

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Vũ Hà Phương

NGHIÊN CỨU KHAI THÁC DỮ LIỆU HỆ GEN (GENOME-
MINING) CỦA VI KHUẨN PHÂN GIẢI DDT VÀ LINDANE
NHẪM PHÁT TRIỂN CHẾ PHẨM ĐA CHỨC NĂNG ỨNG DỤNG
XỬ LÝ ĐẤT Ô NHIỄM Ở VIỆT NAM

Chuyên ngành: Vi sinh vật học

Mã số: 9420107

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2026

Công trình được hoàn thành tại:

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Hà Nội

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Phạm Thế Hải

Phản biện: GS. TS. Đồng Văn Quyền

Viện Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

Phản biện: PGS.TS. Nguyễn Xuân Cảnh

Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Phản biện: PGS.TS. Nguyễn Hương Lan

Đại học Bách Khoa Hà Nội

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ
hợp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQGHN
vào hồi giờ 00 ngày tháng năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Trung tâm thông tin – Thư viện, Đại học Quốc gia Hà Nội

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Việt Nam là một đất nước có truyền thống nông nghiệp từ xưa đến nay, và do đó nông nghiệp là ngành đóng góp tích cực cho phát triển kinh tế, xã hội của đất nước. Tuy nhiên, cùng với sự phát triển mạnh của nông nghiệp là sự lạm dụng và sử dụng phổ biến thuốc hóa học trừ sâu bệnh. Đặc biệt, do sự hạn chế về hiểu biết của người dân và công tác quản lý còn lỏng lẻo nên một lượng lớn hóa chất bảo vệ thực vật đã được sử dụng tràn lan trong một thời gian dài và phát tán ra môi trường; gây ra ô nhiễm. Trong đó, đáng chú ý là hai chất khó phân hủy là DDT (Dichloro-Trichloroethane Diphenyl) và Lindane ($C_6H_6Cl_6$) hay còn được gọi là γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH).

DDT và Lindane là hai hóa chất diệt côn trùng được sử dụng phổ biến nhất và cũng là tác nhân gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. DDT và Lindane được phân loại là chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy vì tính ổn định cao trong môi trường, khiến chúng trở thành nguồn ô nhiễm lâu dài cho hệ sinh thái. Ngoài ra, DDT và Lindane còn có thể được hấp thụ dễ dàng và tích tụ trong cơ thể của các sinh vật sống; nồng độ các chất này trở nên cao hơn ở các bậc cao hơn của chuỗi thức ăn, đặc biệt là trong các loài sinh vật lớn và sống lâu. Ngoài tác dụng gây độc trực tiếp, các thuốc trừ sâu kể trên có thể còn bị biến đổi thành một hoặc nhiều chất chuyển hóa mà các chất này có thể có tính chất hóa học và độc tính khác với hợp chất ban đầu.

Ở Việt Nam, thực trạng tồn dư các hóa chất DDT và Lindane vẫn còn rất nghiêm trọng trong đất nông nghiệp. Trước thực trạng ô nhiễm nêu trên cần có những phương pháp hữu hiệu để phân giải DDT và Lindane còn tồn dư. Các cách tiếp cận khác nhau đã được sử dụng

để phân giải DDT và Lindane, đó là xử lý hóa học, đốt và chôn lấp. Tuy nhiên, các phương pháp này không xử lý được triệt để, vẫn để lại một số ảnh hưởng độc hại với môi trường và sức khỏe con người. Do vậy, việc xử lý ô nhiễm bằng các phương pháp xử lý sinh học an toàn với môi trường đang dần trở thành những giải pháp được mong muốn nhất.

Xử lý các chất ô nhiễm bằng phương pháp phân hủy sinh học hiện nay đang được xem là một hướng đi mới bền vững và nhiều triển vọng trong việc giải quyết các vấn đề ô nhiễm trong đó có ô nhiễm DDT và Lindane. Phương pháp này thường dựa trên nguyên tắc sử dụng các vi sinh vật có khả năng phân hủy các chất ô nhiễm, nên chúng an toàn, thân thiện với hệ sinh thái và môi trường. Phương pháp phân hủy sinh học là phương pháp ít phức tạp, không đòi hỏi các điều kiện môi trường quá khắc khe, và chi phí thấp; do đó rất phù hợp với điều kiện nước ta. Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về vi sinh vật phân giải hiệu quả DDT và Lindane. Trong khi đó, việc sử dụng các chủng vi sinh vật có nguồn gốc ở Việt Nam và có tiềm năng phân giải hiệu quả DDT và Lindane sẽ phù hợp khi ứng dụng thực tế tại Việt Nam. Mặc dù vậy, các nghiên cứu gần đây đã cho thấy hạn chế của việc sử dụng các chủng đơn lẻ trong thực tế, đặc biệt do sự kém linh hoạt trong khả năng thích nghi của chúng với môi trường tự nhiên. Do đó, một xu thế hiện nay là phát triển các chế phẩm vi sinh vật dạng hỗn hợp đa chủng với những tương tác hỗ trợ cho nhau giúp làm tăng hiệu quả xử lý ô nhiễm và tăng khả năng thích ứng với các điều kiện môi trường khác nhau.

Để phát triển các chế phẩm vi sinh đa chủng mới xử lý DDT hoặc Lindane một cách hiệu quả nhất, một cách tiếp cận mới hiện nay

là dựa trên đánh giá tiềm năng trao đổi chất và khả năng xử lý ô nhiễm DDT và Lindane thông qua phân tích hệ gen (genome-mining) của vi sinh vật và từ đó xây dựng (*in silico*) những phương án tổ hợp chủng tạo chế phẩm sinh học tiềm năng nhất. Các phương án này sau đó sẽ được khảo sát hiệu quả thực sự trong phòng thí nghiệm và trong thực tế để cuối cùng đưa ra được các chế phẩm sinh học ứng dụng tốt ngoài thực địa để xử lý đất ô nhiễm. Đây cũng là nền tảng để phát triển những quy trình công nghệ sinh học khác biệt giúp xử lý đất ô nhiễm DDT và Lindane ở Việt Nam một cách hiệu quả.

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Nghiên cứu phân tích được genome của các chủng vi khuẩn và xạ khuẩn trong bộ sưu tập giống phân lập tại Việt Nam có khả năng phân giải DDT hoặc Lindane đã được tuyển chọn. Từ đó, dự đoán được các tương tác tiềm năng giữa các chủng tuyển chọn và đưa ra được các tổ hợp chủng tiềm năng có khả năng phân giải hiệu quả DDT hoặc Lindane. Đồng thời, đánh giá được hiệu quả phân giải và khả năng ứng dụng thực tế của các tổ hợp này, qua đó lựa chọn được phương án tối ưu để phát triển chế phẩm sinh học xử lý ô nhiễm DDT hoặc Lindane.

- Xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm sinh học đa chủng xử lý ô nhiễm DDT hoặc Lindane trong đất và bước đầu thử nghiệm được xử lý đất ô nhiễm DDT hoặc Lindane bằng chế phẩm sinh học.

3. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Nghiên cứu phân tích hệ gen, dự đoán các tổ hợp tiềm năng, đánh giá hiệu quả phân giải DDT hoặc Lindane và khả năng

thích nghi với các điều kiện thực tế của các tổ hợp đó nhằm xây dựng các tổ hợp chủng giúp phân giải hiệu quả DDT hoặc Lindane

Nội dung 2: Nghiên cứu xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm đa chủng từ các tổ hợp chủng xây dựng được

Nội dung 3: Thử nghiệm xử lý đất ô nhiễm DDT hoặc Lindane bằng chế phẩm sinh học ở quy mô phòng thí nghiệm và bước đầu thử nghiệm xử lý ở mô hình thực tế

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

Ý nghĩa khoa học:

Hiện chưa có công trình khoa học nào nghiên cứu và công bố về việc chủ động xây dựng công thức tổ hợp vi sinh vật nhằm phân giải hiệu quả DDT và Lindane. Ngoài ra, cách tiếp cận sử dụng các kỹ thuật mới như giải trình tự toàn hệ gene và khai thác hệ gen nhằm đánh giá triệt để tiềm năng trao đổi chất và xử lý ô nhiễm cũng chưa được áp dụng cho các nghiên cứu khả năng phân hủy sinh học của vi sinh vật. Phát hiện về khả năng phân giải DDT và Lindane của các chủng, đặc biệt là tương tác của các chủng trong các tổ hợp chủng khác nhau là một đóng góp mới cho khoa học. Đặc biệt, những chủng bản địa có nguồn gốc tại Việt Nam và có tiềm năng phân giải hiệu quả DDT và Lindane sẽ phù hợp khi ứng dụng thực tế tại Việt Nam.

Ý nghĩa thực tiễn:

Quy trình sản xuất chế phẩm sinh học và công nghệ xử lý DDT, Lindane bằng các chế phẩm được nghiên cứu và phát triển trong luận án này có ý nghĩa quan trọng trong việc cải thiện chất lượng đất ô nhiễm, giảm thiểu nguy cơ ô nhiễm môi trường và tác động tiêu cực

đến sức khỏe cộng đồng do hai chất độc này gây ra. Thực tế hiện nay cho thấy, nhiều khu vực tại Việt Nam vẫn còn tồn dư DDT và Lindane trong đất, trong khi các phương pháp xử lý hóa – lý đang được áp dụng thường có chi phí cao và hiệu quả chưa triệt để.

Trong bối cảnh đó, chế phẩm sinh học tổ hợp vi sinh được xây dựng từ các chủng vi sinh vật bản địa có khả năng phân giải DDT và Lindane, được thử nghiệm trong điều kiện thực tế tại Việt Nam, mang lại hiệu quả xử lý cao và phù hợp với điều kiện trong nước. Bên cạnh đó, quy trình công nghệ xử lý được thiết kế đơn giản, chi phí thấp và dễ triển khai tại các vùng nông thôn – nơi hiện nay vẫn còn nhiều khu vực bị ô nhiễm DDT và Lindane – góp phần tạo ra giải pháp khả thi, bền vững và thân thiện với môi trường. Đặc biệt, chế phẩm sinh học xử lý DDT và Lindane vẫn chưa xuất hiện trên thị trường. Do đó, chế phẩm được nghiên cứu hứa hẹn sẽ là một sản phẩm mới hấp dẫn cho các doanh nghiệp hoặc địa phương có nhu cầu. Quy trình sản xuất chế phẩm sinh học và công nghệ xử lý DDT, Lindane bằng các chế phẩm được nghiên cứu và phát triển trong luận án này có ý nghĩa quan trọng trong việc cải thiện chất lượng đất ô nhiễm, giảm thiểu nguy cơ ô nhiễm môi trường và tác động tiêu cực đến sức khỏe cộng đồng do hai chất độc này gây ra. Thực tế hiện nay cho thấy, nhiều khu vực tại Việt Nam vẫn còn tồn dư DDT và Lindane trong đất, trong khi các phương pháp xử lý hóa – lý đang được áp dụng thường có chi phí cao và hiệu quả chưa triệt để.

5. Những đóng góp mới của đề tài

+ Lần đầu tiên nghiên cứu xây dựng công thức tổ hợp vi sinh vật phân giải DDT hoặc Lindane hiệu quả cao, trên cơ sở sử dụng cách

tiếp cận phân tích hệ gen (genome-mining) để lựa chọn và phối hợp các chủng vi sinh vật tối ưu.

+ Đề xuất và phát triển thành công chế phẩm sinh học đa chủng có khả năng phân giải hiệu quả DDT hoặc Lindane, đồng thời xây dựng được quy trình công nghệ xử lý đất bị ô nhiễm bởi hai hợp chất này bằng các chế phẩm đã tạo ra. Quy trình đã được thử nghiệm và chứng minh hiệu quả cao.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN

1.1 Tổng quan chung về thực trạng ô nhiễm và tồn dư DDT và Lindane

1.1.1 Giới thiệu về DDT

DDT (dichloro-diphenyl-trichloroethane) được phát hiện lần đầu tiên vào năm 1873 bởi Othmar Zeidler và được nhà hóa học Thụy Sĩ Paul Herman Muller sử dụng rộng rãi như một loại thuốc trừ sâu từ năm 1939. Tuy nhiên, DDT gây ra những hậu quả nguy hiểm đối với sức khỏe con người, sinh vật, cũng như ảnh hưởng đến môi trường tự nhiên, như làm tăng tính kháng thuốc ở nhiều loài côn trùng gây hại ảnh hưởng đến mùa màng.

1.1.2 Giới thiệu về Lindane

Lindane còn được biết đến là gamma - hexachlorocyclohexane (γ - HCH), được tổng hợp vào năm 1852 bởi nhà khoa học người Anh Michael Faraday bằng cách cho benzen phản ứng với chloride dưới ánh sáng mặt trời. Tuy nhiên, do những tác động có hại đến con người và môi trường, việc sử dụng Lindane với mục đích trừ sâu đã bị cấm kể từ năm 2009 nhưng vẫn được sản xuất và sử dụng cho các mục đích y tế theo công ước Stockholm.

- 1.2 Hiện trạng và tác hại của DDT và Lindane đến con người và môi trường**
- 1.3 Các phương pháp xử lý ô nhiễm, tồn dư DDT và Lindane**
 - 1.3.1 Tình hình chung trên thế giới**
 - 1.3.2 Tình hình tại Việt Nam**
- 1.4 Sử dụng tổ hợp vi sinh vật phân giải DDT và Lindane**
 - 1.4.1 Phân hủy sinh học DDT nhờ vi sinh vật**
 - 1.4.2 Phân hủy sinh học Lindane nhờ vi sinh vật**
 - 1.4.3 Các nghiên cứu về sử dụng tổ hợp chủng phân giải DDT và Lindane**
 - 1.4.4 Cách tiếp cận genome mining trong nghiên cứu vi sinh vật học**
 - 1.4.5 Các yếu tố thực tế ảnh hưởng đến các tổ hợp vi sinh vật có khả năng phân giải DDT và Lindane**
- 1.5 Chế phẩm sinh học xử lý ô nhiễm DDT và Lindane trong đất**
 - 1.5.1 Chế phẩm sinh học phân hủy thuốc BVTV**
 - 1.5.2 Tình hình nghiên cứu chế phẩm xử lý tồn dư DDT và Lindane**
 - 1.5.3 Sản xuất chế phẩm sinh học**

CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

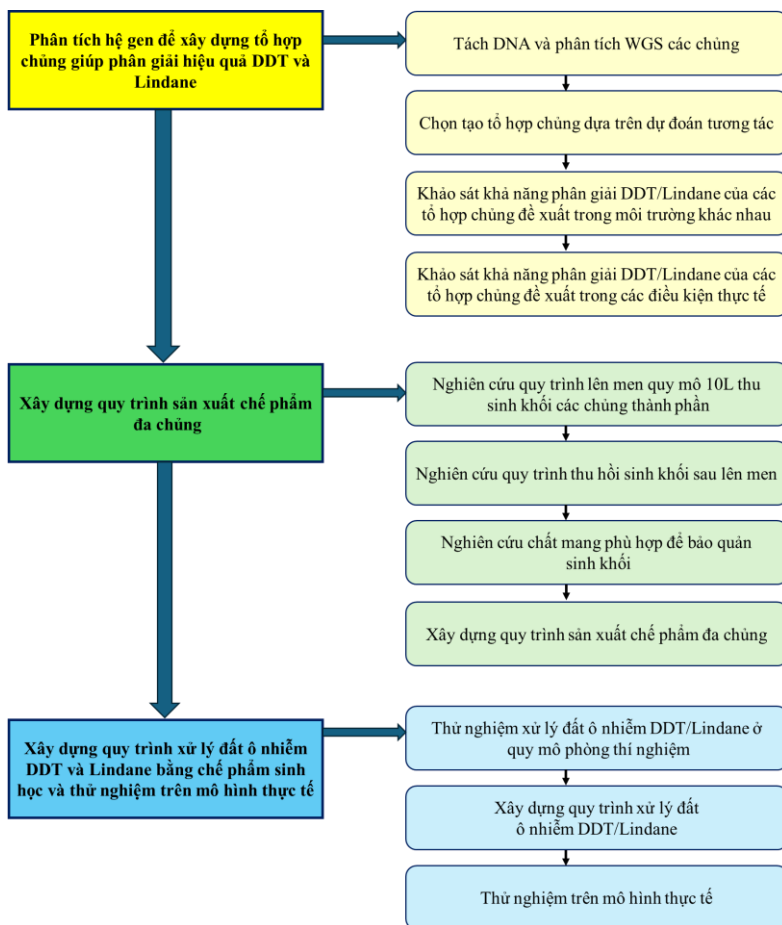
2.1 Vật liệu

Bảng 2.2. Danh sách các chủng được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Kí hiệu	Định danh	Mã lưu trữ tại PU-PRC	Có khả năng phân giải DDT	Có khả năng phân giải Lindane
1	T006	<i>Pseudomonas</i> sp. nov.	PU50001	X	
2	T087	<i>Pseudomonas putida</i>	PU50002	X	
3	TN030	<i>Cupriavidus metallidurans</i>	PU50003	X	
4	PAM64	<i>Pseudomonas lalkuanensis</i>	PU50004	X	
5	PAM67	<i>Pseudomonas anuradhapurensis</i>	PU50005	X	
6	Y077	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	PU50006	X	
7	Y042	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	PU50007	X	
8	Y050	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	PU50008	X	X
9	DDT21	<i>Streptomyces marianii</i>	PU50009	X	
10	DDT23	<i>Streptomycesnojiriensis</i>	PU50010	X	

STT	Kí hiệu	Định danh	Mã lưu trữ tại PU-PRC	Có khả năng phân giải DDT	Có khả năng phân giải Lindane
11	T069	<i>Pseudomonas putida</i>	PU50011		X
12	Y027	<i>Sphingobacterium mizutaii</i>	PU50012		X
13	Y049	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	PU50013		X
14	Y052	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	PU50014		X
15	Y076	<i>Pseudomonas kribbensis</i>	PU50015		X
16	PAM65	<i>Pseudomonas putida</i>	PU50016		X
17	PAM66	<i>Pseudomonas putida</i>	PU50017		X
18	LD02	<i>Streptomyces wuyuanensis</i>	PU50018		X
19	A119	<i>Streptomyces katrae</i>	PU50019		X

2.2 Sơ đồ nghiên cứu



Hình 2.1. Sơ đồ nghiên cứu

2.3. Phương pháp

2.3.1 Nhóm phương pháp phục vụ phân tích hệ gen để xây dựng các tổ hợp chủng ưu việt phân giải DDT và Lindane

2.3.2 Các phương pháp phân tích khả năng phân giải DDT và Lindane

- 2.3.3 Phương pháp xác định mật độ vi sinh vật**
- 2.3.4 Chuẩn bị sinh khối của các tổ hợp chủng**
- 2.3.5 Phương pháp khảo sát khả năng phân giải các tổ hợp chủng đề xuất trong các môi trường khác nhau**
- 2.3.6 Các thí nghiệm khảo sát khả năng phân giải DDT hoặc Lindane của các tổ hợp chủng đề xuất trong các điều kiện thực tế**
- 2.3.7 Các thí nghiệm nhằm xây dựng quy trình lên men quy mô 10L thu sinh khối các chủng sử dụng tạo chế phẩm**
- 2.3.8 Các thí nghiệm khảo sát các phương án thu hồi sinh khối sau lên men**
- 2.3.9 Các thí nghiệm xác định chất mang phù hợp để bảo quản chế phẩm**
- 2.3.10 Thử nghiệm cải tiến công thức chất mang**
- 2.3.11 Thử nghiệm xử lý ô nhiễm đất quy mô phòng thí nghiệm**
- 2.3.12 Thử nghiệm mô hình thực tế**
- 2.3.13 Phân tích và xử lý số liệu**

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

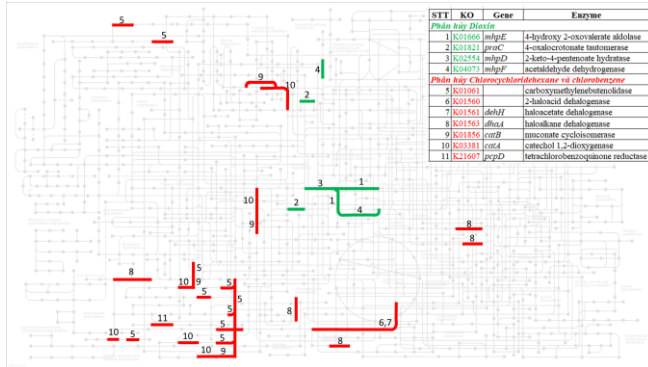
3.1 Phân tích hệ gen để xây dựng tổ hợp chủng giúp phân giải hiệu quả DDT và Lindane

3.1.1 Kết quả WGS của các đơn chủng vi sinh vật

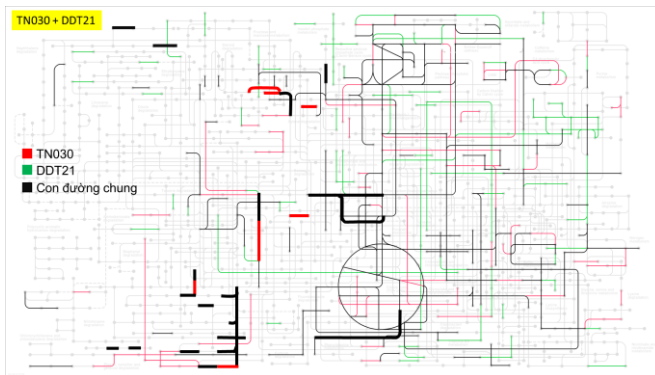
DNA tổng số của 10 chủng vi sinh vật có khả năng phân giải DDT hiệu quả (*Streptomyces marianii* DDT21, *Streptomycesnojiriensis* DDT23, *Pseudomonas* sp. nov. T006, *Pseudomonas nitroreducens* Y077, *Stenotrophomonas maltophilia* Y042, *Pseudomonas lalkuanensis* PAM64, *Pseudomonas anuradhapurensis* PAM67, *Cupriavidus metallidurans* TN030, *Stenotrophomonas maltophila* Y050, *Pseudomonas putida* T087) và 10 chủng phân giải Lindane hiệu quả (*Streptomyces wuyuanensis* LD02, *Streptomyces katrae* A119, *Pseudomonas putida* PAM65, *Pseudomonas putida* PAM66, *Stenotrophomonas maltophilia* Y050, *Sphingobacterium mizutaii* Y027, *Sphingobacterium multivorum* Y049, *Sphingobacterium multivorum* Y052, *Pseudomonas putida* T069, *Pseudomonas kribbensis* Y076) đã được tách chiết thành công và đạt tiêu chuẩn chất lượng để tiến hành giải trình tự WGS. Đây là những chủng được tuyển chọn có khả năng phân giải hiệu quả DDT và Lindane cùng khả năng thích tốt với các điều kiện môi trường khác nhau.

3.1.2 Chọn tạo tổ hợp chủng thông qua dự đoán tương tác dựa trên phân tích genome

Để dự đoán tương tác giữa các đơn chủng, bản đồ trao đổi chất của từng cặp hai đơn chủng được đối sánh với nhau để theo dõi sự hỗ trợ của các con đường. Hai nhóm con đường gồm “Chlorocyclohexane and chlorobenzene degradation” và “Dioxin degradation” được lựa chọn.



Hình 3.5. Chú thích những gen và enzyme tương ứng của những chủng nghiên cứu có tham gia vào hai con đường “Chlorocyclohexane and chlorobenzene degradation” và “Dioxin degradation” theo dữ liệu KEGG



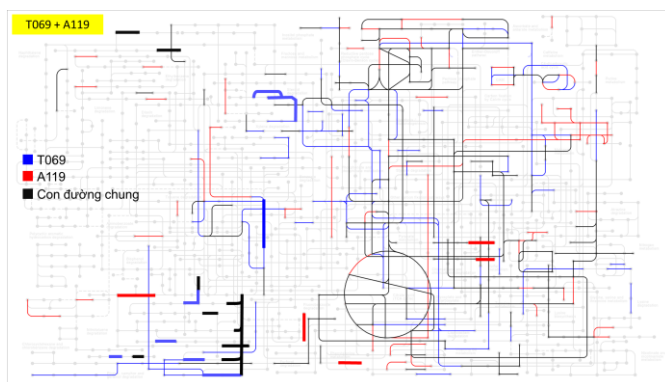
Hình 3.6. Bản đồ tổng hợp các con đường trao đổi chất của DDT21 và TN030

Ghi chú: Con đường đặc trưng của mỗi chủng được đánh dấu bằng màu riêng. Những con đường bôi đậm là những con đường liên quan đến phân hủy Chlorocyclohexane, chlorobenzene và dioxin

Dựa trên các phân tích và dự đoán tương tác nêu trên, 10 tổ hợp chủng phân giải DDT tiềm năng nhất được đề xuất thử nghiệm (Bảng 3.5).

Bảng 3.5. Công thức các tổ hợp phân giải DDT tiềm năng được đề xuất dựa trên tương tác giữa các đơn chủng

STT	Tên	Thành phần vi sinh vật
1	HD1	DDT21, TN030, T006, PAM64, Y042
2	HD2	DDT21, TN030, T006, PAM67, Y042
3	HD3	DDT21, TN030, Y077, PAM64, Y042
4	HD4	DDT21, TN030, Y077, PAM67, Y042
5	HD5	DDT21, TN030, T006, PAM64
6	HD6	DDT21, TN030, T006, PAM67
7	HD7	DDT21, TN030, Y077, PAM64
8	HD8	DDT21, TN030, Y077, PAM67
9	HD9	DDT21, TN030, T006
10	HD10	DDT21, TN030, Y077



Hình 3.8. Bản đồ tổng hợp các con đường trao đổi chất của A119 và T069.

Ghi chú: Con đường đặc trưng của mỗi chủng được đánh dấu bằng màu riêng. Những con đường bôi đậm là những con đường liên quan đến phân hủy Chlorocyclohexane và chlorobenzene

Dựa trên các phân tích và dự đoán tương tác nêu trên, 10 tổ hợp chủng phân giải Lindane tiềm năng nhất được đề xuất thử nghiệm (Bảng 3.6).

Bảng 3.6. Công thức các tổ hợp phân giải Lindane tiềm năng được đề xuất dựa trên tương tác giữa các đơn chủng

STT	Tên	Thành phần vi sinh vật
1	HH1	T069, A119, PAM66
2	HH2	T069, A119, Y050
3	HH3	T069, A119, Y027
4	HH4	T069, A119, PAM66, Y050
5	HH5	T069, A119, PAM66, Y027
6	HH6	T069, A119, Y050, Y027
7	HH7	T069, A119, PAM66, Y050, Y027
8	HH8	T069, PAM66, Y050
9	HH9	T069, PAM66, Y027
10	HH10	T069, PAM66, Y050, Y027

3.1.3 Nghiên cứu đánh giá hiệu quả phân giải DDT và Lindane của các tổ hợp chủng và đánh giá các đặc tính liên quan đến khả năng ứng dụng thực tế

Nhìn chung, các tổ hợp chủng thể hiện khả năng phân hủy DDT cao hơn so với các chủng đơn lẻ. Sự khác biệt này đặc biệt rõ trong môi trường rắn, và nổi bật nhất ở điều kiện bán rắn. Tổng hợp tất cả các kết quả nêu trên, có thể thấy HD4 và HD7 là những tổ hợp vừa có khả năng phân hủy DDT hiệu quả vừa thích ứng với các điều kiện thực tế đa dạng.

Tổng hợp các kết quả trên về khả năng phân giải ở môi trường lỏng, rắn và bán rắn, có thể nhận thấy rằng các tổ hợp có hiệu suất tốt nhất trong các dạng môi trường khác nhau là: (i) HH2, HH3, HH4 và HH6 trong môi trường lỏng; (ii) HH4, HH5 và HH6 trong môi trường bán rắn; và (iii) HH1 và HH4 trong môi trường rắn. Dựa trên tất cả các

kết quả ảnh hưởng của điều kiện môi trường đến hiệu suất loại bỏ Lindane của các tổ hợp được thử nghiệm, chúng tôi nhận định HH1 và HH3, đặc biệt là tổ hợp HH1, là những tổ hợp nổi bật hơn cả, do chúng có khả năng thích nghi tốt nhất với nhiều điều kiện khác nhau như nhiệt độ, độ pH, nguồn cacbon và nitơ bổ sung, và nồng độ cơ chất.

3.2 Xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm đa chủng

3.2.1 Nghiên cứu quy trình lên men quy mô 10L tạo chế phẩm với các chủng phân giải DDT và Lindane

Bổ sung ri đường là nguồn cacbon tiềm năng và hiệu quả cho quá trình lên men. Bổ sung 0,1% amoni sulfat là nguồn nitơ trong quá trình lên men. Tỷ lệ tiếp giống 5% được xác định là thích hợp cho quá trình lên men.

3.2.2 Nghiên cứu quy trình thu hồi sinh khối sau lên men

Phương án lọc và ly tâm đều có thể được xem là những lựa chọn khả thi cho quá trình thu hồi sinh khối vi khuẩn sau lên men.

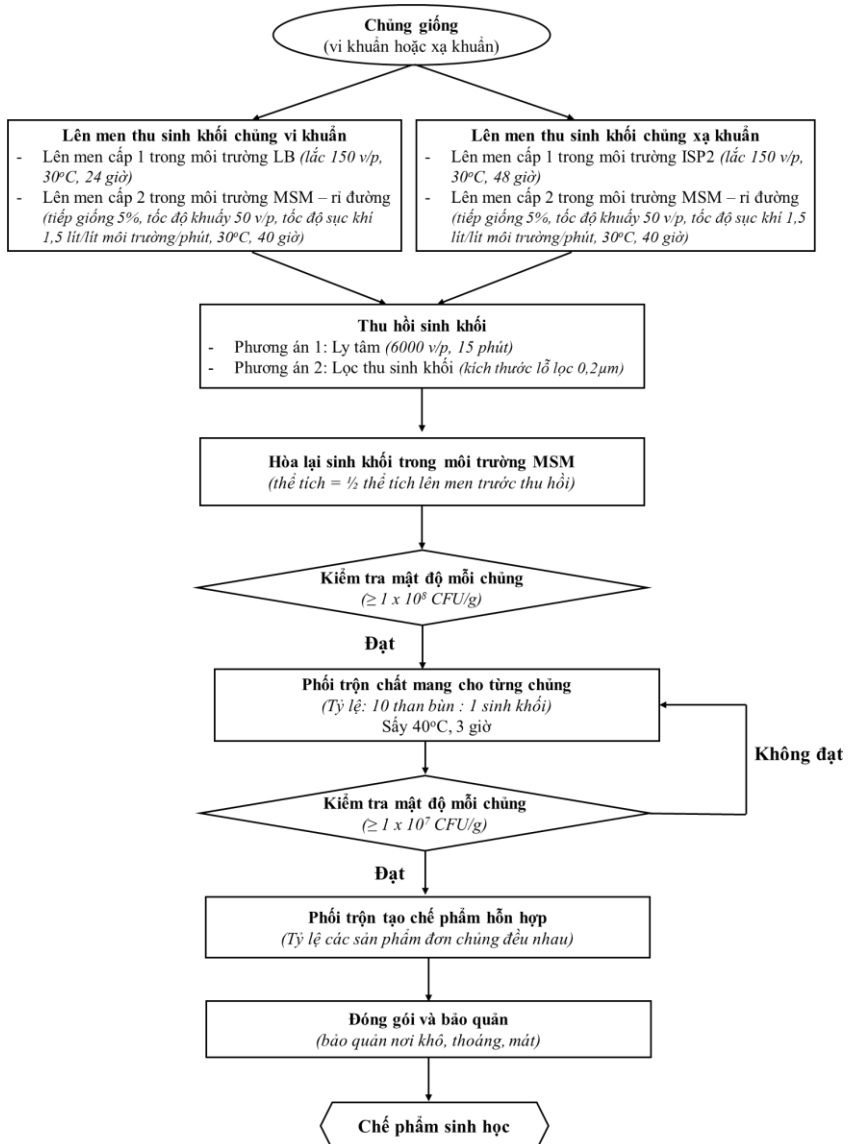
3.2.3 Nghiên cứu chất mang phù hợp để bảo quản chế phẩm

Than bùn là chất mang tối ưu để tạo chế phẩm.

3.2.4 Cải tiến công thức chất mang nâng cao hiệu quả bảo quản

Quy trình cải tiến sấy 40°C trong 3 giờ sau khi trộn chế phẩm vừa tiết kiệm chi phí và hiệu quả bảo quản giúp duy trì mật độ và hoạt tính tốt hơn công thức có bổ sung silica.

3.2.5 Quy trình sản xuất chế phẩm sinh học từ các đơn chủng

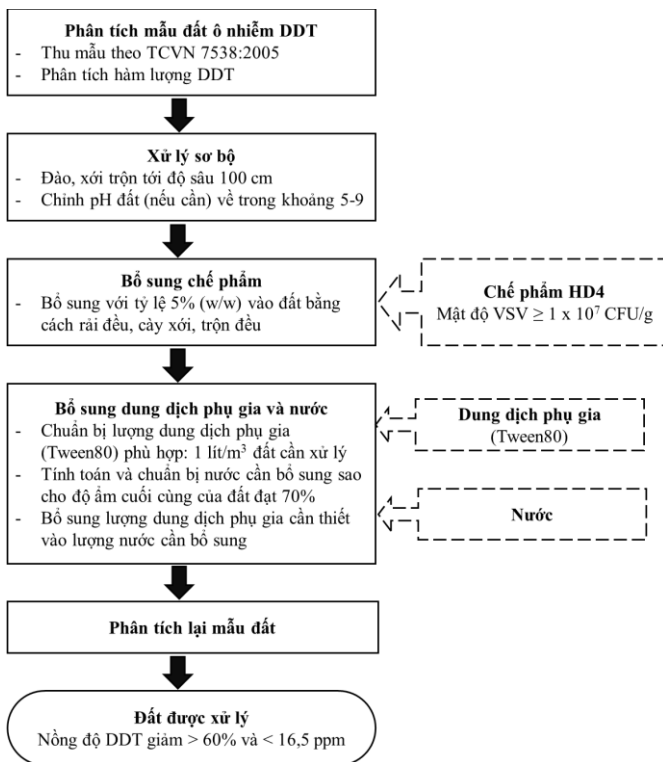


Hình 3.28. Sơ đồ quy trình sản xuất chế phẩm

3.3 Nghiên cứu xây dựng quy trình xử lý đất ô nhiễm DDT và Lindane bằng chế phẩm sinh học và thử nghiệm mô hình thực tế

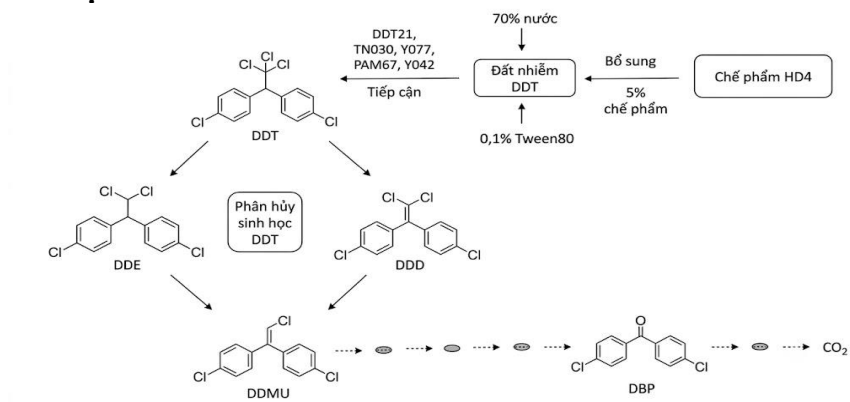
3.3.1 Thử nghiệm xử lý ô nhiễm đất DDT quy mô phòng thí nghiệm

Quy trình xử lý đất ô nhiễm DDT được xây dựng như sau:



Hình 3.33. Sơ đồ quy trình ứng dụng chế phẩm sinh học trong xử lý đất ô nhiễm DDT

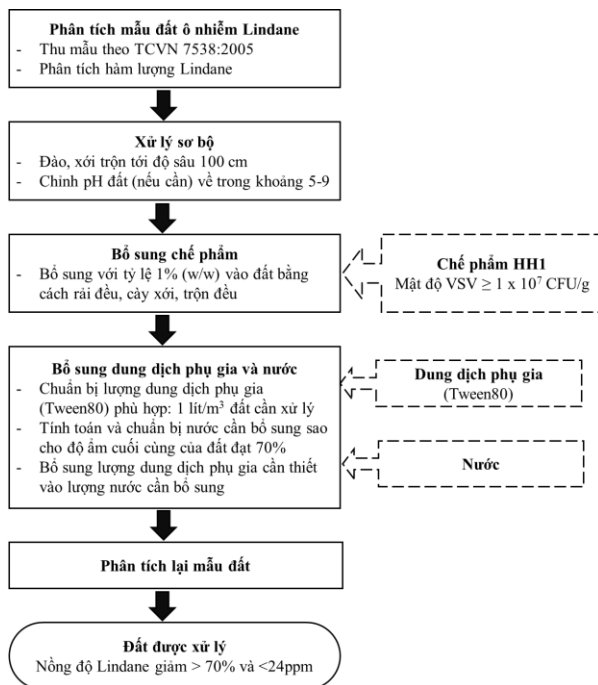
3.3.2 Giả thuyết về con đường phân giải DDT bằng chế phẩm sinh học



Hình 3.35. Giả thuyết về quá trình phân hủy sinh học DDT trong đất bởi chế phẩm HD4

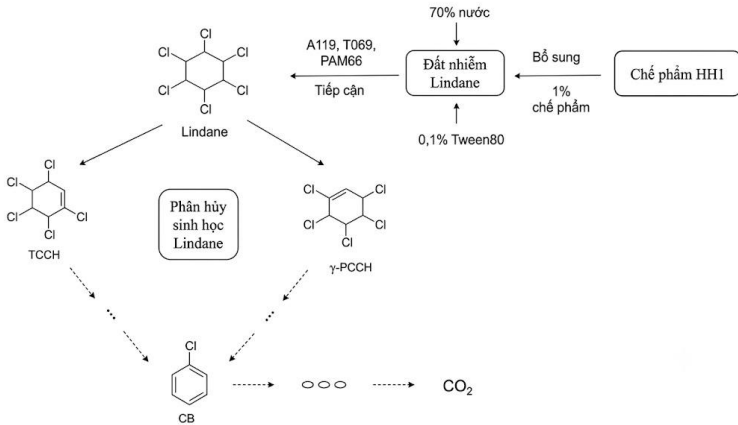
3.3.3 Thử nghiệm xử lý ô nhiễm đất Lindane quy mô phòng thí nghiệm

Quy trình xử lý đất ô nhiễm Lindane được xây dựng như sau:



Hình 3.40. Sơ đồ quy trình ứng dụng chế phẩm sinh học trong xử lý đất ô nhiễm Lindane

3.3.4 Giả thuyết về con đường phân giải Lindane bằng chế phẩm sinh học



Hình 3.42. Giả thuyết về quá trình phân hủy sinh học Lindane trong đất bởi chế phẩm HH1

3.3.5 Thử nghiệm trong mô hình thực tế

3.3.5.1 Thử nghiệm xử lý đất ô nhiễm DDT trên mô hình thực tế

Kết quả theo dõi hàm lượng DDT còn lại trong đất được thể hiện ở Hình 3.47 cho thấy xu hướng giảm rõ rệt theo thời gian, đặc biệt ở lô thí nghiệm. Cụ thể, nồng độ DDT ban đầu là 19,25 ppm, sau 6 tuần giảm mạnh còn khoảng 7,9 ppm và tiếp tục giảm xuống chỉ còn khoảng 2,83 ppm ở tuần thứ 12 (hiệu suất phân giải đạt ~ 85%). Trong khi đó, lô đối chứng chỉ giảm nhẹ xuống 10,89 ppm sau 12 tuần.

3.3.5.2 Thử nghiệm xử lý đất ô nhiễm Lindane trên mô hình thực tế

Kết quả (Hình 3.49) cho thấy hàm lượng Lindane trong đất tại lô thí nghiệm giảm rất nhanh so với lô đối chứng. Ban đầu, nồng độ Lindane khoảng 11,5 ppm, giảm xuống còn khoảng 4 ppm sau 1 tuần, duy trì ở mức này đến tuần thứ 3 và xuống mức < 1 ppm, gần như

không còn phát hiện ở tuần thứ 6 cũng như tuần thứ 12 (hiệu suất phân giải đạt >90%). Ngược lại, lô đối chứng lại có xu hướng tăng nhẹ từ khoảng 12 ppm lên 20 ppm trong suốt thời gian thí nghiệm. Do tuần thứ 6 không phát hiện thấy Lindane ở lô thí nghiệm nên chúng tôi tiến hành lấy mẫu sâu hơn vào tuần thứ 12, có lẽ do đó thấy nồng độ Lindane trong mẫu đối chứng có tăng nhẹ; trong khi đó trong mẫu thí nghiệm thì hàm lượng Lindane vẫn ở dưới ngưỡng phát hiện được.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

+ Đã làm rõ tiềm năng của vi sinh vật phân lập từ các điểm ô nhiễm trong việc phân hủy DDT và Lindane – hai hóa chất BVTV bền vững, thông qua cách tiếp cận kết hợp giữa phân tích hệ gen và dự đoán tương tác trao đổi chất. Trên cơ sở đó, 10 tổ hợp chủng phân giải DDT hiệu quả từ 10 chủng tuyển chọn có khả năng phân giải hiệu quả DDT và 10 tổ hợp chủng phân giải Lindane hiệu quả từ 10 chủng tuyển chọn có khả năng phân giải hiệu quả Lindane đã được xây dựng.

+ Chế phẩm xử lý hiệu quả DDT là chế phẩm tổ hợp HD4, bao gồm các chủng *Streptomyces marianii* DDT21, *Cupriavidus metallidurans* TN030, *Pseudomonas nitroreducens* Y077, *Pseudomonas anuradhpurensis* PAM67 và *Stenotrophomonas maltophilia* Y042). Chế phẩm xử lý hiệu quả Lindane là chế phẩm tổ hợp HH1, bao gồm các chủng *Pseudomonas putida* T069, *Streptomyces katrae* A119 và *Pseudomonas putida* PAM66).

+ Đã xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm sinh học phục vụ xử lý ô nhiễm đất chứa DDT và Lindane. Môi trường phù hợp nhất sử dụng cho lên men tạo sinh khối các chủng là môi trường tối

thiếu MSM cải tiến với nguồn cacbon là rỉ đường và nguồn nitơ là $\text{NH}_4(\text{SO}_4)_2$. Công thức phối trộn chế phẩm phù hợp là 10 than bùn : 1 sinh khối. Sau phối trộn, chế phẩm được sấy ở nhiệt độ 40°C trong 3 giờ để hoàn thiện.

+ Đã xây dựng được các quy trình công nghệ xử lý đất ô nhiễm DDT và Lindane bằng chế phẩm sinh học. Đối với đất ô nhiễm DDT, các bước căn bản của quy trình bao gồm: bổ sung 5% chế phẩm HD4, bổ sung nước vào đất để đạt độ ẩm 70%, bổ sung chất hoạt động bề mặt Tween 80 để đạt tỷ lệ 0,1%. Đối với đất ô nhiễm Lindane, các bước căn bản của quy trình bao gồm: bổ sung 1% chế phẩm HH1, bổ sung nước vào đất để đạt độ ẩm 70%, bổ sung chất hoạt động bề mặt Tween 80 để đạt tỷ lệ 0,1%.

+ Kết quả bước đầu thử nghiệm xử lý đất nhiễm DDT và Lindane ở hai mô hình thực tế đã cho thấy các quy trình xử lý xây dựng được là thực sự có hiệu quả. Với mô hình xử lý đất nhiễm DDT bằng chế phẩm HD4 tại Nghĩa Đàn, Nghệ An, sau 12 tuần nồng độ DDT trong đất được xử lý giảm ~85%, xuống nồng độ 2,8 ppm. Với mô hình xử lý đất nhiễm Lindane bằng chế phẩm HH1 tại Thạch Hà, Hà Tĩnh, sau 12 tuần, nồng độ Lindane trong đất được xử lý giảm trong đất được xử lý giảm >90%, xuống dưới mức phát hiện.

Kiến nghị

+ Nghiên cứu sâu, làm rõ hơn các con đường phân giải của các chủng và tổ hợp chủng được lựa chọn và bản chất di truyền liên quan.

+ Tối ưu hóa quy trình sản xuất chế phẩm và quy trình xử lý đất ô nhiễm để tiết kiệm chi phí hơn nữa.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

Tác giả chính

1. **Phuong Ha Vu**, Dang Huy Nguyen, Tung Son Vu, Anh Hien Le, Trang Quynh Thi Tran, Yen Thi Nguyen, Thuy Thu Thi Nguyen, Linh Dam Thi Mai, Ha Viet Thi Bui, Hanh My Tran, Huy Quang Nguyen, Thao Kim Nu Nguyen, Bao Gia Truong, Huyen Thanh Thi Tran, Hai The Pham. Biodegradation of DDT using multi-species mixtures: From genome-mining prediction to practical assessment. *Microbial Biotechnology*, 2024, 17.9: e70021.
2. **Phuong Ha Vu**, Hai Hoang Pham, Tung Son Vu, Anh Hien Le, Dong Tran Luu, Trang Quynh Thi Tran, Yen Thi Nguyen, Thuy Thu Thi Nguyen, Linh Dam Thi Mai, Ha Viet Thi Bui, Hanh My Tran, Huy Quang Nguyen, Thao Kim Nu Nguyen, Anh Thuy Thi Tran, Huyen Thanh Thi Tran, Hai The Pham. Mixed Cultures for Biodegradation of Lindane: From Genome-Based Assembly to Practical Assessment. *Remediation Journal*, 2025, 35.2: e70010
3. **Vũ Hà Phương**, Trần Tiến Thành, Hà Đình Lương, Nguyễn Kim Nữ Thảo, Trần Thị Thanh Huyền, Phạm Thế Hải. Nghiên cứu các phương án chất mang và chất hoạt động bề mặt phù hợp nhằm phát triển chế phẩm vi sinh xử lý ô nhiễm DDT và Lindane. *Kỷ yếu Hội nghị Khoa học toàn quốc về Công nghệ sinh học 2025*, 2025, Tập 1, tr.632-637
4. **Phuong Ha Vu**, Linh Phuong Tran, Tung Son Vu, Trang Quynh Thi Tran, Yen Thi Nguyen, Anh Quynh Hoang, Thao Kim Nu Nguyen, Minh Hong Nguyen, Song-Gun Kim, Huyen Thanh Thi Tran and Hai Pham. Discovery of a notable DDT-degrading bacterium originating from insecticide-contaminated soil in Vietnam and representing a novel species. *Frontiers in Microbiology, section Terrestrial Microbiology*, 2026,17, 1744811

Đồng tác giả

1. Lưu Trần Đông, Vũ Sơn Tùng, **Vũ Hà Phương**, Hoàng Quỳnh Anh, Trần Thị Quỳnh Trang, Nguyễn Thị Yến, Nguyễn Hồng Minh, Trần Thị Thanh Huyền, Nguyễn Kim Nữ Thảo, Phạm Thế Hải. Nghiên cứu tạo bộ chủng xạ khuẩn bản địa có khả năng phân giải lindane nhằm hướng tới tạo chế phẩm sinh học xử lý đất tồn dư thuốc trừ sâu để phục vụ sản xuất nông nghiệp an toàn. *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm* - tập 5, số 3, 2022, tr. 183-195.
2. Vu Son Tung, Tran Thi Quynh Trang, Nguyen Thi Yen, Le Hien Anh, Nguyen Huy Dang, Luu Tran Dong, **Vu Ha Phuong**, Tran Thi Thanh Huyen, Nguyen Kim Nu Thao, Pham The Hai. Collection of ddt-degrading bacterial strains in northern vietnam, toward the bioremediation of contaminated agricultural soil. *Vietnam Journal of Science and Technology* (Chấp nhận đăng ngày 7/10/2024)
3. Phạm Thế Hải, Trần Thị Thanh Huyền, **Vũ Hà Phương**, Vũ Sơn Tùng, Nguyễn Kim Nữ Thảo, Nguyễn Thị Hồng Minh, Nguyễn Quang Huy. Giải pháp hữu ích: Quy trình xử lý đất ô nhiễm thuốc bảo vệ thực vật Lindane bằng chế phẩm vi sinh (Chấp nhận đơn hợp lệ số đơn: 2-2024-00648 ngày 18/10/2024)