở nồng độ ban đầu là 0,1 mM trong điều kiện kỵ khí (Duc et al., 2024).



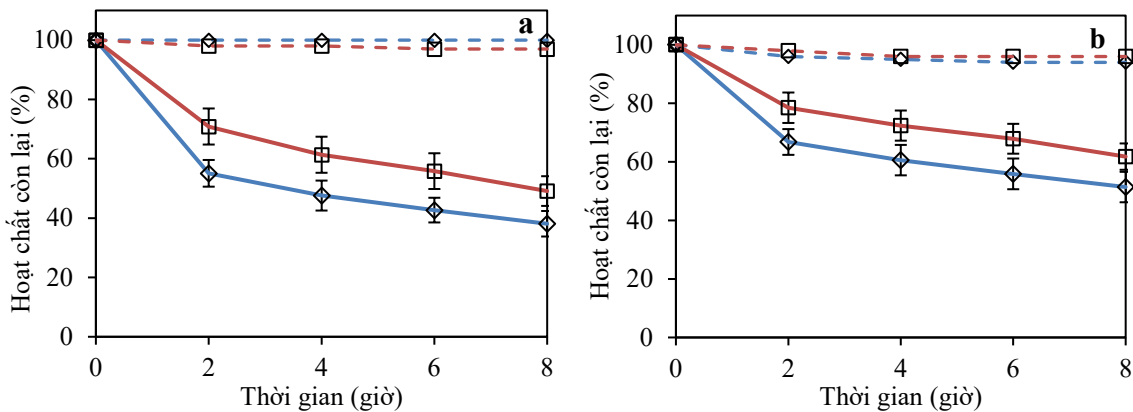
Hình 2. Phân hủy pretilachlor và fenclorim bởi vi sinh vật trong môi trường khoá lỏng.

Ghi chú: sự phân hủy pretilachlor (◇) và fenclorim (□) bởi vi sinh vật được thể hiện bằng nét liền bao gồm: (a) không được cố định và (b) được cố định trong alginate. Nghiệm thức đối chứng được thể hiện bằng nét đứt bao gồm: (a) không bổ sung vi khuẩn và (b) sử dụng alginate nhưng không có vi khuẩn.

3.2. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bổ sung vào nước thu về từ ruộng lúa và kênh nhiễm mặn

Khi bổ sung thuốc trừ cỏ Sofit 300EC vào nước thu về từ ruộng lúa và kênh nhiễm mặn, sự phân hủy diễn ra chậm hơn trong môi trường khoáng lỏng. Trong nước thu về từ ruộng lúa, pretilachlor và fenclorim bị phân hủy tương ứng là 61,9 ± 4,8% và

50,9 ± 6,6% bởi vi khuẩn không cố định sau 8 giờ (Hình 3a), trong lúc trong nước thu về từ kênh nhiễm mặn có sự phân hủy tương ứng là 48,6 ± 5,2% và 38,2 ± 4,5% (Hình 3b). Ở nghiệm thức đối chứng không bổ sung vi khuẩn, nồng độ các hoạt chất không thay đổi đáng kể, chứng tỏ các vi sinh vật có mặt tự nhiên trong mẫu nước này không phân hủy pretilachlor và fenclorim.



Hình 3. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong nước bởi vi sinh vật không được cố định.

Ghi chú: sự phân hủy pretilachlor (◇) và fenclorim (□) bởi vi khuẩn được thể hiện bằng nét liền và đối chứng được thể hiện bằng nét đứt. Nước được thu về từ (a) ruộng lúa và (b) kênh nhiễm mặn.

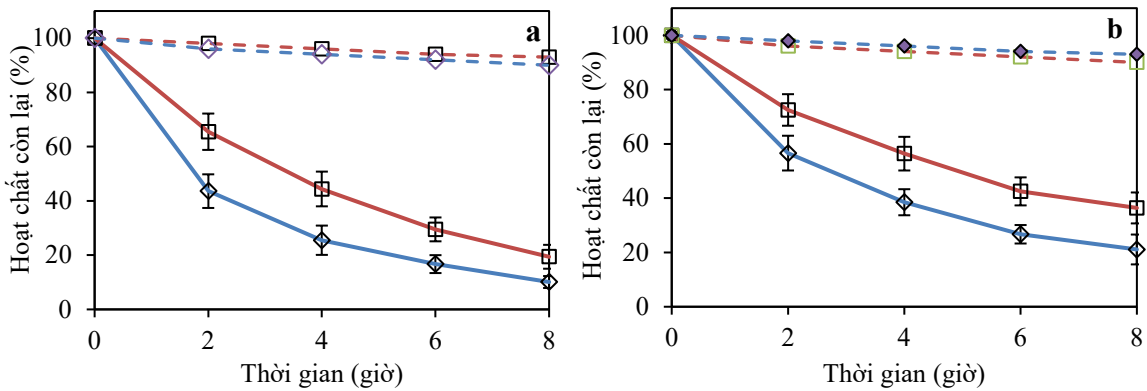
Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ Sofit 300EC bổ sung vào nước thu về

từ ruộng lúa và kênh nhiễm mặn được tiếp tục thực hiện bởi vi khuẩn cố định trong alginate. Pretilachlor

giảm xuống trong nước thu về từ ruộng lúa là $89,9 \pm 2,2\%$ và fenclorim là $80,6 \pm 4,4\%$ (Hình 4a). Sự phân hủy tương ứng trong nước thu về từ kênh nhiễm mặn là $78,9 \pm 5,5\%$ và $63,6 \pm 5,7\%$ (Hình 4b). Ở nghiệm thức đối chứng sử dụng hạt alginate không chứa vi khuẩn, sự giảm nồng độ các hoạt chất cao hơn so với đối chứng ở phân hủy bằng vi khuẩn tự do nhưng không quá 10%.

Sự phân hủy thuốc bảo vệ thực vật được thực hiện bởi vi sinh vật cố định trong alginate thường diễn ra nhanh hơn vi khuẩn tự do như phân hủy

toluene và chlorotoluene bởi *Comamonas testosterone* KT5 (Đức, 2020) hay phân hủy acetochlor bởi hỗn hợp *P. fluorescens* KT3 và *B. subtilis* 2M6E (Ha et al., 2020). Vi sinh vật cố định có khả năng chịu đựng tốt hơn nhiều với các tác nhân bất lợi của môi trường lỏng như ít bị ảnh hưởng bởi các chất độc hại do chúng ít tiếp xúc trực tiếp với chất độc (Cassidy et al., 1996; Pradeep et al., 2016). Ngoài ra, các thành phần của môi trường khoáng trong alginate có thể hỗ trợ tốt hơn cho sự phân hủy hơn vi khuẩn không cố định trong nước thu về từ ruộng lúa hay kênh ngập mặn.



Hình 4. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong nước bởi vi sinh vật cố định trong alginate.

Ghi chú: sự phân hủy pretilachlor (◇) và fenclorim (□) bởi vi khuẩn được thể hiện bằng nét liền và đối chứng được thể hiện bằng nét đứt. Nước được thu về từ: (a) ruộng lúa và (b) kênh nhiễm mặn.

3.3. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bởi vi khuẩn cố định ở các chu kỳ liên tiếp

Thí nghiệm này nhằm mục đích đánh giá sự ổn định của hạt alginate qua các chu kỳ phân hủy. Tất cả các nghiệm thức bao gồm sự phân hủy trong môi trường khoáng lỏng, nước thu về từ ruộng lúa và từ kênh rạch đều có sự giảm dần về tốc độ phân hủy (Bảng 2). Sau một chu kỳ, sự giảm về tỷ lệ phần trăm nhưng chưa khác biệt có ý nghĩa thống kê so với chu kỳ trước, nhưng sau hai chu kỳ thì sự giảm xuống đã khác biệt ở mức thống kê 5%. Sau năm chu kỳ (40 giờ) thì sự phân hủy của pretilachlor trong môi trường khoáng lỏng giảm xuống trung bình là 26,3%, nước thu về từ ruộng lúa là 28,4% và nước thu về từ kênh rạch là 26,4% so với chu kỳ thứ nhất. Con số giảm trung bình đối với fenclorim tương ứng là 25,9%, 27,2% và 24,9%.

Nguyên nhân sự giảm này là trong quá trình ủ trên máy lắc, hạt alginate bị phân bào mòn dần và kích thước giảm xuống. Sau khi cố định, hạt alginate khá đồng đều và có đường kính trong khoảng 3,5-4,0 mm (Hình 5a). Sau 5 chu kỳ, các hạt có kích

thước giảm xuống và không đồng đều, còn lại khoảng 2,5-3,5 mm (Hình 5b). Về mặt khối lượng, khi sử dụng bình tam giác thì ban đầu 10 g hạt, sau 5 chu kỳ còn lại trung bình 7,1 g. Trong lúc đó, sử dụng hệ phân hủy đệm thì khối lượng các hạt còn lại là 8,4 g. Sự va chạm giữa các hạt và sự không bền của alginate đã làm các hạt thay đổi kích thước theo hướng giảm dần. Các nghiên cứu khác cho thấy, nhược điểm của phương pháp cố định bằng alginate là chúng có độ bền cơ học kém, gây khó khăn cho việc phân hủy ở môi trường có nhiều tạp chất và khó khăn trong bảo quản lâu dài (Weng et al., 2023). Alginate có thể bị hòa tan khi có mặt phosphate, citrate hoặc các ion khác trong dung dịch (Weng et al., 2023).

Sự phân hủy trong môi trường khoáng lỏng có hiệu quả cao hơn hoặc tương đương với phân hủy trong nước thu về từ ruộng lúa, nhưng đa số các chu kỳ đều cao hơn trong nước thu về từ kênh rạch nhiễm mặn (Bảng 2). Nguyên nhân của sự chênh lệch này có thể là do môi trường khoáng lỏng đã khử trùng nên vi khuẩn phân hủy không bị ảnh hưởng bởi các nhóm vi khuẩn bản địa trong mẫu nước thu về. Mặt khác, môi trường khoáng lỏng có các ion

kháng cần thiết giúp vi sinh vật hoạt động hiệu quả hơn. Nước thu về từ ruộng lúa trong thành phần hóa học có N có thể cung cấp thêm dinh dưỡng cho vi khuẩn, nhưng chịu ảnh hưởng của BOD₅ và COD. Tuy nhiên, những thành phần này không ảnh hưởng

nhều đến hoạt động của vi sinh vật cố định trong alginate. Riêng nước thu về từ kênh rạch nhiễm mặn có lượng muối, BOD₅ và COD cao, làm ức chế sự hoạt động của vi khuẩn.

Bảng 2. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bổ sung vào môi trường lỏng bởi vi sinh vật được cố định trong alginate

Hoạt chất	Môi trường lỏng	Chu kỳ				
		1	2	3	4	5
Pretilachlor		100±0,0 ^{Bd}	94,5±2,9 ^{Bcd}	88,4±4,8 ^{Bbc}	80,2±6,6 ^{Bab}	73,7±7,5 ^{Ba}
Pretilachlor	Môi trường khoáng lỏng	89,9±5,2 ^{Bd}	84,7±5,5 ^{Bcd}	77,6±7,4 ^{Bbc}	70,5±6,8 ^{Bab}	61,5±6,6 ^{ABa}
Pretilachlor	Nước từ ruộng lúa	74,9±7,5 ^{Ad}	68,2±7,0 ^{Acd}	61,6±6,6 ^{Abc}	55,5±6,1 ^{Aab}	48,5±5,7 ^{Aa}
Fenclorim	Nước từ kênh rạch nhiễm mặn	91,7±3,3 ^{Cd}	87,4±5,5 ^{Ccd}	79,6±7,2 ^{Cbc}	70,4±7,4 ^{Bab}	65,8±7,1 ^{Ca}
Fenclorim	Môi trường khoáng lỏng	77,6±6,7 ^{Bc}	73,4±7,4 ^{Bc}	65,2±6,7 ^{Bbc}	58,4±6,4 ^{Aab}	50,4±5,5 ^{Ba}
Fenclorim	Nước từ ruộng lúa	61,6±6,5 ^{Ad}	56,3±6,2 ^{Acd}	50,4±6,1 ^{Abc}	43,2±4,6 ^{Aab}	36,7±5,2 ^{Aa}
	Nước từ kênh rạch nhiễm mặn					

Ghi chú: Quá trình được thực hiện bằng máy lắc quay vòng, trải qua 5 chu kỳ, mỗi chu kỳ 8 giờ. Các chữ cái in thường và in hoa khác nhau đi kèm với các số thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê tương ứng trong cùng một hàng và một cột của một hoạt chất ở mức < 5%.



Hình 5. Hình chụp hạt alginate cố định vi khuẩn

(Ghi chú: (a) khi chưa sử dụng, (b) khi đã sử dụng 5 chu kỳ và (c) sau khi hạt chưa sử dụng được hút khô)

3.4. Phân hủy pretilachlor và fenclorim bởi vi khuẩn cố định trong alginate, sử dụng hệ phân hủy đệm

Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim được thực hiện trong hệ phân hủy đệm bởi các vi khuẩn cố định trong alginate được thể hiện ở Hình 6. Trước hết, pretilachlor và fenclorim được bổ sung ở nồng độ tương ứng là 6,75 mg/L và 2,25 mg/L. Ở chu kỳ thứ nhất, tốc độ phân hủy không có khác biệt so với phân hủy trong môi trường được ủ trên máy lắc như đã mô tả ở trên. Tốc độ phân hủy giảm dần qua các chu kỳ, nhưng không giảm nhiều như phân hủy khi sử dụng máy lắc. Sau 5 chu kỳ, tốc độ phân hủy pretilachlor trong nước thu về từ ruộng lúa giảm trung bình là 13,3% và trong nước thu về từ kênh rạch nhiễm mặn là 14,5% so với chu kỳ thứ nhất. Số liệu đối với fenclorim tương ứng là 14,8% và 15,1%. Sau 5 chu kỳ thì hạt alginate có đường kính khoảng 3,0-3,5 mm. Trong hệ phân hủy đệm, khi được thổi từ phía dưới lên nên sự va chạm giữa các hạt alginate

ít hơn; các hạt ít thay đổi sau các chu kỳ nên sự giảm tốc độ phân hủy không nhiều.

Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim ở nồng độ hoạt chất cao cũng được hiện trong hệ thống phân hủy đệm và sử dụng vi khuẩn không cố định và cố định trong alginate. Hoạt chất được sử dụng có trong thuốc trừ cỏ Sofit 300EC và dạng tinh khiết. Thí nghiệm này được thực hiện để đánh giá ảnh hưởng của nồng độ hoạt chất đến tốc độ phân hủy và so sánh giữa phân hủy hoạt chất tinh khiết với hoạt chất trong thuốc trừ cỏ.

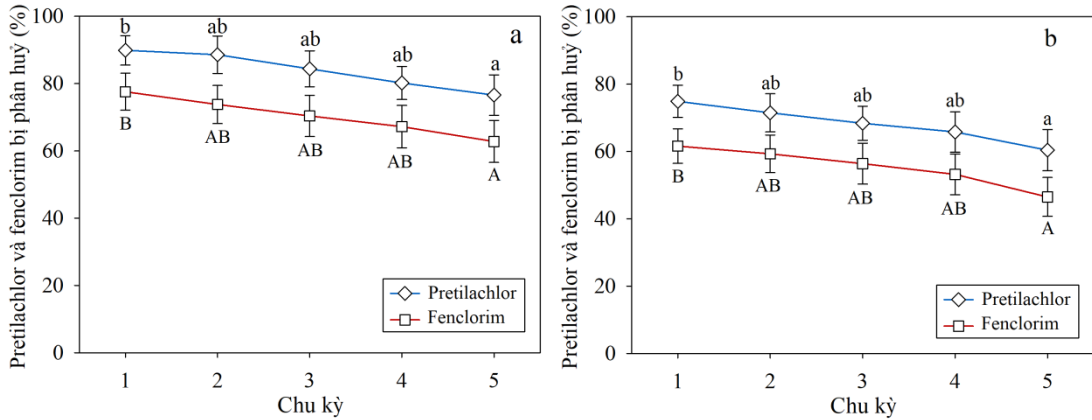
Đối với pretilachlor trong thuốc trừ cỏ ở nồng độ 100 µM, chúng bị phân hủy bởi vi khuẩn không cố định gần đến 100% sau 24 giờ, và 100% trong vòng 48 giờ (Bảng 3). Ở nồng độ 250 µM, sự phân hủy bởi vi khuẩn không cố định và cố định là 80,4±6,4% và 92,5±2,6% sau 24 giờ, nhưng đều phân hủy hoàn toàn sau 48 giờ. Do pretilachlor có độ hòa tan trong nước thấp nên ở nồng độ 500 µM sau 24 giờ không được phân tích. Sự phân hủy ở nồng độ này do vi khuẩn không cố định và cố định lần lượt là 75,4±7,6% và 90,9±4,2% sau 48 giờ (Bảng 3).

Sự phân hủy pretilachlor tinh khiết còn cao hơn trong thuốc trừ cỏ. Ở nồng độ 250 µM sau 24 giờ và 500 µM sau 48 giờ, mức phân hủy nhanh hơn xấp xỉ 10% so với phân hủy của hoạt chất trong thuốc trừ cỏ. Nguyên nhân của sự chênh lệch này có thể là do

các chất bổ sung trong thuốc trừ cỏ gây ức chế, làm chậm hơn sự phân hủy.

Đối với fenclorim, việc đánh giá khả năng phân hủy chỉ được thực hiện bởi vi khuẩn cố định sau 48

giờ trong hệ thống đệm. Kết quả cho thấy chúng phân hủy 99,1±0,1% và 97,7±0,6% ở nồng độ tương ứng là 100 và 250 μM (Bảng 3). Số liệu này cho thấy hệ phân hủy đệm có thể phân hủy hiệu quả cao bằng cả vi khuẩn không cố định và cố định.



Hình 6. Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bổ sung vào nước bởi vi sinh vật được cố định trong alginate

Ghi chú: Nguồn nước bao gồm: (a) thu về từ ruộng lúa và (b) nước thu về từ kênh rạch nhiễm mặn. Quá trình được thực hiện bằng hệ thống phân hủy đệm, trải qua 5 chu kỳ, mỗi chu kỳ 8 giờ.

Nghiên cứu trước đây về phân hủy pretilachlor trong hệ thống phân hủy đệm bởi *Pseudomonas* sp. Pre2 cố định trong polyurethane foam tối đa là 86,6 ±5,4% ở nồng độ 150 μM trong 12 giờ (Oanh & Duc, 2025). Alginate được sử dụng để cố định cho hiệu quả cao, cho dù ở nồng độ cao đến 500 μM. Công bố trước đây cũng chưa đề cập đến khả năng

phân hủy bởi vi khuẩn cố định sau một thời gian lưu trữ. Tuy nhiên, *Pseudomonas* sp. Pre2 có khả năng hình thành biofilm thấp nên có thể bị tách ra khỏi polyurethane foam nếu môi trường lỏng thay đổi về thành phần hóa học. Trái lại, việc sử dụng alginate có nhược điểm là chúng dễ bị hòa tan sau một số chu kỳ. Do đó, việc sử dụng nguyên liệu nào để cố định có thể cân nhắc, tùy theo mục đích yêu cầu.

Bảng 3. Phân hủy pretilachlor và fenclorim ở các nồng độ 100, 250 và 500 μM trong hệ thống phân hủy đệm bởi vi khuẩn tự do và vi khuẩn cố định trong alginate

Hoạt chất	Vi khuẩn	Thời gian (giờ)	Mức độ phân hủy (%)		
			100 μM	250 μM	500 μM
Pretilachlor trong thuốc trừ cỏ	Vi khuẩn không cố định	24	98,6±0,5	80,4±6,4	Không phân tích
		48	100	100	75,4±7,6
	Vi khuẩn cố định trong alginate	24	100	92,5±2,6	Không phân tích
		48	100	100	90,9±4,2
Pretilachlor tinh khiết	Vi khuẩn không cố định	24	100	90,2±3,5	Không phân tích
		48	100	100	85,1±5,5
	Vi khuẩn cố định trong alginate	24	100	100	Không phân tích
		48	100	100	90,4±2,3
Fenclorim tinh khiết	Vi khuẩn không cố định		Không phân tích		
	Vi khuẩn cố định trong alginate	24		Không phân tích	
		48	99,1±0,1	97,7±0,6	Không phân tích

3.5. Phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bởi vi khuẩn cố định sau một thời gian lưu trữ

Trước khi ủ, một nửa alginate được làm khô bằng hệ thống hút chân không. Sau khi hút, khối lượng hạt giảm 90% nhưng kích thước của hạt alginate hầu như không thay đổi so với ban đầu (Hình 5c). Sau khi sấy bằng máy hút chân không, lượng vi khuẩn trong alginate từ $0,92 \times 10^9$ khuẩn lạc/g ban đầu giảm xuống còn $0,45 \times 10^9$ khuẩn lạc/g (tính theo khối lượng ướt). Sau khi bảo quản ba tháng, số lượng vi khuẩn trong alginate không sấy khô là $0,67 \times 10^9$ khuẩn lạc/g ở nhiệt độ 4°C và $0,40 \times 10^9$ khuẩn lạc/g ở 30°C. Riêng đối với alginate sấy khô, số lượng ở nhiệt độ 4°C và 30°C tương ứng là $0,41 \times 10^9$ và $0,38 \times 10^9$ khuẩn lạc/g.

Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bổ sung vào môi trường khoáng lỏng giảm xuống còn xấp xỉ 2/3 sau khi sấy khô (Bảng 4). Tuy nhiên, sự phân hủy bởi vi sinh vật trong alginate không sấy khô giảm xuống khá nhiều sau khi ủ ba tháng, nhất là alginate bảo quản ở 30°C. Trong lúc đó, sự phân hủy pretilachlor bởi vi khuẩn trong hạt alginate đã sấy khô ban đầu và sau ba tháng không khác biệt có ý nghĩa thống kê, kể cả bảo quản ở 4°C hay 30°C (Bảng 4). Tốc độ phân hủy trung bình do vi khuẩn trong hạt alginate đã sấy khô giảm xuống sau thời gian trữ, nhưng sự giảm này không nhiều như alginate không sấy khô. Sau ba tháng bảo quản ở nhiệt độ 30°C thì sự phân hủy cả hai hoạt chất bởi vi khuẩn trong hạt alginate không được sấy khô cao hơn trung bình không đáng kể so với alginate sấy khô.

Bảng 4. Phân hủy pretilachlor và fenclorim bằng vi khuẩn cố định trong alginate trước và sau 3 tháng bảo quản. Thí nghiệm được thực hiện trong môi trường khoáng lỏng với hoạt chất trong thuốc trừ cỏ

	Pretilachlor			Fenclorim		
	Ban đầu	Sau ba tháng ở 4 °C	Sau ba tháng ở 30 °C	Ban đầu	Sau ba tháng ở 4 °C	Sau ba tháng ở 30 °C
Alginate ướt	100,0±0,0c	80,3±6,8b	60,2±6,5a	91,7±3,3c	75,5±6,0b	50,4±5,4a
Alginate khô	67,7±5,5a	60,3±6,1a	58,8±5,8a	60,8±6,1b	48,9±5,3a	46,3±5,0a

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau đi kèm với các số thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong cùng một hoạt chất ở cùng một hàng, với mức < 5%.

Việc sấy khô alginate giúp chúng nhẹ hơn, dễ vận chuyển hơn nhưng sự phân hủy giảm xuống do một số lượng nhất định vi khuẩn bị chết trong quá trình sấy. Trong ba tháng lưu trữ, sự phân hủy bởi vi khuẩn trong alginate không sấy khô giảm xuống là do vi khuẩn bị chết, nhất là bảo quản ở nhiệt độ 30°C. Bảo quản alginate không sấy khô ở nhiệt độ 4°C giúp vi khuẩn sống sót cao hơn so với 30°C. Riêng đối với alginate sấy khô, sự phân hủy ổn định hơn sau thời gian lưu trữ là do vi khuẩn sống sót nhiều hơn.

4. KẾT LUẬN

Sự phân hủy pretilachlor và fenclorim trong thuốc trừ cỏ bởi *Pseudomonas* sp. Pre2 và *Acinetobacter* sp. F0 với tốc độ là: phân hủy trong môi trường khoáng lỏng ≥ nước thu về từ ruộng lúa > nước thu về từ kênh ngập mặn. Sự phân hủy pretilachlor bởi *Pseudomonas* sp. Pre2 luôn cao hơn khi phân hủy fenclorim bởi *Acinetobacter* sp. F0 dù nồng độ pretilachlor cao hơn. Sự phân hủy bởi vi khuẩn cố định trong alginate luôn cao hơn sự phân hủy bởi vi khuẩn không được cố định. Tuy nhiên,

hạt alginate bị bào mòn trong quá trình phân hủy, nhất là khi sử dụng máy lắc. Sử dụng hệ phân hủy đệm, hạt alginate giảm sự bào mòn trong bồn phản ứng, giúp duy trì sự phân hủy lâu hơn. Hiệu quả của vi khuẩn cố định trong alginate còn được đánh giá sau khi hút khô bằng máy hút chân không. Mặc dù sau khi hút khô, sự phân hủy bởi vi khuẩn giảm xuống do vi khuẩn bị chết sau khi hút. Tuy nhiên, số lượng và khả năng phân hủy của vi khuẩn trong hạt alginate được hút khô giữ ổn định hơn trong quá trình lưu trữ. Sau ba tháng ủ ở nhiệt độ 30°C, sự phân hủy của hạt alginate không hút khô và hút khô không khác biệt đáng kể. Chẳng hạn, khi bảo quản ở nhiệt độ này, sau ba tháng thì sự phân hủy pretilachlor và fenclorim bởi vi khuẩn cố định - không hút khô tương ứng là 60,2±6,5% và 58,8±5,8%. Còn phân hủy bởi vi khuẩn cố định - hút khô tương ứng là 58,8±5,8% và 46,3±5,0%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này thuộc đề tài mã số 106.04-2021.63, được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia Việt Nam (NAFOSTED). Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự tài trợ này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- APHA. (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 21st ed.* Washington, DC: American Public Health.
- Cassidy, M. B., Lee, H., & Trevors, J. T. (1996). Environmental applications of immobilized microbial cells: a review. *J Ind Microbiol*, 16(2), 79–101. <https://doi.org/10.1007/BF01570068>
- Dahal, A., Shukla, S., Chauhan, B., Gyawali, J., Thapa, A., Budhamagar, B., & Mishra, D. (2023). Attempted suicidal poisoning with pretilachlor: case series of a herbicide simulating organophosphorus toxicity. *Oxford Medical Case Reports*, (12). <https://doi.org/10.1093/omcr/omad139>
- Đức, H. D. (2020). Khảo sát sự phân hủy toluene và chlorotoluene bởi vi khuẩn *Comamonas testosteroni* KT5 cố định trong alginate. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 62(6), 1–6.
- Duc, H. D. (2023). Enhanced degradation of sulfamethoxazole using immobilized biomass reactor. *Environ Eng Res* 28, 220213. <https://doi.org/10.4491/eer.2022.213>
- Duc, H. D., & Oanh, N. T. (2022). Degradation of propanil by *Acinetobacter baumannii* DT immobilized in alginate. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, 64, 8–12. [https://doi.org/10.31276/VJSTE.64\(3\).08-12](https://doi.org/10.31276/VJSTE.64(3).08-12)
- Duc, H. D., Oanh, N. T., Thuy, N. T. D., Xuan, N. T. K. (2024). Degradation of pretilachlor and fenclorim and effects of these compounds on bacterial communities under anaerobic condition. *Biodegradation*, 35(5), 583–599. <https://doi.org/10.1007/s10532-024-10078-1>
- Ha, D. D., Nguyen, T. O., & Ha, H. H. V. (2020). Acetochlor degradation by a mixed culture of *P. fluorescens* KT3 and *B. subtilis* 2M6E immobilized in alginate. *Dong Thap University Journal of Science*, 9(5), 86–92. <https://doi.org/10.52714/dthu.9.5.2020.821>
- Hu, L. F., Yao, Y., Cai, R. W., Pan, L., Liu, K., & Bai, L. (2020). Effects of fenclorim on rice physiology, gene transcription and pretilachlor detoxification ability. *BMC Plant Biol*, 20, 100. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-2304-y>
- Huang, T., Huang, Y., Huang, Y., Yang, Y., Zhao, Y., & Martyniuk, C.J. (2020). Toxicity assessment of the herbicide acetochlor in the human liver carcinoma (HepG2) cell line. *Chemosphere*, 243, 125345. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125345>
- Jiang, J., Chen, Y., Yu, R., Zhao, X., Wang, Q., & Cai, L. (2016). Pretilachlor has the potential to induce endocrine disruption, oxidative stress, apoptosis and immunotoxicity during zebrafish embryo development. *Environ Toxicol Pharmacol*, 42, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.01.006>
- Kobayashi, K., Ashida, N., & Shim, I. S. (1999). Pretilachlor behavior and its phytotoxic activity on transplanted rice in Utsunomiya paddy soil. *J Weed Sci Tech*, 44, 285–292. <https://doi.org/10.3719/WEED.44.285>
- Kwatra, N., & Abraham, J. (2023). Biomineralization of pretilachlor by free and immobilized fungal strains isolated from paddy field. *Arch Microbiol*, 205(5), 188. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03538-4>
- Lamberth, C. (2016). *Chloroacetamide herbicides. In Bioactive Carboxylic Compound Classes* (eds C. Lamberth and J. Dinges). <https://doi.org/10.1002/9783527693931.ch21>
- Lewis, K.A., Tzilivakis, J., Warner, D., & Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Hum Ecol Risk Assess*, 22(4), 1050–1064. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>
- Liu, H. M., Cao, L., Lu, P., Ni, H., Li, Y. X., Yan, X., Hong, Q., & Li, S. P. (2012). Biodegradation of butachlor by *Rhodococcus* sp. strain B1 and purification of its hydrolase (ChIH) responsible for N-dealkylation of chloroacetamide herbicides. *J Agric Food Chem*, 60, 12238–12244. <https://doi.org/10.1021/jf303936j>
- Liu, H. M., Yuan, M., Liu, A. M., Ren, L., Zhu, G. P., & Sun, L. N. (2021). A bifunctional enzyme belonging to cytochrome P450 family involved in the O-dealkylation and N-dealkoxymethylation toward chloroacetanilide herbicides in *Rhodococcus* sp. B2. *Microb Cell Factories*, 20, 61. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01544-z>
- Liu, S., Deng, X., Zhou, X., & Bai, L. (2021). Assessing the toxicity of three “inert” herbicide safeners toward *Danio rerio*: Effects on embryos development. *Ecotoxicol Environ Saf*, 207, 111576. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111576>
- Marin-Morales, M. A., Ventura-Camarg, B. C., & Hoshin, M. M. (2013). Toxicity of herbicides: impact on aquatic and soil biota and human health. *Herbicides Andrew Price, IntechOpen*, 399–443. <https://doi.org/10.5772/55851>
- Maryam, P., Mehdi, M., Morteza, S., Masood, F., Abbasali, Z., & Firouz, A. (2013). Determination of the acute toxicity of pretilachlor on liver and gill tissues as well as glucose and cortisol levels in fingerling grass carps (*Ctenopharyngodon*

- idella*). *J Fish Aquat Sci*, 8, 721–726.
<https://doi.org/10.3923/jfas.2013.721.726>
- Oanh, N.T., & Duc, H. D. (2025). Biodegradation of pretilachlor and butachlor by novel bacterial strains isolated from paddy field soil. *Biodegradation*, 36, 53.
<https://doi.org/10.1007/s10532-025-10148-y>
- Partovinia, A., & Rasekh, B. (2018). Review of the immobilized microbial cell systems for bioremediation of petroleum hydrocarbons polluted environments. *Crit Rev Environ Sci Technol*, 48, 1–38.
<https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1439652>
- Pradeep, V., Subbaiah, U. M. (2016). Use of Calcium alginate immobilized *Pseudomonas aeruginosa* for repeated batch and continuous degradation of Endosulfan. *3 Biotech*, 6(2), 124.
<https://doi.org/10.1007/s13205-016-0438-2>
- Sapari, P., & Ismail, B. S. (2012). Pollution levels of thiobencarb, propanil, and pretilachlor in rice fields of the muda irrigation scheme, Kedah, Malaysia. *Environ Monit Assess*, 184(10), 6347–6356.
<https://doi.org/10.1007/s10661-011-2424-9>
- Schoebitz, M., Simonin, H., Poncelet, D. (2012). Starch filler and osmoprotectants improve the survival of rhizobacteria in dried alginate beads. *J Microencapsul*, 29, 532–538.
<https://doi.org/10.3109/02652048.2012.665090>
- Toan, P. V., Sebesvari, Z., Blasing, M., Rosendahl, I., & Renaud, F. G. (2013). Pesticide management and their residues in sediments and surface and drinking water in the Mekong Delta, Vietnam. *Sci Total Environ*, 452–453, 28–39.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.026>
- Verma, S.K., Soni, R., & Gupta, P. (2022). Chloroacetamide herbicide pretilachlor induces genotoxicity in the fresh water fish *Clarias batrachus*. *Toxicol Environ Chem*, 104, 120–128.
<https://doi.org/10.1080/02772248.2021.2007921>
- Vidotto, F., Ferrero, A., Bertoia, O., Gennari, M., & Cignetti, A. (2004). Dissipation of pretilachlor in paddy water and sediment. *Agronomie*, 24, 473–479.
<https://doi.org/10.1051/agro:2004043>
- Weng, Y., Yang, G., Li, Y., Xu, L., Chen, X., Song, H., & Zhao, C.-X. (2023). Alginate-based materials for enzyme encapsulation. *Adv Colloid Interface Sci*, 318, 102957.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102957>
- Zhang, J., Zheng, J. W., Liang, B., Wang, C. H., Cai, S., Ni, Y. Y., He, J., & Li, S. P. (2011). Biodegradation of chloroacetamide herbicides by *Paracoccus* sp. FLY-8 in vitro. *J Agric Food Chem*, 59(9), 4614–4621.
<https://doi.org/10.1021/jf104695g>